

Avaliação do método enzimico-gravimétrico AOAC 985.29, para a determinação da fibra alimentar em grãos crus de aveia e milho

Leila Picolli da Silva, Maria de Lourdes Santorio Ciocca, Eliana Badiale Furlong

Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria - Universidade Federal
do Rio Grande do Sul - Universidade do Rio Grande. Brasil

RESUMO. Foram avaliados os atributos de precisão e o uso do método enzimico-gravimétrico descrito por Prosky *et al.* (1992) (AOAC, 985.29) para a determinação de fibra alimentar em grãos de cereais, utilizando-se milho (BR 5202 Pampa) e aveia (UFRGS 15). Para determinar o efeito de corridas laboratoriais executadas em diferentes dias, organizou-se seis corridas para cada amostra, cada qual formada por uma duplicata para a determinação de fibra total (FT), uma para fibra insolúvel (FI) e provas em branco, também em duplicata, para FT e FI. A fim de caracterizar a repetibilidade, outras cinco determinações de FT e FI foram realizadas para cada uma das amostras, totalizando 11 dados. Os coeficientes de variação de FT e FI obtidos nas 6 primeiras corridas foram baixos, indicando uma variação intralaboratorial total aceitável. Os CVs (<10%) encontrados para FT de milho e aveia indicaram alta repetibilidade do método para essa fração da fibra alimentar. Nas determinações de FI, observou-se alta frequência de valores negativos para correções de cinzas e provas em branco, que diminuíram a confiabilidade dos resultados finais. A magnitude do total das correções gravimétricas variou com a natureza da amostra e foi grandemente influenciada pela correção de proteína.

Palavras-chave: Fibra total, fibra insolúvel, repetibilidade.

SUMMARY. Evaluation of the AOAC 985.29 enzymic gravimetric method for determination of dietary fiber in oat and corn grains. The precision attributes and use of the enzymatic-gravimetric method of Prosky *et al.* (1992) (AOAC 985.29) were evaluated using corn (BR 5202 Pampa) and oat (UFRGS 15) samples. The effect of laboratory batches carried out in different days were evaluated in six laboratory batches, using for each material one duplicate for total fiber (FT) determination, one duplicate for insoluble fiber (FI) determination and blank ones for FT and for FI (both in duplicate). In order to characterize repetitive aspects, five other FT and FI determinations added to each sample were evaluated, summing up 11 data. The low coefficients of variation in the first six batches were considered acceptable as an expression of expected total intralaboratory variation. The repetitive of the method was considered good for FT determinations (CVs < 10%). However, in the FI determination a high frequency of negative values of ash and blanks was found, impairing the repetitive aspects evaluation. The magnitude of the total gravimetric corrections varies with the kind of the sample and is especially influenced by the protein content.

Key words: Total dietary fiber, insoluble dietary fiber, repetitive aspects.

INTRODUÇÃO

O método proposto por Prosky e colaboradores para a determinação de fibra alimentar total (1) e recomendado pela AOAC, em primeira ação, no ano de 1985 (2) (método nº 985.29) e em ação final, a partir de 1986 (3), foi desenvolvido com base na proposição de Asp e colaboradores (4). Neste, a determinação da fibra total é feita utilizando-se digestão enzimática, seguida de precipitação etanólica da fibra solúvel e a correção do resíduo resultante desta operação para cinzas, provas em brancos e proteína (1). Mais tarde, em 1988, Prosky e colaboradores indicaram o uso deste método, com pequenas modificações, para as determinações adicionais das frações insolúvel e solúvel da fibra (5), sendo adotado em primeira ação pela AOAC em 1991 para a determinação de fibra insolúvel (6) e em 1993 para a determinação de fibra solúvel (7).

Embora este método tenha passado por várias modificações no período de 1984 a 1995, com muitos dos seus problemas solucionados (8), outros, referentes aos procedimentos analíticos empregados para a precipitação da fibra solúvel e para as correções gravimétricas preconizadas, foram detectados tanto em estudos colaborativos como em trabalhos investigativos (1,5,6,9-11).

AACC (8) e Mañas e colaboradores (9, 10) levantaram a possibilidade de incompleta precipitação etanólica da fibra solúvel, o que causaria subestimação da fibra total, ou co-precipitação de outros compostos que não compõe a fibra alimentar, superestimando os resultados. Quanto às correções gravimétricas, há relatos tanto de superestimação como de subestimação do teor de cinzas presente no resíduo da digestão enzimática. A superestimação seria provocada pela precipitação, em álcool, dos sais dos tampões usados na análise (Na e Ca);

e a subestimação seria decorrente de perdas de componentes voláteis das cinzas durante a incineração a 525°C (10,11).

A maioria dos estudos sobre o comportamento do método enzimico-gravimétrico proposto por Prosky e colaboradores (6) para a determinação de fibra alimentar e de suas respectivas frações, basearam-se unicamente em produtos destinados a alimentação humana. No entanto, a avaliação de sua aplicabilidade para produtos destinados à alimentação animal também é de extrema importância, considerando a possibilidade de se estabelecer relações entre os teores de fibra alimentar (total, insolúvel e solúvel) com diferenciados efeitos fisiológicos que, em última instância, se refletirão diretamente sobre o desempenho animal (11).

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi de avaliar os atributos de precisão e a aplicabilidade do método proposto por Prosky e colaboradores (6) para a análise da fibra total e insolúvel em grãos de cereais destinados à nutrição animal.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Grãos de milho BR 5202 Pampa e de aveia UFRGS 15 foram coletados em ensaios de produção conduzidos em 1996 no Centro de Pesquisa de Agricultura de Clima Temperado/EMBRAPA (Pelotas/RS) e na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, respectivamente. As espécies de cereais utilizadas foram escolhidas de modo que representassem dois pontos extremos quanto aos teores de fibra solúvel.

Preparação das amostras

Os grãos de aveia foram descascados manualmente para posterior preparação. As amostras foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 1 mm e, sequencialmente, submetidas a nova moagem em moinho de facas (Control Química MC 2, capacidade de 150 g) com velocidade de rotor de 20.000 rpm, por 45 segundos, a fim de se obter tamanho de partículas apropriado para as análises de fibra (6).

Análises laboratoriais

As determinações de fibra total (FT) e fibra insolúvel (FI) foram realizadas de acordo com o método descrito por Prosky e colaboradores (6), utilizando as enzimas TERMAMYL 120L (α -amilase), com atividade declarada de 120KNU/g; ALCALASE 0.6L (protease), com atividade declarada de 0.6AU/g; e AMG 200 (amiloglicosidase) com atividade declarada de 200AGU/ml, todas fabricadas pela Novozymes Ltda. e mantidas em refrigerador (temperatura média de 5°C)

após cada uso. A atividade das enzimas foi testada periodicamente, utilizando o kit Sigma TDF-C10®.

Nos cadinhos de fundo de vidro sinterizado (capacidade 50 ml/porosidade 40-60 μ m) foi adicionado, aproximadamente, 1g de lã de vidro como auxiliar de filtração. O conjunto (cadinho+lã de vidro) foi submetido a queima em mufla a 525°C por 5 horas, tratados com solução de HCl \pm 2N por uma noite e lavados com água destilada para então, serem utilizados. Esse procedimento se repetiu a cada nova utilização do material.

Os resultados de FT e FI, expressos em percentagem na matéria seca, foram obtidos após subtração dos valores de cinzas e brancos (resíduo das provas em branco corrigidos para cinzas e proteína), determinados conforme Prosky e colaboradores (6); e subtração da proteína bruta ($N \times 6,25$), sendo N determinado por destilação em micro-Kjeldahl (12). Adicionalmente, foi determinada a composição centesimal das amostras conforme as técnicas descritas no AOAC (13) para umidade, cinzas, proteína bruta ($N \times 6,25$) e extrato etéreo.

Condução do experimento

A fim de testar o efeito de corridas laboratoriais executadas em dias diferentes, para cada material, foram organizadas seis corridas. Cada corrida foi composta de uma duplicata para determinação de FT, uma duplicata para determinação de FI, uma prova em branco para FT e outra para FI, ambas em duplicata.

Para caracterizar a repetibilidade foram agregadas outras cinco determinações de FT e de FI por amostra, totalizando 11 dados experimentais.

O efeito de corridas laboratoriais e a repetibilidade foram avaliadas através dos coeficientes de variação obtidos para FT e FI em ambas as amostras conforme indicado por Wernimont (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de matéria seca (MS) determinados nas amostras de milho e aveia foram, respectivamente, de 95.50 e 86.77%, e os teores de cinzas (Cz), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), expressos em 100g de MS, foram 1.54; 9.32 e 5.92% na amostra de milho e, na mesma ordem, 1.36; 15.20 e 4.03% na amostra de aveia. Os dados de Cz, PB e EE referentes a amostra de milho foram, respectivamente, 23.4; 6.9 e 35.1% superiores aos valores citados na Tabela de Composição Química e Valores Energéticos para Suínos e Aves (15). Quando comparados os valores de composição química de grãos descascados de aveia UFRGS 15, observou-se que os teores de Cz, PB e EE foram, respectivamente, 40.3%; 13.6% e 44.1% menores que os citados por Floss e colaboradores (16) para essa mesma cultivar. Esta diferença

nos valores das medidas de composição química de grãos de milho e aveia entre os trabalhos, provavelmente possa ser atribuída às distintas condições de cultivo (ano e local de cultivo, condições ambientais, aspectos nutricionais da planta, etc.) e, no caso da aveia, devido à diferenças na técnica utilizada para retirada da casca dos grãos.

Os resultados das determinações de FT e FI nos dois materiais experimentais obtidos nas seis primeiras corridas, encontram-se nas seis primeiras linhas da Tabela 1. No caso do milho, as médias de FT e FI (13.27 ± 0.90 e $12.29 \pm 0.94\%$, respectivamente) foram ligeiramente superiores aos valores máximos verificados por Lesson e colaboradores (17), para 23 amostras diferenciadas de milho. Já para aveia, as médias obtidas (12.34 ± 0.44 para FT e $10.08 \pm 0.42\%$ para FI) ficaram dentro da faixa de variação do conjunto de dados citados por Prosky e colaboradores (5), e ligeiramente mais elevados do que aqueles citados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos-USP, para aveia em flocos (18). Os CVs obtidos para ambas as determinações foram baixos (6.77 e 7.61% para FT e FI de milho e 3.59 e 4.20% para aveia) indicando uma variação intralaboratorial total aceitável (5).

Com base nestes resultados, considerou-se que os dados experimentais referentes as determinações de FT e FI obtidos em diferentes corridas laboratoriais, poderiam ser agregados em um mesmo conjunto para análise estatística.

As médias dos teores de FT e FI obtidas com os 11 dados experimentais de cada amostra (Tabela 1) diferiram das encontradas nas 6 primeiras corridas em menos de 5%. Os CVs foram mais altos que os observados nas seis corridas iniciais, mas ainda próximos aos citados por Prosky e colaboradores para determinação de fibra total (5) e fibra insolúvel (6), nas faixas de concentração correspondente às encontradas no presente trabalho.

Em várias determinações das frações de fibra, especialmente da insolúvel, foram encontrados valores negativos para as correções gravimétricas. Nas determinações de FI, somente em duas corridas para a amostra de milho, e nas corridas 1, 2, 5 e 6 para a amostra de aveia, foram encontrados valores de cinzas positivos. No restante das determinações todos os valores referentes a esta correção gravimétrica foram negativos. Nas determinações de FT em milho, observou-se valores negativos para cinzas nos resíduos de digestão das corridas 5, 7, 10 e 11. Já, quando determinada esta mesma fração nos resíduos de digestão enzimática de aveia, todos os valores foram positivos.

Valores impróprios, tais como correções gravimétricas negativas, diminuem a confiabilidade nos resultados finais, apesar de não induzirem, necessariamente, a grandes erros (19). Considerando este fato, os dados de FI e FT obtidos por correções gravimétricas negativas não foram utilizados para a avaliação de repetibilidade. Assim, não foi possível determinar a repetibilidade para FI, uma vez que grande

maioria destes valores originaram-se de correções gravimétricas negativas.

Para FT, adotando o mesmo critério, foram considerados apenas 7 valores para milho e os 11 valores para aveia. Os CVs obtidos a partir destes dados ficaram em torno de 10%, indicando alta repetibilidade do método para determinação desta fração em ambos os cereais (Tabela 1).

TABELA 1

Teores de fibra alimentar total (FT) e insolúvel (FI) dos grãos de milho BR 5202 Pampa e de aveia UFRGS 15, expressos em percentagem da matéria seca

Corridas	Milho BR 5202 Pampa		Aveia UFRGS 15	
	FT	FI	FT	FI
1	13.31*	11.24	12,38*	9,57
2	12.73*	12.13	11,95*	9,98
3	14.15*	12.74	11,90*	9,62
4	12.20*	11.32	12,96*	10,43
5	14.51	13.71	12,07*	10,58
6	12.73*	12.58	12,76*	10,28
7	13.33	11.62	13,69*	9,60
8	13.18*	12.33	11,10*	8,21
9	14.29*	12.05	12,80*	8,54
10	14.29	10.73	15,48*	9,40
11	11.57	11.38	15,50*	9,78
Média †	13.30	11.98	12,96	9,64
Média ‡	13.23	—	12,96	—
CV † (%)	7.14	7.04	10,95	7,60
CV ‡ (%)	5.81	—	10,95	—

* Valores usados para teste de repetibilidade;

† Média e coeficiente de variação (CV) dos 11 valores de cada fração analisada;

‡ Média e coeficiente de variação (CV) dos valores usados para determinação da repetibilidade.

Os teores calculados de FS para aveia e milho foram de 3.33 (CV=45.44%) e 1.31% (CV = 77,98%), respectivamente. Os CVs resultantes foram aproximadamente 60% superiores aos citados por Prosky e colaboradores para esta faixa de concentração de FS (5, 6). Nestes trabalhos a FS foi determinada independentemente, e a explicação para os CVs insatisfatórios foi atribuída a problemas de filtração da amostra. A possibilidade de retenção de componentes solúveis na FI e os problemas relatados com a precipitação etanólica, também podem ter causado recuperação incompleta dos componentes da fibra ou co-precipitação de outros compostos não pertencentes à fibra na fração correspondente a FS (5, 9, 10).

Componentes de variação das determinações de fibra total e insolúvel

Na primeira etapa do procedimento analítico, que compreendeu as digestões enzimáticas até a obtenção do

resíduo seco, foi constatada baixa variabilidade entre os dados experimentais (Tabela 2). Neste caso, os CVs encontrados para os resíduos de digestão enzimática, em torno de 10%,

indicaram que essa etapa teve pouca influência na variabilidade dos resultados finais de fibras total e insolúvel para ambas as amostras.

TABELA 2
Peso médio das amostras, dos resíduos de digestão enzimática e das correções gravimétricas nas determinações de fibra alimentar total (FT) e fibra insolúvel (FI) em grãos de milho BR 5202 Pampa e de aveia UFRGS 15

Espécie	Amostra mg	Resíduo		Cinzas		Proteína		Branco		Total % †
		mg	% *	mg	% †	mg	% †	mg	% †	
Milho										
FT	1001.4±0.5	168.2±15.2	16.8±1.5	3.3±5.3	1.9±3.0	23.1±10.0	13.5±5.0	8.7±0.7	5.2±0.6	20.6±5.3
FI	1001.5±0.7	137.1±6.0	13.7±0.6	-0.8±1.9	-0.5±1.4	16.1±4.1	11.8±3.0	1.7±2.3	1.3±1.7	12.5±3.9
Aveia										
FT	978.3±54.3	196.3±22.9	20.0±1.6	8.9±4.3	4.5±1.9	52.1±15.0	26.4±6.0	8.3±2.5	4.3±1.4	35.2±5.8
FI	978.5±54.0	129.6±13.1	13.2±0.8	-0.8±1.5	-0.7±1.2	33.8±7.6	26.0±4.5	2.2±2.5	1.7±2.0	27.0±5.1

* Percentagem de resíduo em relação a amostra inicial (valores expressos com base na matéria seca);

† Percentagem da correção gravimétrica em relação ao resíduo de digestão (valores expressos com base na matéria seca).

A segunda etapa, que compreendeu a realização das análises para obtenção dos dados das correções gravimétricas preconizadas, foi a que exerceu maior influência para o aumento da variabilidade entre os resultados finais. O total de correções gravimétricas (cinzas + proteína + branco) variou de acordo com a natureza da amostra, onde os maiores valores foram observados nas determinações em aveia (Tabela 2).

A contribuição de cada uma das correções sobre o total também foi variável, porém, a proteína foi a que exerceu maior influência sobre as determinações das frações de fibra (Tabela 2). A correção para proteína representou aproximadamente 13 e 12% dos resíduos de FT e FI em milho e, na mesma ordem, 26 e 26% em aveia. As correções para cinzas foram menores, representando aproximadamente 2 e 4.5% do resíduo de FT de milho e aveia e, na mesma ordem, -0.5 e -0.7% do resíduo da FI.

A distribuição dos valores de proteína, cinzas e provas em branco obtidos nos resíduos de digestão enzimática das amostras utilizadas neste experimento foram analisados individualmente e encontram-se na Figura 1. Embora as medidas realizadas no presente trabalho não tenham sido direcionadas à avaliar a eficiência da proteólise ou ineficiência da remoção da proteína dos resíduos de digestão, a ampla dispersão detectada quanto os teores de proteína bruta entre repetições provenientes de mesma amostra (Figuras 1a e 1d), demonstrou a grande variabilidade existente entre corridas na etapa de digestão enzimática no que se refere à proteólise.

Os valores das correções gravimétricas de cinzas também foram amplamente dispersos e, em muitos casos, negativos (Figuras 1b e 1e). Porém, a ocorrência de valores negativos para cinzas e provas em branco não foi verificada somente

no presente trabalho, mas também no próprio estudo colaborativo referente ao método utilizado (6).

Os CVs obtidos para a medida de cinzas nos resíduos de FT e FI de milho e aveia foram de 157.9 e 42.2% e, 280.0 e 171.4%, respectivamente. A maior frequência de cinzas negativas em resíduos de FI (Figura 1e) quando comparados aos resíduos de FT (Figura 1b), sugere que na filtração de FI, feita para a remoção da FS, ocorram perdas de minerais. Mañas e colaboradores (9) comentam que na determinação de fibra alimentar, junto com a precipitação etanólica de compostos orgânicos e inorgânicos da amostra, pode também ocorrer precipitação de sais inorgânicos do tampão, superestimando o teor de cinzas no resíduo da FT.

Considerando essa indicação, é razoável supor que pelo mesmo mecanismo possa ocorrer uma redução nos teores de cinzas da FI, uma vez que minerais poderiam ser retirados dessa fração juntamente com a FS. Por outro lado, pela pequena quantidade de minerais remanescente neste resíduo e considerando os erros acumulados desde o início da manipulação das amostras, torna-se mais provável a ocorrência de valores negativos de cinzas para os resíduos de FI do que para os de FT.

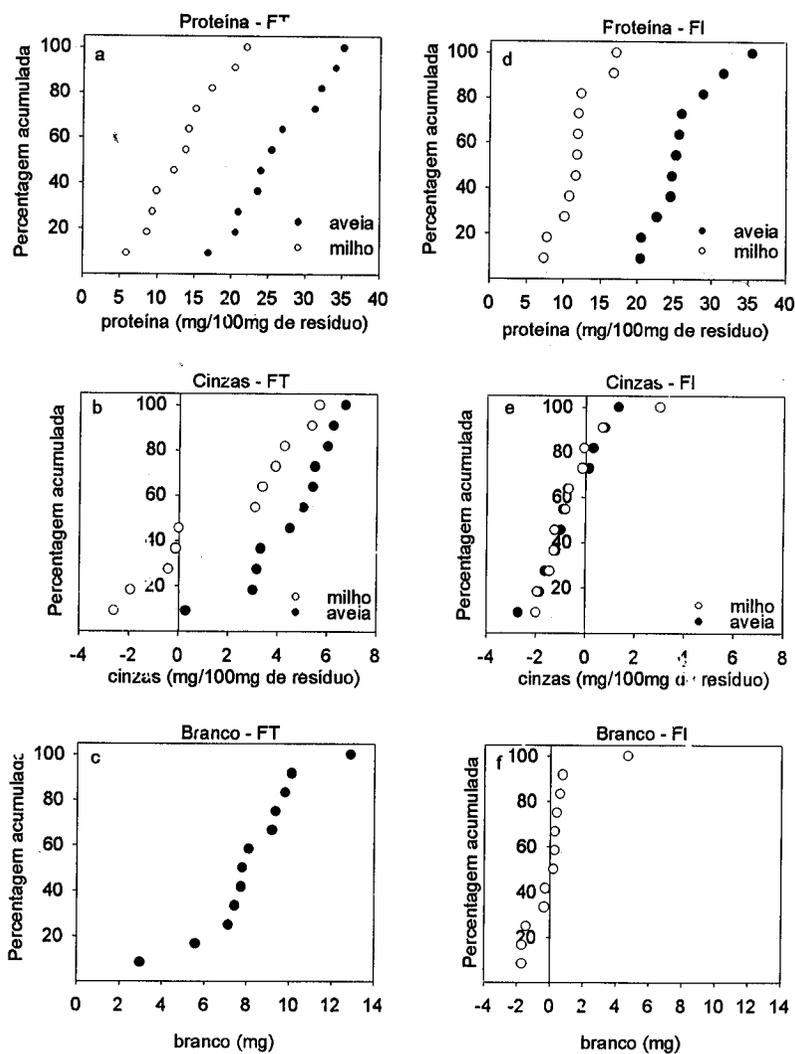
De qualquer forma, a distribuição dos valores de cinzas obtidos no presente trabalho (Figuras 1b e 1e) põe em dúvida a explicação dada por Prosky e colaboradores (6) de que a obtenção de dados negativos de cinzas no resíduo é resultante de perdas do auxiliar de filtração e problemas de qualidade, tanto do auxiliar como do cadinho filtrante; devendo-se buscar explicação para estes resultados na análise de outros possíveis fatores que afetam as determinações de cinzas no resíduo da digestão enzimática utilizada para a determinação da fibra alimentar.

FIGURA 1

Distribuição dos valores de proteína bruta, cinzas e provas em branco, obtidos nas determinações de fibra alimentar total (FT) (a, b, c) e fibra insolúvel (d, e, f) nos grãos de milho BR 5202 Pampa e de aveia UFRGS 15.

No eixo X estão representados os valores obtidos em cada determinação, organizados em ordem crescente.

No eixo Y encontra-se a frequência relativa acumulada de observações, onde cada observação corresponde a 9.1 unidades de porcentagem para proteína e cinzas e 7.1 unidades de porcentagem para brancos (100% ÷ n^o total de observações), o que permite avaliar a dispersão em relação a amplitude



Os elevados valores dos efeitos das interferências de proteína e minerais nos resíduos de digestão enzimática são as principais críticas quanto ao método proposto por Prosky e colaboradores (4,5, 9-11, 20, 21). Este fato abre precedentes para que outros métodos de determinação da fibra alimentar sejam indicados. Jeraci e colaboradores propõe o método UED (*urea enzymatic dialysis*) (22) para a determinação de fibra alimentar. Segundo estes pesquisadores, o método UED reduz a interferência das correções gravimétricas de cinzas e proteína, sendo mais preciso e apurado do que aquele proposto pela AOAC (2).

Embora menos representativos, os valores das provas em branco também interferem no resultado final das medidas de FT e FI. No presente trabalho, as provas em branco representaram aproximadamente 5% dos resíduos de digestão de FT e, menos de 2% nos resíduos de FI para ambas as amostras (Tabela 2). Os Cvs obtidos para as determinações de FT das corridas realizadas com amostra de milho, foram menores do que os encontrados para as corridas de aveia (11,5 versus 32,6%). Para FI, maioria dos valores das provas em branco foram negativos e os CVs obtidos foram muito altos (superiores a 115%) para ambas as amostras. A amplitude de variação observada para os valores das provas em branco de FT (3.0 a 12.9 mg) e de FI (-1.7 a 4.7 mg) provavelmente possa ser atribuída às diferenças entre corridas e às correções gravimétricas de proteína e cinzas nos resíduos da prova em branco, uma vez que, durante a execução destas análises, não houve trocas de reagentes e/ou enzimas que justificassem tal variação.

Embora os valores negativos de cinzas e provas em branco obtidos nas determinações de FI e FT em milho e aveia (Figuras 1b, 1e e 1f) tenham diminuído a confiabilidade nos resultados finais deste trabalho, é importante salientar que o maior desvio provocado por estes valores negativos não chegou a 5% sobre o resultado final. Este dado foi considerado não limitante para o uso do método enzimático-gravimétrico proposto por Prosky e colaboradores (6) na avaliação das frações de fibra nos grãos analisados.

CONCLUSÕES

O método enzimático-gravimétrico proposto por Prosky e colaboradores (6) permitiu a determinação da fibra total em grãos de milho e aveia, com alta repetibilidade.

Nas determinações de fibra insolúvel, observou-se alta frequência de valores negativos para correções de cinzas e provas em branco que diminuíram a confiabilidade dos resultados finais.

A magnitude do total das correções gravimétricas variou com a natureza da amostra e foi grandemente influenciada pela correção de proteína.

REFERÊNCIAS

1. Prosky L, Asp GN, Furda I, Devries JW, Schweizer TF, Harland BF. Determination of total dietary fiber in foods, food products, and total diets: Interlaboratory Study. *J Assoc Anal Chem*. 1984; 67 (6): 1044-1052.
2. AOAC - Association Of Official Agricultural Chemists. Total dietary fiber in foods – Enzymatic-gravimetric method – First action. *J Assoc Anal Chem*, 1985; 68 (2): 399.
3. Deutsch MJ. Vitamins and other nutrients – Recommendations. *J Assoc Anal Chem*, 1986; 69 (2): 259.
4. Asp GN, Johansson CG, Hallmer H, Siljeström M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J Agric Food Chem*, 1983; 31 (2): 476-482.
5. Prosky L, Asp GN, Schweizer TF, Devries JW, Furda I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory Study. *J Assoc Anal Chem*, 1988; 71 (5): 1017-1023.
6. Prosky L, Asp GN, Schweizer TF, Devries JW, Furda I. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: Collaborative Study. *J Assoc Anal Chem Int*, 1992; 75 (2): 360-367.
7. Prosky L. Dietary fiber – General Referee Reports. *J Assoc Anal Chem Int*, 1993; 76 (1): 132-133.
8. AACC - American Association Of Cereal Chemists. The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*, 2001; 46 (3): 113-126.
9. Mañas E, Bravo L, Saura-Calixto F. Sources of error in dietary fibre analysis. *Food Chem.*, 1994; 50 (1): 331-342.
10. Mañas E, Bravo L, Saura-Calixto F. Dietary fibre analysis: methodological error sources. *Euro. J Clin Nutr*, 1995; 49 (3): s158-s152.
11. Jeraci JL, Van Soest PJ. Improved methods for analysis and biological characterization of fiber. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1990; 270 (1): p.245-263.
12. Tedesco, M.J.; Gianello, C.; Bissani, C.A. et al. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS; 1995.
13. AOAC - Association Of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis*. 12 ed. Washington: AOAC; 1975.
14. Wernimont GT. Use of statistics to develop and evaluate analytical methods. Arlington: AOAC; 1985.
15. EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves. Tabela de composição química e valores energéticos de alimentos para suínos e aves. Concórdia: EMBRAPA-CNPASA; 1991.
16. Floss, E.L.; Schultz, J.; Trentin, E.A. Composição química de grãos de cultivares de aveia, em Passo Fundo, 1994. In: Reunião da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Aveia, 16, 1996. Resultados experimentais., 1996: 249-251.
17. Lesson S, Yersin A, Volker L. Nutritive value of the 1992 corn crop. *J. Appl. Poultry Res.*, 1993; (2): 208-213.
18. USP – Universidade de São Paulo. Tabela brasileira de composição de alimentos. São Paulo: USP; 2001.
19. AOAC - Association Official Analytical Chemistry. Guidelines for collaborative study procedure to validate characteristics

- of a method of analysis. J. Assc. Off. Anal. Chem., Washington, 1989; 72 (4): 694-704.
20. Marlett J, Navis D. Comparison of gravimetric and chemical analyses of total dietary fiber in human foods. J Agric Food Chem, 1988; 36 (2): 311-315.
21. Filisetti T.M.C.C. Estudo colaborativo para análise de fibra alimentar. Bol. SBCTA, 1997; 31 (2): 112-113.
22. Jeraci J.L, Lewis BA, Van Soest PJ, Robertson JB. Urea enzymatic dialysis procedure for determination of total dietary fiber. J Assc Off Anal Chem, 1989; 72 (4): 677-681.

Recibido: 14-08-2002

Aceptado: 30-09-2003