

TOTAL DIETARY FIBER ASSAY KIT / KIT DE ENSAYO DE FIBRA DIETÉTICA

Código producto **DF-100A y TDF-C10**

Introducción

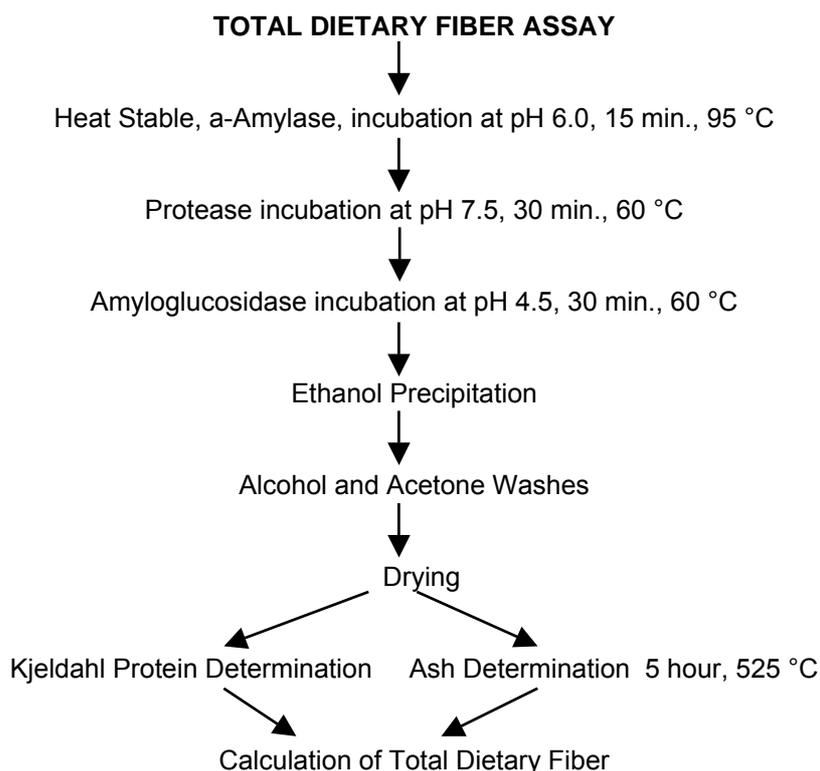
La fibra dietética es una mezcla compleja de sustancias orgánicas e inicialmente se define como restos de células de plantas resistentes a la hidrólisis por la alimentación

las enzimas de hombre.¹ Esta definición fue modificada para incluir las hemicelulosas, celulosas, ligninas, pectinas, gomas, oligosacáridos no digeribles, y ceras.^{2,3}

Esta definición más amplia reconoce la importancia de la fibra como componente de un producto químico y fisiológicas de la dieta. Este procedimiento para la determinación de fibra dietética total se basa en el método publicado en la edición 16 de los métodos oficiales de análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC)⁴.

Sumario del procedimiento

Este ensayo determina el contenido total de fibra dietética de los alimentos mediante una combinación de métodos enzimáticos y gravimétricos. Las muestras secas, y libres de grasa son gelatinizadas con α -amilasa y luego digerido enzimáticamente con la proteasa y amiloglucosidasa para eliminar la proteína y el almidón presente en la muestra. Se añade etanol a precipitar la fibra dietética soluble. El residuo se filtra y se lava con etanol y acetona. Después del secado, se pesa el residuo. La mitad de las muestras son analizadas para las proteínas y los otros son incinera. La fibra dietética total es el peso de los residuos, menos el peso de la proteína y cenizas.



Reactivos contenidos:

TDF-100A Kit – Total Dietary Fiber Assay Kit. Este kit contiene los suficientes reactivos para realizar 100 ensayos.

1. α -Amylase, Estable al calor; Producto # A3306
2. Proteasa; Producto # P3910
3. Amyloglucosidasa; Producto # A9913
4. Celite™, lavada al ácido; Producto # C8656

TDF-C10 Kit – Total Dietary Fiber Assay Control Kit, Cada botella contiene suficiente cantidad para aproximadamente 10 ensayos.

1. Arabinogalactano; Producto # A9788
2. Caseína; Producto # C7906

3. β -Glucano; Producto # G7391
4. Pectina; Producto # P7536
5. Almidón, maíz; Producto # S2388
6. Almidón, trigo; Producto # S1514

Reactivos requeridos y no incluidos;

1. Éter de petróleo; Producto # 184519
2. Alcohol etílico, ACS; Producto # 459844
3. Acetona, ACS; Producto # 320110
4. Fosfato sódico bibásico anhídrido; producto # S0876
5. Fosfato sódico monobásico anhídrido; producto # S0751
6. Hidróxido sódico, 1.0 N; Producto # 93065
7. Ácido Hidroclórico, 1.0 M HCl; Producto # 9201

Aparatos

1. Crisol poroso porosidad # 2 (secundarios 40-60 micras)
2. Fuente de vacío. Una bomba de vacío o aspirador equipado con un frasco vacío de doble línea se debe usar para prevenir la contaminación en caso de copia de seguridad de agua.
3. Un horno de aire capaz de operar a 105 ° C, o un horno de vacío a 70 ° C
4. Horno de mufla
5. Horno de mufla.
6. Baño de agua en ebullición.
7. Baño de agua de temperatura regulable a 60 ° C ya sea con un agitador o multiestación agitador multiestación magnética para permitir la agitación de los matraces de digestión durante la hidrólisis enzimática.
8. Vasos de vidrio - 400 ml o 600 ml de forma alta
9. Balanza analítica capaz de pesar a 0,1 mg.
10. pH-metro - estandarizado a pH 4,0 y pH 7,0.

Instrucciones de Preparacion

Crisoles

Lavar a fondo crisoles. Calor una hora a 525 ° C y fresco. Remoje y enjuague crisoles en agua y luego secar al aire. Añadir 0,5 g de Celite a cada placa y seco a 130 ° C hasta peso constante (una hora o más). Enfriar en desecador y pesar con precisión de 0,1 mg. Registro esto como "Celite + Crisol de peso" o W1. Conservar en desecador hasta que se necesite.

Muestra

Si el contenido de materia grasa de la muestra es superior al 10%, desengrasar con éter de petróleo. ⁴ Registro de la pérdida de peso debido a la eliminación de grasa y efectuar las correcciones adecuadas a la Final % de fibra dietética. Cuando se trata de incógnitas, la grasa a extraer todas las muestras. Homogeneizar cada muestra, si es necesario, y secar toda la noche en un horno de aire a 105 ° C (70 ° C en vacío horno). Enfriar en desecador y muestra de molienda seca a 0.3-0.5 mm de malla. Si el aparato no está disponible para moler en un mortero será suficiente. Si la muestra no se puede calentar, congelar en seco antes de la molienda. Tienda de muestra seca en un desecador hasta el análisis se lleva a cabo.

Reactivos

de uso de agua destilada o desionizada para preparar las soluciones.

1. 78% etanol
207 ml de agua en litros un aforado de matraz. Diluir al volumen con etanol al 95%. Mezclar y llevar a volumen de nuevo con etanol al 95% si es necesario. Mix.
2. Buffer fosfato, 0,08 M, pH 6,0,
disolver 1,4 g de Na₂HPO₄ (Código de producto S 0876) y 8,4 g de NaH₂PO₄ anhidro (Código de producto S 0751) en unos 700 ml de agua. Diluir a un litro con agua. Verificar el pH y ajustar si es necesario ya sea con NaOH o H₃PO₄. Almacene en contenedores herméticamente cerrados a temperatura ambiente.
3. Solución de hidróxido sódico, 0.275 N Diluir 275 ml de solución 1,0 N NaOH (Producto Código 930-65) en un litro con agua en un matraz aforado. Conservar en un recipiente bien tapado a temperatura ambiente.
4. Solución de ácido clorhídrico, 0.325 M Diluir 325 ml de solución 1,0 M de HCl (Código de producto 920-1) en un litro con agua en un matraz aforado. Conservar en un recipiente bien tapado a temperatura ambiente.

Determinación

Determine el blanco junto con las muestras a través de todo el procedimiento para medir las contribuciones de los residuos de los reactivos. Las muestras y espacios en blanco para hacerse la prueba de contenido de fibra dietética se debe ejecutar al menos en cuatro de manera que la proteína duplicado y los valores de cenizas están disponibles para una mayor exactitud.

1. Pesar cuatro muestras de 1 gramo de cada material que se prueba en vasos de forma alta. Ponderaciones de la muestra no deben diferir en más de 20 mg. Registro de pesos a 0,1 mg.
2. Añadir 50 ml de tampón fosfato de pH 6,0 a cada vaso.
3. Añadir 0,10 ml a-amilasa (Código de producto A 3306) para cada vaso y mezclar bien.
4. Cubra cada vaso con una lámina de aluminio y colocarlo en un baño de agua hirviendo. Vasos de precipitado Agitar suavemente a intervalos de 5 minutos. Incubar durante 15 minutos después de que la temperatura interna de los vasos alcanza 95 ° C.
5. Permitir que las soluciones a enfriar a temperatura ambiente.
6. Ajustar el pH de las soluciones a $7,5 \pm 0,2$ mediante la adición de 10 ml de NaOH 0,275 N a cada vaso. Verificar el pH, ajustar si es necesario ya sea con NaOH o HCl.
7. Inmediatamente antes de su uso, hacer una de 50 mg / ml de solución de la proteasa (P Código de producto 3910) en tampón fosfato. Pipeta de 0,1 ml (5 mg de proteasa) en cada vaso.
8. Cubra cada vaso con una lámina de aluminio y coloque en baño de agua a 60 ° C. Con agitación continua, incubar durante 30 minutos después de que la temperatura interna de los vasos llega a 60 ° C.
9. Permitir que las soluciones a enfriar a temperatura ambiente.
10. Ajustar el pH de las soluciones a un pH entre 4,0 y 4,6 mediante la adición de 10 ml de 0.325 M de HCl a cada vaso. Verificar el pH, ajustar si es necesario ya sea con NaOH o HCl.
11. Añadir 0,1 ml de amiloglucosidasa (Código de producto A 9913) a cada vaso.
12. Cubra cada vaso con una lámina de aluminio y coloque en baño de agua a 60 ° C. Con agitación continua, incubar durante 30 minutos después de que la temperatura interna de los vasos llega a 60 ° C.
13. Añadir 4 volúmenes de etanol de 95% a cada vaso.
14. Que las soluciones de toda la noche a temperatura ambiente para permitir que la precipitación total.
15. Filtración Húmedo y redistribuir la cama de Celite en cada crisol utilizando 78% de etanol. Aplicar succión suave para dibujar en Celite frita como incluso colchoneta. Mantener la succión suave y transferir cuantitativamente el precipitado y la suspensión de cada vaso a su crisol respectivos.
Lavar el residuo con tres porciones de 20 ml de etanol de 78%, dos porciones de 10 ml de etanol de 95%, y dos porciones de 10 ml de acetona.
Una de las encías pueden formar con algunas muestras, captura de líquido. Romper la película de la superficie con una espátula mejorará la tasa de filtración. Asegúrese de enjuagar cualquier material adherido a la espátula en el crisol. El tiempo para la filtración y lavado puede variar desde 0,1 hasta 6 horas al crisol, con un promedio de 0,5 horas por cada crisol.
16. Seco crisoles que contienen residuos de noche en un horno de 105 ° C el aire o el horno 70 ° C al vacío.
17. Enfriamiento todos los crisoles en un desecador, pesar con precisión de 0,1 mg y registrar este peso como "residuos Celite + + crisol de peso" o W2.
18. Analizar los residuos de las dos muestras y dos espacios en blanco para las proteínas mediante el análisis de nitrógeno Kjeldahl, tal como se especifica en el procedimiento AOAC. Uso 6,25 como el factor para convertir el amoníaco determinado en el análisis de proteínas, excepto cuando se conoce el contenido de nitrógeno en la muestra de la proteína.
19. Incinerar el residuo en el crisol de dos muestras y dos espacios en blanco durante 5 horas a 525 ° C. Enfriar en desecador, pesar con precisión de 0,1 mg y registrar este peso como "cenizas + + Celite crisol de peso" o W3

Ensayos sobre la eficacia de la enzima

Las enzimas incluido en el Kit de TDF-100A han sido evaluadas utilizando las muestras de ensayo que figuran en el cuadro siguiente. La actividad enzimática completa y la ausencia de actividades contaminantes indeseables se indica mediante la obtención de la esperada recuperación de la fibra dietética en cada muestra de prueba. Es aconsejable incluir caseína (Código de producto C 7906) y / o almidón de maíz (Código de producto S 2388) en cada determinación como los controles internos. Aproximadamente cada seis meses después de las enzimas kit se han abierto, cada una de las muestras de ensayo que figuran a continuación debe ejecutarse a través de todo el ensayo para la fibra dietética total para asegurar que no ocurre degradación o contaminación de las enzimas.

Referenzprobe	Sigma Produkt Nr.	Aktivität	Gewicht der Probe	Erwartete Wiedergewinnung % Ballaststoff
Arabinogalactan	A9788	Hemicellulase *	0.1 g	95 - 100
Casein	C7906	Protease **	0.3 g	0 - 2
β-Glucan	G7391	β-Glucanase *	0.1 g	95 - 100
Pektin	P7536	Pectinase *	0.1 g	95 - 100
Stärke, Mais	S2388	Amylase ** Amyloglucosidase**	1.0 g	0 - 2
Stärke, Weizen	S1514	Amylase ** Amyloglucosidase**	1.0 g	0 - 1

* Esta actividad no esta presente en el ensayo

** Esta actividad esta presente en el ensayo

Cálculos

Peso del residuo = W 2-W 1 Peso cenizas = W 3 -W1

$B = R_{\text{BLANK}} - P_{\text{BLANK}} - A_{\text{BLANK}}$

$\% \text{ TDF} = [R_{\text{SAMPLE}} - P_{\text{SAMPLE}} - A_{\text{SAMPLE}} - B] / \text{SW} \times 100$

Donde :

TDF = Fibra dietética Total

R = Peso promedio de residuo (mg)

P = Peso promedio proteína (mg)

A = Peso promedio cenizas (mg)

SW = Peso promedio de muestra (mg)

Referencias

1. Trowell, H., Lancet, **1**, 504 (1974).
2. Trowell, H., et.al., Lancet, **1**, 967 (1976).
3. Van Soest, P.J. and McQueen, R.W., Proc. Nutr. Soc., **32**, 123-130 (1973).
4. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, Volume II, Section 45.4.07, Method 985.29 (1997).
5. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, Volume I, Section, 12.1.07, Method 960.52 (1997).

CELITE® : eingetragene Warenmarke der Celite Corporation