

MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA FIBRA DIETÉTICA

JOSÉ GERALDO SABIONI *

A disponibilidade de métodos para determinação da fibra dietética na literatura é ampla, podendo-se classificá-los em três grupos de métodos: fibra crua, detergentes e enzimáticos. As vantagens e desvantagens destes métodos são discutidos. A necessidade de selecionar um método enzimático rápido, simples e preciso, para uso em controle de qualidade, ainda persiste. Métodos que permitem o fracionamento da fibra em seus constituintes, são importantes quando se deseja estudar o efeito fisiológico de componentes específicos da fibra.

1 INTRODUÇÃO

O efeito da fibra sobre o aspecto nutricional das dietas humanas tem recebido muita atenção nos últimos anos, pelos cientistas e povo em geral (11). Discussões detalhadas sobre o efeito da fibra na alimentação humana foram publicadas por REISER (13) e SCHENEEMAN (15, 16).

A definição mais aceita para fibra dietética foi proposta por TROWELL et alii (21), "fibra dietética consiste dos polissacarídeos e lignina das plantas, os quais são resistentes a hidrólise pelas enzimas digestivas do homem". A fibra dietética total (FDT) consiste de polissacarídeos não amiláceos, lignina, lipídeos de plantas e outras substâncias (11). Fibra dietética solúvel (FDS) corresponde a parte da FDT solúvel em água, como hemicelulose, substâncias pécnicas, gomas, alfa-galactosídeos e oligossacarídeos indigestíveis. Fibra dietética insolúvel (FDI) corresponde a constituintes vegetais como celulose e lignina (11, 12). Algumas das FDS como as substâncias pécnicas e gomas entre outras são adicionadas aos alimentos como espessantes, estabilizantes, etc. (11).

O conteúdo da fibra em produtos alimentícios pode ser calculado "por diferença", subtraindo-se de 100 a porcentagem de água, pro

*Professor do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto.

teína, lipídeos, carboidratos disponíveis e cinzas (8). A fórmula é aparentemente simples, mas de difícil aplicação, porque a determinação daqueles constituintes através das técnicas analíticas é uma tarefa demorada e laboriosa. Assim, vários métodos tem sido desenvolvidos para analisar quantitativamente a fibra. Muitos dos métodos propostos são complexos, outros não quantificam com precisão e reprodutibilidade a FDT no alimento. Neste artigo são apresentados alguns dos métodos disponíveis para a dosagem da fibra, procurando-se abordar suas vantagens e inconveniências.

2 MÉTODOS DE DOSAGEM DA FIBRA

Dentre os métodos disponíveis na literatura, pode-se distinguir os seguintes:

- a) métodos baseados na decomposição química;
- b) métodos baseados em resíduos, após extração com detergentes;
- c) métodos baseados em resíduos, após digestão enzimática.

3 DETERMINAÇÃO DA FIBRA POR DECOMPOSIÇÃO

Este método envolve o tratamento da amostra do alimento com álcalis e ácidos fortes, o que produz a hidrólise da maioria dos constituintes do alimento, tornando-os solúveis. A fração residual não digerida é determinada gravimetricamente, sendo conhecida como fibra crua (3). O método da fibra crua determina basicamente lignina e celulose, e está em desuso na nutrição humana, por não quantificar a FDS e causar a solubilização da fibra originalmente insolúvel. Assim, a fibra crua não mostra a real porcentagem do alimento indisponível ao homem (8, 13, 21). Baseado na premissa que a fibra crua é a fração do alimento mais resistente a hidrólise química ou microbiológica, este método torna-se útil quando se deseja conhecer a fração da FDT mais ou menos fermentável no intestino grosso (3).

4 DETERMINAÇÃO DA FIBRA POR DETERGENTES

O emprego de detergentes para a determinação de fibras foi proposto por VAN-SOEST (22). Na literatura pode-se destacar os seguintes métodos: fibra ácida, fibra neutra e fibra neutra enzimática.

Método da fibra ácida

Este processo desenvolvido por VAN-SOEST (22), consiste em tratar a amostra com brometo de cetil trimetil amônio 2% em solução de H_2SO_4 1N, sob refluxo. O resíduo não digerido contendo celulose e lignina, é determinado gravimetricamente como fibra ácida. O processo em si facilita a determinação da lignina.

Método da fibra neutra

VAN-SOEST & WINE (23) desenvolveram o método do resíduo em detergente neutro, o qual consiste em aquecer a amostra até a ebulição numa solução neutra de lauril sulfato de sódio (detergente). Essa solução remove carboidratos solúveis, proteínas e lipídeos.

O resíduo obtido após filtração é dosado gravimetricamente como fibra neutra, e contém celulose, lignina e hemicelulose.

Método da fibra neutra enzimático

Este processo foi desenvolvido por McQUEEN & NICHOLSON (10) para alimentos com elevado teor de amido, a fim de maximizar a remoção do amido do resíduo, através do uso de amilases. Para isso a amostra era tratada previamente com alfa-amilase por 12 a 18 horas a 40 C. Em seguida a fibra era determinada pelo método da fibra neutra (23).

Os métodos detergentes embora sejam rápidos e simples, somente dosam a FDI. A FDS não é recuperada, o que constitui uma desvantagem na dosagem da FDT em alimentos destinados à nutrição humana (2, 10, 11).

5 DETERMINAÇÃO DA FIBRA POR DIGESTÃO ENZIMÁTICA

A determinação da FDT através do resíduo do alimento não digerido por enzimas, é o método que mais se aproxima do processo digestivo humano, e que também atende ao conceito de fibra dietética proposto por TROWELL et alii (21). As enzimas utilizadas são as amilases e proteases de origem animal ou microbiana. Elas são empregadas para hidrolisar amido e proteína, tornando-os solúveis na fase aquosa, permitindo a separação da fase fibrosa. Todos os métodos de determinação da FDT recentemente desenvolvidos empregam uma ou mais enzimas.

Segundo PROUSKY et alii (12), análises devem ser conduzidas nas preparações enzimáticas, a fim de evitar a presença de enzimas indesejáveis como celulases, pectinases, hemicelulases e betaglucanases. Estas se presentes, podem hidrolisar parte da FDT, causando perda por solubilização. Toda vez que um lote de enzima for substituído e a cada seis meses, as atividades enzimáticas desejáveis, proteolíticas e amilolíticas, devem ser testadas (12).

A primeira tentativa de utilizar enzimas para a determinação da FDT em alimentos, foi conduzida por Remy, em 1931. Em 1935, Willians & Olmsted trataram a amostra de alimento com pancreatina, o resíduo não digerido era dosado como fibra. O método era demorado (três dias), e o longo tratamento da amostra com solução alcalina solubilizava parte da hemicelulose. Em 1951, Weinstock & Benham, também publicaram trabalho empregando enzimas na dosagem da FDT. Todos citados por HELLENDORN et alii (8).

O emprego de enzimas para dosagem da FDT, parece que tomou maior impulso através do trabalho de HELLENDORN et alii (8), publicado em 1975. O método consiste em tratar a amostra do alimento com pepsina por 18 horas, seguido de hidrólise com pancreatina por 1 hora. O resíduo não digerido era dosado por gravimetria como FDT. O método tem como desvantagem a não dosagem da FDS. Em 1979, SCHWEIZER & WURSCH (14), propuseram uma modificação do método de HELLENDORN et alii (8), visando a quantificação da FDS. Os componentes insolúveis eram separados por centrifugação e os solúveis por precipitação com etanol. Os açúcares e ácidos urônicos da fração fibrosa podem ser quantificados. O tratamento bioquímico brando a que a amostra é submetida, permite o estudo posterior das propriedades físicas da FDT, de importância na função

fisiológica.

Vários trabalhos tem sido propostos como meio de dosagem da FDT em vegetais e dietas, através do emprego de enzimas, BEACKER et alii (4), THEANDER & WESTERLUND (20), ANDERSON & CLIDESDALY (1), ASP et alii (2), PROUSKY et alii (12), FURDA (5), THEANDER & AMAN (18,19), SOUTHGATE et alii (17). O fluxograma esquemático de alguns métodos de determinação da FDT citados serão apresentados e discutidos adiante. JAMES & THEANDER (9) publicaram um livro no qual diversos métodos de dosagem da FDT são abordados.

HALVARSON & ALSTIN (6) desenvolveram aparelho denominado FIBER - TEC SYSTEM E, específico para dosar fibras em alimentos por processos enzimáticos publicados (2,4,5,8,14). Segundo os autores é possível analisar até 24 amostras por 24 horas, quando o método de ASP et alii (2) é empregado.

Os métodos recentes de dosagem da FDT, tem procurado otimizar a recuperação da FDS da matriz do alimento, pois esta parcela pode ser facilmente perdida, por ser solúvel em água. Os processos enzimáticos de dosagem da FDS acabam por permitir a dosagem da FDI. Na Tabela 1 estão apresentados as diversas etapas e procedimentos adotados para a dosagem da FDS. Cada parte do procedimento pode ter significantes efeitos sobre as partes subsequentes ou sobre o resultado final. Nem todas as partes dos procedimentos são utilizadas, e não necessariamente seguem a ordem apresentada. Logo após, serão apresentados alguns métodos enzimáticos de determinação da FDT, recentemente desenvolvidos.

TABELA 1 - PROCEDIMENTO PARA A ANÁLISE DA FDS, COM VARIAÇÕES, DE OLSON ET ALII (11)

ETAPAS	PROPÓSITOS	PROCEDIMENTOS
Pré-tratamento	Solubilizar fibra dietética disponível, remover lipídeos e açúcares solúveis.	Moagem, maceração, congelamento e secagem. Extração com solvente éter, etanol 80%, água quente ou fria. Autoclavação ou cozimento de alguma maneira.
Extração	Extrair fibra dietética solúvel.	Água quente ou fria Solução de EDTA Solução alcalina fraca TCA a frio
Tratamentos enzimáticos	Para remover amido e proteína, tornar a fibra solúvel mais disponível.	Alfa-amilase, amiloglicosidase, pancreatina, pepsina e pilulanase.
Separação	Para separar a fibra dietética insolúvel da solúvel.	Centrifugação, filtração, diálise, precipitação com álcool. Secar, pesar e corrigir para cinza e proteína.
Análise para monossacarídeos	Determinar composição monossacarídica dos polissacarídeos da fibra solúvel.	. Hidrólise ácida (ác. sulfúrico 1,0N, ác. trifluor acético 2N). . Transformação dos monossacarídeos em alditos correspondentes na forma de acetato trimetilsilil. . Separação e quantificação (C.G., G.L.A.F.)*
Análise da pectina	Determinar a composição dos polissacarídeos como ácido urônico.	. Dióxido de carbono liberado. . Colorimetria (método do carbazol, método do 3 fenil fenol, método de 3-5 dimetil fenol.*

* Cromatografia Gasosa, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

ANDERSON & CLIDESDALY (1) elaboraram um método específico para o fracionamento da FDT em seus constituintes e quantificação. O método inclui extração com água fria e quente. O extrato obtido com água fria era aquecido a 90 C/5 minutos e centrifugado para a separação da proteína. Polissacarídeos eram precipitados com álcool, coletados por centrifugação e analisados para açúcares neutros e ácidos. O extrato obtido com água quente era tratado com pancreatina para solubilizar o amido. Os polissacarídeos não hidrolisados eram precipitados com álcool e separados por centrifugação. A soma dos precipitados a frio e a quente fornece a FDS. O resíduo insolúvel (FDI) é fracionado em hemicelulose, celulose e lignina. Os resultados obtidos para FDT em farelo de trigo padrão pelo método proposto e por outros métodos estão na Tabela 2 e o fluxograma esquemático está representado na Figura 1.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DA FIBRA DIETÉTICA TOTAL EM FARELO DE TRIGO PADRÃO POR VÁRIOS MÉTODOS (ANDERSON & CLIDESDALY, 1980)

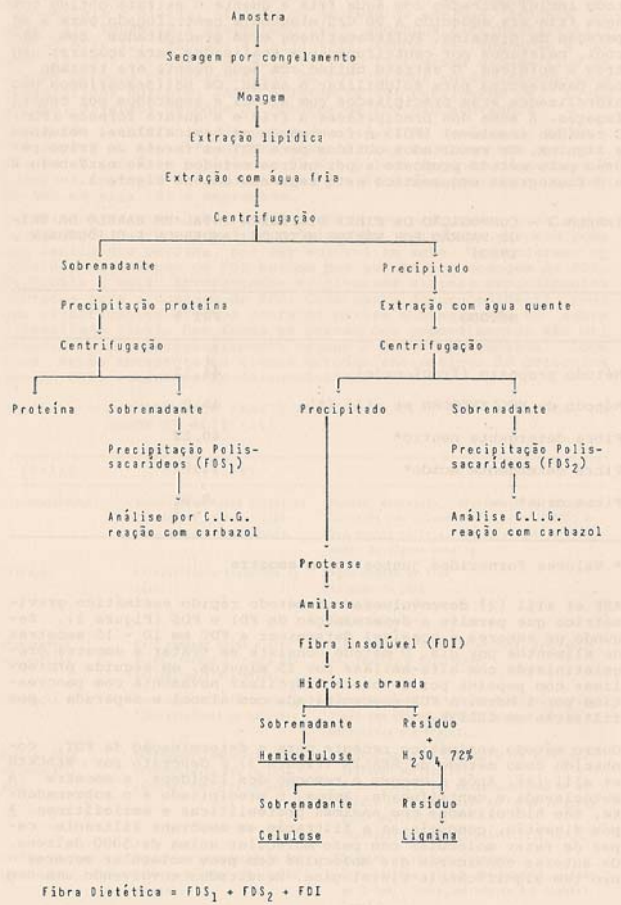
MÉTODO	FDT %
Método proposto (fracionado)	44,12
Método de HELLENDOORN et alii (8)	46,0
Fibra detergente neutro*	40,22
Fibra detergente ácido*	11,9
Fibra crua*	8,91

* Valores fornecidos juntos com a amostra

ASP et alii (2) desenvolveram um método rápido enzimático gravimétrico que permite a determinação da FDI e FDS (Figura 2). Segundo os autores é possível determinar a FDT em 10 - 15 amostras de alimentos por dia. O método consiste em tratar a amostra pregelatinizada com alfa-amilase por 15 minutos, em seguida proteolisar com pepsina por 1 hora e hidrolisar novamente com pancreatina por 1 hora. A FDS é precipitada com álcool e separada por filtração em CELITE.

Outro método enzimático recente para a determinação da FDT, conhecido como método de BERLIN (Figura 3) é descrito por BEACKER et alii (4). Após a moagem e remoção dos lipídeos, a amostra é autoclavada e centrifugada. Ambos, o precipitado e o sobrenadante, são hidrolisados com enzimas proteolíticas e amilolíticas. Após digestão, conduzia-se a filtração em membrana filtrante capaz de reter moléculas com peso molecular acima de 5000 daltons. Os autores consideram que moléculas com peso molecular menores não tem significância fisiológica. Resultados envolvendo uma com

FIGURÁ 1 - MÉTODO FRACIONADO DE ANDERSON & CLIDESDALY (1980)



paração entre o método de BERLIN e o método de ASP et alii (2), estão indicados na Tabela 3.

FIGURA 2 - MÉTODO GRAVIMÉTRICO PARA A ANÁLISE DE FIBRA DIETÉTICA (ASP et alii, 1983)

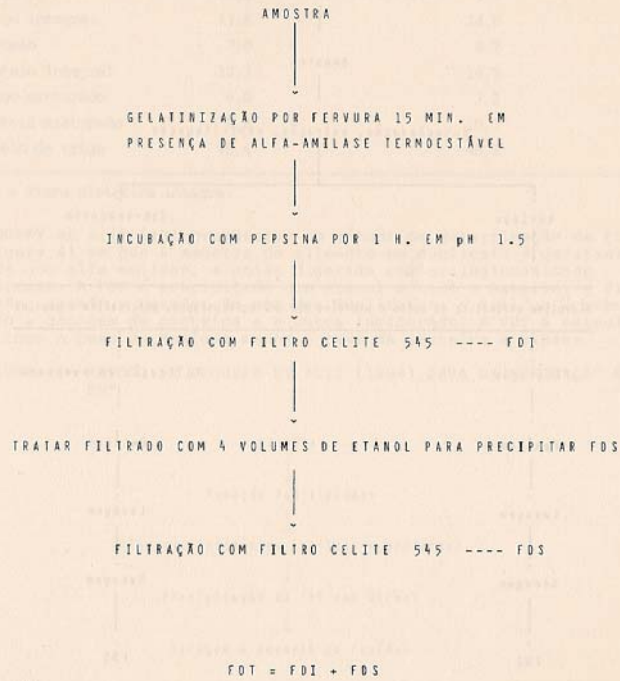


FIGURA 3 - MÉTODO DE BERLIN (de BEACKER et alii, 1986)

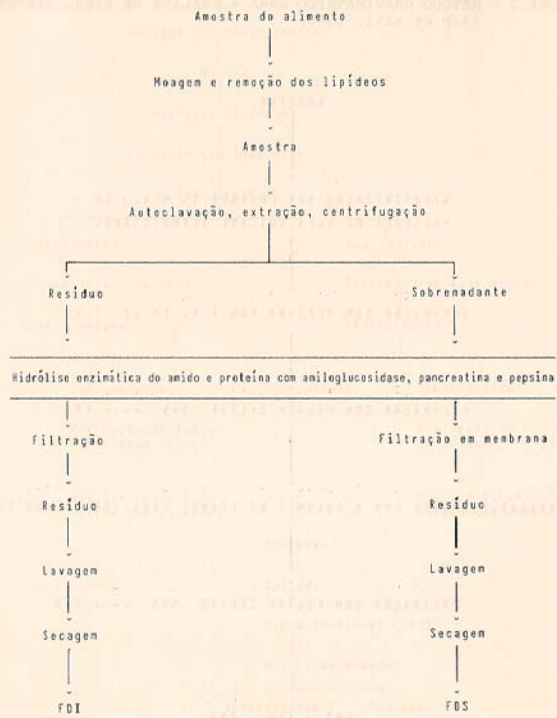


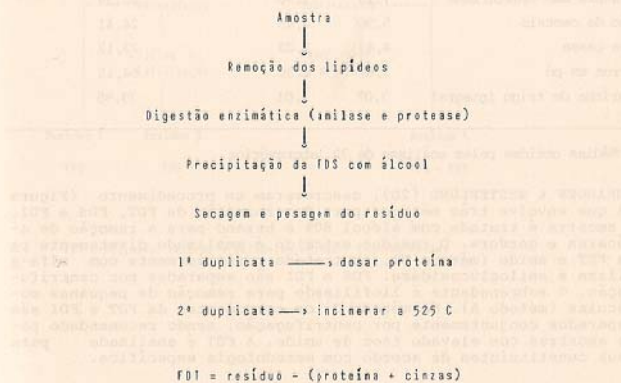
TABELA 3 - CONTEÚDO DE FIBRA DIETÉTICA DE VÁRIOS PÃES: COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE BERLIN E ASP ET ALII (2), (% DA MATÉRIA SECA), DE BEACKER ET ALII (4)

TIPO DE PÃO	MÉTODO BERLIN (%FDT)	MÉTODO DE ASP ET ALII (%FDT)
Trigo	5,0	4,7
Trigo integral	13,6	14,0
Centeio	7,0	8,7
Centeio integral	13,3	16,3
Trigo misturado	6,0	7,2
Centeio misturado	8,5	10,3
Farelo de trigo	45,4	48,6

FDT = Fibra dietética integral

PROUSKY et alii (12) propuseram um método de determinação da FDT (Figura 4) em que a amostra do alimento em duplicata é gelatinizada com alfa-amilase, e então digerida com amiloglucosidase e protease. A FDS é precipitada com etanol e todo o material é filtrado, secado e pesado. Em uma das duplicatas, o resíduo é submetido a dosagem de proteína e a outra incinerada. A FDT é calculada como o peso do resíduo menos o peso da proteína e cinzas.

FIGURA 4 - MÉTODO DE PROUSKY ET ALII (1984) PARA DETERMINAÇÃO DA FDT



Num estudo colaborativo entre 32 laboratórios, 13 amostras diferentes de alimentos foram analisadas pelo método de PROUSKY et alii (12). Os resultados estão representados na Tabela 4. Pode-se verificar que de um modo geral, a reprodutibilidade do método apresentou um Coeficiente de Variação (CV) menor para alimentos com maior teor de fibras. Ao passo que alimentos com menor teor de fibras apresentaram maior CV. As amostras de arroz em pó e isolado de soja apresentaram CV de 64,15 e 100,9%, respectivamente, valores estes inaceitáveis (12). Segundo SCHENEEMAN (15), a AOAC está avaliando este método para possivelmente torná-lo oficial.

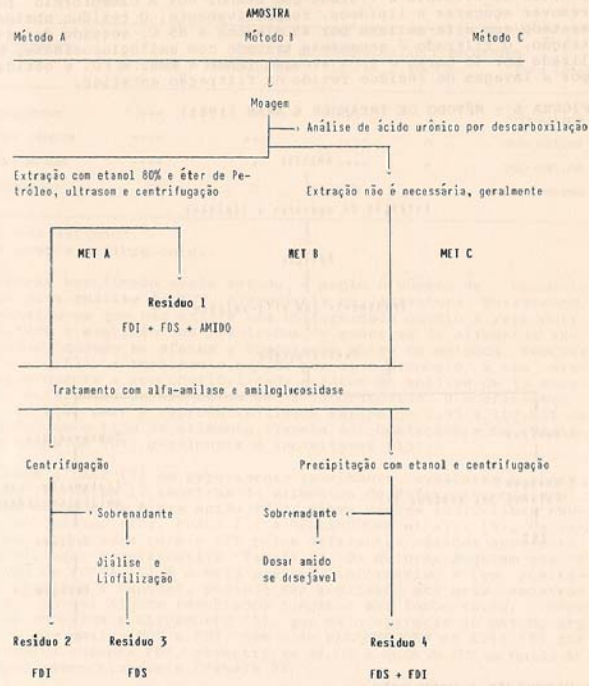
TABELA 4 - ESTIMATIVA DA FIBRA DIETÉTICA PELA ANÁLISE ENZIMÁTICA DE PROUSKY ET ALII (15)*

ALIMENTO	% FIBRA DIETÉTICA		REPRODUTIBILIDADE
	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE VARIAÇÃO %
Farelo de milho	89,02	2,63	2,95
Farelo de trigo	42,25	2,23	5,29
Alface	23,31	2,75	11,79
Farinha de trigo integral	12,92	1,43	11,04
Aveia	12,47	3,20	25,64
Mistura lacto-ovo vegetariana	8,59	1,90	22,07
Isolado de soja	7,51	7,58	100,93
Batata instantânea	7,22	0,96	13,24
Mistura não vegetariana	7,19	1,90	23,39
Pão de centeio	5,90	1,45	24,41
Uva passa	4,43	1,03	23,12
Arroz em pó	3,67	2,35	64,15
Farinha de trigo integral	3,07	1,01	39,95

* Médias obtidas pelas análises de 32 laboratórios.

THEANDER & WESTERLUND (20), descreveram um procedimento (Figura 5) que envolve três métodos para determinação da FDT, FDS e FDI. A amostra é tratada com álcool 80% e hexano para a remoção de açúcares e gordura. O resíduo extraído é analisado diretamente para FDT e amido (método B), ou tratado posteriormente com alfa-amilase e amiloglucosidase. FDS e FDI são separadas por centrifugação. O sobrenadante é liofilizado para remoção de pequenas moléculas (método A). No método C, os componentes da FDT e FDI são separados conjuntamente por centrifugação, sendo recomendado para amostras com elevado teor de amido. A FDT é analisada para seus constituintes de acordo com metodologia específica.

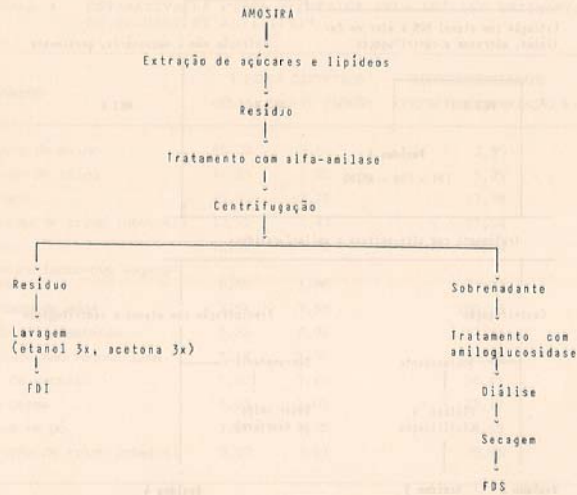
FIGURA 5 - ANÁLISE DE FIBRA DIETÉTICA (THEANDER & WESTERLUND, 1986)



FDI = Polímeros neutros + polímeros ácidos + lignina Klason

Um método enzimático de determinação da FDT, de simples execução mas demorado, foi proposto por THEANDER & AMAN (18), Figura 6. A amostra do alimento é tratada com etanol 80% e clorofórmio para remover açúcares e lipídeos, respectivamente. O resíduo obtido é tratado com alfa-amilase por 45 minutos a 85 C, seguido de filtração. O filtrado é novamente tratado com amiloglucosidase, dializado por 48 horas e após secagem rende a FDS. A FDI é obtida após a lavagem do resíduo retido na filtração anterior.

FIGURA 6 - MÉTODO DE THEANDER & AMAN (1981)



6 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Dentre os diversos métodos existentes de determinação da FDT, o da fibra crua é o menos sensível (Tabela 5), portanto não deve ser empregado em alimentos destinados ao consumo humano (2,8). Ao que parece, cada laboratório escolhe o método de acordo com sua conveniência. Segundo PROUSKY et alii (12) a "American Association of Cereal Chemists" adotou o método da fibra neutra (23), em substituição ao da fibra crua, a KELLOGG adota o método fibra neutra enzimático (10). Os métodos enzimáticos são os mais adequados para a determinação da FDT, porque simulam o processo digestivo humano, embora demandem um tempo maior de análise, devido à necessidade de incubação para a ação enzimática.

TABELA 5 - COMPARAÇÃO RELATIVA ENTRE DIVERSOS MÉTODOS DE ANÁLISE DOS COMPONENTES DA FIBRA EM ALIMENTOS, SCHENEEMAN - 1986

PROCEDIMENTO	GRAU DE DETERMINAÇÃO DOS COMPONENTES				
	celulose	hemicelulose	lignina	pectina	fibra total
Fibra crua	+++	+	++	a	sub-estima
Fibra neutra	+++	+++	+++	a	sub-estima
Fibra ácida	+++	+	+++	+	sub-estima
Enzimático	b	b	b	b	super-estima

a = não estimado.

b = compõe a fibra total.

Conforme verificado neste estudo, é amplo o número de metodologias para análise da FDT, disponíveis na literatura. Entretanto, constatou-se que não existe uma uniformidade quanto a reprodutibilidade e exatidão dos resultados de amostras de alimentos analisadas, quando se efetua a comparação entre os métodos. PROUSKY et alii (12), submeteram o método por eles proposto, a uma avaliação quanto a reprodutibilidade através da análise de 13 amostras diferentes de alimentos em 32 laboratórios. O coeficiente de variação para a reprodutibilidade variou de 2,95 a 100,93% de acordo com o tipo de alimento (Tabela 4). Coeficiente de variação acima de 30%, geralmente é inaceitável (15).

HECKMAN & LANE (7) em experimento semelhante, avaliaram o conteúdo de fibras em 12 amostras de alimentos de diferentes classes, pelos métodos de fibra ácida (22), fibra neutra (23), fibra neutra-enzimático (10), FURDA (5) e HELLENDOORN et alii (8). Os valores encontrados para a FDT pelos diferentes métodos apresentaram variação significativa (Tabela 6). Os autores sugerem que o método de FURDA (5) é o mais prático, informativo e tem aceitável precisão e rapidez, podendo ser analisado até seis amostras em 4,5 horas. Alguns resultados chegam a ser incoerentes, como os de ANDERSON & CLIDESDALY (1), que na comparação do método proposto que avalia FDS e FDI, com o de HELLENDOORN et alii (8) que determina somente FDI, encontraram 44,12% e 46,0% de FDT em farelo de trigo, respectivamente (Tabela 2).

Até o presente momento, nenhum estudo rigoroso foi realizado a fim de selecionar um método de referência, para uso em laboratório de controle de qualidade de alimentos de consumo humano. Para isso é necessário um método rápido, simples e reprodutível. As metodologias que melhor se adequam a tal propósito são as de ASP et alii (2), FURDA (5), SCHWEIZER & WURSCH (14) e PROUSKY et alii (12).

Metodologias detalhadas que envolvem o fracionamento da fibra em seus constituintes, como os de ANDERSON & CLIDESDALY (1), SOUTHGATE (17) e THEANDER & WESTERLUND (20), são importantes quando se deseja estudar os efeitos fisiológicos de componentes específicos da fibra dietética.

TABELA 6 - PROCENTAGEM DA FIBRA DIETÉTICA POR VÁRIOS MÉTODOS
HECKMAN & LANE, (1981)

AMOSTRA	FIBRA NEUTRA	FIBRA ÁCIDA	FIBRA NEUTRA ENZIMÁTICO	FURDA	HELLENDOORN ET ALII
Farelo de trigo	39,2	10,7	33,9	40,1	42,2
Pão de trigo integral	11,9	2,1	5,0	14,6	10,9
Farelo de trigo pré-adoçado	11,0	5,4	9,4	15,0	14,9
Farelo de milho	72,1	15,4	60,8	56,0	68,4
Cereal arroz	6,9	0,5	0,6	4,3	7,3
Polissacarídeos de soja	30,7	15,3	25,3	60,0	52,6
Maçã com casca	1,2	1,0	1,1	1,9	1,4
Laranja descascada	0,7	0,7	0,6	2,0	1,2
Alface	0,7	0,7	0,5	1,2	1,4
Cenoura	1,2	1,2	1,0	2,9	2,8
Pectina cítrica	1,0	0,6	-	88,1	nf*
Goma de feijão	nf	1,0	nf	82,0	nf

nf = não filtrável

Abstract

The available methods to determine dietetic fiber are very extensive in the literature. They are classified in three groups: raw fiber, detergent and enzymatic. The advantages and disadvantages of such methods are discussed. The need to select an enzymatic method which will be reliable, rapid and simple still exist. Also, methods that allow the fragmentation of the fiber into its main components are important when it is necessary to study their specific physiologic effects.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 ANDERSON, N.E. & CLIDESDALY, F.M. An analysis of dietary fiber content of a standard wheat bran. *J.Food Sci.*, 45(2): 336-340, 1980.
- 02 ASP, N.G.; JOHANSSON, C.G.; HALLMER, H.; SILJERSTROM, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J.Agric.Chem.*, 31(3):476-482, 1983.
- 03 ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 14th ed. 1984. p. 160-2.

- 04 BEACKER, H.G. et alii. Dietary fiber and bread: intake, enrichment, determination and influence on colonic function. Cereal Foods World, 31(4):306-10, 1986.
- 05 FURDA, I. In: JAMES, W.P.T. & THEANDER, O. (ed.) The analysis of dietary fiber in foods. New York, Marcel Dekker, 1981. p. 163-72.
- 06 HALVARSON, H. & ALSTIN, F. Dietary fiber determination methods. Cereal Foods World, 29(9):571-74, 1984.
- 07 HECKMAN, M.M. & LANE, S.A. Comparison of dietary fiber methods. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 64(6):1339-43, 1981.
- 08 HELLENDOORN, E.W.; NOORDHOFF, M.G. & SLAGMAN, J. Enzymatic determination of the indigestible residue (dietary fiber) content of human food. J.Sci.Food Agric., 26(10):1461-68, 1975.
- 09 JAMES, W.P.T. & THEANDER, O. The analysis of dietary fiber in food. New York, Marcel Dekker, 1981. 276 p.
- 10 McQUENN, R.E. & NICHOLSON, J.W.G. Modification of neutral-detergent fiber procedure for cereal and vegetables by using alpha-amylase. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 62:676-80, 1979.
- 11 OLSON, A.; GRAY, G.M.; CHIU, M. Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. Food Technol., 41(2):71-80, 1987.
- 12 PROUSKY, L. et alii. Determination of total dietary fiber in foods, foods products, and total diets: interlaboratory study. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 67(6):1044-52, 1984.
- 13 REISER, S. Metabolic effects of dietary pectins related to health. Food Technol. 41(2):91-9, 1987.
- 14 SCHWEIZER, T.F. & WURSCH, P. Analysis of dietary fiber. J.Sci.Food Agric., 30(6):613-19, 1979.
- 15 SCHENEEMAN, B.O. Dietary fiber: physical and chemical properties, methods of analysis and physiological responses. Food Technol. 40(2):104-10, 1986.
- 16 _____. Soluble x insoluble dietary fiber-different physiological responses. Food Technol., 41(2):81-2, 1987.
- 17 SOUTHGATE, D.A.T.; HUDSON, G.J.; ENGYST, H. The analysis of dietary fibre - the choices for the analyst. J.Sci.Food Agric., 29(11):979-88, 1978.
- 18 THEANDER, O. & AMAN, P. In: JAMES, W.P.T. & THEANDER, O. (ed.) The analysis of dietary fiber in food. New York, Marcel Dekker, 1981. p. 51-70.
- 19 _____. Studies on dietary fibre: a method for the analysis and chemical characterization of the total dietary fibre. J.Sci.Food Agric., 33(4):340-44, 1982.

- 20 THEANDER, O. & WESTERLUND, E.A. Studies on dietary fiber. 3. Improved procedures for analysis of dietary fiber. J.Food Agric.Chem., 34(2):330-36, 1986.
- 21 TROWELL, H. et alii. Dietary fiber redefined. Lancet, 1: 967, 1976.
- 22 VAN-SOEST, P.J. Use of detergents in the analysis fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 46(9):829-35, 1963.
- 23 VAN-SOEST, P.J. & WINE, R.H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 50(1):50-5, 1967.