

1.12979.0001

## Total Dietary Fiber

Reagent kit for 100 determinations (double determinations for max. 50 samples)  
(Refer to L.00.00-18 § 35 LMBG, January 1997)

### Method of determination

Enzymatic-gravimetric method for the determination of Total Dietary Fiber in foods.

### Contents of package and storage

$\alpha$ -Amylase solution	5 ml
Protease solution	5 ml
Amyloglucosidase solution	3 × 5 ml

Store the reagents at +2 to +8 °C.

### General

The term "Total Dietary Fiber" covers a large number of complex organic compounds, essentially vegetable, non-starch polysaccharides and lignin. These substances (cellulose, hemicelluloses, pectins, hydrocolloids, resistant starch and lignin) are not attacked by the human digestive enzymes. A healthy diet should include a sufficient amount of dietary fiber; a knowledge of the dietary fiber contents of foods is therefore necessary. The method described here for the determination of total dietary fiber is an improvement of the method described by Prosky et al.

Lee, S.C., Prosky, L., de Vries, J.W.: Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in foods; enzymatic-gravimetric method. MES-TRIS buffer: collaborative study, *Journal of AOAC International* **75** (3), 395 - 416 (1992).

### Short description

Total Dietary Fiber uses a combination of enzymatic and gravimetric methods (Asp, N.G., Johansson, C.G., Hallmer, H., and Siljeström, M., Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber, *J. Agric. Food Chem.*, 1983, 31, 476 - 482, and: Official Methods of Analysis of the Assoc. of Anal. Chem. 1984, 47.021 - 47.027, 14th edition). The investigation must always be carried out using two samples that differ very little in weight. The sample material is first treated with heat-resistant  $\alpha$ -amylase in order to convert the starch to a paste and achieve its partial breakdown. This is followed by protein digestion with protease and breakdown of the residual starch with amyloglucosidase. The soluble dietary fiber is precipitated with ethanol (95 % volume concentration) and the precipitate is filtered off and washed with ethanol and acetone. The residue is then dried and weighed. The protein content of the residue of the first sample batch is determined by the Kjeldahl method, and the ash content of the residue of the second batch is determined. The mean weight of the two residues which is obtained after subtraction of the values for protein, ash and blank solution corresponds to the content of dietary fiber in the product.

### Reagents

Contained in the pack:

$\alpha$ -Amylase solution  
Protease solution  
Amyloglucosidase solution

Not contained in the pack:

Petroleum benzene GR, boiling range 40 - 60 °C

Water, distilled

Ethanol (95%, v/v)

prepared from 95 ml ethanol absolute + 5 ml distilled water

Ethanol (78%, v/v)

prepared from 78 ml ethanol absolute + 22 ml distilled water

MES/TRIS buffer solution c = 0.05 mol/l, pH 8.3

Dissolve 2.13 g MES (2-morpholinoethansulfonic acid monohydrate) and 1.22 g TRIS (tris(hydroxymethyl)-aminomethane) in approx. 170 ml distilled water and adjust to pH 8.3 at 20 °C with sodium hydroxide solution 6 mol/l. Then make up with distilled water to 200 ml.

Sodium hydroxide solution (6 mol/l)

Dissolve 24 g NaOH in 70 ml distilled water, make up to 100 ml.

Sodium hydroxide solution, 5%

Dissolve 6.8 g NaOH in 70 ml distilled water, make up to 100 ml.

Hydrochloric acid (0.56 mol/l)

Make up 28 ml hydrochloric acid 2 mol/l with distilled water to 100 ml.

Hydrochloric acid, 5%

Make up 80 ml hydrochloric acid 2 mol/l with distilled water to 100 ml.

Acetone, GR

Celite® 545, acid washed

### Equipment and sundries

Analytical balance

accuracy 0.1 mg

Filter crucible (glass crucible with frit)

diameter 40 mm

porosity 40 - 90  $\mu$ m (G2)

For preparation of the crucible, see "Determination procedure", section 2

Drying cabinet (105 °C)

Desiccator with drying agent

Glass beakers (400 ml, 250 ml, 600 ml)

Waterbath with thermostat, 60 °C and 100 °C, equipped with magnetic stirrer

pH meter

Plunger pipettes, 50  $\mu$ l and 150  $\mu$ l

Wash bottle or filter apparatus acc. to Witt

Vacuum pump (water jet pump)

Muffle furnace, adjustable to 525 °C

Mortar or laboratory screen-type mill

Watch glasses, rubber squeegee, glass rods, magnetic stirring rods, filter adapters, etc.

## Sample preparation

Using a laboratory screen-type mill, grind samples with particle sizes > 0.3 mm which do not dissolve in water or cannot be ground in the mortar. Foods with a high water content must be homogenized before milling as follows. Dry overnight at 105 °C in a drying cabinet and cool in a desiccator. Then homogenize by sonication or using a blender. Subsequently mill (particle size 0.3 - 0.5 mm mesh). If the sample cannot be heated, it must be freeze-dried before milling.

## Removal of fat

If the fat content exceeds 5%, fat must be removed with petroleum benzene before the sample is ground, as follows: For each g of sample (accurately weighed) extract with 3 × 25 ml of petroleum benzene. Dry the sample remaining in the beaker in a drying cabinet at 70 °C under vacuum, then weigh and grind. Allowance must be made for weight loss during calculation of the total dietary fiber content.

## Determination procedure

### 1. Enzymatic breakdown

Determine each sample and blank in duplicate:

- Weigh 1.0 g of sample (to the nearest 0.1 mg) into two 400-ml beakers (250-ml beakers for determination of soluble and insoluble dietary fiber) and also prepare two blanks (without sample). The difference in weight between paired sample quantities must not exceed 20 mg. In the case of high-fiber products such as bran, the amount of sample taken can be reduced. In the case of samples with a high water content, use a quantity equivalent to 1 g dry weight.
- Add 40 ml MES/TRIS buffer solution to each beaker. In the case of acidic products such as rye bread or fruit, check the pH and adjust where necessary to pH 8.3 with sodium hydroxide solution (5%). During subsequent enzymatic breakdown, constantly agitate the beakers and cover with watch glasses. Incubate in a water bath.
- Add 50 µl α-amylase solution, incubate for 30 min at 95 - 100 °C and cool to 60 °C.
- Add 50 µl protease solution and incubate for 30 min at 60 °C.
- Add 5 ml hydrochloric acid (0.56 mol/l) and adjust at 60 °C to pH 4.0 - 4.7 with sodium hydroxide solution 5% or hydrochloric acid 5%.
- Add 150 µl amyloglucosidase solution and incubate for 30 min at 60 °C.

### 2. Determination of Total Dietary Fiber

- Following enzymatic breakdown heat 220 ml ethanol 95% to 60 °C and add to the contents of each beaker. Allow the precipitate to settle for at least 1 h at room temperature and then, decanting under slight vacuum, filter through the prepared glass filter crucibles (wash residues remaining in the beaker into the crucible with small amounts of ethanol 78%). Prepare the glass filter crucibles used as follows: Heat the thoroughly cleaned glass crucibles for 1 h at 525 °C, add approximately 1 g Celite® 545 (ignited overnight at 525 °C, cooled, and stored in a stoppered container), dry overnight at 105 °C, cool and weigh to the nearest 0.1 mg. In order to avoid negative blank values, new crucibles will need to be prepared repeatedly as described. Crucibles should be cooled and stored in a desiccator until required.
- Wash the residues with 3 × 15 ml ethanol 78%, then rewash with 2 × 10 ml ethanol 95% and 3 × 10 ml acetone.
- Dry overnight at 105 °C.
- Cool and weigh to the nearest 0.1 mg.
- When determining protein and ash, use separate filter crucibles for sample and blank.

### 3. Determination of soluble and insoluble dietary fiber separately

#### 3.1 Determination of insoluble dietary fiber

- Following enzymatic breakdown filter the liquid in the beakers under slight vacuum through the prepared glass filter crucibles.
- Rinse the beakers and residues with 2 × 10 ml water heated to 70 °C.
- Combine the filtrate and rinsings and transfer to tared 600-ml glass beakers.
- Rinse the residues with 2 × 15 ml ethanol 78%, ethanol 95% and acetone.
- Dry overnight at 105 °C.
- Cool and weigh to the nearest 0.1 mg.
- When determining protein and ash, use separate filter crucibles for sample and blank.

#### 3.2 Determination of soluble dietary fiber

- Weigh the combined filtrates and rinsings in the tared beakers to the nearest 0.1 g and add 4 times the quantity of ethanol 95% previously heated to 60 °C. Use an aliquot of the hot ethanol to rinse the suction flask used in the determination of insoluble dietary fiber. Allow the precipitate that forms to settle for at least 1 h at room temperature and then, decanting under slight vacuum, filter through the prepared glass filter crucibles (wash residues remaining in the beaker into the crucible with small amounts of ethanol 78%).
- Wash the residues with 3 × 15 ml ethanol 78%, then rewash with 2 × 10 ml ethanol 95% and 3 × 10 ml acetone.
- Dry overnight at 105 °C.
- Cool and weigh to the nearest 0.1 mg.
- When determining protein and ash, use separate filter crucibles for sample and blank.

Notes: Settling of the precipitate in the determination of total dietary fiber (section 2) and of soluble dietary fiber (section 3.2) can be facilitated by maintaining the beakers at 45 °C (1 h) in a water bath. With some products a tacky residue may form, which will slow down filtration. Filtration can be speeded up again by using a spatula to carefully break the surface of the residue and move it to one side.

### 4. Determination of protein and ash

#### 4.1 Determination of protein

- Transfer the entire residue of one filter crucible to a Kjeldahl flask and determine nitrogen by the Kjeldahl method.
- Calculation:  
$$\text{mg protein} = \text{mg nitrogen} \times 6.25$$

#### 4.2 Determination of ash content

- Ignite the residue in the filter crucible at 525 °C for 5 hours, in a muffle furnace.
- Cool, weigh to the nearest 0.1 mg, and calculate the ash content in mg.  
If negative ash values encountered, treat the crucibles several times as described in section 2. Nevertheless, negative values are still to be used in calculations.

## 5. Calculation

### Dietary fiber content w in %

$$w = \frac{m_R - m_P - m_A - m_B}{m} \times 100$$

$$w = \frac{m_R - [(V_1 - V_2) \times 1.4007 \times 6.25] - m_A - [m_{RBlank} - [(V_1 - V_{2Blank}) \times 1.4007 \times 6.25] - m_{ABlank}]}{m} \times 100$$

$$m_B = m_{RBlank} - m_{PBlank} - m_{ABlank}$$

$$m_P = (V_1 - V_2) \times 1.4007 \times 6.25$$

w: total dietary fiber, by weight, in %

$m_B$ : mass of the blank, in mg

$m_P$ : mass of protein in the residue, in mg

$m_R$ : mean of residue masses, in mg

$m_A$ : mass of ash in the residue, in mg

$V_1$ : amount of HCl 0.1 mol/l measured out, in ml

$V_2$ : amount of NaOH 0.1 mol/l consumed, in ml

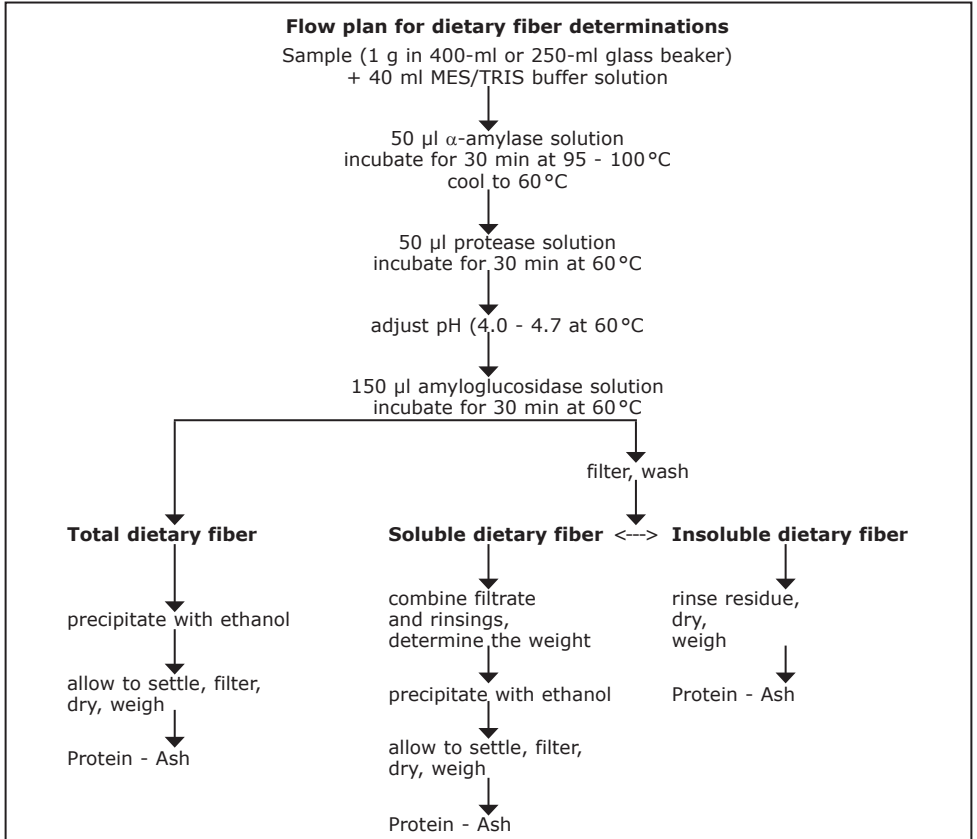
m: mean of the sample weights, in mg

Use the equation set out above to calculate dietary fiber. Enter values as follows:

for **total dietary fiber content** the results from section 2,

for **insoluble dietary fiber** the results from section 3.1,

for **soluble dietary fiber** the results from section 3.2.



### Typical values

Sample	Total dietary fiber content [%]
Bio muesli	9.4
Wholemeal bread	11.9
Crispbread	12.0 - 13.7
Rolled oats	10.2

### Information for ordering reagents

Cat. No.	Designation	Package sizes
1.01775	Petroleum benzine for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l, 5 l
1.00983	Ethanol, absolute for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l, 5 l
1.08382	Tris(hydroxymethyl)aminomethane GR for analysis, buffer substance	100 g, 500 g, 1 kg
1.06126	2-Morpholinoethanesulfonic acid monohydrat, buffer substance MES	25 g, 250 g, 1 kg
1.06498	Sodium hydroxide pellets for analysis EMSURE®	500 g, 1 kg, 5 kg
1.09063	Hydrochloric acid 2 mol/l (2 N) Titripur®	1 l
1.02693	Celite® 545	250 g, 1 kg
1.00014	Acetone for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
<b>1.12979</b>	<b>Total Dietary Fiber</b>	1 pack

MilliporeSigma is the U.S. and Canada Life Science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. MilliporeSigma, Supelco, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321  
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400  
[www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)

**MILLIPORE  
SIGMA**

1.12979.0001

# Fibres alimentaires totales

Coffret de réactifs pour 100 dosages (doubles dosages pour 50 échantillons max.)  
(Par analogie à L.00.00-18 art. 35 de la LMBG (loi sur les produits alimentaires, janvier 1997))

## Méthode de dosage

Technique enzymo-gravimétrique de dosage des fibres alimentaires totales dans les aliments.

### Contenu d'un emballage et stockage

Solution d' $\alpha$ -amylase	5 ml
Solution de protéase	5 ml
Solution d'amyloglucosidase	3 x 5 ml

Stockage des réactifs entre +2 et +8 °C.

### Généralités

La notion de « fibres alimentaires totales » recouvre une multitude de composés organiques complexes, essentiellement des polysaccharides végétaux autres que l'amidon et la lignine ces substances (cellulose, hémicelluloses, pectines, hydrocolloïdes, lignine) résistent à la digestion par les enzymes humaines. Des volumes suffisants de fibres alimentaires doivent être ingérés dans le cadre d'une alimentation saine ; il est donc indispensable de connaître la teneur en fibres alimentaires des aliments. La méthode de dosage des fibres alimentaires totales décrite ici est une variante améliorée de la technique de Prosky et al.

Lee, S.C., Prosky, L., de Vries, J.W.: Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in foods ; enzymatic-gravimetric method. MES-TRIS buffer: collaborative study, Journal of AOAC International **75** (3), 395 - 416 (1992).

### Description succincte

La méthode est basée sur une technique enzymo-gravimétrique (Asp, N.G., Johansson, C.G., Hallmer, H., and Siljeström, M., Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber, J. Agric. Food Chem., 1983, **31**, 476 - 482, et : Official Methods of Analysis of the Assoc. of Anal. Chem. 1984, 47.021 - 47.027, 14. édition). Le dosage s'effectue toujours sur deux échantillons de masse pratiquement identique. Les échantillons sont d'abord traités par de l' $\alpha$ -amylase stable à chaud, pour empâter l'amidon et le dégrader en partie. Puis les protéines sont digérées par la protéase et l'amidon résiduel dégradé par l'amyloglucosidase. Les fibres alimentaires solubles sont précipitées avec de l'éthanol (à 95 %, concentration volumique), le précipité est filtré et lavé à l'éthanol et à l'acétone. Le résidu déshydraté est ensuite pesé.

Les protéines sont dosées selon la méthode de Kjeldahl dans le résidu du premier échantillon, les cendres dans le second. La masse moyenne des deux résidus obtenu après déduction des chiffres de protéines, des cendres et de la solution à blanc est la teneur en fibres alimentaires du produit.

### Réactifs

Contenus dans l'emballage :

Solution d' $\alpha$ -amylase  
Solution de protéase  
Solution d'amyloglucosidase

Non-contenus dans l'emballage :

Benzine de pétrole pour analyses, domaine d'ébullition 40 - 60 °C

Eau, distillée

Ethanol (95 %, v/v)

fabriqué avec 95 ml d'éthanol absolu + 5 ml d'eau distillée

Ethanol (78 %, v/v)

fabriqué avec 78 ml d'éthanol absolu + 22 ml d'eau distillée

Solution tampon MES/TRIS c = 0,05 mol/l, pH 8,3

Dissoudre 2,13 g de MES (acide 2-morpholino éthanesulfonique monohydraté) et 1,22 g de TRIS (tris-(hydroxyméthyl)-aminométhane) dans env. 170 ml d'eau distillée et ajuster le pH à 8,3 à une température de 20 °C avec de l'hydroxyde de sodium en solution 6 mol/l. Puis compléter à 200 ml avec de l'eau distillée.

Hydroxyde de sodium en solution (6 mol/l)

Dissoudre 24 g de NaOH dans 70 ml d'eau distillée, compléter à 100 ml.

Hydroxyde de sodium en solution, 5 %

Dissoudre 6,8 g de NaOH dans 70 ml d'eau distillée, compléter à 100 ml.

Acide chlorhydrique (0,56 mol/l)

Compléter à 100 ml 28 ml d'acide chlorhydrique 2 mol/l avec de l'eau distillée.

Acide chlorhydrique, 5 %

Compléter à 100 ml 80 ml d'acide chlorhydrique 2 mol/l avec de l'eau distillée.

Acétone, pour analyses

Celite® 545, lavé à l'acide

### Appareils et matériel

Balance de précision

précision 0,1 mg

Creuset filtrant (creuset en verre à plaque frittée)

diamètre 40 mm

porosité 40 - 90  $\mu$ m (G2)

Préparation du creuset : cf. « Mode opératoire », paragraphe 2

Etuve (105 °C)

Dessiccateur avec déshydratant

Béchers (400 ml, 250 ml, 600 ml)

Bain-marie avec thermostat, 60 °C et 100 °C, équipé d'un agitateur magnétique

pH-mètre

Pipettes à piston, 50  $\mu$ l et 150  $\mu$ l

Flacon laveur et filtre selon Witt

Pompe à vide (trompe à eau)

Four à moufle, réglable à 525 °C

Mortier ou broyeur-cribleur

Verres de montre, raclettes en caoutchouc, agitateurs en verre, barreaux d'agitation magnétiques, adaptateurs pour filtres, cônes en caoutchouc, etc.

## Préparation des échantillons

Concasser avec un broyeur-cibleur les échantillons de granulométrie > 0,3 mm qui ne sont pas hydrosolubles ou ne peuvent être broyés dans le mortier. Homogénéiser les aliments à forte teneur en eau avant de les broyer et les sécher pendant la nuit à l'étuve à 105°C. Utiliser un appareil à ultrasons ou un Ultra-Turrax® pour l'homogénéisation. Puis procéder au broyage (granulométrie 0,3 - 0,5 mm de mesh). Lorsque l'échantillon ne peut être chauffé, le lyophiliser avant le broyage.

## Elimination des graisses

Lorsque la teneur en lipides excède 5 %, il est nécessaire d'éliminer les graisses à l'aide de benzine de pétrole: les extraire à trois reprises avec 25 ml de benzine de pétrole par g d'échantillon (exactement pesé) avant le broyage de l'échantillon. Sécher sous vide l'échantillon demeuré dans le bécher à 70°C à l'étuve et le peser. Tenir compte de la pertemassique lors du calcul de la teneur totale en fibres alimentaires.

## Mode opératoire

### 1. Dégradation enzymatique

Faire un double dosage de chaque échantillon et de chaque valeur à blanc (sans échantillon) :

- Introduire 1 g de substance à analyser pesé à 0,1 mg de précision dans deux béchers de 400 ml (ou de 250 ml pour le dosage de fibres alimentaires solubles et insolubles) et préparer 2 valeurs à blanc (sans échantillon). La différence entre les deux quantités d'échantillon pesées ne doit pas dépasser 20 mg. Pour les produits riches en fibres alimentaires, p. ex. le son, la quantité pesée peut être réduite. Pour les échantillons à haute teneur en eau, peser une quantité qui corresponde à 1 g de masse sèche.
- Ajouter dans chaque bécher 40 ml de solution tampon MES/TRIS. Contrôler le pH des produits acides comme p. ex. le pain de seigle ou les fruits et le cas échéant l'ajuster à pH 8,3 avec de l'hydroxyde de sodium en solution (5 %). Au cours de la dégradation enzymatique suivante, agiter constamment le contenu des béchers et les recouvrir avec les verres de montre. Effectuer les incubations au bain-marie.
- Ajouter dans chaque bécher 50 µl de solution d' $\alpha$ -amylase, incubé pendant 30 minutes à 95 - 100°C et refroidir à 60°C.
- Ajouter dans chaque bécher 50 µl de solution de protéase et incubé pendant 30 minutes à 60°C.
- Ajouter dans chaque bécher 5 ml d'acide chlorhydrique (0,56 mol/l) et, à 60°C, ajuster le pH à 4,0 - 4,7 avec de l'hydroxyde de sodium en solution 5 % ou de l'acide chlorhydrique 5 %.
- Ajouter dans chaque bécher 150 µl de solution d'amylglucosidase et incubé pendant 30 minutes à 60°C.

### 2. Dosage des fibres alimentaires totales

- Après la dégradation enzymatique, chauffer à 60°C 220 ml d'éthanol 95 % pour chaque bécher puis verser dans ceux-ci. Laisser sédimenter le précipité ainsi formé au moins 1 h à température ambiante, ensuite, filtrer en décantant sous vide léger à travers le creuset filtrant en verre préparé (transférer avec de petites portions d'éthanol 78 % dans le creuset les résidus restés dans le bécher). Préparer comme suit les creusets filtrants en verre pour leur utilisation : Calciner les creusets nettoyés pendant 1 h à 525°C et les charger avec env. 1 g de Celite® 545 (avant l'utilisation, calciner pendant la nuit à 525°C, refroidir et conserver dans un récipient hermétiquement fermé), sécher pendant la nuit à 105°C, refroidir et peser à exactement 0,1 mg. Pour éviter des valeurs à blanc négatives, préparer plusieurs fois de nouveaux creusets comme décrit. Refroidir et conserver les creusets dans le dessiccateur.
- Laver les résidus à 3 reprises avec 15 ml d'éthanol 78 %, puis relaver à 2 reprises avec chaque fois 10 ml d'éthanol 95 % et à 3 reprises avec chaque fois 10 ml d'acétone.
- Sécher pendant la nuit à 105°C.
- Refroidir et peser à 0,1 mg de précision.
- Utiliser à chaque fois un creuset filtrant pour l'échantillon et un autre pour la valeur à blanc pour le dosage des protéines et des fibres alimentaires.

### 3. Dosage séparé des fibres alimentaires

#### 3.1 Dosage des fibres alimentaires insolubles

- Après la dégradation enzymatique, filtrer sous vide léger le liquide contenu dans les béchers en verre à travers les creusets filtrants en verre.
- Laver les béchers et les résidus à 2 reprises avec pour chaque 10 ml d'eau chauffée à 70°C.
- Réunir le filtrat et l'eau de lavage et transférer dans des béchers en verre tarés de 600 ml.
- Laver les résidus à 2 reprises chaque fois avec 15 ml d'éthanol 78 %, 15 ml d'éthanol 95 % et 15 ml d'acétone.
- Sécher pendant la nuit à 105°C.
- Refroidir et peser à 0,1 mg de précision.
- Utiliser à chaque fois un creuset filtrant pour l'échantillon et un autre pour la valeur à blanc pour le dosage des protéines et des fibres alimentaires.

#### 3.2 Dosage des fibres alimentaires solubles

- Peser exactement à 0,1 g de précision les filtrats et eaux de lavages réunis dans les béchers en verre tarés et ajouter la quadruple quantité d'éthanol 95 % préalablement chauffé à 60°C. Rincer la fiole à filtrer utilisée pour le dosage des fibres alimentaires insolubles avec une partie de l'éthanol réchauffé. Laisser sédimenter le précipité ainsi formé au moins 1 h à température ambiante, ensuite, filtrer en décantant sous vide léger à travers le creuset filtrant en verre préparé (transférer avec de petites portions d'éthanol 78 % dans le creuset les résidus restés dans le bécher).
- Laver les résidus à 3 reprises avec chaque fois 15 ml d'éthanol 78 %, puis relaver à 2 reprises avec chaque fois 10 ml d'éthanol 95 % et à 3 reprises avec chaque fois 10 ml d'acétone.
- Sécher pendant la nuit à 105°C.
- Refroidir et peser à 0,1 mg de précision.
- Utiliser un creuset filtrant d'échantillon et un autre de valeur à blanc pour le dosage des protéines et des fibres alimentaires.

Remarques: Au cours du dosage des fibres alimentaires totales (paragraphe 2) et des fibres alimentaires solubles (paragraphe 3.2), le précipité se dépose plus facilement si les béchers sont placés dans un bain-marie à 45°C (pendant 1 h).

Pour certains produits, il peut se former un résidu collant qui retarde la filtration. En déchirant prudemment le résidu et en l'écartant avec une spatule, on peut accélérer la filtration.

### 4. Dosage de la teneur en protéines et en minéraux

#### 4.1 Dosage des protéines

- Transférer le résidu total d'un creuset filtrant dans un ballon de Kjeldahl et doser l'azote selon la méthode de Kjeldahl.
- Calcul : mg de protéine = mg d'azote  $\times$  6,25

## 4.2 Dosage de la teneur en minéraux

- Dans un creuset filtrant, calciner le résidu pendant 5 heures à 525 °C dans un four à moufle.
  - Refroidir, peser à 0,1 mg de précision et calculer en mg la teneur en minéraux.
- Si pour les minéraux il résultait des valeurs négatives, préparer les creusets plusieurs fois comme décrit au paragraphe 2. Des valeurs négatives doivent quand même être utilisées dans la calcul.

## 5. Calcul

### Teneur en fibres alimentaires w en %

$$w = \frac{m_R - m_P - m_A - m_B}{m} \times 100$$

$$w = \frac{m_R - [(V_1 - V_2) \times 1,4007 \times 6,25] - m_A - [m_{RBlanc} - [(V_1 - V_{2Blanc}) \times 1,4007 \times 6,25] - m_{ABlanc}]}{m} \times 100$$

$$m_B = m_{RBlanc} - m_{PBlanc} - m_{ABlanc}$$

$$m_P = (V_1 - V_2) \times 1,4007 \times 6,25$$

w : rapport de masse des fibres alimentaires totales en %

m<sub>B</sub> : masse de la valeur à blanc en mg

m<sub>P</sub> : masse des protéines dans le résidu en mg

m<sub>R</sub> : moyenne des masses de résidu en mg

m<sub>A</sub> : masse des minéraux dans le résidu en mg

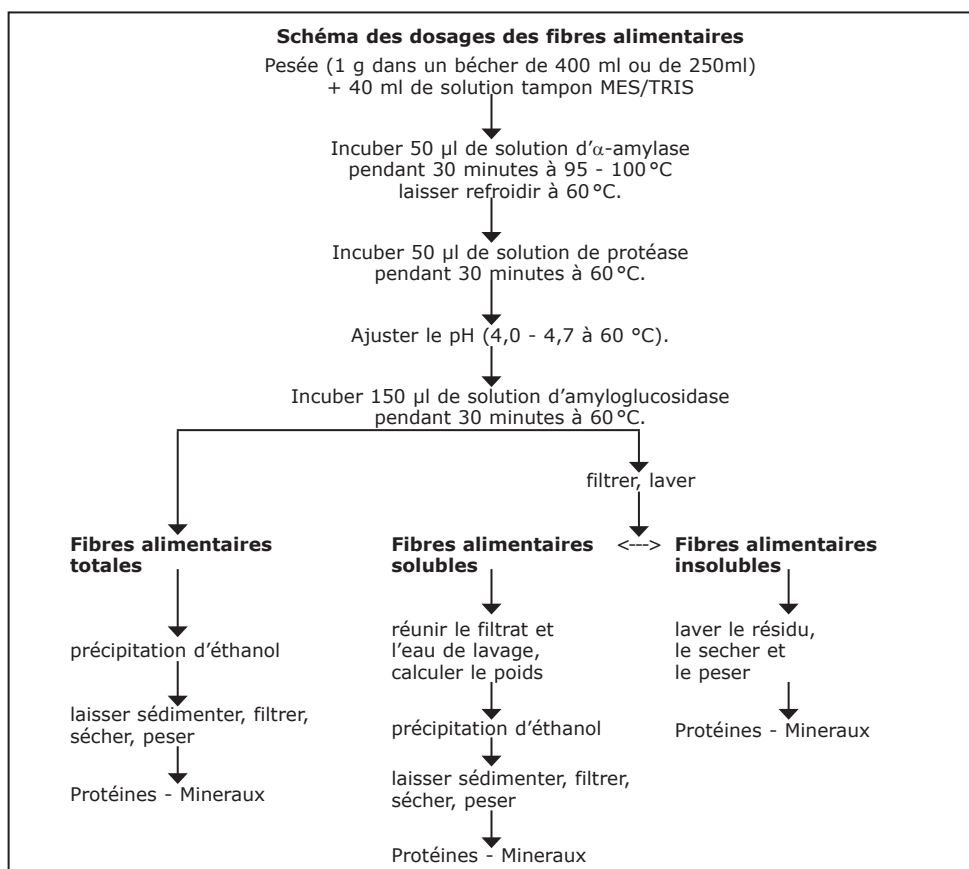
V<sub>1</sub> : quantité préalable de HCl 0,1 mol/l en ml

V<sub>2</sub> : consommation de NaOH 0,1 mol/l en ml

m : moyenne des pesées en mg

La formule énoncée précédemment est utilisée pour le calcul des fibres alimentaires. Pour ce faire on emploie

pour la **teneur en fibres alimentaires totales**, les résultats d'analyse du paragraphe 2,  
pour les **fibres alimentaires insolubles**, les résultats d'analyse du paragraphe 3.1,  
pour les **fibres alimentaires solubles**, les résultats d'analyse du paragraphe 3.2.



### Valeurs de mesure typiques

Echantillon	Teneur en fibres alimentaires totales [%]
Bio müsli	9,4
Pain complet	11,9
Pain suédois	12,0 - 13,7
Flocons d'avoine	10,2

### Informations de commande - réactifs

Art.	Désignation	Présentation
1.01775	Ether de pétrole pour analyses EMSURE®	1 l, 2,5 l, 5 l
1.00983	Ethanol, absolu pour analyses EMSURE®	1 l, 2,5 l, 5 l
1.08382	Tris(hydroxyméthyl)-aminométhane pour analyses, substance tampon	100 g, 500 g, 1 kg
1.06126	Acide 2-morpholino éthanesulfonique monohydraté, substance tampon MES	25 g, 250 g, 1 kg
1.06498	Hydroxyde de sodium en pastilles pour analyses EMSURE®	500 g, 1 kg, 5 kg
1.09063	Acide chlorhydrique 2 mol/l (2 N) Titripur®	1 l
1.02693	Celite® 545	250 g, 1 kg
1.00014	Acétone pour analyses EMSURE®	1 l, 2,5 l
<b>1.12979</b>	<b>Fibres alimentaires totales</b>	1 emballage

MilliporeSigma est le nom de l'activité Life Science américaine et canadienne de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés.  
MilliporeSigma, Supelco et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.  
Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs. Des informations  
détailées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321  
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400  
[www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)

**MILLIPORE  
SIGMA**

1.12979.0001

# Fibras alimentarias totales

Juego de reactivos para 100 determinaciones (determinaciones dobles para máx. 50 muestras)  
(en base a L.00.00-18 § 35 LMBG, Enero de 1997, y AOAC Official Method 991.43)

## Método de determinación

Procedimiento enzimático gravimétrico para la determinación de fibras alimentarias totales en alimentos.

### Contenido del envase y almacenamiento

Solución de $\alpha$ -amilasa	5 ml
Solución de proteasa	5 ml
Solución de amiloglucosidasa	3 x 5 ml

Almacenamiento de los reactivos de +2 a +8 °C.

### Generalidades

El concepto de "fibras alimentarias totales" abarca una serie de compuestos orgánicos complejos, esencialmente polisacáridos no almidónicos y lignina vegetales. Estas sustancias (celulosa, hemicelulosas, sustancias pectínicas, hidrocoloides, almidón resistente y lignina) no son atacadas por las enzimas digestivas humanas. En el marco de una alimentación sana deberían ingerirse fibras en suficiente cantidad; por ello es necesario conocer el contenido de fibra en los alimentos. El método aquí descrito para la determinación de las fibras alimentarias totales es una mejora del procedimiento de Prosky et al. Lee, S. C., Prosky, L., de Vries, J.W.: Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in foods; enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: collaborative study. Journal of AOAC International **75** (3), 395 - 416 (1992).

### Descripción abreviada

El método se basa en un procedimiento enzimático (Asp, N.G., Johansson, C.G., Hallmer, H., and Siljeström, M., Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber, J. Agric. Food Chem., 1983, **31**, 476 - 482, y: Official Methods of Analysis of the Assoc. of Anal. Chem. 1984, 47.021 - 47.027, 14. edition). El ensayo debe realizarse siempre con dos muestras dobles, cuyas masas sólo difieran poco entre sí. El material de la muestra se trata primeramente con  $\alpha$ -amilasa termorresistente, con el fin de engrudar el almidón y disgregarlo parcialmente. A continuación tiene lugar una digestión de las proteínas por la proteasa y la disgregación restante del almidón por la amiloglucosidasa. Las fibras alimentarias solubles se precipitan con etanol (95 %, concentración en volumen), se filtra el precipitado y se lava con etanol y acetona. A continuación se procede al secado y pesado del residuo.

En el residuo de la primera preparación de la muestra se determina el contenido en proteínas por el método de Kjeldahl, y en el de la segunda preparación se determina el contenido en minerales. La masa promedio de ambos residuos, tras restar los valores correspondientes a proteínas, sustancias minerales y solución en blanco, corresponde al contenido de fibras del producto.

### Reactivos

Contenidos en el envase:

Solución de  $\alpha$ -amilasa  
Solución de proteasa  
Solución de amiloglucosidasa

No contenidos en el envase:

Bencina de petróleo p. a., intervalo de ebullición de 40 - 60 °C

Agua destilada

Etanol (95 %, v/v)

preparado con 95 ml de etanol absoluto y 5 ml de agua destilada

Etanol (78 %, v/v)

preparado con 78 ml de etanol absoluto y 22 ml de agua destilada

Solución tampón MES/TRIS c = 0,05 mol/l, pH 8,3

Disolver 2,13 g de MES (ácido 2-morfolinoetansulfónico monohidrato) y 1,22 g de TRIS

(tris(hidroximetil)-aminometano) en unos 170 ml de agua destilada y ajustar el pH a 20 °C a un

valor de 8,3 con hidróxido sódico 6 mol/l. A continuación se completa el volumen hasta 200 ml con

agua destilada.

Hidróxido sódico (6 mol/l)

Se disuelven 24 g de NaOH en 70 ml de agua destilada y se completa el volumen hasta 100 ml.

Hidróxido sódico al 5 %

Se disuelven 6,8 g de NaOH en 70 ml de agua destilada y se completa el volumen hasta 100 ml.

Ácido clorhídrico (0,56 mol/l)

28 ml de ácido clorhídrico 2 mol/l se completan con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

Ácido clorhídrico al 5 %

80 ml de ácido clorhídrico 2 mol/l se completan con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

Acetona p. a.

Celite® 545, lavado con ácido

### Aparatos y medios auxiliares

Balanza analítica

exactitud de pesada de 0,1 mg

Crisol de filtración (crisol de vidrio con fritado)

diámetro de 40 mm

porosidad de 40 - 90  $\mu$ m (G2)

Preparación del crisol: véase "Realización del ensayo", capítulo 2

Estufa (105 °C)

Desecador con desecante

Vaso de precipitados (400 ml, 250 ml, 600 ml)

Baño de agua con termostato, 60 °C y 100 °C, equipado con agitador magnético

pH-metro

Pipetas con émbolo desplazable, 50  $\mu$ l y 150  $\mu$ l

Frasco lavador o aparato para filtrar según Witt

Bomba de vacío (bomba de chorro de agua)

Mufla, ajustable a 525 °C

Mortero o molino tamizador de laboratorio

Vidrios de reloj, limpiador de goma, varitas agitadoras magnéticas, dispositivos para filtrar, conos de goma, etc.

## Preparación de las muestras

Las muestras de un tamaño de partícula > 0,3 mm que no se disuelvan en agua o que no se puedan pulverizar en el mortero son molidas en un molino tamizador de laboratorio. Los alimentos con elevado contenido de agua se homogeneizan antes de la molienda, se secan durante la noche en una estufa a 105 °C, y se dejan enfriar en un desecador. Para la homogeneización resulta adecuado un aparato de ultrasónicos o un Ultra-Turrax®. A continuación se muelen (tamaño de partícula de 0,3 - 0,5 mm mesh). Si no se puede calentar la muestra, debe de liofilizarse antes de molerla.

## Desengrasado

Si el contenido en grasa supera el 5 %, es necesario desengrasar con bencina de petróleo. Por cada gramo de muestra (exactamente pesado), se extrae tres veces con 25 ml de bencina de petróleo antes del desmenuzamiento de la muestra. La muestra que queda en el vaso de precipitados se seca en una estufa a 70 °C bajo vacío y seguidamente se pesa y se muele. La pérdida de masa debe ser tenida en cuenta en el cálculo del contenido de fibras alimentarias totales.

## Realización del ensayo

### 1. Degradación enzimática

- Realizar dos determinaciones tanto para la muestra como para el valor en blanco (sin muestra):
- En dos vasos de precipitados de 400 ml (o de 250 ml en el caso de la determinación de las fibras solubles e insolubles) se pesa en cada caso 1,0 g de la sustancia a examinar, con una exactitud de 0,1 mg, y se preparan dos valores en blanco (sin muestra). La diferencia entre las cantidades de muestra pesadas no debe ser superior a 20 mg. En el caso de productos ricos en fibras, p.ej. salvado, las cantidades a pesar pueden ser menores. En el caso de muestras con alto contenido en agua, se pesará una cantidad que equivalga a 1 g de masa seca.
  - Adicionar cantidades de 40 ml de solución tampón MES/TRIS. Controlar el pH en el caso de productos ácidos, como p.ej. pan de centeno o frutos, y en caso necesario ajustarlo a un valor de 8,3 con hidróxido sódico (5 %). Durante los procesos de degradación enzimática se ha de mantener el contenido de los vasos de precipitados en continuo movimiento, los cuales se taparán con vidrios de reloj. Las incubaciones se realizan en baño de agua.
  - Adicionar sendas cantidades de 50 µl de solución de α-amilasa, incubar durante 30 minutos a 95 - 100 °C, y enfriar a 60 °C.
  - Adicionar sendas cantidades de 50 µl de solución de proteasa e incubar durante 30 minutos a 60 °C.
  - Adicionar sendas cantidades de 5 ml de ácido clorhídrico (0,56 mol/l) y ajustar el valor pH a un valor de 4,0 - 4,7 a 60 °C con hidróxido sódico al 5 % o con ácido clorhídrico al 5 %.
  - Adicionar 150 µl de solución de amiloglucosidasa e incubar durante 30 minutos a 60 °C.

### 2. Determinación de las fibras alimentarias totales

- Tras la degradación enzimática, se adicionan sendas cantidades de 220 ml de etanol al 95 % calentaas a 60 °C. El precipitado formado ha de reposar al menos durante 1 h a la temperatura del laboratorio, decantando a continuación bajo ligero vacío sobre el crisol de vidrio filtrante anteriormente preparado (los residuos del vaso de precipitados se pasan al crisol con ayuda de pequeñas cantidades de etanol al 78 %). Los crisoles de vidrio filtrante se preparan de la forma siguiente: Los crisoles limpios se ponen al rojo vivo a 525 °C durante 1 h, se recubren con una capa de Celite® 545 (antes de su uso se pone al rojo vivo a 525 °C durante la noche, se enfría y se guarda en un recipiente cerrado), se secan durante la noche a 105 °C, se dejan enfriar y se pesan con la exactitud de 0,1 mg. Para evitar valores en blanco negativos, los crisoles nuevos habrán de ser tratados varias veces en la forma descrita. Los crisoles son enfriados y guardados en el desecador.
- Los residuos se lavan 3 veces con sendas cantidades de 15 ml de etanol al 78 %, después 2 veces con 10 ml de etanol al 95 %, y 3 veces con 10 ml de acetona.
- Secar durante la noche a 105 °C.
- Enfriar y pesar con una exactitud de 0,1 mg.
- Un crisol de la muestra y otro de la prueba en blanco se utilizarán para la determinación de las proteínas, y los otros dos para la de las sustancias minerales.

### 3. Determinación de las fibras alimentarias por separado

#### 3.1 Determinación de las fibras alimentarias insolubles

- Tras la degradación enzimática, los líquidos de los vasos de precipitados se filtran bajo ligero vacío por los crisoles de vidrio anteriormente preparados.
- Lavar los vasos de precipitados y residuos 2 veces con sendas cantidades de 10 ml de agua a 70 °C.
- Transferir conjuntamente el filtrado y el agua de lavado a vasos de precipitados de 600 ml previamente tarados.
- Lavar los residuos 2 veces con sendas cantidades de 15 ml de etanol al 78 %, etanol al 95 % y acetona.
- Secar durante la noche a 105 °C.
- Enfriar y pesar con una exactitud de 0,1 mg.
- Un crisol de la muestra y otro de la muestra en blanco se utilizarán para la determinación de las proteínas, y los otros dos para la de las sustancias minerales.

#### 3.2 Determinación de las fibras alimentarias solubles

- Los filtrados y las aguas de lavado reunidos en los vasos de precipitados tarados se pesan con una exactitud de 0,1 mg; a continuación se adiciona una cantidad 4 veces mayor de etanol al 95 % previamente calentado a 60 °C. Con una parte del etanol calentado se enjuaga el frasco de aspiración utilizado en la determinación de las fibras alimentarias insolubles. El precipitado formado ha de reposar al menos durante 1 h a la temperatura del laboratorio, decantando a continuación bajo ligero vacío sobre el crisol de vidrio filtrante previamente preparado (los residuos del vaso de precipitados se pasan al crisol con ayuda de pequeñas cantidades de etanol al 78 %).
- Los residuos se lavan 3 veces con sendas cantidades de 15 ml de etanol al 78 % después 2 veces con 10 ml de etanol al 95 %, y 3 veces con 10 ml de acetona.
- Secar durante la noche a 105 °C.
- Enfriar y pesar con una exactitud de 0,1 mg.
- Un crisol de la muestra y otro de la muestra en blanco se utilizarán para la determinación de las proteínas, y los otros dos para la de las sustancias minerales.

Observaciones: Se puede mejorar la formación del precipitado en la determinación de las fibras alimentarias totales (capítulo 2) y de las fibras alimentarias solubles (capítulo 3.2) colocando los vasos de precipitados en un baño de agua a 45 °C (1 h).

En algunos productos se puede formar un residuo pegajoso, que retrasa la filtración. Con una espátula se puede romper y desplazar cuidadosamente el residuo para acelerar la filtración.

### 4. Determinación del contenido en proteínas y sustancias minerales

#### 4.1 Determinación de las proteínas

- Transferir el residuo total de un crisol filtrante de cada doble determinación a un matraz de Kjeldahl, y determinar el nitrógeno según Kjeldahl.
- El cálculo se hace así: mg de proteínas = mg de nitrógeno x 6,25



#### 4.2 Determinación de las sustancias minerales

- Incinerar el residuo del crisol filtrante a 525 °C en la mufla durante 5 horas.
- Enfriar, pesar con una exactitud de 0,1 mg, y proceder al cálculo de las sustancias minerales en mg. En el caso de surgir valores negativos para las sustancias minerales, los crisoles habrán de ser preparados varias veces según queda descrito en el capítulo 2. No obstante los valores negativos habrán de ser incluidos en el cálculo.

#### 5. Cálculo

##### Contenido en fibras alimentarias w en %

$$w = \frac{m_R - m_P - m_A - m_B}{m} \times 100$$

$$w = \frac{m_R - [(V_1 - V_2) \times 1,4007 \times 6,25] - m_A - [m_{R\text{Blanco}} - [(V_1 - V_{2\text{Blanco}}) \times 1,4007 \times 6,25] - m_{A\text{Blanco}}]}{m} \times 100$$

$$m_B = m_{R\text{Blanco}} - m_{P\text{Blanco}} - m_{A\text{Blanco}}$$

$$m_P = (V_1 - V_2) \times 1,4007 \times 6,25$$

w: masa de las fibras alimentarias totales, en %

m<sub>B</sub>: masa del valor en blanco, en mg

m<sub>P</sub>: masa de proteínas en el residuo, en mg

m<sub>R</sub>: valor medio de las masas en los residuos, en mg

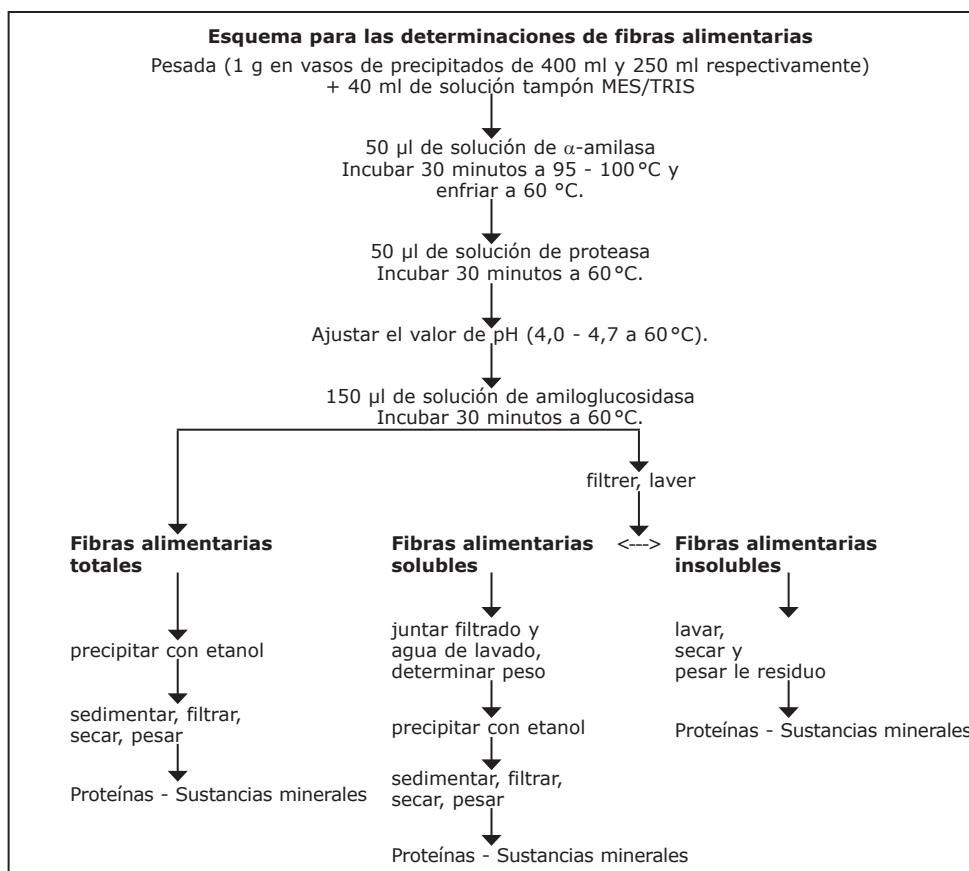
m<sub>A</sub>: masa de sustancias minerales en el residuo, en mg

V<sub>1</sub>: cantidad de HCl 0,1 mol/l, en ml

V<sub>2</sub>: consumo de NaOH 0,1 mol/l, en ml

m: valor medio de cantidades pesadas, en mg

La fórmula anterior sirve para el cálculo de las fibras alimentarias, utilizándose para el cálculo del **contenido de fibras alimentarias totales** los resultados del análisis del capítulo 2, de las **fibras alimentarias insolubles** los resultados del análisis del capítulo 3.1, de las **fibras alimentarias solubles** los resultados del análisis del capítulo 3.2.



#### Valores de medición típicos

Muestra	Contenido de fibra total [%]
Bio-muesli	9,4
Pan integral	11,9
Pan crujiente tipo escandinavo	12,0 - 13,7
Copos de avena	10,2

#### Información para el pedido de reactivos

Art.	Denominación	Tamaños de envase
1.01775	Bencina de petróleo para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l, 5 l
1.00983	Etanol absoluto para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l, 5 l
1.08382	Tris(hidroximetil)aminometano para análisis, sustancia tampón	100 g, 500 g, 1 kg
1.06126	Acido 2-morfolinoetanosulfónico monohidrato, sustancia tampón MES	25 g, 250 g, 1 kg
1.06498	Sođio hidróxido en lentejas para análisis EMSURE®	500 g, 1 kg, 5 kg
1.09063	Acido clorhídrico 2 mol/l (2 N) Titripur®	1 l
1.02693	Celite® 545	250 g, 1 kg
1.00014	Acetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
<b>1.12979</b>	<b>Fibras alimentarias totales</b>	1 envase

MilliporeSigma es la unidad Life Science de los Estados Unidos y Canadá de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. MilliporeSigma, Supelco y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321  
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400  
[www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)

**MILLIPORE  
SIGMA**