

## 母乳の保存方法

### — 母乳の遊離脂肪酸および蛋白質への冷凍の影響 —

弘前大学教育学部看護学科

鈴木光子

#### I. 緒言

母乳中に免疫物質が発見されたことを契機に、母乳栄養が見直され推進されてきた。以来、ハイリスク児や勤労婦人の児に対して、たとえ一時的に保存しても母乳を与えることが望ましいとされている。しかし、母乳を一時的に保存するとすれば、当然、その保存方法が問題となる。母乳の保存方法で大切なことは、母乳をできるだけ授乳時と同じ状態に維持し、保存による質的变化を最小限にすることである。

ところが現在までに、母乳の保存に関して免疫学的および細菌学的面からの報告は多いが、児のビリルビン代謝に悪影響を与えるといわれる遊離脂肪酸についての研究は少ない。

母乳は、一般的には、冷凍することにより加水分解がおこり、遊離脂肪酸が増加するといわれている。そこで、母乳中のリパーゼの活性産物である遊離脂肪酸の量的変化と母乳栄養素として大切な乳清蛋白の分画像の変化を加熱処理の有無ならびに $-20^{\circ}\text{C}$ 、 $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍の両方から、より望ましい母乳の保存方法について検討した。

#### II. 研究方法

##### 1. 母乳採取の方法

- 1) 採取場所：弘前大学医学部付属病院・弘前市立病院・国立弘前病院および黒石厚生病院の産科婦人科外来。
- 2) 採取期間：昭和62年11月～同63年5月
- 3) 対象：①乳腺炎・乳頭亀裂がないこと②抗生物質の投与がないこと③児の発育が正常であること、これらの条件を満たしている1ヶ月検診来院時の褥婦40名。
- 4) 採取方法：採取容器は、洗剤と流水で洗浄後、

10分間煮沸消毒したガラス製哺乳瓶を用いた。搾乳は、手指と乳頭・乳輪を清浄綿（塩化ベンゼトニウム0.01%溶液）で清拭した後、褥婦自身に約10分間搾乳してもらい、約20ml採取した。

##### 2. 実験方法

1) 遊離脂肪酸の測定：遊離脂肪酸は、ワコー株式会社 NEFAC キッドを用い、以下のように測定した。①試験管に母乳を $10\mu\text{l}$ 分注②①に発色剤A液（ACS, AOD, COA, ATP, 4-アミノアンチピリン含有）を1ml混和し、 $37^{\circ}\text{C}$ で6分間加温③②に発色剤B液（ACOD, POD含有）を2ml混和し、 $37^{\circ}\text{C}$ で5分間加温④③を分光光度計で波長550nmでの吸光度を測定した。

2) 乳清蛋白の分画像：乳清蛋白の分画像は、セルロースアセテート膜電気泳動法の規定手順に従い実施した。また、乳清蛋白の分画は、次の4つに区分した。  
【a. アルブミン分画（アルブミンを主体とした）  
b.  $\alpha$ 分画（ $\alpha$ -ラクトアルブミンを主体とした）  
c.  $\alpha\beta$ 分画（カゼイン、ラクトフェリンを主体とした）  
d.  $\gamma$ 分画（IgGを主体とした）】

3) 加熱処理・解凍方法：搾乳した母乳は、約2mlずつ容器（Inter Med Nunc）に分注した。加熱処理は、 $60^{\circ}\text{C}$ の温湯で13分（その間2～3回振盪）行った。 $60^{\circ}\text{C}$ は一般に免疫物質を破壊しない温度とされている。また、リパーゼの失活化、 $60^{\circ}\text{C}$ に達するまでの時間を考慮し13分とした。その後、加熱処理をしたもの、しないもの、両者を $-20^{\circ}\text{C}$ 、 $-80^{\circ}\text{C}$ に保存した。

解凍日齢は、7日目と14日目とし、解凍方法は、加熱処理無の場合は水道水（ $7^{\circ}\text{C}$ ）で、加熱処理有の場合は $40^{\circ}\text{C}$ の温湯で解凍した。

### Ⅲ. 結果および考察

母乳は、栄養学的、免疫学的な面から高く評価され、母乳栄養率が年々増加してきた。しかし、いかに母乳がよいといっても、直接授乳をしない母乳栄養には種々問題がある。母乳中の遊離脂肪酸の増加は、肝機能や脂肪の消化・吸収機能が未熟な児にとって、ビリルビン排泄に悪影響をおよぼす。そこで、母乳中の遊離脂肪酸が日齢とともに、また、保存方法によりどのように変化するのかをみた。

採取当日の平均遊離脂肪酸は $4.3\text{mEq}/\ell$  (SD 2.4)であった。採取した母乳を加熱処理の有無・ $-20^\circ\text{C}$ 、 $-80^\circ\text{C}$ の保存別でみてみた。

まず、熱処理無 $-20^\circ\text{C}$ 保存の場合では、7日目の遊離脂肪酸は $5.0\text{mEq}/\ell$  (SD 2.9)であった。これを採取当日と比較してみると、有意差はなかった。また、14日目では $6.6\text{mEq}/\ell$  (SD 3.9)で採取当日との比較では、有意に $-20^\circ\text{C}$ 14日目の方が高かった。Bevan, 寺井らは、母乳の冷凍保存で日齢を経過するごとに遊離脂肪酸が増加し、その遊離脂肪酸が肝細胞におけるグルクロンサン抱合を阻害することを指摘している。また、熱処理無 $-80^\circ\text{C}$ においては、7日目の遊離脂肪酸は $4.0\text{mEq}/\ell$  (SD 1.9), 14日目 $4.1\text{mEq}/\ell$  (SD 2.3)で、いずれも採取当日と比較した場合、有意差はなかった。

次に、熱処理有についてみてみた。 $-20^\circ\text{C}$ 7日目の遊離脂肪酸は、 $2.6\text{mEq}/\ell$  (SD 1.8), 14日目では $2.9\text{mEq}/\ell$  (SD 2.1)で採取当日に比べ、いずれも有意に減少していた。 $-80^\circ\text{C}$ では、7日目の遊離脂肪酸は $2.9\text{mEq}/\ell$  (SD 1.6)で採取当日に比べ、有意に減少していた。(P<0.005)。14日目では、遊離脂肪酸は $3.4\text{mEq}/\ell$  (SD 2.4)で採取当日との比較では有意差がなかった。

以上、保存方法と加熱処理の有無から、遊離脂肪酸の変化をみてみた。その結果、熱処理有の方が $-20^\circ\text{C}$ 、 $-80^\circ\text{C}$ のいずれの場合でも採取当日と比較し、遊離脂肪酸が減少していた。斎藤は、加熱処理はリパーゼの失活化に影響を与えるとしている。本研究においても、冷凍保存前に $60^\circ\text{C}$ 13分の加熱処理をした。この加熱処理がリパーゼを失活化させ、遊離脂肪酸の減少につながったのではないかと考えられた。乳児特に新生児や未熟児は、肝機能や脂肪の消化・吸収機能が未熟である。したがって、このような児やハイリスクベビーに

は、遊離脂肪酸の少ない母乳を与えることが望ましい。

さて、母乳保存は、一般家庭では $4^\circ\text{C}$ 冷蔵庫または $-20^\circ\text{C}$ 冷凍庫で行われている。今回、長期間の母乳保存を考慮し、一般家庭でも保存可能な $-20^\circ\text{C}$ と成分変化の少ない $-80^\circ\text{C}$ を条件に実験を行った。その結果、加熱処理有 $-20^\circ\text{C}$ 、 $-80^\circ\text{C}$ の比較では、保存7日目、14日目いずれも有意差がなかった。したがって、遊離脂肪酸の面からみた母乳保存は、加熱処理をしておく $-20^\circ\text{C}$ 、 $-80^\circ\text{C}$ いずれの場合も適当であるといえる。しかし、一般家庭では、 $-80^\circ\text{C}$ の冷凍庫の確保は無理である。したがって、遊離脂肪酸の増加を抑えるには $-20^\circ\text{C}$ 保存でもよいと考えられた。また、加熱処理無 $-20^\circ\text{C}$ 保存では、7日目までは遊離脂肪酸の増加は少なかった。よって $-20^\circ\text{C}$ 保存の場合は、7日以内が望ましいと考えた。同じ加熱処理でも $-80^\circ\text{C}$ の場合は、高冷保存をすることにより、7日目、14日目いずれも遊離脂肪酸の増加を抑えることができた。

次に本研究の乳清蛋白について述べる。乳清蛋白は、人乳蛋白の60%を構成している。この乳清蛋白は乳児の腸内で栄養素としての働きのほかに、腸管クリーナー、種特異性などの働きがある。また、乳清蛋白には $\alpha$ -ラクトアルブミンが含まれている。この $\alpha$ -ラクトアルブミンは、乳腺細胞内では乳糖を合成する酵素になり、その乳糖が腸管内ではカルシウムの吸収を促進する。そのほか、鉄分を含んでいるラクトフェリン、さらに、免疫抗体をもつ免疫グロブリンが含まれている。このように、児にとって大切な乳清蛋白が、どのように変化するのかをみた。その結果、①アルブミンを主体とした分画では、採取当日が8.8% (SD 4.7)であった。この分画では、7日目(7.7%)と14日目(7.4%)にわずかに減少したのもあったが、その他は、採取当日とほぼ同じ値であった。加熱処理の有無、保存方法による差はなかった。アルブミンは、水溶性で、熱すると凝固するという特性を有している。しかし、本研究の $60^\circ\text{C}$ 13分の加熱処理では、アルブミンを凝固させるということでは悪影響がなかったと考えた。② $\alpha$ 分画では、採取当日の割合は23.4% (SD 16.2)であった。加熱処理無の場合、 $-20^\circ\text{C}$ 、 $-80^\circ\text{C}$ の両保存とも、採取当日に比較し7日目(14.1%, 16.1%), 14日目(11.6%, 14.3%)が低く、有意差(p<0.01)があった。 $\alpha$ -ラクトアルブミンは、熱に安定で熱変性は、 $80\sim 85^\circ\text{C}$ で起こることから、本

## 母乳の保存方法

研究の60°C加熱処理では、変動がなかったものと考えられた。③  $\alpha\beta$ 分画では、採取当日の割合は56.9% (SD18.9)であった。採取当日と比較した場合、加熱処理無-20°C保存では、有意 ( $p < 0.01$ ) に7日目(64%)、14日目(64.9%)が高かった。④  $\gamma$ 分画では採取当日の割合は14.8% (SD8.1)であった。採取当日との比較では、加熱処理有-20°C、-80°C両保存とも7日目(11.2%、11.1%)が低く、有意差 ( $p < 0.01$ )があった。I g Aの変化についてWelshらは、62.5°C30分では0~30%、Fordらは、約20%、Liebhaberらも33%損失するとしている。本研究では60°C13分の加熱処理であったが、-20°C、-80°Cの両保存とも7日目に25%、14日目では9%減少していた。2.5°C低い60°Cという温度と、13分という加熱時間の短縮により、上記報告よりも低い結果を得たと考えた。

以上、母乳の保存方法について、-20°C、-80°Cの保存および加熱処理の有無の面から検討した。遊離脂肪酸の量的変化、乳清蛋白の分画像の変化から次のことがいえた。

1. 遊離脂肪酸は、採取当日と比較し、-20°C、-80°Cのいずれの保存方法においても、加熱処理をした方が少なかった。母乳保存は、加熱処理後の冷凍保存が適当であると考えられた。

2. 加熱処理をしない場合の遊離脂肪酸は、-80°C保存では採取当日と比較し、7日目、14日目いずれも変動がなかった。-20°Cの場合は、採取当日と比較し、7日目ではやや増加、14日目では急激な増加を示した。したがって、-20°Cでは、7日以内であれば保存は可能であると考えられた。

3. 乳清蛋白中のA(アルブミンが主)分画では、採

取当日8.8%と比較し、7日目7.7%、14日目7.4%にわずかに減少したものがあつた。加熱処理の有無、保存方法による悪影響はなかったと考えられた。

4.  $\alpha$ ( $\alpha$ -ラクトアルブミンが主)分画では、加熱処理無-20°C、-80°C両保存とも採取当日23.4%と比較し、7日目14.1%、16.1%に減少していた。加熱処理有の場合の7日目は、18.6%、18.4%で、加熱処理無よりも減少は少なかった。

5.  $2\beta$ (カゼイン、ラクトフェリンが主)分画では、加熱処理無-20°C保存の場合、採取当日56.9%と比較し、7日目64%、14日目64.9%と増加していた。加熱処理有に比較し増加率は高かった。

6.  $\gamma$ (I g Aが主)分画では、加熱処理有-20°C、-80°Cの両保存とも採取当日14.8%と比較し、7日目11.2%、11.1%と減少していた。

以上、遊離脂肪酸と乳清蛋白について述べてきた。遊離脂肪酸では加熱処理後冷凍保存することにより増加を抑えることができた。乳清蛋白については、今回の実験では分画像の割合よりみなかったため不十分で合った。今後、量的面からも検討をしていく必要があると考えた。

### 〔研究協力社〕

弘前大学教育学部看護学科

葛西 敦子, 花田 久美子, 前田 美和子

弘前大学医療技術短期大学部

佐藤 剛, 佐藤 達資

独協医科大学付属病院

高岡 宣子

車力中学校

小泉 恵子