

Prática: Determinação de Fibra Alimentar Total (FAT) (Método enzimico-gravimétrico)

Fundamento: Está baseado na determinação do peso do resíduo resultante da eliminação do amido e proteína, através da hidrólise enzimática, seguida da precipitação da FAS em etanol a 78%.

Método: Pesar em torno de 500 mg (\pm 20 mg) de amostra seca e desengordurada em um béquer de 250 mL, adicionar 40 mL de tampão MES-TRIS 0,05M pH 8,2. Adicionar 50 μ L de α -amilase termoresistente. Tampar com folha de papel alumínio e aquecer em banho-maria em ebulição por 30 min (agitar a cada 5 min). Adicionar 10mL de água destilada lavando as paredes do béquer. Conferir se a temperatura está por volta de 60°C e adicionar 100 μ L de protease. Tampar novamente com folha de alumínio e incubar a 60°C por 30 min com agitação horizontal. Acertar o pH para $4,3 \pm 0,3$ adicionando HCl. Adicionar 200 μ L de amiloglicosidase, tampar com folha de alumínio e incubar 30 min a 60°C com agitação horizontal. Transferir o hidrolisado, quantitativamente, para um béquer de 600 mL e adicionar 240 mL de etanol 98% a 60°C. Deixar a mistura em repouso à temperatura ambiente por 60 min para precipitar a Fibra Alimentar Solúvel. Transferir a mistura quantitativamente sob vácuo, para um cadinho filtrante com placa porosa 40-60 μ m e com 1 g de lã de vidro, montado em kitassato. Lavar o resíduo com 40 mL de etanol 78%, 40 mL de etanol 95% e 40 mL de acetona. Deixar evaporar todo o solvente orgânico e secar o cadinho em estufa a 105°C. Esfriar em dessecador e pesar. Realizar, paralelamente, em duplicata uma prova em branco*

* feito pela técnica e monitores, assim como os valores de Proteína e Cinzas. Os valores estão escritos na lousa do laboratório. Copiar para poder realizar os cálculos.

FAT = Fibra Alimentar Insolúvel (FAI) + Fibra Alimentar Solúvel (FAS)

Cálculos: No cálculo final descontar os pesos de cinza (C), proteína (P) e branco (B) contidos no resíduo (R). Determinar o teor de FAT na amostra **seca e desengordurada**, na amostra **seca** e na amostra **integral**. (Valores de Umidade e Lipídeos escritos na lousa do laboratório)

$$\%FAT = \frac{(R - P - C - B)}{m} \times 100$$

Amostra:

R = Resíduo da amostra (mg)
P = Proteína do R (____mg)
C = Cinzas do R (____mg)
m = Peso da Amostra (mg)

Branco:

RB = Resíduo do Branco (____mg)
PB = Proteína do RB (____mg)
CB = Cinzas do RB (____mg)
B = RB - PB - CB = _____mg

Bibliografia:

BENNINK, M.R. – Fiber analysis. In: NIELSEN, S.S. – **Introduction of the chemical analysis of foods**. Jones and Bartlett Publishers. Boston. P. 169-180, 1994.
PROSKY, L.; ASP, N.G.; SCHWEIZER, T.F; DEVRIES, J.W.; FURDA, I. - Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and products: Collaborative study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 75(2):360-367, 1992.