

## 成分分析からみたプロポリスの多様性 その2 日本産プロポリス

藤本 琢憲, 中村 純, 笠原 麗美, 松香 光夫

セイヨウミツバチによる生産物の一つ、プロポリスは潜在する医薬的な効能効果により巷間で評判になっている健康食品である。そしてもっと効能の高いプロポリスが得られないかと探求する人々も多い。一方で、プロポリスらしさを表現する、規格基準はないのかという問い合わせも多い。規格基準は製品を保証する上でも重要な要素であるが、それを決めるにあたってはまずプロポリスにどのような種類があり、成分的な、あるいは効能的な多様性があるかを知ることが重要になる。これは先の問題に戻って、プロポリスの効能にはどのような可能性があり、例えば産地ごとに、あるいは起源植物ごとに効能について差別化できる種々のプロポリスが世界の、あるいは日本のどこかにないか、ということを探し出す作業に似てくる。

プロポリスの成分については多くの研究があるが (Bankova et al., 2000, Marcucci, 1995), 藤本ら (2000) が、日本プロポリス協議会、プロポリス研究者協会、全日本プロポリス協会、玉川大学学術研究所ミツバチ科学研究施設、その他有志の方々によって集められたプロポリスの分析結果を発表した。これに基づいて前報では外国産プロポリスの多様性について紹介した (藤本ら, 2001)。これらは、熱帯地域を除く、緯度にして  $15\sim 50^\circ$  (南北) の世界各地の養蜂地帯から集められたものであった。これらのプロポリスは UV 吸収スペクトルの波形から二つのタイプに大別することができた。すなわち UV 吸収で波長  $290\sim 293\text{nm}$  に極大吸収があり、しかも左右に肩がある波形を示すヨーロッパタイプと、 $300\sim 315\text{nm}$  に極大吸収があって、天辺がやや平坦で肩がなくて舌状

の波形を示すブラジルタイプの二種である。前者は報告された範囲ではブラジル以外の国のプロポリスに共通していて、起源植物は主としてポプラ (ヤナギ科ハコヤナギ属植物の総称) と考えられ (Greenaway et al., 1987) ポプラ系ともいわれる。

日本もセイヨウミツバチを導入して 100 年余りになり、予備的な検討の結果も含めて、日本産のプロポリスはヨーロッパタイプであろうと予測されてきた。ただし、これまで日本産プロポリスについて比較検討したデータがなかったので、沖縄県から北海道 (北緯  $25\sim 45^\circ$ ) まで 13 都道府県より 30 検体を入手して、分析を行った。

この 30 検体はそれぞれ原塊  $1\text{g}$  に対して  $99.5\%$  エタノール  $5\text{ml}$  (1:5) の割合で抽出し、その溶解量、溶液濃度、紫外部極大吸収波長 ( $\lambda_{\text{max}}$ )、および比吸光度 ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) などを測定した。

### 分析結果

図 1 に主な検体の紫外部吸収スペクトルを示した。紫外部吸収ではどれも極大吸収が波長  $289\sim 297\text{nm}$  にあって、波形からはヨーロッパタイプと思われるものであった。

一方で、薄層クロマトグラフィー (TLC) がプロポリスの分析に強力な役割を果たしていることから (藤本ら, 2000), 日本産のプロポリスに適用したところ、さらに興味深い結果が示唆された (図 2)。これらの分析の結果、日本産プロポリスがいくつかのパターンに分類できることがわかったので、予備的ではあるがここに報告したい。

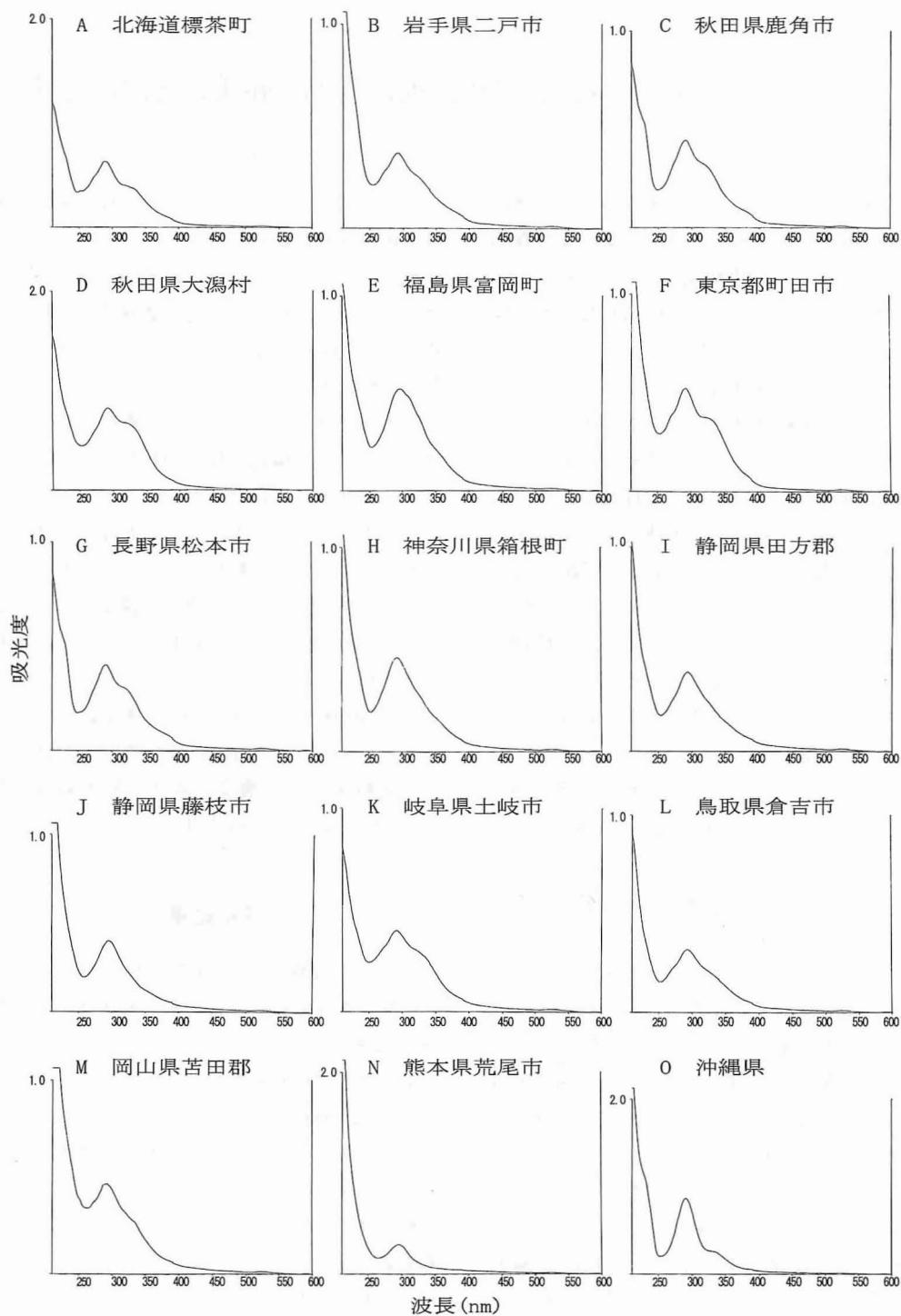


図1 主なサンプルの紫外外部吸収(UV)スペクトル

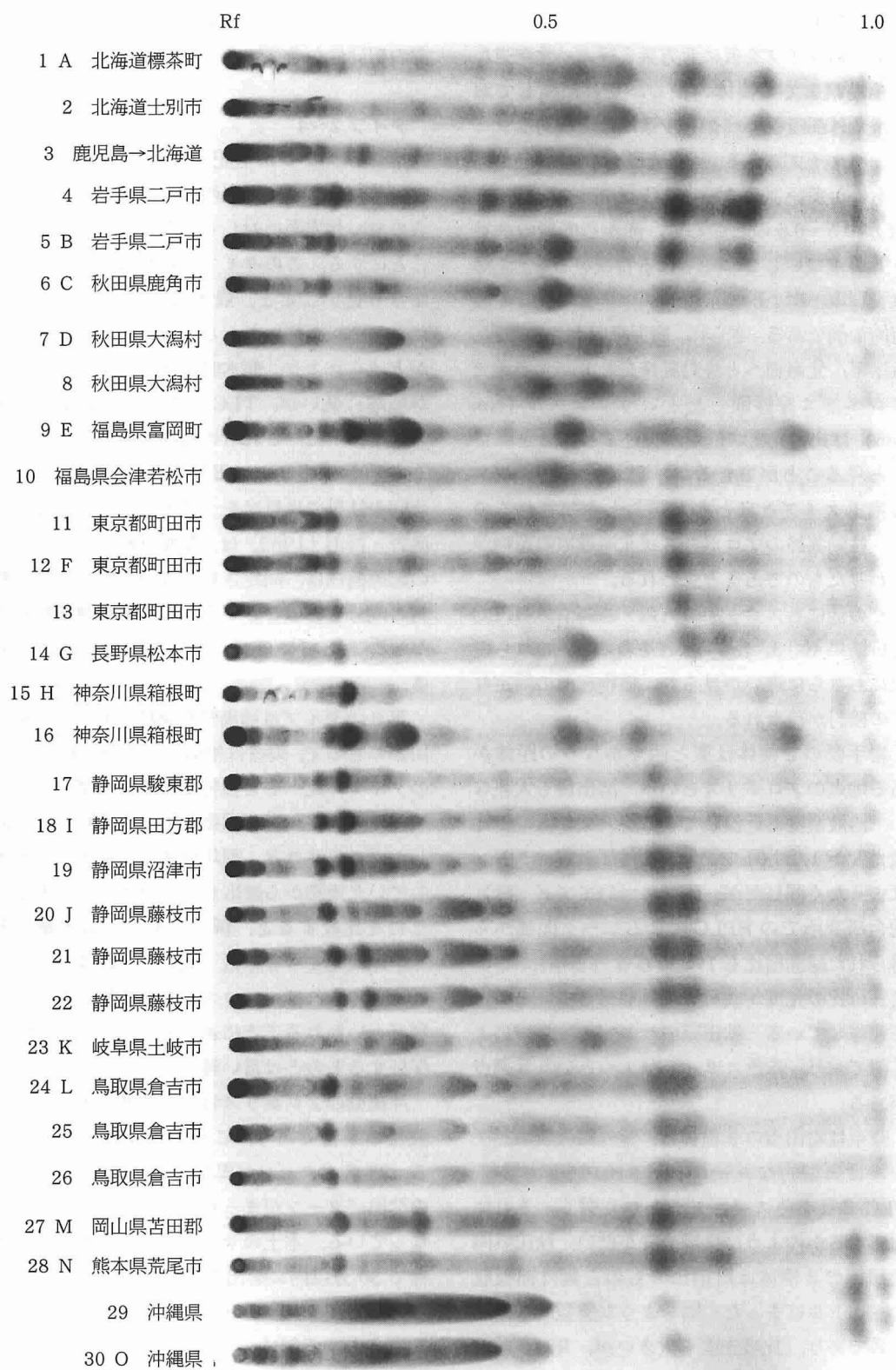


図2 薄層クロマトグラフィーによるスポット発現パターン

## タイプ1

第1のタイプを仮に北方系と呼ぶ。北海道から福島県までの検体の多くがこれに属しており、紫外部吸収スペクトルはほぼ典型的なヨーロッパタイプである。比吸光度も300以上と高いものが多い(表1)。TLCパターンとして、Rfが0.5~0.6のところに、赤から赤紫のスポットが1ないし2つ見られる特徴がある。北海道士別市と川上郡標茶町のプロポリスはこの典型的な例である。さらに、鹿児島県から鳥取県、秋田県、北海道へと移動養蜂をして、北海道でプロポリスを採取したというサンプル(No. 185)は比吸光度が低く、後述する第2タイプのと見ることができるが、TLC成分パターンは第1タイプとほとんど同じとみなされるので、移動養蜂のプロポリスは北海道での産物が加わったものであると思われる。

その他にもスポットの有無・強弱や、HPLC分析結果(図3, 表1)などをみると、これらの間にもさらに違いが見られ、植物起源の同定などの検討が待たれる。

岩手県の2検体は東と西でかなりの距離がある地点のプロポリスという。溶出量も大差なく、溶液濃度も近似しているが、東のものの比吸光度が1/2以下である。紫外部吸収パターンはまったく同じだが、両者についてアピ(株)総合研究所でのHPLCによるピーク面積から得られた総面積比も1/2である(私信)。このことは比吸光度が成分の量と並行していることを意味している。秋田県のサンプルは互いによく似ており、赤色スポットが1つという共通点がある。

東京都町田市の3検体は、紫外部吸収スペクトルは典型的なヨーロッパタイプを示すが、TLCでは赤色スポットがかなり弱く、それに対応するかのように比吸光度が低い。秋田県南秋田郡の3検体は町田市のものと紫外部吸収スペクトルはまったく同じような典型的なポプラ系であり、比吸光度も大きい。Rf0.3前後の様子が他とはかなり異なっている。

興味深いのは、岐阜県、鳥取県のプロポリスが北方系の特徴を備えていることである。これ

が、ポプラに由来するものと考えれば、植物起源の相同性が考察できるされるだろう。

## タイプ2~4

第2のタイプは上記の赤色スポットをもたないもので、静岡県以西のもの多くの該当するので、北方系に対して、西方系と呼んでおくことにする。このタイプの特徴は、比吸光度がかなり低いことと、最大吸収は292~296nmにあるが、両肩にあたる吸収が目立たないことが上げられよう。熊本県のサンプルは比吸光度が極端に低いが、TLCパターンは典型的な西方系であった。これらの植物起源は明らかに北方系(ポプラ型)とは異なるものと思われるが、今回の結果では見当をつけることができない。瀧野・持田(1982)は、愛媛県産のプロポリスの起源植物は、同定された成分がヤシャブシ特有の成分であることから、これを起源植物ではないかとしているが、さらに検討の余地がある。

第3のタイプは福島県双葉郡のものと、神奈川県のもので、両者は相似しているが、第1, 第2のタイプに比べると独特である。後者からの2検体は、現在ハチが活動している巣箱から採取したプロポリスと、前年度までに使用して放置していた巣箱から採取したプロポリスである。これを比較すると、新しいものが溶出量も多く、比吸光度も2倍近く大きい。起源が同じであると考えれば、プロポリスは新鮮なものが有利だといわれることに通ずるが、その可能性を保証するものとは言い難いところである。

沖縄県のプロポリスは他と共通点の少ない、独特の素材であり、これが第4のタイプである。TLCパターンが異なるだけでなく、HPLCの溶出パターンがまったくといってよいほど異なっている。本土のサンプルはいずれも同じ条件で30分以内に溶出を終えており、おそらくピノセブリン、クリシンなどのフラボノイドを中心とする組成であるのに対して、40分以後に溶出する成分が多い特異なパターンを示している。今後の検討が待たれる。

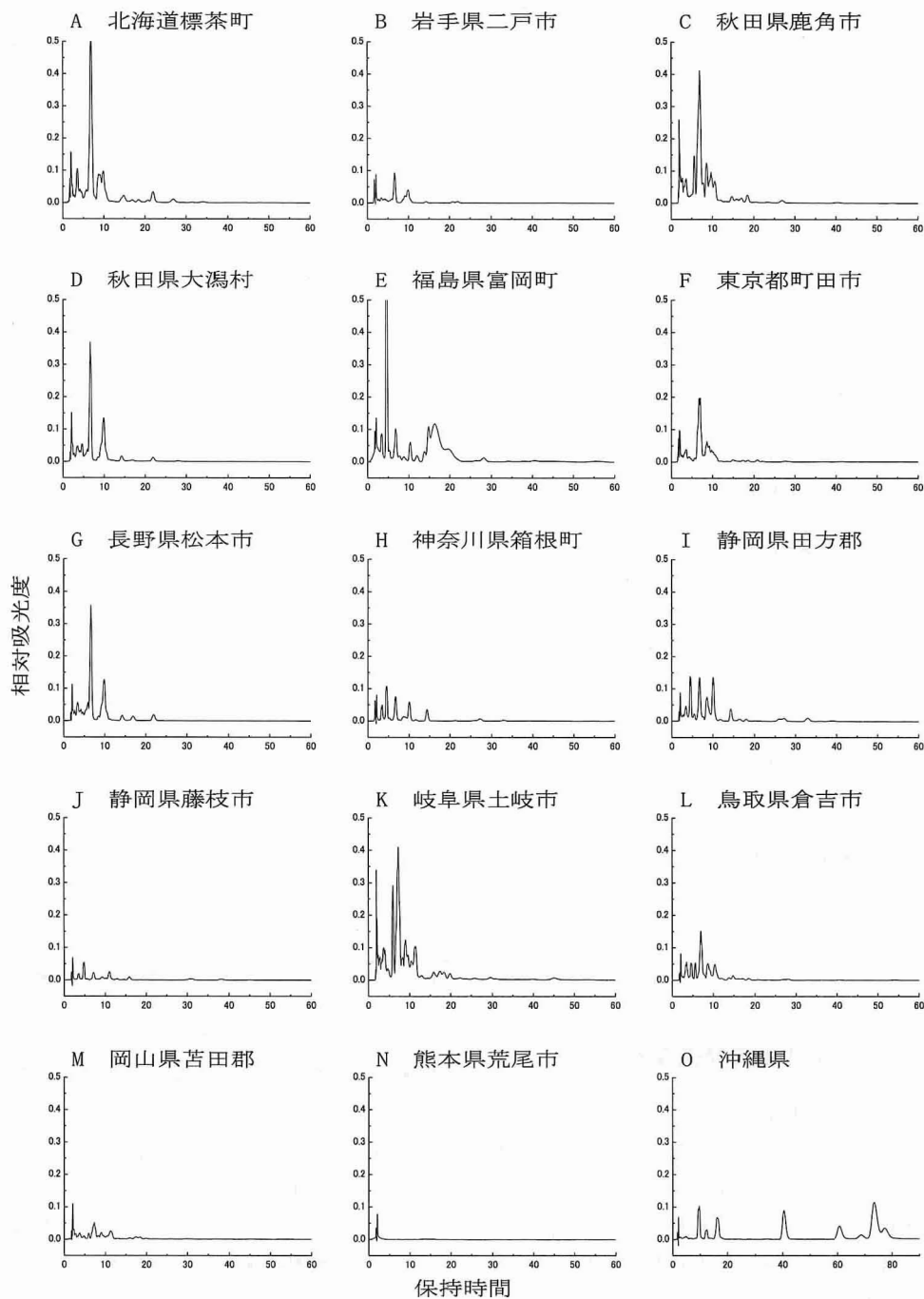


図3 代表的なサンプルの HPLC クロマトグラム (分析条件は前報参照)

分析条件:

カラム Inertsil C8 (4.6×150mm, ジーエルサイエンス)

容離液 メタノール/水/リン酸 (60:40:0.1)

流量 1.0mL/min, カラム温度 40℃

検液濃度 0.2%, 検液注入量 20  $\mu$ L

検出波長 300nm (3 次元像 220–400nm)

表1 産地別プロポリスの成分含有パターン（右ページに続く）

No.	記号	生産地	可溶分 (%)	最大吸 収(nm)	比吸 光度									
						CFA	CMA	uk1	uk2	FRA	NRG	HSP	uk3	uk4
1	A	北海道標茶町	54.66	289.2	292	+++	-	+	-	tr	-	-	-	-
2		北海道士別市	51.50	291.2	332	+	-	+++	-	-	-	+++	-	-
3		鹿児島→北海道	30.94	290.4	210	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4		岩手県二戸市	40.16	289.2	208	-	-	+++	-	tr	-	-	-	-
5	B	岩手県二戸市	43.16	291.2	101	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	C	秋田県鹿角市	40.68	290.8	264	+	-	+++	-	tr	-	-	-	-
7	D	秋田県大潟村	49.13	292.8	458	+	+++	-	-	-	++	-	-	-
8		秋田県大潟村	64.11	292.8	428	++	+++	-	-	+	++	-	-	-
9	E	福島県富岡町	51.81	296.8	244	-	-	-	-	-	-	-	+++	++++
10		福島県会津若松市	62.25	291.6	388	+	+++	-	-	-	++	-	-	-
11		東京都町田市	47.16	292.0	228	-	-	-	-	+	+	++	-	-
12	F	東京都町田市	45.38	292.4	147	-	-	-	-	-	+	+	-	-
13		東京都町田市	39.43	292.8	170	-	-	-	-	tr	+	-	-	-
14	G	長野県松本市	44.13	290.8	236	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-
15	H	神奈川県箱根町	36.59	293.2	162	-	-	-	-	-	-	-	++	+++
16		神奈川県箱根町	50.66	294.4	310	-	-	-	++	-	-	-	+++	++++
17		静岡県駿東郡	38.58	294.0	154	-	-	-	-	-	++	-	+++	+++
18	I	静岡県田方郡	57.79	293.6	148	tr	-	-	-	-	-	-	+++	++
19		静岡県沼津市	36.40	294.4	115	-	-	-	++	-	-	+++	-	-
20	J	静岡県藤枝市	35.99	295.6	54	-	-	-	++	-	-	++	tr	+
21		静岡県藤枝市	33.99	295.2	84	-	-	-	++	-	-	++	tr	++
22		静岡県藤枝市	33.36	293.2	144	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
23	K	岐阜県土岐市	57.86	291.6	382	+++	-	-	-	tr	+	-	-	-
24	L	鳥取県倉吉市	41.56	293.2	196	-	-	-	-	-	++	-	-	++
25		鳥取県倉吉市	39.26	292.4	261	-	-	-	-	-	+	-	-	-
26		鳥取県倉吉市	38.48	292.4	200	-	-	-	-	-	+	-	-	+
27	M	岡山県苫田郡	46.32	292.8	129	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
28	N	熊本県荒尾市	35.16	295.6	41	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29		沖縄県	61.90	290.4	383	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
30	O	沖縄県	61.45	290.4	357	-	-	-	+++	-	-	-	-	-

a) 図1~3と同じ記号, b) 同定成分は右ページ参照, uk1~16は未同定成分(溶出順), 含有量は+の数が多いほど濃度が高く, trは微量, -は非含有

### その他の特徴など

これまで、日本産プロポリスの分析はほとんど手がつけられておらず、紫外外部吸収スペクトルの形状から一般的にヨーロッパタイプとして分類されてきた。今回の予備的な分析で、少なくとも4つのタイプが示された。沖縄のものはこれまで報告がなく、異質なものであることがわかった。

HPLCによる分析結果は、各ピークの物質同定が不安定で、かつ、誤認の可能性も低くはないことを前報でも強調した（藤本ら、2000）。今回の結果も必ずしも上記のパターンを説明しきれぬものではなかったが、あえて、特徴を抽

出してみると、次のようなことが読みとれる。沖縄のものを除くと日本産プロポリスの特徴はピノセンブリンに代表され、クリシン、ガラングインがこれに次ぐ。これらは、ヨーロッパタイプの特徴でもある。ヨーロッパ産のプロポリスでは、このほかにカフェ酸、クマール酸などのフェノール酸類が多いことが特徴である。これは、今回の北方系タイプ1に当てはまる。西方系では比吸光度が低いことも関連があるろうが、フェノール酸類の検出はこん跡程度という結果であった。

ミツバチは指向はあるにしても、特定の樹種だけからプロポリスを集めるわけではないだろうから、それぞれのサンプルは複数の植物起原

同定成分および代表的な未同定成分																
PNC	uk5	CHR	GLG	KMP	uk6	uk7	uk8	uk9	uk10	uk11	uk12	TCT	uk13	uk14	uk15	uk16
+++++	-	+++	-	+++	-	-	-	-	++	-	-	+	+	-	-	-
+++++	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
+++	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
-	-	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+++++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
+++++	-	+++	++	-	+++	-	-	-	++	+	-	++	-	-	-	-
+++++	-	+++	++	-	+++	-	-	-	+++	+	-	+++	-	-	-	-
-	-	+	-	-	-	-	-	-	+++++	-	-	-	-	-	-	-
+++++	-	+++	+++	-	-	-	-	-	++	-	-	++	-	-	-	-
+++	-	+++	++	-	++	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
+++	-	+++	++	-	+	+++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
+++++	-	++	++	-	+	++	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
+++++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
+++	-	+	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
+++	-	++	-	-	-	-	-	-	+++++	-	-	-	-	-	-	-
+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	tr	-	-	-	-
+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	++	-	-	+	-	-	-	-
+++	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	-	+	-	-
++	-	-	++	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-
+++	-	-	++	-	-	-	+	+++	+++	-	-	-	-	+	-	-
+++	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
-	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
+++	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++++	+++
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++++	+++

CFA: caffeic acid, CMA: coumaric acid, FRA: ferulic acid, NRG: naringenin, HSP: hesperetin, KPNC: pinocembrin, CHR: chrysin, GLG: galangin, KMP: kaempferide, TCT: tectochrysin

の複合パターンとなっていることが容易に考えられる。含有物質の同定がすすみ、植物の化学分類学的な知見が増えれば、対応をより詳しく論ずることもできよう。それが不十分な状態では、決定的なことは今後の検討をまつ他はない。しかしながら、今回の分析結果はポプラ型を中心とする北方系（典型的ヨーロッパ型）の他に、西日本に広く分布する西方系があり、さらに地域限定の異質なタイプがあることがわかった。精査すれば、この限定型の種類はもっと増える可能性もある。

(〒194-8610 町田市玉川学園 6-1-1

玉川大学ミツバチ科学研究施設)

引用文献 (前編 22(1):9-16 に引用したものを含む)  
 Apimondia. 1978. Propolis. Apimondia Publishing House.  
 Bankova, V., S. S. Popov and N. L. Marekov. 1982. J. Chromatogr. 242: 135-143.  
 Bankova, V., R. Christov, A. Kujumgiev, M. C. Marcucci and S. S. Popov. 1995. Z. Naturforsch. 50c: 167-172.  
 Bankova, V., M. C. Marcucci, S. Simova, N. Nikolova, A. Kujumgiev and S. S. Popov. 1996. Z. Naturforsch. 50c: 277-280.  
 Bankova V. S., S. L. de Castro and M. C. Marcucci. 2000. Apidologie, 31, 3-15.  
 Banskota, A. H., Y. Tezuka, J. K. Prasain, K. Matsushige, I. Saiki and S. Kadota. 1998. J. Nat. Med. 61: 896-900.

- Bastos, E. M. A. F., V. D. C. Oliveira and A. E. E. Soares. 2000. ミツバチ科学 21(4): 179-180.
- 藤本琢憲. 1992. ミツバチ科学 13 (4) : 145-150.
- 藤本琢憲. 1997. プロポリス協議会会報 15: 16-35.
- 藤本琢憲, 中村純, 松香光夫. 2000. 玉川大学学術研究所紀要 6: 7-22.
- 藤本琢憲, 中村純, 松香光夫. 2001. ミツバチ科学 22 (1) : 9-16.
- Greenaway, W., T. Scaysbrook and F. R. Whitley. 1987. Proc. R. Soc. Lond. B 232: 249-272.
- 加藤学, 山田英生, 藤善博人, 河合信之, 杉本広之. 2000. ミツバチ科学 21(4): 169-178.
- 熊澤茂則, 田澤茂実, 野呂忠敬, 中山勉. 2000. ミツバチ科学 21(4): 164-168.
- Marcucci M. C. 1995. Apidologie 26: 83-99.
- Marcucci M. C. and V. Bankova. 1999. Current Topics Phytochem. 2: 115-123.
- Marcucci, M. C., F. Ferreres, A. R. Custodio, M. M. C. Ferreira, V. S. Bankova, C. Garcia-Viguera and W. A. Bretz. 2000. Z. Naturforsch. 55c: 76-81.
- 松田忍. 1994. ミツバチ科学 15(4): 145-154.
- 松野哲也. 1992. ミツバチ科学 13(2): 49-54.
- Nakamura, J., H. Osawa and M. Matsuka. 1997. Proc. 35th Int. Apic. Congr. Apimondia, 308-311.
- Park Y.K., M. Ikegaki, S. M. Alencar and F.F. Moura. 2000. ミツバチ科学 21(2): 85-90.
- 滝野慶則, 持田俊二. 1982. ミツバチ科学 3(4): 145-152.
- Tatefuji, T., N. Izumi, T. Ohta, S. Arai, M. Ikeda and M. Kurimoto. 1996. Biol. Pharm. Bull. 19, 966-970.
- Tazawa, S., T. Warashina, T. Noro and T. Miyase. 1998. Chem. Pharm. Bull. 46: 1477-1479.
- Woisky, R.G. and A. Salatino. 1998. J. Apic. Res. 37(2): 99-105.
- Wollenweber, E., F. J. Arriaga-Giner, A. Rumero and W. Greenaway. 1989. Z. Naturforsch. 44c: 727-730.
- Wollenweber, E., J. Schober, P. Dostal and D. Hardetzky. 1986. Z. Naturforsch. 41c: 87-93.
- TAKUNORI FUJIMOTO, JUN NAKAMURA, REMI KASAHARA and MITSUO MATSUKA. Diversity of propolis. Part 2. Propolis from Japan. *Honeybee Science* (2001) 22(2): 67-74. *Honeybee Science Research Center, Tamagawa University, Machida, Tokyo, 194-8610 Japan.*

Diversity of propolis was analyzed by UV spectra, TLC, and HPLC and results were described in two parts. Part one (*Honeybee Science* 22(1): 9-16) reported diversity among world propolis samples. European type is typical for European, Chinese, Argentinian, and Uruguayan propolis. Brazilian propolis contained a typical Brazilian type which seemed to be originated from *Baccharis dracunculifolia*, as well as other types as minor products. Part 2 (this issue) treated Japanese propolis samples analyzed by the same methods. Type 1, Northern (Japan) type is similar to the European type which may be originated from *Populus* tree as a major source. Type 2, Western type were collected from Shizuoka Prefecture to Kyushu, with some exceptions of European type scattering in the western region. Type 3 showed unique TLC pattern different from above two types in samples collected from mid-Honshu, and the propolis from Okinawa island was the quite different fourth type.