١٢

تقدير الألياف
Fiber Determination

(١٢,١) طريقة وندي
Weende

المقدمة

تعتمد هذه الطريقة على إذابة وتحليل المركبات غير السليلوزية non-cellulosic بواسطة محلول حمض الكبريتيك المخفف ومحلول هيدروكسيد البوتاسيوم[١] المخفف.

الهدف: قياس الألياف بطريقة وندي.

المحاليل

١- محلول حمض الكبريتيك (١,٢٥٪ أو ٠,٥٥٢ع) = ١٢,٥ جم من الحمض المركز تخفف إلى ١٠٠٠مل بالماء المقطر.

٢- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (١,٢٥٪ أو ٠,٢٢٣ع) = ١٢,٥ جم من KOH تذاب في الماء المقطر وتخفف إلى ١٠٠٠مل.

---

(١) في طريقة الـ AOAC استبدل محلول هيدروكسيد البوتاسيوم بمحلول هيدروكسيد الصوديوم بنفس التركيز (١,٢٥٪).

الأجهزة

١- جهاز فيوي FIWE لاستخلاص الألياف الخام (شركة Velp).

٢- بواتق زجاجية Jena ذات مسام ٤٥ملم[٢].

تحضير العينة

يجب أن تكون العينة مجففة ومسحوقة ناعماً حتى تمر من منخل فتحته ١مم (١٨مش). تجفف العينة في فرن على ١٠٥-١١٠°م أو على ٧٠°م في فرن تفريغ. أما إذا كان التجفيف الحار يغير من طبيعة العينة فبالإمكان تجفيدها Freeze drying قبل الطحن. وإذا كانت نسبة الدهون في العينة تبلغ أكثر من ٥٪ فيجب نزع الدهن قبل طحنها.

خطوات الاستخلاص

١- زن بدقة ١جم من العينة المطحونة في كل من ستة بواتق زجاجية ويرمز لهذا الوزن بـ F0.

٢- ضع البواتق الستة في مكانها المخصص، بينما تكون اليد الرافعة للجهاز في الوضع العلوي.

٣- انزل اليد الرافعة وثبتها في الوضع السفلي. يجب أن تكون البواتق الآن مثبتة بإحكام.

٤- افتح الماء واضبط معدل السريان بحوالي ٢ لتر في الدقيقة.

٥- شغل الجهاز وتأكد من إضاءة لمبة التشغيل.

٦- أضف ١٥٠ مل من محلول الحمض الذي سبق تسخينه حتى تقلل من الوقت المطلوب لبدء الغليان.

---

(٢) إذا كانت العينة بالغة النعومة (مثل دقيق فول الصويا) وخشي أن تسد ذراتها فتحات البوتقة فيمكن إضافة مادة السيلايت Celite إلى البوتقة قبل وزنها.

٧- أضف ٣- ٥ نقط من الأوكتانول (كمضاد للرغوة).

٨- دع محلول الحمض يغلي لمدة ٣٠ دقيقة بالضبط.

٩- شغل طلمبة التفريغ لصرف محلول الحمض.

١٠- اغسل ثلاثة مرات بحوالي ٣٠ مل من الماء المقطر الساخن وقلب العينة بمساعد تشغيل الهواء المضغوط.

١١- بعد نهاية عملية الغسيل أضف ١٥٠ مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (الذي سبق تسخينه) ثم أضف ٣- ٥ نقط من الأوكتانول.

١٢- دع المحلول القاعدي يغلي لمدة ٣٠ دقيقة بالضبط.

١٣- رشح وأغسل كما الخطوة (١٠).

١٤- اغسل بالماء المقطر البارد ثم بالأسيتون ثلاثة مرات (٢٥ مل) في كل مرة وقلب العينة بواسطة الهواء المضغوط.

١٥- انقل البواتق إلى فرن تجفيف (١٠٥- ١١٠°م) لمدة ساعة (أو حتى ثبات الوزن). ضعها في المجفف حتى تبرد ثم أوزن (F1).

١٦- انقل البواتق إلى فرن الحرق (٥٥٠°م) لمدة ثلاثة ساعات ثم زنها بعد التبريد في المجفف (F2).

-١٧

$$\text{نسبة الألياف الخام} = \frac{F1-F2}{F0} \times ١٠٠$$

(١٢,٢) تقدير الألياف الغذائية في الأغذية بطريقة AOAC الإنزيمية الوزنية

Determination of Dietary Fiber in Foods by AOAC Enzymatic Gravimetic Method

مقدمة

هذه التجربة لتحليل محتوى الأغذية من الألياف الغذائية باستعمال الطريقتين الأنزيمية والوزنية، وتعالج الأغذية الخالية من الدهن والجافة بألفا أميلاز المتحملة للحرارة ثم تهضم أنزيمياً بإضافة البروتييز protease وأميلوجلوكسيدز amyloglocosides لإزالة البروتين والنشا الموجودين في العينة، ويضاف الإيثانول لترسيب الألياف الغذائية الذائبة، ويغسل الراسب بعد ترشيحه بالإيثانول والأستيون ويجفف ويوزن، ويؤخذ نصف الراسب ويحلل البروتين فيه ويقدر في النصف الثاني الرماد، وتؤخذ الألياف الغذائية الكلية على أنها وزن الراسب ناقصاً منه وزن البروتين والرماد.

الهدف: تقدير الألياف الغذائية بالطريقة الإنزيمية الوزنية.

الأجهزة

- بوتقة ترشيح زجاجية ، درجة مساميتها ٢ (٤٠-٦٠ ميكرومتر).
- فرن التجفيف.
- فرن الترميد بالدرجة ٥٢٥°م .
- حمام مائي بدرجة الغليان.
- حمام مائي بالدرجة ٦٠°م مع خلاط.
- جهاز قياس pH.
- الكواشف :
- بتروليم ايثر.
- إيثانول ٩٥٪.
- إيثانول ٦٨٪.

- أسيتون.
- ألفا أميلاز ثابتة حرارياً (Sigma product No.A0164).
- أميلوجلوكسيدز (Sigma product No.A19913).
- محلول هيدروكسيد الصوديوم 0.171 M.
- محلول حمض الفسفوريك 0.205 M
- سيليت مغسول بالحمض Celite acid washed .
- محلول فوسفات منظم، 0.05 M، pH=6: يحضر بإذابة 0.875 جرام من فوسفات الهيدروجين ثنائية الصوديوم اللامائية Na_2HPO_4 مع 5.26 جرام من فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين اللامائية NaH_2PO_4 في نحو 700 مل ماء، وتكمل إلى لتر، تأكد من الـ pH وعدله إلى ٦ إذا كان ضرورياً بهيدروكسيد الصوديوم أو بحمض الفسفوريك احفظه في وعاء مغلق في الثلاجة.

طريقة العمل

١- احرق أربع بواتق (اثنتين لعينة التحليل واثنتين للمضابطة) وبرد، أضف ٠,٥ جرام من السيليت لكل بوتقة، جفف حتى تحصل على وزن ثابت وسجل الوزن الدقيق واحفظ في المجفف الزجاجي، استخلص الدهن من العينة إذا كان يزيد عن ٥٪ مستعملاً أثير البترول بكمية ٣×٢٥ مل من المذيب لكل جرام عينة، سجل فقد الوزن الناشئ عن استخلاص الدهن واعمل التصحيح المناسب على النسبة المئوية للألياف.

٢- امزج عينة الغذاء وجانسها اذا كان ضروريا، وجفف في فرن بدرجه ١٠٥°م، برد في مجفف زجاجي، اطحن العينة حتى الحصول على دقائق ناعمة واحفظها في المجفف لحين التحليل.

٣- زن بدقة في أربعة كؤوس زجاجية سعة كل منها ٤٠٠ مل أربع عينات وزن كل منها نحو ١ جرام من الغذاء المحلل، وأضف ٥٠ مل محلول فوسفاتي منظم الحموضة (pH=6) لكل كأس.

٤- أضف ٠.٢ مل محلول ألفا أميلاز لكل كأس وامزج جيداً، غط كل كأس برقاقة ألومنيوم وضعه في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة ٣٠ دقيقة وحرّك الكؤوس كل ٥ دقائق، وتحسب بداية فترة ٣٠ دقيقة من زمن بلوغ درجة الحرارة الداخلية في الكؤوس إلى ٩٥°م، برد المحاليل إلى درجه حرارة الغرفة.

٥- عدّل من pH في المحاليل في الكؤوس إلى ٧,٥ بإضافة ١٠ مل من 0.17 M هيدروكسيد الصوديوم وتأكد من رقم pH، وعدل عند الضرورة إما بهيدروكسيد الصوديوم أو بحمض الفوسفوريك.

٦- أضف ٥ ملجرام بروتييز لكل كأس، يوجد هذا الإنزيم بشكل مسحوق ولذا من المناسب تحضير محلول يحوي ٥ ملجرام/مل وذلك بإذابة ٠,٠٣٥ جرام بروتييز في ٧ مل محلول فوسفات منظم الحموضة Buffer، ثم خذ ١ مل من هذا المحلول وأضفه إلى كل كأس.

٧- غطِ كل كأس برقاقة ألمنيوم وحضن لمدة ٣٠ دقيقة عند درجة ٦٠م مع التحريك المستمر. ويحسب وقت الحضن بدءاً من بلوغ درجة الحرارة الكؤوس الداخلية الدرجة ٦٠°م، برد لدرجة حرارة الغرفة.

٨- أضف ١٠ مل حمض الفوسفور M.205 لكل كأس وعدل pH المحاليل إلى نحو ٤,٥ وتأكد من صحة ذلك باستعمال جهاز قياس pH وعدل عند الضرورة باستعمال هيدروكسيد الصوديوم أو حمض الفسفوريك.

٩- أضف ٠,٣مل أميلوجلوكوسيدز لكل كأس، غط كل كأس برقاقة ألمنيوم واحضن لمدة ٣٠ دقيقة بالدرجة ٦٠ °م مع التحريك المستمر، يحسب زمن الحضن بدءاً من بلوغ درجة الحرارة الداخلية ٦٠ °م، أضف ٢٨٠مل أو ٤ أحجام من ٩٥٪ إيثانول المسخن مسبقاً إلى الدرجة ٦٠ °م لكل كأس.

١٠- دع الراسب يتشكل عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة على الأقل، أو طيلة الليل، وتأكد من أن زمن الترسيب هو نفسه مع الكؤوس جميعا، رطب وحرك طبقة السيليت في كل بوتقة باستعمال ٧٨٪ الإيثانول، وطبق التفريغ لتوزيع السيليت على المرشح الزجاجي على هيئة حصيرة متجانسة.

١١- انقل مع الاستمرار بالتفريغ كمياً الرواسب والمعلقات من كل كأس إلى البوتقة الخاصة، واغسل الراسب ثلاث مرات بـ ٢٠ مل من ٧٨ ٪ إيثانول، ومرتين بمقدار ١٠ مل أسيتون وإذا تشكل هلام، اكسر سطحه بالملعقة، واغسلها في البوتقة. يستغرق زمن الترشيح نحو ٣٠ دقيقة وسطياً، ويتراوح بين ٥ دقائق إلى ٦ ساعات.

١٢- جفف البوتقات التي تحوي الرواسب طيلة الليل في الدرجة ١٠٥°م في فرن ذي هواء ساخن أو في فرن تفريغ ٧٠°م، برد جميع البوتقات وزنها سجل الوزن على أنه "الراسب + السليت + البوتقة" حلل البروتين في بقايا إحدى العينتين وإحدى الضابطتين مستعملاً طريقة كلداهل وعامل تحويل ٦,٢٥.

١٣- رمد الراسب من العينة الضابطة الأخرى لمدة ٥ ساعات في الدرجة ٥٢٥°م، برد في المجفف الزجاجي وزن، يؤخذ الوزن على أنه يساوي "الرماد + السيليت + البوتقة"

الحسابات

احسب النسبة المئوية للألياف الكلية كما يلي:

١- وزن الراسب = (الراسب + السيليت + البوتقة) — (السيليت +البوتقة).

٢- وزن الرماد = (الرماد + السيليت + البوتقة) — (السيليت + البوتقة).

٣- ٪ البروتين في راسب الضابطة = (ملجرام البروتين في الضابطة / وزن راسب الضابطة ملجرام) × ١٠٠ = Pb

٤- ٪ الرماد في راسب الضابطة = (ملجرام الرماد في الضابطة / وزن راسب الضابطة ملجرام) × ١٠٠ = Ab

٥- ٪ البروتين في راسب العينة = (ملجرام البروتين في العينة / وزن راسب العينة ملجرام) × ١٠٠ = Ps

٦- ٪ الرماد في راسب العينة = (ملجرام الرماد في العينة / وزن راسب العينة ملجرام) × ١٠٠ = As

٧- الضابطة = Wb − { Wb ×[100/(Ab+Pb)]}

حيث Wb = متوسط وزن راسب الضابطة بـ الملجرام.

٨- ٪ الألياف الغذائية الكلية = (الضابطة − { Ws ×[100/(As+Ps)]} - Ws / متوسط وزن العينات ملجرام) × ١٠٠

حيث Ws = متوسط وزن الراسب في العينات بـ الملجرام.