

プロポリス食品自主規格基準

一般社団法人 日本プロポリス協議会

(2010年4月)

1. 適用範囲

この規格基準は抽出法の如何を問わず、プロポリスの商品形状が液状(ペースト状を含む)、飴状、ゼリー状、粉末状、顆粒状、粒状、錠剤、等であるもの、及びこれら製品のおいしさや味をマスクするため、又はこれら製品の品質保持のためゼラチン等で被包したものに適用する。

2. 定義

(1) プロポリス

「プロポリス」(原塊)とは、ミツバチの巣房を構成する素材の一つとして、ミツバチにより花粉及び植物の特定部位を含む分泌物(主として新芽やつぼみおよび樹皮から採集したガム質、樹液、植物色素系の物質および香油などの集合体)と、ミツバチ自身の分泌物(蜂ロウなど)を練り合わせてつくられたもので、樹脂、ミツロウ、精油、花粉、ミネラル、等からなる、粘着性のある固形天然物質をいう。成分としてフラボノイド類、フェノール酸系の物質、等が知られている。また、プロポリス(原塊)は自然界よりミツバチが集め作りだすものであるため、その産地や採集時期、植物群(由来植物)の違いなどから、色、芳香性、味、性状、成分、等には相違がある。

(2) プロポリスエキス

「プロポリスエキス」とは、プロポリス(原塊)の水、含水エタノール又はエタノール、超臨界抽出法、等による抽出物をいう。その含有量はプロポリス由来の固形分量をもって示す。

(3) プロポリス加工食品・含有食品

「プロポリス加工食品」とは、プロポリス(原塊)を食品に適するように精製加工したものの、又はこれに他の原材料を加えて食用に適するよう加工したもので、プロポリス含有量が10%以上のものをいう。

「プロポリス含有食品」とは、上記プロポリス含有量が0.1%以上10%未満のものをいう。

(4) プロポリスエキス加工食品・含有食品

「プロポリスエキス加工食品」とは、プロポリスエキス(エタノール抽出、水抽出、超臨界抽出)、又はこれに他の原材料を加えて食用に適するよう加工したもので、プロポリスエキス含有量が10%以上のものをいう。

「プロポリスエキス含有食品」とは、上記プロポリスエキス含有量が0.1%以上10%未満のものをいう。

3. 製品規格

(1) 外観・性状

プロポリス特有の香りを有すること。(カプセル製品の場合は内容物)
前製造ロットに比べ、異味、異臭及び異物がないこと。

(2) 確認試験

①規格成分はプロポリス及びプロポリスエキス(エタノール抽出、水抽出、超臨界抽出)であり、その含有量はプロポリス由来の固形分量(プロポリス可溶性分量にて判定)をもって表し、それぞれ表示値以上の含有量であること。別記(1)(2)

②p-クマル酸を確認する。別記(3)

③吸収スペクトルパターンを確認する。別記(4)

④エキス(チンキ)製品については、エタノール濃度を確認する。

(3) 自主検査項目

1) 残留農薬・抗生物質	食品衛生法(いわゆるポジティブリスト)に準拠
2) ヒ素	Asとして2ppm以下
3) 重金属	Pbとして20ppm以下
4) 一般細菌数	3×10^3 個/g以下
5) 大腸菌群	陰性
6) カビ・酵母	30個/g以下

4. 製造・加工等の基準

(1) 製造・加工施設及び保管施設とその管理

① 施設

イ. 場所: 清潔な場所に位置していること。

ロ. 区画: 使用目的に応じて、壁、板その他適当なものによって区画されていること。

ハ. 面積: 取扱量に応じた広さを有すること。

ニ. 床: 耐水性材料が使用され、排水がよく、かつ、清掃しやすい構造であること。
ただし、水を使用しない場合にあつては、木床を使用することができる。

ホ. 内壁: 耐水性材料または、厚板で腰張りされ、かつ、清掃しやすい構造であること。

ヘ. 天井: 清掃しやすい構造であること。

ト. 採光・換気: 採光又は照明及び換気が十分な構造であること。

チ. 周囲の構造: 施設の周囲の地面は、清掃しやすい構造であること。

リ. 防鼠・防虫: ねずみ、こん虫等衛生動物の侵入を防止する設備を有していること。

ヌ. 洗浄設備: 原材料、器具及び容器類等を洗浄するための洗浄設備並びに従業員専用の手洗い設備および消毒設備を有していること。

ル. 更衣室: 従業員の数に応じた清潔な更衣室又は更衣箱を作業場以外に有していること。

ヲ. 便所: 作業場から隔離されており、作業員の数に応じた十分な数の便所を有していること。防虫、防鼠設備及び流水式手洗い設備を有していること。

ワ. 給水: 水道法による水道水又は官公立衛生試験機関で検査を受け、飲用適と認められた水を供給することができる設備を有していること。なお、貯水槽を使用する場合は、衛生上支障のない構造であること。

② 設備の管理

- イ. 設備及びその周辺は毎日清掃し、常に整理整頓に努め、衛生上支障のないよう清潔に保つこと。
- ロ. 作業場内に不必要な物品等を置かないこと。
- ハ. 作業場内の壁、天井及び床は常に清潔に保つこと。
- ニ. 作業場内の採光、照明、換気及び通風を十分にすること。
- ホ. 施設内のねずみ、こん虫等衛生動物の駆除を定期的実施し、その実施記録を1年間保存すること。
- ヘ. 作業場内の窓及び出入口等は開放しないこと。
- ト. 施設の手洗い設備は、石けん及び適当な消毒液等を常に使用できる状態にしておくこと。
- チ. 作業場には関係者以外の者を立ち入らせたり、動物等を入れたりしないこと。
- リ. 施設が常に基準に合致するよう補修又は補充に努めること。
- ヌ. 水道水以外の水を使用する場合は、年一回以上水質検査を行い、その成績を1年間保存すること。
- ル. 貯水槽を使用する場合は、定期的に清掃し、清潔に保つこと。
- ヲ. 水質検査の結果、飲用不適となったときは、直ちに保健所長の指示を受けて適切な措置を講ずること。
- ワ. 便所は常に清潔にし、定期的に殺虫及び消毒すること。
- カ. 清掃用器材は専用の場所に保管すること。

(2) 保管施設及びその管理

① 施設

- イ. 原料、製品等の保管に支障のない容器を有すること。
- ロ. 原料、製品等の品質を良好に保持する機能を有していること。
- ハ. 床面及び内壁は、不浸透性の材料を用いて平らに仕上げてあり、清掃しやすい構造であること。
- ニ. 床面には、製品等の汚染を防止するために、スノコ、その他設備がしてあること。
- ホ. 出入口、その他開閉する個所には、必要に応じ、ねずみ、こん虫等衛生動物の侵入を防止する設備がしてあること。

② 設備の管理

- イ. 設備及びその周辺は、常に整理整頓に努め、衛生上支障のないよう清潔に保つこと。
- ロ. 施設内にねずみ、こん虫等衛生動物が侵入しないように十分管理をすること。
- ハ. 施設に温度調整設備がある場合は、それらが常に正常に作動していることを確認すること。また、温度は常に適正に管理すること。
- ニ. 施設内に不必要な物品を置かないこと。

(3) 製造・加工設備及びその管理

① 設備

- イ. 器具などの整備:食品の取扱量に応じた数の機械器具及び容器包装を備え、衛生的に使用できるものであること。
- ロ. 器具等の配置:固定され又は移動し難い機械器具などは、作業に便利で、かつ、清掃及び洗浄しやすい位置に配置されていること。
- ハ. 器具等の材質:食品に直接接触する機械器具等は、耐水性で洗浄しやすく、熱湯、蒸気又は殺菌剤等で消毒が可能なものであること。
- ニ. 計器類:冷蔵、殺菌、加熱、圧搾などの設備には、見やすい個所に温度計および圧力計を備えること。また、必要に応じて計量器を備えること。
- ホ. 汚物処理設備:廃棄物容器はふたがあり、耐水性で十分な容量を有し、清掃がしやすく、汚液、汚臭のもれないものであること。
- ヘ. 清掃用具の格納設備:作業場専用の清掃用具と格納設備を設けること。

② 設備の管理

- イ. 機械器具類は常に清潔に保つこと。
- ロ. 機械器具類は使用目的に応じ区分して使用すること。
- ハ. 機械器具類及び温度計、圧力計、流量計その他の計器類は、常に点検し、故障、破損等があるときは、速やかに補修し、常に使用できるよう整備しておくこと。
- ニ. 冷蔵、加熱又は殺菌の温度は、常に適正に管理すること。
- ホ. 機械器具類の洗浄に洗剤を使用する場合は、適正な洗剤を適正な方法で使用すること。
- ヘ. 機械器具類及び部品は、それぞれ所定の場所に衛生的に保管すること。

(4) 原材料

下記の原材料規格に適合したものを使用すること。

- ① 主原料:プロポリス又はプロポリスエキス(エタノール抽出、水抽出、超臨界抽出)
異物、有害物質の混入がなく、かつ、衛生的な取扱いがなされているものであること。
主原料をエタノールで抽出した時の紫外外部吸収を見ると、 $290 \pm 30\text{nm}$ に極大吸収を有すること。
- ② ゼラチン
被包原材料として用いるゼラチンは食用に適したものをを用いること。
- ③ その他原材料
食品又は食品材料であること。ただし、食品衛生上法上認められている食品添加物はこの限りでない。

(5) 容器

エタノールを含む液状製品にあつては、食品衛生法の容器試験に合格したガラス容器及びシリコン系の栓を用いること。エタノール濃度が20%を超える製品にあつては、合成樹脂容器を使用する場合、溶出試験に合格した容器を使用すること。(別記(5))

(6) 製造、加工の方法

- ① 安全衛生上の見地から作業標準を設定し、それを遵守すること。
- ② 原材料の仕入れに当たっては、衛生上の観点から品質及び表示等について点検すること。
- ③ 添加物を使用する場合は、正確に秤量し、適正に使用すること。
- ④ 殺菌工程を必要とするときは、殺菌の温度を常に適正に管理すること。
- ⑤ 微生物及びその他の汚染に由来する有害物が製品に混入しないようにすること。

(7) 作業者の衛生管理

- ① 作業者は、作業中清潔な作業衣を着用し、作業場内では専用の履物を用いること。必要に応じてマスク、帽子等を着用すること。
- ② 作業者は、常に爪を短く切り、食品を扱う前及び用便後は、手指の洗浄及び消毒を行うこと。
- ③ 作業者は、所定の場所以外で、更衣、喫煙、放たん又は食事等をしないこと。
- ④ 作業者は、常に健康に留意し、下痢、外傷など疾病を起こしている場合は責任者の指示に従うこと。

5. 表示に関する基準

表示は、容器または包装の見やすい箇所に表示しなければならない。ただし、容器を包装紙で外装する場合には、外装紙に必要な表示をするか、または容器の表示が外装紙を透かしてよく読めるようにするか、外装紙で隠れないようにする。

① 枠内一括表示事項

- ・名称
- ・原材料名(原材料に占める重量の割合の多い順に記載)
- ・内容量(内容重量、内容体積又は内容数量を表示)
- ・賞味期限
- ・保存方法(保存上の注意)
- ・(輸入品については原産国名)
- ・製造業者
(製造者の氏名又は名称、及び住所を記載。表示を行う者が加工者、販売者、輸入者である場合にあっては、製造者の記載部分を変更する)

② 枠外表示事項

- ・商品名
- ・使用プロポリスの原産国および産地など。
製品に使用しているプロポリスの原材料に占める重量の割合の多い順に、その原産国を表記すること。また、産地の地域が特定できる場合は、それを表記してもよい。
- ・使用プロポリスの由来植物名。
製品に使用しているプロポリスの原材料に占める重量の割合の多い順に、その由来植物名を表記してもよい。

- ・ 製品に含まれるプロポリスの抽出方法名を表記。
抽出方法名については、「エタノール(アルコール)抽出」、「水抽出」、「超臨界抽出」から選んで表示すること。また、複数の抽出方法のプロポリスを使用している場合は、製品に使用している各抽出方法のプロポリスの原材料に占める重量の割合の多い順に、その抽出方法名を表記すること。
- ・ 召し上がり方
- ・ 注意
- ・ 規格成分及び含有量
- ・ (栄養成分及び含有量)
- ・ (包装容器及び資材の表示)
- ・ (廃棄方法の表示(使用資材の分別表示))

6. 試験方法一覧

(1) 確認試験項目

試験項目	試験方法
確認試験 ①規格成分含有量 ②p-クマル酸 ③吸収スペクトル	別記(1)チンキ(エキス)製品の固形分量測定法、又は別記(2)規格成分含有量の確認法 別記(3)p-クマル酸の確認試験法 別記(4)UV吸収スペクトルの確認試験法
エタノール含有量試験	日本薬局方一般試験法(アルコール数測定法)により測定し、パーセント(v/v%)で表示する。

(2) 自主検査項目

試験項目	試験方法
残留農薬	平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知(告示法)
抗生物質	平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知(告示法)
ヒ素	食品衛生検査指針 理化学編
重金属	食品添加物公定書 一般試験法 重金属試験法
一般細菌数	食品衛生検査指針 微生物編
大腸菌群	食品衛生検査指針 微生物編
カビ・酵母	食品衛生検査指針 微生物編

略語：

エタノール抽出(EEP)： Ethanol Extract Propolis

水抽出(WEP)： Water Extract Propolis

超臨界抽出(SCEP)： Super Critical Extract Propolis

別記(1)

チンキ(エキス)製品の固形分量測定法 *

試料を20ml、 -10°C 以下で24時間冷却後、No.5アドバンティック社の濾紙C(1ミクロン)、又は同等品を使用し冷時濾過する。(濾過性が悪い場合等は、冷凍後直ちに吸引濾過する。) 濾液を常温に戻し、約2gを精秤し、 105°C で2時間乾燥、30分間放冷後、残った乾燥物を計量し、パーセント(w/w%)で表示する。尚、水抽出の場合は、 10°C 以下の低温で24時間冷却後、アドバンティック社の濾紙No.2、又は同等品を使用し同様の操作を行う。また下記の確認試験により表示値以上であることを判定する。

*グリセリンや副資材が多く含まれるチンキ製品は、別記(2)に従う。

別記(2)

規格成分含有量の確認試験法

試験溶液の高速液体クロマトグラム(HPLC)から保持時間30分までの(水抽出プロポリスエキスを用了場合は保持時間45分まで)の全ピークの面積合計量を求める。次に、p-クマル酸標準溶液のピーク面積をもとめ、標準面積とする。全ピークの合計面積をp-クマル酸に相当する量によるものとみなし、その相当量を算出する。このp-クマル酸相当量から換算係数を用いプロポリス可溶性成分量を算出する。最後にこのプロポリス可溶性成分量が表示値以上であることを判定する。

1. 試薬

- a) メタノール: 特級品又は高速液体クロマトグラフ用を用いる。
- b) p-クマル酸: 純度98%以上の試薬特級品を用いる。
- c) 酢酸: 特級品を用いる。

2. 器具・装置

- a) 高速液体クロマトグラフ装置:HPLCポンプにUV検出器及びデータ処理機をそれぞれ装着したもの。
- b) 振とう器
- c) 遠心分離機

3. 試験方法

3-1 p-クマル酸相当量の定量法

① 試験溶液の調製

粒状、錠型等の製品はあらかじめ試料を十分粉碎して使用する。また、ゼラチン等で被包した製品は内容物を取り出して試料とする。

a) 加工食品(プロポリス由来固形分含有量が10%以上)の場合

試料0.1~0.5g(ml)(プロポリス又はプロポリスエキスの固形分として約50mgに相当する量、加工食品の表示量が20%の場合試料秤取量は $0.05(\text{g}) \div 0.2 = 0.25(\text{g})$ になる)を精密に量り、メタノール15mlを加えて、10分間振とう溶解後、遠心分離(3000rpm、10min)を行う。上澄液を取り出し、残りをメタノール10mlで3回同様に操作し、全抽出液を合せ、メタノールを用いて全量を50mlとし試験溶液とする。

なお、原材料として水抽出プロポリスエキスを用了加工食品の場合には、メタノールの代わりに移動相(水、メタノール、酢酸=70:30:1)を用いる。

b) 含有食品(プロポリス由来固形分含有量が10%未満)の場合

試料 0.5~10g(ml)(プロポリス又はプロポリスエキスの固形分として約 50mg に相当する量)を精密に量り、メタノール 15ml を加えて、以下プロポリス加工食品と同様の操作を繰り返し、試験溶液を調製する。

なお、原材料として水抽出プロポリスエキスを用いた含有食品の場合には、メタノールの代わりに移動相(水、メタノール、酢酸=70:30:1)を用いる。

② 標準溶液の調製

p-クマル酸約 50mg を精密に量り、メタノールに溶かして 50ml とし、さらにこれをメタノールで 100 μ g/ml となるように希釈して標準溶液とする。

③ 測定

試験溶液及び標準溶液 10 μ l につき、以下に示した条件で液体クロマトグラフ法により測定を行う。

試験溶液のクロマトグラムから全ピーク面積の合計を求め、標準溶液の p-クマル酸ピーク面積から次式により試料溶液の p-クマル酸相当量(a)を算出する。

$$\text{p-クマル酸相当量(a) } (\mu\text{g/ml}) = (\text{At/As}) \times c$$

ここで、At: 試験溶液の全ピーク面積の合計

As: 標準溶液の p-クマル酸のピーク面積

c: 標準溶液の p-クマル酸濃度 (μ g/ml)

(操作条件)

カラム: Shim-pack CLC-ODS 6mm ϕ \times 150mm(島津製作所)又は同等品

移動相: メタノール: 水: 酢酸 = 70 : 30 : 1

(ただし水抽出プロポリスエキスの場合は

水: メタノール: 酢酸 = 70:30:1 を用いる)

流量: 1.2ml/min

カラム温度: 50 $^{\circ}$ C

検出器: 紫外部吸光検出器(測定波長 275nm)

測定範囲: 保持時間 30 分までの全ピーク。

(ただし水抽出プロポリスエキスの場合は保持時間 45 分までの全ピーク)

3-2 プロポリス原塊のタイプ確認

プロポリス(原塊)がタイプ I (ブラジル産、バッカリス系)に属するか、あるいはタイプ II (ブラジル以外の産地、ポプラ系)に属するかのプロポリス原塊のタイプ確認を行う。産地が既知の場合、このタイプ確認は不必要である。また、別記(4)による UV 吸収スペクトルを測定した場合、最大吸収波長が 300nm 前後で平坦になるスペクトルを示すものはタイプ I、292nm 付近に山があり、両側に肩があるスペクトルを示すものはタイプ II である。

プロポリス可溶性成分量の算出及び判定基準

①p-クマル酸相当量から下記の換算係数 A を用い、プロポリス可溶性成分量を求める。

表 換算係数 A

用いた「プロポリス原塊」の分類		換算係数 A		
原塊のタイプ		プロポリス加工食品、またはプロポリス含有食品	プロポリスエキス加工食品又はプロポリスエキス含有食品	
			エタノール抽出エキスの場合	水抽出エキスの場合
タイプ I.	バッカリス系	9.4	15	8.2
タイプ II.	ポプラ系	21	29	10

- 換算係数 A とは、プロポリス可溶性成分 100g 中に含まれる p-クマル酸相当量(g) である。
- 前記の換算係数 A は沢山の実測値から平均値、及び標準偏差をもとめ、次にその平均値から標準偏差を差し引いた値を換算係数 A とした。

計算式

$$\text{プロポリス可溶性成分量 (w/w\% 又は w/v\%)} = \frac{\text{p-クマル酸相当量 } a (\mu\text{g/ml}) \times 50\text{ml}}{\text{試料量 (g 又は ml)} \times 10^6 (\mu\text{g/g})} \times \frac{100}{A} \times 100(\%)$$

②規格成分量の判定基準

下記の計算式による判定係数が 1.0 以上でなければならない。

$$\text{判定係数} = \text{プロポリス可溶性成分量 (w/w\% 又は w/v\%)} \div \text{表示量 (\%)}$$

別記(3)

p-クマル酸の確認試験法

別記(2) に従って操作するとき、試験溶液のクロマトグラム上に標準溶液の p-クマル酸と同一保持時間のピークを有する。

別記(4)

吸収スペクトルの確認試験法

別記(2) に従って抽出した試験溶液を適宜、エタノールを加え希釈し、ABS を 0-2 の範囲で、波長を 400nm から 230nm までスキャンしたとき、吸光度を測定し、295±20nm に極大吸収を持つ。

別記(5)

合成樹脂容器の溶出試験法

エタノールを含む液状製品にあつては、合成樹脂容器を使用する場合、溶出試験として次の蒸発残留物試験および過マンガン酸カリウム消費量試験を行う。

1) 蒸発残留物試験

浸出液(70%エタノール)を容器に満たし、1ヶ月間室温にて放置する。この溶液 300ml を減圧下で 50ml まで濃縮し、これを白金皿に移し蒸発乾固させる。蒸発残留物は 30ppm 以下であること。

2) 過マンガン酸カリウム消費量試験

上記1)で蒸発乾固したものに蒸留水 100ml を入れ、以下食品衛生法の食品、食品添加物、等の規格基準、第三、Bの容器及び容器包装 一般試験法 1、過マンガン酸カリウム消費量試験法により試験する。その消費量は 10ppm 以下であること。