



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROJETO DESPERTANDO PARA A CIÊNCIA

OFICINA DE FIBRAS
Fibra Dietética Total (TDF)

Laysa Adriely Ferreira de Lima

PONTA GROSSA
2017

Objetivo: Determinar o teor total de fibras dietéticas (fibra alimentar) contida na polpa de Juçara;

ATIVIDADE PRÁTICA

Materiais:

- 8 béqueres de 500ml;
- 8 cadinhos de vidro com fundo poroso, número 2;
- Termômetro;
- Proveta;
- Folha de alumínio;
- Papel manteiga;
- Micropipeta;
- Balança analítica;
- Phmetro;
- Dessecador;
- Mufla 525°C;
- Estufa 105°C;
- Banho Maria, temperatura constante 60°C e 95°C, agitação durante a hidrólise enzimática;

Reagentes necessários:

- Etanol 95%;
- Etanol 78%;
- Tampão Fosfato de sódio, pH 6,0;
- NaOH, 0,275N;
- HCl, 0,325N;
- TDF -100^a KIT (Sigma):
 - A-amilase;
 - Protease;
 - Amiloglucosidade;
 - Celite;

Procedimento:

- **1º Dia:**

Fazer o procedimento para medir o branco com os mesmos reagentes utilizados para a determinação de TDF das amostras.

As amostras e branco deverão ser feitas pelo menos em quadruplicata, sendo duas para proteínas e duas para cinzas, para que se tenha uma avaliação com melhor exatidão.

1. Pesar em quadruplicata 1g de amostra (em papel manteiga) seca e desengordurada (se mais de 10% de gordura) passando-a para o béquer.

Peso das Amostras: SW
1:
2:
3:
4:

2. Adicionar 50 ml de tampão fosfato de sódio pH 6,0 em cada béquer.
3. Adicionar e 0,10ml (100 μ L) de enzima α -amilase em cada béquer.
4. Cobrir cada béquer com folha de alumínio e colocar em banho-maria. Agitar o béquer cuidadosamente por 5 minutos. Incubar por 15 minutos a 95° C (contar o tempo a partir do momento em que a temperatura interna do béquer tiver atingindo a temperatura desejada).
5. Deixar resfriar em temperatura ambiente.
6. Ajustar o pH das soluções para 7,5, adicionando 10 ml de NaOH 0,275N em cada béquer.
7. Adicionar e 0,10ml (100 μ L) de protease (50mg de protease em 1mL de tampão fosfato) em cada béquer.
8. Cobrir cada béquer com folha de alumínio e colocar em banho-maria a 60°C com agitação continua por 30 minutos (depois que a temperatura interna do béquer tiver alcançado a temperatura desejada).

9. Deixar as soluções esfriar até atingir a temperatura ambiente.
 10. Ajustar o pH das soluções para 4,6, adicionando 10 ml de HCl 0,325N em cada béquer.
 11. Adicionar e 0,10ml (100 μ L) de Amiloglucosidade.
 12. Cobrir cada béquer com folha de alumínio e colocar em banho-maria a 60°C com agitação continua por 30 minutos (depois que a temperatura interna do béquer tiver alcançado a temperatura desejada).
 13. Adicionar aproximadamente 400ml (4 vezes o volume do hidrolisado) de etanol 95% (pode ser álcool comercial) em cada béquer.
 14. Deixar a soluções em repouso durante uma noite em temperatura ambiente, para permitir uma completa precipitação. (OBS: a fibra solúvel está no sobrenadante, a fibra insolúvel já está precipitada).
- **2º Dia:**

Preparo

- Cadinhos:

Lavar os cadinhos de vidro com fundo poroso. Aquece-los por uma hora a 525°C e resfria-los. Enxaguá-los com água e seca-los. Adicionar 0,5g de celite em cada cadinho coloca-los na estufa por uma hora ou mais a 130°C. Resfria-los em dessecador, pesar com precisão de cerca de 0,1 mg. Registrar como: “celite +peso do cadinho” ou **W1**.

Peso dos cadinhos: W1	
Amostras	Branco
Cadinho 1:	Cadinho 5:
Cadinho 2:	Cadinho 6:
Cadinho 3:	Cadinho 7:
Cadinho 4:	Cadinho 8:

15. Filtração: molhar o fundo do cadinho e redistribuir a Celite. Utilizando etanol 78%. Aplicar uma leve sucção (com bomba a vácuo) para secar a Celite. Manter a sucção e transferir quantitativamente o precipitado e a suspensão de cada béquer para os respectivos cadinhos. Lavar o

béquer com três porções de 10mL de etanol 78% colocando todo o resíduo no cadinho e duas porções 10mL de etanol 95%.

16. Secar os cadinhos contendo resíduos durante a noite em estufa 105°C.

• **3º Dia:**

17. Resfriar todos os cadinhos em dessecador, pesando com precisão de 0,1mg e anotar os pesos como “resíduos+ celite+ peso de cadinhos” ou **W2**.

Peso dos cadinhos: W2	
Amostras	Branco
Cadinho 1:	Cadinho 5:
Cadinho 2:	Cadinho 6:
Cadinho 3:	Cadinho 7:
Cadinho 4:	Cadinho 8:

18. Analisar os resíduos de duas amostras e dois brancos para proteína por análise de Nitrogênio por Kjeldhal.

19. Determinar o teor de cinzas nos resíduos dos cadinhos de duas amostras e dois brancos por 5 horas a 525°C. Resfriar em dessecador e pesar com precisão de a 0,1mg, anotando o peso como “cinzas + celite + peso do cadinho” ou **W3**.

Peso dos cadinhos: W3	
Amostras	Branco
Cadinho 1:	Cadinho 5:
Cadinho 2:	Cadinho 6:

Cálculo:

Peso dos resíduos total (RT) = **W2 - W1**

Peso das cinzas (C) = **W3 - W1**

Peso da proteína (P) = **W2**

Branco (B) = **RT branco - P branco - C branco**

$$\%TDF = \frac{[RT \text{ amostra} - P \text{ amostra} - C \text{ amostra} - B \text{ branco}]}{SW} \cdot 100$$

%TDF = fibras dietéticas totais (g)

RT = peso médio dos resíduos total da amostra (g)

P = peso médio das proteínas da amostra (g)

C = peso médio das cinzas da amostra (g)

B = peso médio dos resíduos total do branco (g)

SW = peso médio das amostras (g)