

Original

Análisis del contenido en nitrógeno y proteínas de leche materna, día vs noche

C. L. Sánchez López¹, A. Hernández², A. B. Rodríguez¹, M. Rivero³, C. Barriga¹ y J. Cubero¹

¹Laboratorio de Crononutrición. Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura. Badajoz. España. ²Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Escuela de Ingeniería Agrónoma. Universidad de Extremadura. Badajoz. España. ³Manager de la División Científica. Grupo Ordesa. Barcelona. España.

Resumen

La leche materna es un fluido que va variando tanto durante la lactancia como durante las 24h del día. Nuestro objetivo fue determinar el efecto del día y la noche en el contenido de nitrógeno y proteínas en leche humana de tipo: calostro, transición y madura. Para ello se recogieron durante los meses de enero de 2008 a diciembre de 2008 muestras de leche materna de mujeres sanas de la Comunidad de Extremadura (España), con menos de dos meses de lactancia. Dividimos las muestras en tres grupos en función del tipo de leche: grupo de calostro (1-5 días postparto), grupo de transición (6-15 días postparto) y grupo de leche madura (> 15 días postparto). Todas las muestras se almacenaron congeladas a -80° C. Consideramos período de noche al comprendido entre las 20:00-08:00 horas y período diurno al comprendido entre las 08:00-20:00 horas. El análisis de las muestras de leche materna estuvo basado en el método Kjeldahl. El contenido proteico fue calculado partiendo del nitrógeno total x 6,25. El estudio estadístico fue descriptivo (media ± desviación estándar) e inferencial (test *T-Student*). El valor medio de nitrógeno total y contenido proteico de cada grupo fue el siguiente: Nitrógeno total de los grupos de calostro, transición y madura fue 0,30 ± 0,06 g/dL (período nocturno), 0,29 ± 0,05 g/dL (período diurno); 0,26 ± 0,04 g/dL (período nocturno), 0,25 ± 0,04 g/dL (período diurno); 0,22 ± 0,05 g/dL (período nocturno), 0,20 ± 0,04 g/dL (período diurno) respectivamente, produciéndose en este grupo variación estadística ($P < 0,05$). El contenido proteico de los grupos de calostro, transición y madura fue 1,88 ± 0,4 g/dL (período nocturno), 1,81 ± 0,3 g/dL (período diurno); 1,62 ± 0,3 g/dL (período nocturno), 1,59 ± 0,3 g/dL (período diurno); 1,35 ± 0,3 g/dL (período nocturno), 1,26 ± 0,3 g/dL (período diurno) respectivamente, produciéndose de nuevo en este grupo una variación estadística ($P < 0,05$). Aunque se observaron diferencias intergrupales de los valores de nitrógeno total y proteínas, es sólo en la población de madres con lactancia madura, donde los componentes analizados variaron significativamente entre el día y la noche.

(Nutr Hosp. 2011;26:511-514)

DOI:10.3305/nh.2011.26.3.4582

Palabras clave: Proteína. Nitrógeno total. Kjeldahl. Leche materna. Cronobiología.

Correspondencia: Cristina Lucía Sánchez López.

Laboratorio de Crononutrición. Departamento de Fisiología.
Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura.
Badajoz. España.
E-mail: crissanchez@unex.es

Recibido: 7-IX-2009.
1.ª Revisión: 30-X-2009
Aceptado: 22-XI-2009.

NITROGEN AND PROTEIN CONTENT ANALYSIS OF HUMAN MILK, DIURNALITY VS NOCTURNALITY

Abstract

Breast milk is changing with the progression of lactation and during a 24-h period. To determine the effect of diurnality or nocturnality on total nitrogen and protein content of the breast milk. We collected human milk samples from health mothers living throughout Community of Extremadura (Spain) from January 2008 to December 2008 with less than two months of lactation. We divided the samples in three groups: calostrual group (1-5 days postpartum), transitional group (6-15 days postpartum) and mature group (> 15 days postpartum). All samples were stored in a freezer at -80°C. We considered as day period between 08:00-20:00h and night period 20:00-08:00h. Analysis of the human milk samples was based on the Kjeldahl method. Protein contents were calculated from total nitrogen x 6,25. The statistical analysis of the data was descriptive (mean ± standard deviation) and inferential (*T-Student* test). No differences ($P > 0,05$) were found to exist among the contents of individual human milk samples. The mean contents of each component were as follows: Total nitrogen of calostrual, transitional and mature group was 0,30 ± 0,06 g/dL (night period), 0,29 ± 0,05 g/dL (day period); 0,26 ± 0,04 g/dL (night period), 0,25 ± 0,04 g/dL (day period); 0,22 ± 0,05 g/dL (night period), 0,20 ± 0,04 g/dL (day period) respectively, in this mature group with a statistical variation ($P < 0,05$). Protein content of calostrual, transitional and mature group was 1,88 ± 0,4 g/dL (night period), 1,81 ± 0,3 g/dL (day period); 1,62 ± 0,3 g/dL (night period), 1,59 ± 0,3 g/dL (day period); 1,35 ± 0,3 g/dL (night period), 1,26 ± 0,3 g/dL (day period) respectively, in this mature group with a statistical variation ($P < 0,05$). Although we observed differences in the nitrogen and protein content during the individual stages of lactation, it is just in the population of mature lactating women, where the components analyzed varied significantly between day and night.

(Nutr Hosp. 2011;26:511-514)

DOI:10.3305/nh.2011.26.3.4582

Key words: Protein. Total nitrogen. Kjeldahl. Breast milk. Cronobiology.

Introducción

La leche materna es un alimento natural producido por todos los mamíferos cuyo propósito primordial es su uso para la alimentación del recién nacido. Como tal, en sus componentes nutricionales, es un fluido dinámico y cambiante a lo largo del periodo de lactancia, y en particular, a nivel de su componente proteico.

La concentración de proteínas en la leche materna la debemos diferenciar en cuanto a la cantidad correspondiente en los primeros días de lactancia, entre 1º y el 5º, es decir la etapa de calostro, tiene menos concentración energética y un contenido más elevado de proteínas incluyendo IgA, lactoferrina, diversos minerales, colesterol y ácidos grasos esenciales, que en la leche madura. La leche de transición que está presente entre el 6º y el 15º día con respecto al calostro, disminuye la cantidad de inmunoglobulinas y aumenta las de lactosa, grasa y vitaminas. Por último la leche madura que es la que se produce desde el 15º hasta el final de la lactancia se caracteriza por poseer un nivel de proteínas reducido^{1,2,3}.

En la leche madura el contenido de proteína se encuentra establecido de un modo regular a la lactogénesis. En diversos mamíferos se ha observado la relación directa entre el crecimiento de sus crías y el contenido de proteínas y cenizas en la leche materna. La caseína constituye entre el 10 y el 50% del total de las proteínas y el lactosuero entre el 90 y el 50%. Siendo la caseína la principal fuente de aminoácidos, calcio y fósforo para el recién nacido. A su vez la concentración de proteínas del lactosuero va descendiendo a lo largo de la lactancia con lo que se produce un cambio en dicha proporción, aumentando en la leche madura el porcentaje de caseínas frente a lactosuero.

Pero, ¿qué ocurre con esa variación temporal a lo largo del día? Es decir, sobre un periodo de 24 horas, ¿los niveles proteicos son constantes o cambian sus niveles nocturnos frente a los diurnos? En el caso de otros nutrientes de la leche materna como monosacáridos, minerales y aminoácidos ya han sido descritos estos cambios⁴, con lo que deducimos que también podrían existir en las proteínas lácteas. A su vez, cabe indicar que determinadas hormonas y sustancias tampoco mantienen sus niveles estáticos a lo largo del día en la leche humana^{5,6,7}, en particular la hormona prolactina para la cual se describen en contrastadas referencias bibliográficas los cambios entre sus niveles nocturnos y diurnos en mujeres lactantes⁸, causa por la que dicha hormona podría generar con toda seguri-

dad cambios cuantitativos en la leche materna, pero ¿hasta qué punto dichos cambios hormonales podrían ejercer cambios cualitativos y en ese caso cuáles ocurrirían a nivel proteico? Deducimos que de producirse dicha variabilidad diurna y nocturna, ésta ocurriría cuando el periodo de lactancia es más prolongado, es decir, en leche madura, periodo en el cual la lactogénesis puede estar encarrilada a un ritmo de tomas ya constante.

Métodos

Se recogieron muestras de leche materna de madres sanas (n = 69) con menos de dos meses de lactancia, procedentes del Servicio de Neonatología del Hospital Materno Infantil (S.E.S.) de Badajoz, (España) de enero de 2008 a diciembre de 2008 (tabla I). Se les solicitó la recolección de muestras en todas las tomas administradas al bebé durante un periodo de 24 horas, obteniendo una media de 6 muestras al día por madre. Todas ellas fueron informadas previamente del estudio, entregando su consentimiento firmado para la participación en el mismo.

Dicho estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Extremadura y se siguieron las directrices de la Declaración de Helsinki.

Las muestras recogidas fueron divididas en tres grupos: grupo calostroal (1-5 días postparto), grupo de transición (6-15 días postparto) y grupo de leche madura (> 15 días postparto). Todas las muestras fueron almacenadas bajo congelación a -80 °C. Consideramos como el período de día entre 08:00-20:00h y el período de la noche 20:00-08:00h.

Análisis de N total y Proteína

Entre los componentes de la leche materna se encuentran la fracción nitrogenada no proteica (también conocida como NNP, en la que se incluyen los nucleótidos)⁷ y la fracción nitrogenada proteica. Para analizar el contenido proteico de las muestras a estudio, nos basamos en el método Kjeldahl, con el cual se obtiene el valor del nitrógeno de la leche (valor de nitrógeno total) siendo posteriormente multiplicado por un factor (6,25 en el caso de la leche materna) para llegar al valor de proteína. Para ello se usó un sistema digestor (Bloc Digest20, P-Selecta®) y un sistema destilador (Pro-NitroII, P-Selecta®).

Tabla I
Características antropométricas de la población a estudio (n = 69)

Grupo	N	Días de lactancia	Edad (años)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)
Calostro	11	3 ± 1	35 ± 8	76 ± 8	1,64 ± 0,1	28,3 ± 4,0
Transición	27	8 ± 2	33 ± 5	73 ± 13	1,65 ± 0,1	26,9 ± 5,4
Madura	31	29 ± 20	34 ± 4	68 ± 11	1,64 ± 0,1	25,2 ± 3,9

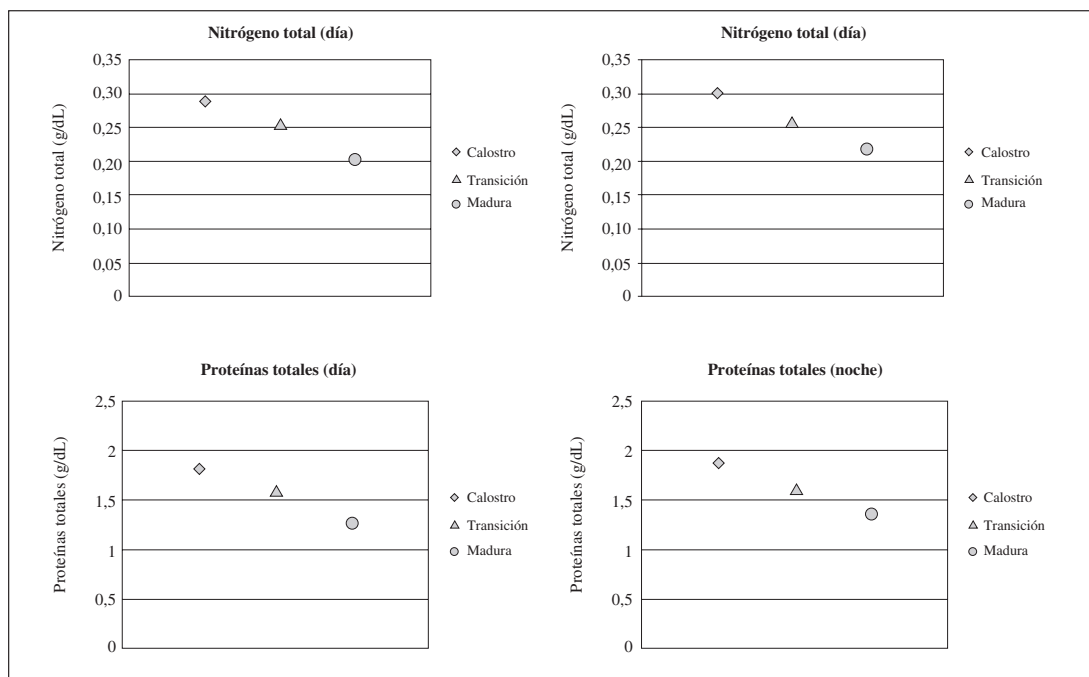


Fig. 1.—Cambios durante la lactancia (leche de calostro, transición y madura) y el día-noche de los valores de nitrógeno total y proteínas totales (n = 69).

Análisis estadístico

Se hallaron la media aritmética (\bar{x}) y la desviación estándar (DE) de todos los datos.

El estudio de la normalidad se realizó mediante el test de *Kolmogorov-Smirnoff*. Posteriormente se compararon las medias para distribuciones homogéneas de dos grupos apareados (día y noche) mediante el test *T-Student*. Se consideraron significativos los datos que presentaran un valor $P < 0,05$. El paquete estadístico utilizado fue SPSS® v.15.

Resultados

Tras el análisis de las muestras indicar que las variaciones no mostraron cambios estadísticamente significativos. Se considera como el período de día entre 08:00-20:00h y el período de la noche 20:00-08:00h. El contenido de nitrógeno total, encontrado en cada tipo de leche en dicha población a estudio, dividido a su vez en diurno y nocturno, fue el siguiente: Para el nitrógeno total del periodo calostro la concentración fue de $0,30 \pm 0,06$ g/dL (nocturna) y $0,29 \pm 0,05$ g/dL (diurna), para el grupo de periodo de transición $0,26 \pm 0,04$ g/dL (nocturna) y $0,25 \pm 0,04$ g/dL (diurna). Y para el grupo con leche madura fue de $0,22 \pm 0,05$ g/dL (nocturna) y $0,20 \pm 0,04$ g/dL (diurna) respectivamente, siendo en este grupo donde se produce una variación estadística ($P < 0,05$), en los niveles de nitrógeno total, aumentando en las muestras nocturna respecto a las diurnas (fig. 1).

Acerca del contenido de proteína láctea en esta población a estudio, para el grupo con leche de calostro se cuantificó una concentración de $1,88 \pm 0,4$ g/dL (nocturna) y $1,81 \pm 0,3$ g/dL (diurna), para el grupo de transición fue $1,62 \pm 0,3$ g/dL (nocturna) y $1,59 \pm 0,3$ g/dL (diurna). Y por último para el grupo con leche madura $1,35 \pm 0,3$ g/dL (nocturna) y $1,26 \pm 0,3$ g/dL (diurna) respectivamente, siendo en este grupo de nuevo donde se produce un incremento estadísticamente significativo ($P < 0,05$) en los niveles de proteína, entre las muestras diurnas y nocturnas (fig. 1).

Discusión

Con respecto a los resultados de nitrógeno total y proteína, observamos diferencias entre las tres etapas de lactancia, obteniéndose los mayores valores de ambos parámetros durante la etapa calostro. En las etapas posteriores, es decir, en transición y madura, aparece una disminución progresiva de estas variables, encontrándose las concentraciones mínimas en la leche madura.

Respecto a la variabilidad en un periodo de 24 horas entre muestras diurnas y nocturnas, cabe incidir que los valores de nitrógeno total y proteínas en las muestras nocturnas superaron ligeramente a los valores diurnos, coincidiendo con lo descrito por Cregan y cols.⁸ para la prolactina donde se observó un aumento de dicha hormona en la leche materna durante el periodo comprendido entre las 22:00 y las 10:00 horas. Por ello podría

ser consistente la idea de la variación de componentes en proteínas⁹, ya que existen cambios circadianos para otros macronutrientes como la lactosa, cuya menor concentración acontece en una población analizada a las 19:00 h¹⁰, mientras que para otros oligosacáridos dicha hora coincide con el momento de mayor concentración. A su vez para otros micronutrientes de la leche humana, dicha variabilidad circadiana ya ha quedado patente, como fue el caso de los minerales sodio y potasio y de elementos traza como: hierro, cobre y zinc^{11,12}.

Dicho incremento en las muestras del periodo nocturno, sobre todo en muestras pertenecientes a madres con lactancia instaurada y donde el periodo de tomas a lo largo del día se encuentra muy regulado y establecido de forma constante, podría deberse al balance energético de la madre y a su regulación hormonal a través de la lactancia, donde por ejemplo la leptina juega un papel determinante al disminuir sus niveles tras el periodo de lactancia, aumentando en modelo animal durante el periodo nocturno¹³.

Otra de las causas podría ser la pauta de temporalidad pandrial establecida por el lactante, donde en una lactancia madura son mayores las tomas durante el periodo diurno lo cual podría suponer que tras ese mayor número de ingestas el aporte proteico es menor que durante la noche, donde el periodo postpandrial es mayor debido al menor número de tomas, aunque como hándicap para el lactante, tendría menor digestibilidad y mayor carga renal durante la noche por los solutos derivados de la ingesta proteica¹⁴.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer su colaboración a todo el personal de la Unidad de Neonatología del Hospital Materno Infantil de Badajoz, así como a D^a Elena Circujano, técnico de nuestro laboratorio.

Referencias

1. American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Commentary on breast feeding and infant formulas, including proposed standards for formulas. *Pediatrics* 1976; 57: 278-285.
2. Kunz C, Lönnerdal B. Re-evaluation of the whey protein/casein ratio of human milk. *Acta Paediatr* 1992; 81: 107-112.
3. Mitoulas LR, Kent JC, Cox DB, Robyn AO, JL Sherriff, Hartmann PE. Variation in fat, lactose and protein in human milk over 24 h and throughout the first years of lactation. *Br J Nutr* 2002; 88: 29-37.
4. Cubero J, Valero V, Sánchez J, Rivero M, Parvez H, Rodríguez AB, Barriga C. The circadian rhythm of tryptophan in breast milk affects the rhythms of 6-sulfatoxymelatonin and sleep in newborn. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; 26: 657-661.
5. Cross NA, Hillman Ls, Forte LR. The effects of calcium supplementation, duration of lactation, and time of day on concentrations of parathyroid hormone-related protein in human milk: pilot study. *J Hum Lact* 1998; 14: 111-117.
6. Agrimonti F, Frairia R, Fornado D, Torta M, Borretta G, Trapani G, Bertino E, Angeli A. Circadian and circaseptan rhythmicities in corticosteroid-binding globulin (CBG) binding activity of human milk. *Chronobiologia* 1982; 9: 281-90.
7. Sánchez CL, Cubero J, Sánchez J, Chanclón B, Rivero M, Rodríguez AB, Barriga C. The possible role of human milk nucleotides as sleep inducers. *Nutr Neurosci* 2009; 12: 2-8.
8. Cregan MD, Mitoulas LR, Hartmann PE. Milk prolactin, feed volume and duration between feeds in women breastfeeding their full-term infants over a 24 h period. *Exp Physiol* 2009; 87: 207-214.
9. Lammi-Keefe CJ, Ferris AM, Jensen RG. Changes in human milk at 06:00, 10:00, 14:00, 18:00 and 22:00 h. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr* 1990; 11: 83-88.
10. Viverge D, Grimmonprez L, Cassanas G, Bardet L, Solare M. Diurnal Variations and within the feed in lactose and oligosaccharides of human milk. *Ann Nutr Metab* 1986; 30: 196-209.
11. Keenan BS, Buzek SW, Gaza C. Cortisol and its possible role in regulation of sodium and potassium in human milk. *Am J Physiol* 1983; 244: 253-261.
12. Picciano MF, Guthrie HA. Copper, iron, and zinc contents of mature milk. *Am J Clin Nutr* 1976; 29: 242-254.
13. Vernon RG, Denis RG, Sorensen A, Williams G. Leptin and the adaptations of lactation in rodents and ruminants. *Horm Metab Res* 2002; 34: 678-685.
14. Rodríguez J. Fisiología del equilibrio hidroelectrolítico en el recién nacido y lactante. *Bol. S. Vasco-Nav Pediatr* 2000; 34: 77-80.