

搾母乳の解凍方法による免疫・栄養学的検討

細坂 泰子¹ 抜田 博子¹ 伊藤 文之¹
石井 裕子² 大西 明弘³ 磯西 成治⁴

¹ 東京慈恵会医科大学医学部看護学科

² 東京慈恵会医科大学附属第三病院中央検査部

³ 東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座

⁴ 東京慈恵会医科大学産婦人科学講座

(受付 平成 24 年 2 月 6 日)

EFFECTS OF DIFFERENT THAWING METHODS ON THE IMMUNE AND NUTRITIONAL CONTENTS OF EXPRESSED BREAST MILK

Yasuko HOSOSAKA¹, Hiroko NUKITA¹, Fumiyuki ITO¹

Yasuko ISHII², Akihiro ONISHI³, Seiji ISONISHI⁴

¹*The Jikei University School of Nursing*

²*Division of Central Laboratory, The Jikei University Daisan Hospital*

³*Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine*

⁴*Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University School of Medicine*

The present study aimed to investigate, through measurement of immunological and nutritional contents, of differences in various methods of thawing frozen breast milk expressed from puerperal women approximately 1 month postpartum. The specimens examined were those of expressed milk (n = 20) obtained from 20 women 3 to 5 weeks postpartum who attended an outpatient breastfeeding clinic at The Jikei University Daisan Hospital in Tokyo from November 2010 through January 2011 and of 2 brands of milk formula (n = 2). Levels of the immunological markers immunoglobulin A (IgA) and lipase and levels of the nutritional markers glucose, total protein, total fat, and total cholesterol were compared among fresh specimens immediately following expression and specimens frozen for 1 month and thawed under running water at room temperature, in a microwave oven at 500 W, or in hot water (70 °C) (n = 1 per group). The study was approved by the ethics committee of our university and by the clinical review board of the hospital. Analysis was performed with the software package SPSS 16.0J, and statistical comparison was performed with Wilcoxon's signed-rank test. Most of the women who provided expressed milk specimens were primiparous (n = 14), with a mean age of 32.8 years and a mean gestational period of 39 weeks; the mean time between parturition and specimen sampling was 22.7 days. Levels of IgA after hot-water thawing were significantly increased (p < 0.01). However, lipase levels after microwave-oven thawing or hot-water thawing were significantly decreased, to levels approximately 1% of those in fresh specimens immediately after expression (p < 0.01), and suggest that lipases are heat sensitive. Glucose levels were not affected by the thawing method, whereas total protein levels after microwave-oven thawing or hot-water thawing were higher significantly than those in fresh specimens (p = 0.01). Levels of total fat and cholesterol were significantly decreased after microwave-oven or hot-water thawing (p < 0.01) and indicate that the decrease in fat levels depends on the application of heat during thawing. In contrast, no decrease in immunological or nutritional markers was observed for either milk formula specimen regardless of the thawing method. Although water and lukewarm water are already recommended for thawing expressed breast milk, incorrect thawing methods might be used in homes where convenience is prioritized. Puerperal women should be informed of the risk of both immunological and nutritional damage to frozen expressed breast milk depending on the thawing method.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2012;127:105-12)

Key words: human milk, thawing process, freezing, immunology, nutrition

I. 緒 言

母乳栄養が、栄養学的・免疫学的さらには母児間の愛着形成に対しても優れていることは既知である。母乳は各種栄養素を始め、さまざまな感染防御成分や免疫学的成分を保有し、栄養分解能や抗体産生能の低い新生児にとって最良の食品となっている^{1) -3)}が、保存方法や解凍方法によって、それらが失われる^{4) -7)}ことも指摘されている。

母乳は、細菌やウイルスなどと特異的に結合し、病原体による感染を防ぐ、IgA, IgE, IgGの各種免疫グロブリン、抗微生物活性、ピフィズス菌増殖作用、細胞増殖調整作用、免疫調整作用などを有するラクトフェリン、ラクトパーオキシダーゼやリゾチーム、オリゴ糖、リパーゼなどを有して⁸⁾いる。中でも、IgAは母乳中における免疫グロブリンのおよそ80%を占め、プロテアーゼやpHの変化に安定な分泌型IgAとして存在し¹⁾、母乳を介して、細菌、ウイルス、寄生虫、菌類、さらには食品抗原など広範囲にわたって特異性^{9) 10)}を示している。

母乳は栄養学的にも、乳児の健やかな成長や発達に必要なほとんどすべての成分が含まれており、主要栄養素である糖質、蛋白質、脂質についても、乳児の成長に見合った組成がされている。糖質の機能としては、エネルギー源として利用されることがよく知られているが、その他に、オリゴ糖では腸内細菌の増殖や接触を促し、病原体からの感染を防ぐ働き¹¹⁾、乳児の消化管内における水溶性食物繊維様の働き¹²⁾、各種病原体と結合し、その活性を失わせる¹³⁾感染防御作用が示され、母乳中の糖質の重要性が明らかになってきている。

主要栄養素である蛋白質は、体蛋白質やさまざまな生理活性物質の材料として利用され、新生児にとってもっとも重要な栄養素となっている。母乳の成分分析結果では、蛋白質濃度は初乳で高く、最初の1ヵ月間で2/3程度まで減少し、分泌の時期によってその濃度は異なる²⁾ことが明らかになっている。近年では、ホエイ蛋白質の一種で、母乳中蛋白の20%を占める α ラクトアルブミンが消化、栄養価が高く、さらにアポトーシス促進作用を占めることから、細胞のターンオーバー促

進や抗菌作用、感染制御作用等を保有する¹⁴⁾ことが明らかになってきている。

主要栄養素の一つである脂質は新生児に必要なエネルギーの約50%を供給する重要な栄養素である。脂質はエネルギー源としてだけでなく、必須脂肪酸や脂溶性ビタミンなど、成長に欠かすことのできない成分の供給源にもなっている。母乳中の脂質含量は①授乳時期、②前乳と後乳、③授乳のタイミングといった因子の影響をうけて、大きく変動することが知られている^{15) 16)}。初乳に比べ、成乳では脂質含量が増加し、前乳より後乳のほうが脂質含量は増加する²⁾。また母乳中の脂質含量は母親の食後に増加し、約8時間で最大となる¹⁷⁾。

このように、母乳は免疫と栄養の面で新生児にとってもっとも優れた食物である。しかし、褥婦の中にはそれらのメリットは十分に理解していても、陥没乳頭や扁平乳頭など乳頭の形状によって直接授乳が不可能な褥婦も存在する。また日本において近年増加し続けている、低出生体重児や早期産などのさまざまな原因によって母児が接触できない、また職場復帰後などで直接授乳が不可能などの状況も多く、搾乳は母乳のメリットを生かすための、さまざまな場面で行なわれる母親による授乳行為の一部となっている。それらのほとんどは、母親によって搾乳されたのち、一旦冷凍され、再度解凍された後に新生児に与えられる。母乳の免疫・栄養学的な研究報告はあるものの、搾乳直後などさまざまな条件が考慮されずに結果を出しており、また母親の諸事情に沿った方法での検討がなされていない。そのためになお多くの産科病棟では、搾乳の免疫・栄養学的安全性について一定の見解がなされておらず、各施設にその保存法や解凍法をゆだねているのが現状である。

一方、電子レンジや温乳器(62.5℃ 30分)での解凍を行なうと母乳のIgA濃度が有意に低下するという報告^{18) -20)}があるものの、その温度や電子レンジの解凍方法などの詳細な検討はされていない。

本研究では産後1ヵ月前後の褥婦から得られた搾母乳が、搾乳直後と比べて、冷凍で1ヵ月保存された後、流水解凍、電子レンジ解凍、湯温解凍の解凍方法の違いによって、IgA活性、リパーゼ、

グルコース，総蛋白質，総脂質，総コレステロールの免疫・栄養成分がどのように変化するかについて検討した。

II. 対象と方法

1. 対象

対象は2010年11月11日から2011年1月20日に，東京慈恵会医科大学附属第三病院の母乳外来に来院した褥婦20名から得られた搾母乳20検体と，対象施設の新生児室で使用されている2種類の人工乳2検体とした。検体提供者である褥婦には，母乳外来開始の前に研究について，助産師である研究者が説明を行なった。そのうえで書面を用いて，同意を得られた褥婦のみを対象として助産師である研究者がすべての検体を採取した。

本研究における搾母乳の提供褥婦は，産褥日数によって母乳成分に変化が生じる²⁾ため産後2週から5週までの成人褥婦を対象とした。また早期産で出産した褥婦から得られる母乳は蛋白質や脂質，エネルギー，ナトリウムが高く，乳糖は低いこと^{21) -24)}が知られていることから，正産産（妊娠37週以降42週未満）で出産された褥婦のみを対象とした。除外対象としては，母乳外来受診時に乳腺炎を起こしている褥婦（発熱38.5℃以上もしくは乳腺炎箇所から肉眼上，明らかに膿が混在しているもの），乳腺炎を起こしていても発熱（38.5℃以上）のある褥婦，または発熱がなくても，血液所見に異常が出ると考えられる感染症を起こしている褥婦は，一般化できない恐れが

あるために，対象から削除した。

2. 検体採取方法

助産師免許を持つ研究者が，同意を得られた褥婦に対して母乳を搾乳し，採取した。搾乳は，研究者が流水および石鹸で手洗いを行った後，滅菌手袋を着用し，さらに検体提供褥婦の乳頭乳輪部を，消毒薬等の入っていない市販の清浄綿（クリーナーDベビー用（株）スズラン）で清拭した後手指により，滅菌スピッツ10 mL分を2本採取し，検体とした。検体は研究者が速やかに，冷凍保冷剤入りの保冷バッグに入れて適切に保存したのち，検体分析施設へ送付した。比較対象とする人工乳は，市販の2社のものとした。人工乳は哺乳瓶用の除菌剤（ミルクボンS（株）ピジョン）で消毒した哺乳瓶に，一度沸騰した70℃以上のお湯を使用して，100 ml調乳したものを検体とした。

3. 検体分析方法

採取した検体は，免疫学的・栄養学的検討のために，4つのスピッツに分けられた。Fig. 1に従い，Test1の検体は，検体採取直後に分析が行なわれた。残りの検体は-20℃での家庭用冷凍庫にて，スピッツのままおよそ1ヵ月保存された後，Test2流水解凍，Test3電子レンジ（600 W 解凍するまで攪拌しながら；およそ30秒）解凍，Test4湯温（70℃；およそ30秒）解凍の3条件に分けて分析を行った。Test4における湯温は，人工乳を作成する際の湯温が70℃以上と設定されており，日本において人工乳作成用の70℃を保温できるポットが普及していることから設定した。

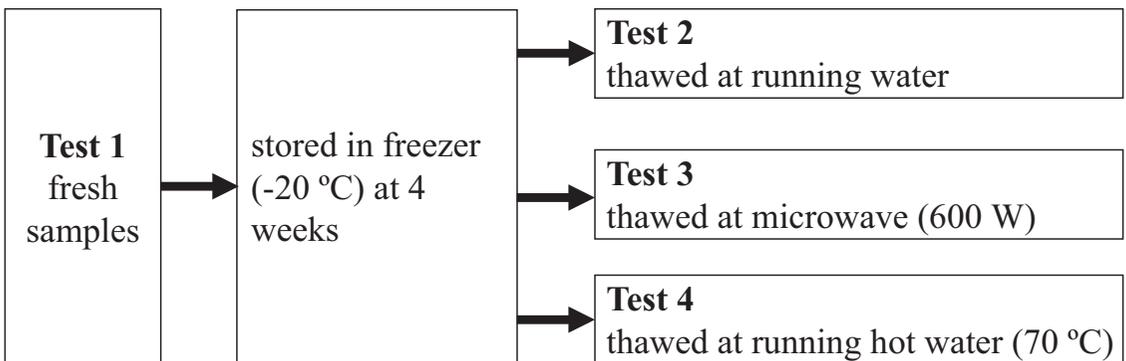


Fig 1. Macronutrient and immune component endpoint measured in this study in human and formula milk samples

免疫学的な指標は、母乳中に含まれる感染防御・免疫学的成分の中でもっとも重要な免疫グロブリンであり、母乳中のおよそ80%を占めるIgAを用いた。IgAはとくに分泌型IgAとして、母親が生活している環境から受けるさまざまな微生物などの抗原刺激に応答した抗体として、新生児に的確に伝えられることから免疫学的指標として最適であると考えられた。IgAの分析は、抗ヒトIgA血清を混合させ、それらの結合物を測定する、免疫比濁法（TIA）で測定した。リパーゼはおもに脂質を加水分解する酵素で、母乳に含まれる胆汁酸刺激リパーゼでは胃酸で作用せず小腸で作用する、母乳の栄養吸収に特徴的な酵素であるとともに、細菌、真菌、エンベロップウイルス、原虫に対して免疫成分を保有することから今回の分析対象とした。リパーゼの分析は、リパーゼによる酵素反応と2回の加水分解を行った後に得られた赤色の吸光度変化を測定する、酵素法を用いて分析した。また栄養学的な指標として、三大主要栄養素の糖、蛋白質、脂質を分析の指標とし、それぞれ、グルコース、総蛋白質、総脂質および総コレステロールを用いて分析した。グルコースはヘキソナーゼUV法、総蛋白質はピロガロールレッド法、総脂質はスルホホスホバニリン法、総コレス

テロールはコレステロール脱水素酵素法（UV法）を使用して、それぞれの吸光度を測定することで分析値とした。すべての分析は株式会社エスアールエルに依頼した。

収集したデータはSPSS for Windows 16.0Jを使用し、正規性の検定を行ったうえで、Wilcoxonの符号付順位検定を用いて統計学的比較検定を行った。有意水準は1%未満とした。

4. 倫理的配慮

本研究は、ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針を遵守し、研究の概要、個人情報の保護、個人の自由意思の尊重につとめることを、研究者が対象者に書面と口頭で説明し、同意書を得た。また本研究は、東京慈恵会医科大学倫理委員会、および慈恵大学附属病院の臨床研究審査の承認（受付番号6233）を受けて実施された。検体の採取は助産師免許を持つ研究者が、痛みのないよう、また最小限の時間で行った。検体提供褥婦が、搾乳時に痛みなどの訴えがあった場合、もしくは搾乳量が充分でなく、新生児に飲ませる量が足りない（新生児の体重がおよそ1日当たり30g程度の増加が見られない等）、と判断される場合には、検体依頼は行なわないように配慮した。また検体とした搾母乳で使用したすべての培養物品（スワブ、シャーレ、保存スピッツ）は、高温高压滅菌機（121℃ 15分以上）によりすべての細菌を死滅させたあとに、医療廃棄物として処理した。臨床情報は連結不可能匿名化し、得られた情報は責任を持って管理を行った。なお、本研究に関する利益相反はない。

Table 1. Number of participants by age of mother, birth history, gestational week, recruited day after birth, and method of feeding

	n=20
Maternal age	
mean (SD)	32.8 ± 4.5
min, max	20, 40
Birth history	
primipara	14
multipara	6
Gestational week	
mean (SD)	39 ± 1.4
min, max	37, 41
Recruited day after birth	
mean (SD)	22.7 ± 6.8
min, max	15, 35
Method of feeding	
breastfeeding only	13
mixed feeding	7
bottle feeding only	0

III. 結 果

1. 検体提供者の属性

本研究において、搾母乳を提供した褥婦は20名で、初産婦が14名、経産婦が6名で初産婦のほうが多く、平均年齢32.8歳、平均出産週数は39週、分娩から検体採取までの平均日数は22.7日であった（Table 1）。

2. 解凍方法の違いによる免疫学的検討

免疫学的指標であるIgAでは、採取直後のIgA中央値（26.8 mg/dL）に比べ流水および電子レンジ解凍ではいずれも23.0 mg/dL、24.2 mg/dLと、

IgA濃度が低下していたが、有意な違いは見られなかった。一方で、湯温解凍では中央値が31.9 mg/dLと採取直後よりも有意に高くなっていた ($p < 0.01$)。リパーゼでは、採取直後のリパーゼ活性中央値 (2050 U/L) に比べて流水解凍 (1647 U/L)、電子レンジ解凍 (34 U/L)、湯温解凍 (14 U/L) のすべてで減少しており、電子レンジおよび湯温解凍では有意に値が減少していた ($p < 0.01$) (Table 2)。

一方で、人工乳2検体のIgAは解凍方法による増加・減少は認められなかった。

3. 解凍方法の違いによる栄養学的検討

本研究では、栄養学的検討を三大栄養素である、糖、蛋白、脂質としてとらえ、それぞれ、グルコース、総蛋白、総脂質、総コレステロールの4指標にて分析を行なった。グルコースでは、採取直後と各解凍方法後の値に差異は見られなかった。総蛋白では、解凍直後の中央値が752 mg/dLであったのに対し、電子レンジ解凍では908 mg/dL、湯温解凍では865 mg/dLと採取直後より有意に増加していることが示された。また総脂質では採取直後に2269 mg/dLであったのに対して、湯温解凍

では1794 mg/dLと有意に値が減少したこと ($p < 0.01$)、総コレステロールでは採取直後21.5 mg/dLであったのに対し、電子レンジ解凍で13.0 mg/dL、湯温解凍では10.0 mg/dLと、有意に値が減少すること ($p < 0.01$) が示され、解凍方法によって、脂質が減少することが示された (Table 3)。

人工乳では解凍方法による値の減少は認められなかった。

IV. 考 察

1. 免疫学的検討

母乳の免疫学的検討の先行研究では、 -20°C の冷凍保存12ヵ月で、免疫物質の保有率に変化はなかったが、低温殺菌ではIgAはほぼ変わらず、リパーゼは減少、煮沸でIgA減少、リパーゼは非常に減少⁶⁾したとの結果や 62.5°C の湯温解凍および電子レンジ解凍で有意 ($p < 0.01$) にIgA値が減少した¹⁸⁾との結果が出ており、加熱によってIgAやリパーゼが減少することが示されている。

本研究結果ではIgAは、解凍方法によって、有意に減少したものはなく、湯温解凍では有意に

Table 2. Immune component of Human milk. *($p < .05$), **($p < .01$).

Thaw process	IgA (mg/dL)			Lipase (U/L)		
	Median	SD	P	Median	SD	P
Freshly collected	26.8	12.7	-	2050	1079	-
Thawed under running water	23.0	13.5	.052	1647	543	.744
Microwave thawed (600 W)	24.2	7.9	.126	34	28	.000**
Thawed in hot water (70 °C)	31.9	10.5	.007**	14	7	.000**

Table 3. Nutrient component of Human milk. *($p < .05$), **($p < .01$).

Thaw process	Glucose (mg/dL)			Total Protein (mg/dL)			Total Lipid (mg/dL)			Total Cholesterol (mg/dL)		
	Median	SD	P	Median	SD	P	Median	SD	P	Median	SD	P
Freshly collected	36.0	15.8	-	752	260	-	2269	1229	-	21.5	8.3	-
Thawed under running water	34.5	8.7	.547	826	230	.306	2255	1462	.758	19.0	8.2	.598
Microwave thawed (600W)	37.5	9.9	.904	908	281	.004**	2077	952	.113	13.0	10.5	.010*
Thawed in hot water (70°C)	34.5	9.1	.640	865	262	.010*	1794	614	.002**	10.0	6.5	.000**

IgAの値が上昇した。先行研究では、IgAが加熱によって有意に減少するとの報告が多い中で、今回の結果の理由については、はっきりしていないが、先行研究で、母乳を短時間加熱した場合に、グラム陽性菌の細胞壁を分解する酵素であるリゾチームが有意に上昇した²³⁾との報告や、湯温および電子レンジの60℃の加熱による免疫グロブリン活性に影響はないが、77℃の加熱では活性はほぼ消失する²⁰⁾といった結果、72℃5～15秒の加熱ではIgA活性に影響がなかった²³⁾との報告がある。本研究では電子レンジでの解凍はおおよそ30秒と、冷凍した搾母乳が解凍するまでの時間のみの加熱時間で、かつスピッツを攪拌しつつ、温度が均一になるように解凍したこと、湯温解凍では湯煎で解凍するまでスピッツを攪拌し、全体に解凍が終了した時点で湯温から取り出したことなど、加熱後の母乳温度が60℃以上にならなかったことや、高温での加熱時間が短時間であったことから、IgAが消失せず、上昇した可能性が考えられた。

一方で、リパーゼは電子レンジ、湯温解凍では、採取直後におおよそ100分の1程度まで減少しており、熱を加えることで容易に壊れることが示唆された。リパーゼは母乳に特有の酵素であるとともに、新生児のエネルギー供給源として重要な脂質を分解する酵素でもある。加熱によってこの貴重な酵素を減少させることのないよう、適切な解凍方法の周知徹底が求められる。

2. 栄養学的検討

母乳の冷凍保存による栄養学的な変化として、主要三大栄養素では蛋白質で10%程度の減少はあるものの、冷凍保存後の適切な解凍であれば栄養素の減少はない^{4) 24)}との知見が得られている。本研究ではおもに主要三大栄養素について検討を行った。糖を代表する、グルコースでは、解凍方法による値の減少はなく、解凍による影響はなかった。総蛋白質では、電子レンジおよび湯温による解凍で、有意に採取直後より蛋白質が増加していることが示された。総蛋白質の増加については同じ結果を検出した論文はなかったが、短時間の加温により、母乳中のビタミンCが有意に増加したという報告²³⁾や、冷蔵庫解凍、電子レンジ解凍にくらべて湯温解凍がもっともビタミンCの

保有率が高かったという報告²⁵⁾もある。解凍による影響がビタミンと蛋白質で同じと考えられるのであれば、本研究での解凍時間であるおおよそ30秒では、母乳解凍後の加熱が蛋白質を破壊するまでの加熱ではなく、むしろ上昇に転じたと考えられた。

脂質を分析した結果では、総脂質では湯温解凍で、総コレステロールでは電子レンジおよび湯温解凍で有意に値が減少しており、解凍方法によって脂質が減少することが示された。総コレステロールでは、流水以外の解凍方法で、成分が減少し、とくに湯温解凍は減少率が高かった。トリグリセリドを指標とし、-18℃で28日間冷凍保存後に90Wの電子レンジで15～30秒(35～40℃になるまで)の加熱を行った先行研究では²⁶⁾トリグリセリドに変化はなかった。本研究では総コレステロールが電子レンジおよび湯温解凍で、有意に減少したことから、冷凍保存後、解凍方法の違いによって、母乳が40℃以上の加熱を受けた場合に、脂質の損傷が激しいことが示唆された。母乳中の脂質は、乳児に必要なエネルギーの約50%を供給する重要な栄養源であり、必須脂肪酸や脂溶性ビタミンなど、成長に欠かすことのできない成分の供給源となっていることから、これらの減少についての知識を広く普及していく必要性が高いと考えられた。

今回、母乳のメリットを生かすため、母乳の冷凍保存後の免疫学的・栄養学的検討を行った。これらの結果から、母乳の解凍は40℃未満の加温が適切であり、湯煎の場合であっても人肌程度のぬるま湯が、免疫学的にも栄養学的にも損なわない解凍方法であると考えられる。哺乳瓶の消毒に、電子レンジを使用する家庭は10年前の調査で46.7%²⁷⁾となっており、現在はさらに高くなっていると考えられる。利便性から電子レンジを使用することや、早く新生児に母乳を与えたい一心で、高い温度での解凍を行う母親も散見されるが、それではリパーゼなどの酵素や栄養素が損なわれる可能性が非常に高い。電子レンジ解凍は、本研究のように母乳を均一に解凍できるよう、攪拌を行いながらの短時間の加熱では、影響のない栄養素もあったが、ある程度の量を温める場合、哺乳瓶の中の上部と下部の母乳の温度が15℃以上異

なることも多く、一部が過剰に温められる場合があり、栄養素が壊れやすい。哺乳瓶を触った感覚では適温と思われても、中の母乳がそれ以上に熱していることも多く、欧米ではやけどの報告¹⁹⁾もあり、注意が必要である。

母乳は冷凍保存で分泌型IgA、ラクトフェリン、オリゴ糖、リパーゼ、蛋白分解酵素などは変化しないが、適切な解凍方法であってもビタミンやマクロファージ、好中球、リンパ球など減少する^{4) 6) 7)}成分もある。そのため、搾母乳の冷凍保存期間は低出生体重児には3ヵ月まで、成熟児には6ヵ月までが適当である²⁸⁾とされている。今回の研究では保存期間を1ヵ月と設定したが、今後は保存期間の延長、および解凍方法の詳細な設定などを行っていく必要があると考えられた。

V. 結 語

搾母乳を、家庭用冷凍庫において、1ヵ月冷凍しても、流水解凍であれば、免疫学的・栄養学的な損傷はなかった。搾母乳の冷凍保存後の解凍方法は、水やぬるま湯が推奨されているものの、先行研究では、母乳を電子レンジで解凍する割合も6.2%存在し¹⁹⁾、免疫学的・栄養学的な観点よりも利便性を重視した、誤った解凍方法を選択する場合もあると考えられる。解凍方法によっては、免疫学的のみならず、栄養学的にも損なうことがあることを、搾母乳の冷凍保存を行う可能性のあるすべての褥婦に周知していく必要があると考えられた。

文 献

- Hanson LA. Session 1: Feeding and infant development breast-feeding and immune function. *Proc Nutr Soc* 2007; 66: 384-96.
- Yamawaki N, Yamada M, Kan-no T, Kojima T, Kaneko T, Yonekubo A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *J Trace Elem Med Biol* 2005; 19: 171-81.
- Lonnerdal B. Regulation of mineral and trace elements in human milk: exogenous and endogenous factors. *Nutr Rev* 2000; 58: 223-9.
- Academy of Breastfeeding Medicine Protocol Committee, Eglash A. ABM clinical protocol #8: human milk storage information for home use for full-term infants. *Breastfeed Med* 2010; 5: 127-30.
- Eteng MU, Ebong PE, Eyong EU, Ettarh RR. Storage beyond three hours at ambient temperature alters the biochemical and nutritional qualities of breast milk. *Afr J Reprod Health* 2001; 5: 130-4.
- Lawrence RA. Storage of human milk and the influence of procedures on immunological components of human milk. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88(430):14-8.
- Hanna N, Ahmed K, Anwar M, Petrova A, Hiatt M, Hegyi T. Effect of storage on breast milk antioxidant activity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89: F518-20.
- Hosea Blewett HJ, Cicalo MC, Holland CD, Field CJ. The immunological components of human milk. *Adv Food Nutr Res* 2008; 54: 45-80.
- 山内恒治. 母乳成分の科学 感染防御・免疫学的成分. *周産期医学* 2008; 38: 1231-4.
- 山城雄一郎. 母乳は免疫機能面でどのように有用か. *栄養-評価と治療* 2008; 25: 32-7.
- 辨野義己, 坂田慎治, 中埜拓. 乳児の腸内常在菌はいかに形成されるのか. *小児内科* 2007; 39: 1186-90.
- Espinosa RM, Tamez M, Prieto P. Efforts to emulate human milk oligosaccharides. *Br J Nutr* 2007; 98 Suppl 1: S74-9.
- Kunz C, Rudloff S, Baier W, Klein N, Strobel S. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Annu Rev Nutr* 2000; 20: 699-722.
- Lonnerdal B, Lien EL. Nutritional and physiologic significance of alpha-lactalbumin in infants. *Nutr Rev* 2003; 61: 295-305.
- 北村洋平, 清水隆司. 母乳成分の科学 脂質. *周産期医学* 2008; 38:1217-23.
- Innis SM. Human milk: maternal dietary lipids and infant development. *Proc Nutr Soc* 2007; 66: 397-404.
- Francois CA, Connor SL, Wander RC, Connor WE. Acute effects of dietary fatty acids on the fatty acids of human milk. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 301-8.
- Sigman M, Burke KI, Swarner OW, Shavlik GW. Effects of microwaving human milk: changes in IgA content and bacterial count. *J Am Diet Assoc* 1989; 89: 690-2.
- Nemethy M, Clore ER. Microwave heating of infant formula and breast milk. *J Pediatr Health Care* 1990; 4: 131-5.
- Ovesen L, Jakobsen J, Leth T, Reinholdt J. The effect of microwave heating on vitamins B1 and E, and linoleic and linolenic acids, and immunoglobulins in human milk. *Int J Food Sci Nutr* 1996; 47: 427-36.
- Atkinson SA, Anderson GH, Bryan MH. Human milk: comparison of the nitrogen composition in milk from

- mothers of premature and full-term infants. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 811-5.
- 22) Anderson GH. The effect of prematurity on milk composition and its physiological basis. *Fed Proc* 1984; 43: 2438-42.
- 23) Goldblum RM, Dill CW, Albrecht TB, Alford ES, Garza C, Goldman AS. Rapid high-temperature treatment of human milk. *J Pediatr* 1984; 104: 380-5.
- 24) Ezz El Din ZM, Abd El Ghaffar S, El Gabry EK, Fahmi WA, Bedair RF. Is stored expressed breast milk an alternative for working Egyptian mothers? *East Mediterr Health J* 2004; 10: 815-21.
- 25) 大浜登志子, 小玉祐子, 吉村未来, ほか. 母乳中ビタミンCの凍結温度, 日数および解凍方法による影響. *ペリネイタルケア* 1993; 12: 919-24.
- 26) Tacken KJ, Vogelsang A, van Lingen RA, Slootstra J, Dikkeschei BD, van Zoeren-Grobbe D. Loss of triglycerides and carotenoids in human milk after processing. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009; 94: F447-50.
- 27) 高瀬恵子, 吉留厚子. 家庭における哺乳瓶消毒の実態および哺乳瓶消毒方法と児の疾患との関連. *母性衛生* 2006; 47: 134-7.
- 28) 大山牧子, 古屋真弓. 保育所における搾母乳の取り扱い 神奈川県内市町村へのアンケート結果より. *小児保健研究* 2006; 65: 348-56.