

Medición de los componentes nutricionales de la leche humana proveniente del Banco de Leche Humana del Hospital Materno Infantil R. Sardá.
Comparación de metodologías analíticas de referencia, instrumentales por infrarrojo y de rutina por crematocrito.

PATRICIA GATTI⁽¹⁾, GABRIELA RODRÍGUEZ⁽¹⁾, LYDIA OTHEGUY⁽²⁾, ODELZA VEGA⁽²⁾
INTI – LÁCTEOS BUENOS AIRES⁽¹⁾ – HOSPITAL MATERNO INFANTIL R. SARDÁ⁽²⁾
gabirod@inti.gob.ar

OBJETIVO

La leche humana es el nutriente más valioso para el crecimiento de los bebés, incluyendo los recién nacidos prematuros.

La alimentación del niño prematuro con leche de su propia madre es aceptada como buena práctica, dados sus múltiples beneficios, y en los últimos años es notable la expansión de Bancos de Leche Humana donada y pasteurizada cuando la leche de la propia madre no está disponible o es insuficiente.

Debido a la existencia de diferentes tipos de leche humana y la variabilidad de su composición nutricional, es imprescindible conocer el contenido calórico, proteico y graso de la leche, para poder relacionar las calorías, proteínas y grasas que reciben y toleran los neonatos con su velocidad de crecimiento, además de dosificar la fortificación más adecuada en forma individual.

El propósito de este estudio es disponer de métodos simples, rápidos, exactos, altamente confiables, económicos y trazables a los métodos de referencia para la determinación de la composición nutricional de la leche humana proporcionada a los prematuros internados, a fin de suministrarles una nutrición adecuada e individualizada.

Los objetivos específicos de este trabajo son:

- Determinar la correlación entre los resultados de la determinación de grasas mediante el método de referencia internacional Rôse Gottlieb respecto del método "Crematocrito" utilizado actualmente en el Centro de Lactancia Materna.

- Determinar la correlación y el grado de concordancia entre los resultados de la determinación de proteínas, grasas e hidratos de carbono de la leche humana obtenidos por métodos de referencia internacionales con respecto al método instrumental basado en la espectroscopia de transmisión en el infrarrojo medio (IR).

DESCRIPCIÓN

Consentimiento informado:

Previo al comienzo del estudio se obtuvo la aprobación del Comité de Ética e Investigación del Hospital Materno Infantil R. Sardá.

Se solicitó consentimiento informado a las madres que donan su leche para la realización de este estudio, incluyendo sólo aquellas que

cubren los requerimientos nutricionales diarios de su propio hijo.

Recolección:

Las muestras de leche humana son recolectadas por el Centro de Lactancia Materna (CLM) del Hospital Materno Infantil R. Sardá. La extracción puede ser domiciliaria o en el Centro de Lactancia Materna, en forma manual, con sacaleche o bomba eléctrica.

Fraccionamiento de las muestras:

De cada una de las muestras se destina 1 ml para determinación de grasas mediante crematocrito que se realiza en el CLM de la Maternidad Sardá, 20 ml para métodos de referencia y 20 ml para espectroscopia infrarroja, que se realizan en los laboratorios de INTI lácteos.

Muestreo:

-Leche materna analizada por métodos de referencia: Se utilizó la norma ISO 707 IDF 50:2008 como Guía de Muestreo General y las especificaciones establecidas en cada método analítico aplicado a las determinaciones de materia grasa, sólidos totales, proteínas totales y cenizas.

-Leche materna analizada por instrumental infrarrojo: Se siguió el protocolo suministrado por el proveedor del equipamiento IR.

Métodos:

Las metodologías de análisis por referencia utilizadas son:

Grasas: Norma ISO 1211 IDF 1 2010 Milk determination of fat content-gravimetric method (Reference Method)

Proteínas: Norma ISO 8968-2 IDF 20-2 2001 Milk determination of nitrogen content part 2-Block digestion method (macro method)

Sólidos totales: Norma ISO 6731 IDF 21 (2010) Milk, cream, and evaporated milk-Determination of total solid content (Reference method)

Cenizas: método AOAC 920.153 (2005) Association of Official Analytical Chemists.

Hidratos de carbono: cálculo por diferencia entre el contenido de los sólidos totales y el contenido de proteínas totales, materia grasa y cenizas.

Las metodologías de análisis por métodos de rutina utilizadas son:

Espectrofotómetro de transmisión en el infrarrojo medio:

Dairy Milk Analyzer de la Compañía MIRIS: Acuerdo INTI – MIRIS, que otorgó el equipamiento mencionado al INTI LACTEOS, en comodato a los fines de este estudio.

Rango de operación: IR Medio, 2.8 a 50 μm (3600 a 200 cm^{-1})

Crematocrito: El porcentaje de grasa se obtiene mediante lectura del crematocrito en un ábaco (Rolco^R).

Si bien los espectrómetros de infrarrojo están ampliamente difundidos en los laboratorios de control de calidad de leche, es importante destacar la ventaja que presenta el IR adaptado al análisis de leche materna pues permite un análisis completo de composición química utilizando un pequeño volumen de leche materna.

Es un equipo para análisis de rutina, cuya calibración y ajuste son factores que determinarán la calidad de los resultados obtenidos.

RESULTADOS

La correlación del contenido de materia grasa, sólidos totales, proteínas totales e hidratos de carbono por Infrarrojo con respecto a los valores de referencia, es decir, el ajuste de la calibración del equipamiento instrumental, se realiza utilizando los procedimientos estadísticos de ajuste disponibles: Slope and Intercept Calibration, cálculo de d (valor medio de las diferencias entre resultados de los métodos de referencia y resultados de Infrarrojo para cada parámetro de composición) y Sd (desvío standard de d).

A modo de ejemplo, se incluyen los resultados obtenidos del análisis de 10 muestras de leche materna y los estadísticos de ajuste obtenidos por comparación entre los métodos de referencia y la espectroscopia infrarroja:

Tabla Nº 1: Proteínas totales

Comparación de métodos analíticos

Identificación de las muestras	Proteínas totales		d (REF-IR)
	REFERENCIA (REF)	INFRARROJO (IR)	
	(g/100g)	(g/100g)	(g/100g)
100	1,18	1,3	-0,12
101	1,13	1,3	-0,18
102	1,15	1,05	0,10
103	1,12	0,9	0,22
104	1,10	0,6	0,50
105	0,98	1,5	-0,52
106	1,21	1,2	0,01
107	0,99	1,3	-0,31
108	1,91	2,5	-0,60
109	2,03	2,45	-0,42

PROMEDIO d = -0.13 - Sd = 0.34

Tabla Nº 2: Materia Grasa

Comparación de métodos analíticos

Identificación de las muestras	Materia Grasa		d (REF-IR)
	REFERENCIA (REF)	INFRARROJO (IR)	
	(g/100g)	(g/100g)	(g/100g)
100	3.86	4.05	-0,20
101	4.07	4.15	-0,08
102	3.46	2.30	1.16
103	2.96	2.25	0.71
104	2.90	2.90	0.00
105	1.67	2.30	-0.63
106	2.91	3.55	-0.64
107	1.69	2.40	-0.72
108	3.46	5.80	-2.34
109	0.85	2.55	-1.70

PROMEDIO d = -0.44 - Sd = 1.03

Tabla Nº 3: Hidratos de Carbono

Comparación de métodos analíticos

Identificación de las muestras	Hidratos de Carbono		d (REF-IR)
	REFERENCIA (REF)	INFRARROJO (IR)	
	(g/100g)	(g/100g)	(g/100g)
100	7.76	8.00	-0.25
101	7.65	7.90	-0.25
102	7.10	7.80	-0.70
103	7.39	8.00	-0.61
104	7.41	8.00	-0.59
105	7.86	8.00	-0.15
106	7.99	7.65	0.34
107	8.04	7.95	0.09
108	7.80	7.60	0.20
109	7.78	7.70	0.08

PROMEDIO d = -0.19 - Sd = 0.36

CONCLUSIONES

Actualmente se han procesado aproximadamente unas 50 muestras de leche humana con verificaciones de correlación y ajuste entre métodos analíticos. Con este estudio se espera lograr que, con un total de aproximadamente 100 muestras de leche analizadas, las diferencias de valores medios de referencia de proteínas, grasas e hidratos de carbono respecto de los valores medios del IR no superen los límites de 0.2g, 0.6g y 0.6g respectivamente, para tener un 80% de probabilidades de obtener diferencias significativas con una confianza del 5%.

En cuanto al crematocrito, se observa una variabilidad significativa con respecto al método de referencia que, en principio, podría mejorarse optimizando la homogeneización de las muestras por sonicación. En este sentido, se realizarán pruebas para ver la factibilidad de reducir las diferencias entre ambos métodos.