

MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV (Codex Alimentarius Hungaricus)

3-2-2008/1 számú irányelv

Élelmiszerek összes élelmi rosttartalmának a meghatározása enzimes-gravimetriás módszerrel

1. §.

1. Ezen irányelv az élelmiszerekről szóló 2003. évi LXXXII törvény 17. § (2) bekezdésének c) pontja alapján az élelmiszerek élelmi rosttartalmának meghatározására ajánlott vizsgálati módszert tartalmazza. Célja, hogy a gazdaság szereplői és az ellenőrzés egységes elvek és módszerek alapján határozza meg a termékeken deklarált illetve a jogszabályokban előírt rosttartalom mennyiségét.

2. Az élelmiszerek összes rosttartalmának meghatározását az *1. és 2. számú Melléklet* tartalmazza.

2. §.

Ez az irányelv az FVM Értesítőben történő közzététel időpontjától alkalmazható.

1. számú Melléklet a 3-2-2008/1 számú irányelvhez

Élelmiszerek összes élelmi rosttartalmának a meghatározása enzimes-gravimetriás módszerrel I.

A módszer az AOAC 985.29 számú *Total dietary fiber in foods* című vizsgálati módszerének átvételével készült

1. Fogalom meghatározás

Az összes élelmi rost az emészthetetlen szénhidrátok és a lignin összege. A legfontosabb élelmi rost típusok:

- Nem-keményítő poliszacharidok – cellulózok, hemicellulózok, pektinek, hidrokolloidok (gumik, nyálkaanyagok, β -glukánok)
- Rezisztens oligoszacharidok – frukto-oligoszacharidok (FOS), galakto-oligoszacharidok (GOS), egyéb rezisztens oligoszacharidok
- Rezisztens keményítő – fizikailag bezárt keményítő, néhány típusú nyers keményítő granulátum, retrogrált amilóz, kémiaileg és/vagy fizikailag modifikált keményítők
- Diétás rost poliszacharidokkal természetesen egyesült lignin

2. Alkalmazási terület

A módszerrel az oldható és az oldhatatlan élelmi rost komponensek összes mennyisége határozható meg.

3. A módszer elve

1. Hőstabil α -amiláz enzimmel (termamyl) bontjuk a keményítő részeket, eltávolítva ezzel a rost értékét növelő szénhidrátok nagy részét.
2. Fehérjebontó enzim (proteáz) segítségével hidrolizáljuk a fehérjét.
3. Amiloglikozidáz enzim segítségével a maradék szénhidrátokat egyszerű cukrokká hidrolizáljuk.
4. Négyszeres térfogatú alkohollal az oldható rost komponenseket lecsapjuk, így azok együtt mérhetőek az oldhatatlan rost komponensekkel.
5. A szűrés után megmaradó rész az élelmi (diétás) rost.
6. A maradék fehérje és hamu meghatározásával korrekciót alkalmazunk, amellyel kiküszöböljük az enzimes hidrolízisek hibáját.

4. Vegyszerek és segédanyagok

- 4.1. 95% (V/V)-os etil-alkohol
- 4.2. 78% (V/V)-os etil-alkohol: mérjük 207 ml vizet 1 literes mérőlombikba. Töltsük fel 95% (V/V)-os etil-alkohollal. Rázzuk össze, és ha szükséges töltsük fel újra 95% (V/V)-os etil-alkohollal. Rázzuk össze. Egy térfogat vizet négy térfogat 95% (V/V)-os etil-alkohollal keverve szintén 78% (V/V)-os etil-alkohol tartalmú oldatot nyerünk.
- 4.3. Aceton
- 4.4. Foszfát puffer – 0,08 mólos, pH = 6,0. Oldjunk fel 1,400 g vízmentes dinátrium-hidrogén-foszfátot (Na_2HPO_4) (vagy 1,753 g két kristályvizeset) és 9,68 nátrium-dihidrogén-foszfátot (NaH_2PO_4) (vagy 10,94 g két kristályvizeset) kb. 700 ml vízben. Töltsük fel vízzel 1 literre. Ellenőrizzük a pH-ját pH mérővel.
- 4.5. Termamyl (hő-stabil α -amiláz enzim) oldat – No 120 L, Novo Laboratories, Inc., Wilton, CT 06897, vagy ezzel egyenértékű. Hűtőszekrényben kell tárolni.
- 4.6. Proteáz enzim – No. P-3910 Sigma Chemical Co., vagy ezzel egyenértékű. Hűtőszekrényben kell tárolni.
- 4.7. Amilo-glukozidáz enzim – No. A-9913, Sigma Chemical Co., vagy ezzel egyenértékű. Hűtőszekrényben kell tárolni.

Kapható mindhárom enzimet tartalmazó kit is, Sigma Chemical Co., Kit No. TDF-100 (helyettesíthető a No. TDF-100 A-val)
- 4.8. Nátrium-hidroxid oldat – 0,275 mólos. Oldjunk fel egy 1 literes mérőlombikban 11,00 g NaOH-ot 700 ml vízben, majd töltsük fel jelig vízzel.
- 4.9. Sósav oldat – 0,325 mólos. Hígítsunk ismert töménységű törzs oldatot, pl. 325 ml 1 mólos HCl oldatot 1 literre vízzel.
- 4.10. Celite C-211 – Savval mosott, Fisher Scientific Co., vagy ezzel egyenértékű

Megjegyzések:

1. Az enzimek felhasználása előtt, illetve maximum hathavonta – a gyártó utasítása szerint – ellenőrizni kell az enzimaktivitást.

2. Az enzimek és egyéb vegyszerek kereskedelmi nevének meghatározása információ, amely a módszer felhasználóinak kíván segítséget nyújtani, de ez nem jelenti a termékeknek a módszer készítői által való jóváhagyását.

5. Eszközök

- 5.1. Hőálló üveg szűrőtégely, G2 porozitású Gondosan tisztítsuk meg, egy órán keresztül hevítsük 525°C-on, majd mossuk és öblítsük ki vízzel. Levegőn szárítsuk meg, tegyük bele kb. 5 g Celite-t, és 130°C-on szárítsuk tömegállandóságig (≥ 1 óra). Hűtsük le, és felhasználásig tároljuk exsikkátorban.
- 5.2. Vákuum-forrás – Vákuum pumpa, vagy vízlég-szivattyú, két vákuum lombikkal összekötve, hogy víz-visszaszívás esetén meggátoljuk szennyeződés keletkezését.
- 5.3. Vákuum szárítószekrény, 70°C-os, vagy atmoszférikus nyomású, 105°C-ra beállítható.
- 5.4. Exsikkátor.
- 5.5. Vízfürdő. (1) forrásban tartó, (2) állandó hőmérsékletű termosztát: 60°C-ra beállítható, többfokozatú rázógéppel, vagy mágneses keverővel ellátott, hogy az enzimes hidrolízis alatt biztosítva legyen a digeráló lombik állandó mozgatása.
- 5.6. Főzőpoharak, magasak, 400 vagy 600 ml-es
- 5.7. Analitikai mérleg
- 5.8. pH mérő, pH = 7 és pH = 4 értékre beállítva
- 5.9. Izzítókemence, 525 \pm 5°C-on

6. A minta előkészítése

A minta összes élelmi rosttartalmát szárított mintából kell meghatározni. Homogenizáljuk a mintát, majd szárítsuk vákuum szárítószekrényben 70°C-on egy éjszakán át. Hűtsük le exsikkátorban, majd a minta egy részét darálóban aprítsuk 0,3 – 0,5 mm nagyságúra. Ha a mintát nem lehet melegíteni, az aprítás előtt fagyasztva szárítsuk. Ha a minta magas zsírtartalma (>10%) megakadályozza a hatékony darálást, petroléterrel zsírtalanítsuk (háromszor 25 ml-es adag/gramm minta) darálás előtt. Határozzuk meg a zsírtalanítás okozta súlyvesztést, és a korrekciót vegyük figyelembe a végső rost % meghatározásánál. A szárított őrlött mintát az analízis megkezdéséig exsikkátorban, fedeles edényben kell tárolni.

7. A vizsgálat menete

A méréshez alkalmazott reagensek által okozott érték növekedés kiküszöbölésére vakpróbát kell végezni úgy, hogy az egész eljárást lefolytatjuk minta bemérése nélkül.

Mérjük be kétszer 1 g mintát 0,1 mg pontossággal 400 ml-es hosszúkás főzőpohárba. A minták tömegkülönbsége nem lehet nagyobb 20 mg-nál. Mindegyik főzőpohárba öntsünk 50 ml 6,0 pH-jú foszfát puffert. Ellenőrizzük a pH-t, és ha szükséges, állítsuk be pH = 6,0 \pm 0,2 értékre. Adjunk hozzá 0,1 ml termamyl oldatot. Fedjük be a főzőpoharat alumínium fóliával, és 15 percre helyezzük forrásban lévő vízfürdőbe. 5 percig erőteljesen keverjük. Az inkubálási időt növelni kell, ha a forrásban lévő vízfürdőben lévő főzőpoharak nagy száma miatt a főzőpoharak tartalmának belső hőmérséklete nem éri el a 95 – 100°C-ot. Hőmérővel ellenőrizzük, hogy a hőfok 15 percig 95 – 100°C között legyen. Összesen 30 perc a vízfürdőben biztosan elegendő.

Hűtsük le az oldatokat szobahőmérsékletre. Állítsuk be a pH-t $7,5 \pm 0,2$ értékre 10 ml 0,275 n NaOH oldattal.

Adjunk hozzá 5 mg proteázt (a proteáz hozzáragad a spatulához, ezért célszerű enzim oldatot készíteni [50 mg 1 ml foszfát pufferben], és ebből 0,1 ml-t pipettázni mindenegyes mintához, közvetlenül felhasználás előtt).

Fedjük be a főzőpoharat alumínium fóliával. Inkubáljuk 30 percig 60°C -on állandó keverés közben. Hűtsük le. Adjunk hozzá 10 ml 0,325 mólos HCl oldatot. Mérjük meg a pH-ját, és, ha szükséges, adjunk hozzá még néhány csepp savat. A végső pH 4,0 – 4,6 között legyen. Adjunk hozzá 0,3 ml amilo-glükozidázt, fedjük be alumínium fóliával, és inkubáljuk 30 percig 60°C -on állandó keverés közben. Adjunk hozzá 280 ml 60°C -ra melegített 95 %-os etil-alkoholt (a térfogatot melegítés előtt kell mérni). Csapadék képződéséhez hagyjuk szobahőmérsékleten 60 percig.

Mérjük meg a Celite-t tartalmazó szűrőtégelyt 0,1 mg pontossággal, azután a szűrőtégelyben egyenletesen elosztott Celite ágyat nedvesítsük meg 78 %-os etil-alkohollal. A Celite-t vákuumpumpával, vagy vízlégszivattyúval való szívással egyenletesen oszlassuk el a szűrőtégelyen. A szívás fenntartása mellett vigyük át a szűrőre az enzim feltárással keletkezett csapadékot.

Mossuk a csapadékot egymást követően háromszor 20 ml 78%-os etil-alkohollal, majd kétszer 10 ml 95%-os etil-alkohollal, végül kétszer 10 ml acetonnal. Néhány minta lehet sűrű, nyálkás, folyadékot zárhat magába, ez esetben a szűrés elősegítésére spatulával törjük meg a filmfelületet. A szűréshez és a mosáshoz szükséges idő 0,1-től 6 óráig változhat, átlagosan 0,5 óra/minta. A hosszú szűrési idő elkerülhető a szűrés alatt alkalmazott egyenletes, gondos szívással.

Szárítsuk a csapadékot tartalmazó szűrőt egy éjszakán át vákuum szárítószekrényben 70°C -on, vagy atmoszférikus nyomású szárítószekrényben 105°C -on. Hűtsük le exsikkátorban, majd mérjük meg a súlyát 0,1 mg-os pontossággal. A csapadék tömegének a meghatározásához vonjuk le a szűrő és a Celite súlyát.

Határozzuk meg az egyik párhuzamos minta csapadékának a fehérje tartalmát Kjeldahl módszerrel, $N \times 6,25$ átszámítási faktort használva.

A másik párhuzamos minta csapadékát hamvasszuk 5 órán keresztül 525°C -on. Hűtsük le exsikkátorban, majd mérjük meg a súlyát 0,1 mg-os pontossággal. A hamu súlyának a meghatározásához vonjuk le a szűrő és a Celite súlyát.

8. Az eredmény kiszámítása

Határozzuk meg a vak értéket (m_{vak}) a következő képlet alapján:

$$m_{\text{vak}} = m_{\text{vcs}} - m_{\text{vf}} - m_{\text{vh}}$$

ahol

m_{vak}	a vakérték mg-ban,
m_{vcs}	a párhuzamos vak meghatározások csapadékának az átlagtömege mg-ban,
m_{vf}	az egyik párhuzamos vakminta csapadékának fehérje tartalma mg-ban,
m_{vh}	a másik párhuzamos vakminta csapadékának hamutartalma mg-ban

Az összes élelmi (diétás) rost tartalmát (TDF) a következő képlettel számítjuk ki:

$$\text{TDF} = [(m_{\text{mcs}} - m_{\text{mf}} - m_{\text{mh}} - m_{\text{vak}}) / m_{\text{m}}] \times 100$$

ahol

TDF	az összes élelmi (diétás) rost tartalom %-ban,
m_{mcs}	a párhuzamos meghatározások csapadékának átlagtömege mg-ban,
m_{mf}	az egyik párhuzamos minta csapadékának fehérje tartalma mg-ban,
m_{mh}	a másik párhuzamos minta csapadékának hamutartalma mg-ban,
m_{m}	a két párhuzamos minta tömegének az átlag mg-ban

9. A módszer reprodukálhatósága

A módszer reprodukálhatósága kevesebb, mint 5%.

Élelmiszerek összes ételmi rosttartalmának a meghatározása enzimes-gravimetriás módszerrel II.

A módszer az AOAC 985.29 számú módszer alapján,
a Megazyme International Ireland Limited *Total dietary fibre assay procedure* című vizsgálati
módszerének átvételével készült.

1. Fogalom meghatározás

Az összes ételmi rost az emészthetetlen szénhidrátok és a lignin összege. A legfontosabb ételmi rost típusok:

- Nem-keményítő poliszacharidok – cellulózok, hemicellulózok, pektinek, hidrokolloidok (gumik, nyálkaanyagok, β -glukánok)
- Rezisztens oligoszacharidok – frukto-oligoszacharidok (FOS), galakto-oligoszacharidok (GOS), egyéb rezisztens oligoszacharidok
- Rezisztens keményítő – fizikailag bezárt keményítő, néhány típusú nyers keményítő granulátum, retrogrált amilóz, kémiai és/vagy fizikailag módosított keményítők
- Ételmi rost poliszacharidokhoz természetesen kötött lignin

2. Alkalmazási terület

A módszerrel feldolgozott élelmiszerek és nyersanyagok, gabonák, gyümölcsök, zöldségek összes ételmi rost tartalma határozható meg.

3. A módszer elve

Az összes ételmi rost (TDF) mennyiségét szárított, zsírtmentesített (ha a zsírtartalom >10 %) párhuzamos mintából határozzuk meg. A mintát

- ~ 100°C-on főzzük hőstabil α -amilázzal, hogy a keményítőt zselésítsük, hidrolizáljuk, depolimerizáljuk;
- 60°C-on inkubáljuk proteázzal, hogy a fehérjéket depolimerizáljuk és oldhatóvá tegyük;
- amiloglukozidázzal, hogy a keményítő részeket glükózzá hidrolizáljuk;
- négy térfogatrész etanollal az oldható rostból csapadékot képezünk, és eltávolítjuk a depolimerizált fehérjét és glükózt.
- a maradékot szűrjük;
- mossuk 78%-os etanollal, 95%-os etanollal és acetonnal;
- szárítjuk;
- lemérjük;
- az egyik párhuzamos mintából meghatározzuk a fehérjetartalmat;
- a másiktól 525°C-on a hamutartalmat;
- az összes ételmi rost (TDF) tartalmat megkapjuk, ha a leszűrt és megszártott csapadék tömegéből levonjuk a fehérje és a hamu mennyiségét.

A vizsgálathoz Megazyme enzim készletet alkalmazunk. A Megazyme TDF K-TDFR 01/05 test kit nagy tisztaságú enzimeket tartalmaz, az enzimek aktivitása állandó. Valamennyi enzim felhasználásra kész, stabil, folyékony formában áll rendelkezésre.

Az enzimek felhasználása előtt, illetve maximum hathavonta – a gyártó utasítása szerint – ellenőrizni kell az enzimaktivitást.

4. Eszközök

- 4.1. Főzőpohár, magas, 400 és 600 ml-es
- 4.2. Hőálló üveg szűrőtégely, G2 porozitású, a következők szerint előkészítve:
 - a. hevítjük egy éjszakán keresztül 525°C-on izzítókemencében
 - b. vákuum alkalmazásával távolítsuk el a Celite-t és a hamu anyagot
 - c. 1 órán keresztül áztassuk 2%-os Micro tisztító oldatban szobahőmérsékleten (4.7.)
 - d. öblítsük át vízzel és ionmentes vízzel
 - e. végül öblítsük acetonnal és levegő árammal
 - f. a száraz szűrőtégelyre tegyünk kb. 1 g Celite-t, és 130°C-on szárítsuk súlyállandóságig
 - g. exsikkátorban hűtsük le kb. 1 óra alatt, és jegyezzük fel a Celite-t tartalmazó szűrőtégely tömegét.
- 4.3. Szűrőlombik, vastag falú, 1 literes
- 4.4. Gumigyűrűs csatlakozó a szűrő lombikhoz
- 4.5. Vákuum-forrás: vákuum pumpa, vagy vízlég-szivattyú, biztosítható vákuumszabályozással
- 4.6. Vízfürdő, rázógéppel ellátott, nagy kapacitású (20-24 literes), fedeles, 100°C hőmérsékletre beállítható, automata idő beállítóval
- 4.7. Analitikai mérleg, 0,1 mg pontosságú
- 4.8. Szárítószekrények, 103±2°C-ra és 130±3°C-ra beállítva
- 4.9. Óra
- 4.10. Exsikkátor, SiO₂-al vagy ezzel egyenértékű nedvszívó anyaggal, amelyet kéthetenként egy éjszakán át 130°C-on ki kell szárítani
- 4.11. pH mérő
- 4.12. Pipetták és mikropipetták, 50-200 µl-es és 5 ml-es
- 4.13. Automata büretták
 - a. 280±2,0 ml-es a 95%-os etanolhoz
 - b. 10±0,5 ml-es a 78%-os, és a 95%-os etanolhoz és az acetonhoz
 - c. 50±0,5 ml-es a pufferhez
- 4.14. Mérőhenger, 500 ml-es
- 4.15. Mágneses keverő és keverő bot
- 4.16. Gumivégű spatulák
- 4.17. Izzítókemence, 525±5°C-on

5. Vegyszerek és segédanyagok

- 5.1. Etanol, 95% (V/V)
- 5.2. Etanol, 78% (V/V)-os: mérjük 207 ml vizet 1 literes mérőlombikba. Töltsük fel 95% (V/V)-os etil-alkohollal. Rázzuk össze.
- 5.3. Aceton
- 5.4. Enzimek (Megazyme International Ireland Limited) 0 – 5°C-on tárolva-K-TDFR 01/05
 - a. α -amiláz, hőstabil (E-BLAAM), 3,000 ceralpha egység/ml
 - b. proteáz (E-BSPRT) 50 mg/ml, 350 tyrosine egység /ml
 - c. amiloglukozidáz (E-AMGDF), 200 p-NP β -maltozid egység/ml (vagy 3200 egység/ml oldható keményítőn)
- 5.5. Ionmentes víz
- 5.6. Celite, savval mosott, hamumentes (Megazyme, G-CEL 100 vagy G-CEL 500)
- 5.7. Tisztító oldat, Micro (International Products Corp., Trenton, N), ionmentes vízzel készített 2%-os oldata
- 5.8. Foszfát puffer, 0,08 mólos, pH = 6,0. Oldjunk fel 1,400 g vízmentes dinátrium-hidrogén-foszfátot (Na_2HPO_4) (vagy 1,753 g két kristályvizeset) és 9,68 nátrium-dihidrogén-foszfátot (NaH_2PO_4) (vagy 10,94 g két kristályvizeset) kb. 700 ml vízben. Töltsük fel vízzel 1 literre. Ellenőrizzük a pH-ját pH mérővel.
- 5.9. Nátrium-hidroxid oldat – 0,275 normál. Oldjunk fel egy 1 literes mérőlombikban 11,00 g NaOH-ot 700 ml vízben, hűsük le, majd töltsük fel jelig vízzel.
- 5.10. Sósav oldat – 0,325 mólos. Hígítsunk mérőlombikban ismert töménységű törzs oldatot, pl. 325 ml 1 mólos HCL oldatot 1 literre vízzel.
- 5.11. pH standardok, puffer oldatok, 4,0, 7,0 és 10,0 pH értékű

6. A minta előkészítése

A minta összes élelmi rosttartalmát szárított, alacsony zsírtartalmú, vagy zsírmentes mintából kell meghatározni. Homogenizáljuk a mintát, majd szárítsuk vákuum szárítószekrényben 70°C-on egy éjszakán át. Hűsük le exsikkátorban, majd a minta egy részét darálóban aprítsuk 0,3 – 0,5 mm nagyságúra. Ha a mintát nem lehet melegíteni, az aprítás előtt fagyasztva szárítsuk. Ha a minta magas zsírtartalma (>10%) megakadályozza a hatékony darálást, petroléterrel zsírtalanítsuk (háromszor 25 ml-es adag/gramm minta) őrlés előtt. Határozzuk meg a zsírtalanítás okozta tömegvesztést, és a korrekciót vegyük figyelembe a végső rost % meghatározásánál. A szárított őrlött mintát az analízis megkezdéséig exsikkátorban, fedeles edényben kell tárolni.

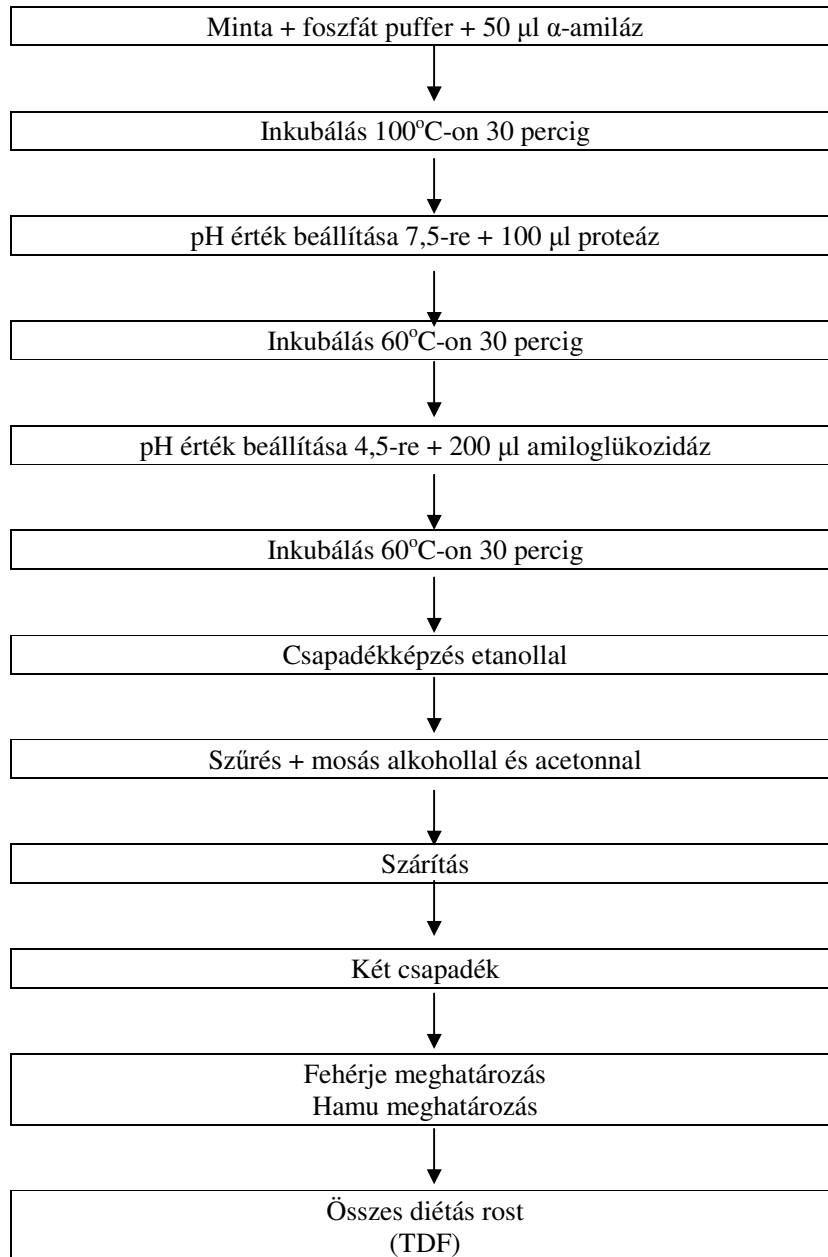
7. A vizsgálat menete

A méréshez alkalmazott reagensek által okozott érték növekedés kiküszöbölésére vakpróbát kell végezni úgy, hogy az egész eljárást lefolytatjuk minta bemérése nélkül.

1. Mérjük be kétszer 1 g mintát 0,1 mg pontossággal 400 ml-es magas főzőpohárba. A minták tömegkülönbsége nem lehet nagyobb 20 mg-nál. Mindegyik főzőpohárba öntsünk 50 ml foszfát puffert (pH=6,0), és pH mérővel ellenőrizzük a pH-t. Ha szükséges, állítsuk be pH = 6,0 \pm 0,1 értékre.

2. Adjunk hozzá 50 µl hőstabil α -amiláz oldatot.
3. Fedjük be a főzőpoharat alumínium fóliával, és 15 percre helyezzük forrásban lévő vízfürdőbe. 5 percig erőteljesen keverjük.
Megjegyzés: Az inkubálási időt növelni kell, ha a forrásban lévő vízfürdőben lévő főzőpoharak nagy száma miatt a főzőpoharak tartalmának belső hőmérséklete nem éri el a 100°C-ot. Hőmérővel ellenőrizzük, hogy a hőfok 15 percig 100°C-on legyen. Összesen 30 perc a vízfürdőben biztosan elegendő.
4. Hűtsük le az oldatokat szobahőmérsékletre.
5. Állítsuk be a pH-t 7,5±0,1 értékre 10 ml 0,275 mólos NaOH oldattal. pH mérővel ellenőrizzük a pH értéket.
6. Adjunk hozzá 100 µl proteázoldatot.
7. Fedjük be a főzőpoharat alumínium fóliával, és inkubáljuk 30 percig 60°C-on állandó keverés közben.
8. Hűtsük le, és 10 ml 0,325 mólos HCl oldattal állítsuk be a pH-ját 4,5±0,2 értékre. pH mérővel ellenőrizzük a pH értéket.
9. Adjunk hozzá 200 µl amiloglikozidázt, fedjük be alumínium fóliával, és inkubáljuk 20 percig 60°C-on állandó keverés közben.
10. Adjunk hozzá 280 ml 60°C-ra melegített 95%-os etil-alkoholt (a térfogatot melegítés előtt kell mérni). Csapadék képződéséhez hagyjuk szobahőmérsékleten 60 percig.
11. Mérjük meg a Celite-t tartalmazó szűrőtégelyt 0,1 mg pontossággal, azután a szűrőtégelyben egyenletesen elosztott Celite ágyat nedvesítsük meg 78%-os etil-alkohollal.
12. A Celite-t vákuumpumpával, vagy vízlégszivattyúval való szívattással egyenletesen oszlassuk el a szűrőtégelyen. A szívás fenntartása mellett vigyük át a szűrőre az enzim feltárással keletkezett csapadékot.
13. Mossuk a csapadékot egymást követően háromszor 20 ml 78%-os etil-alkohollal, majd kétszer 10 ml 95%-os etil-alkohollal, végül kétszer 10 ml acetonnal. Néhány minta lehet sűrű, nyálkás, folyadékot zárhat magába, ez esetben a szűrés elősegítésére spatulával törjük meg a filmfelületet. A hosszú szűrési idő elkerülhető a szűrés alatt alkalmazott egyenletes, gondos szívással.
14. Szárítsuk a csapadékot tartalmazó szűrőt egy éjszakán át vákuum szárítószekrényben 70°C-on, vagy atmoszférikus nyomású szárítószekrényben 105°C-on.
15. Hűtsük le exsikkátorban, majd mérjük meg a súlyát 0,1 mg-os pontossággal. A csapadék súlyának a meghatározásához vonjuk le a szűrő és a Celite súlyát.
16. Határozzuk meg az egyik párhuzamos minta csapadékának a fehérje tartalmát Kjeldahl módszerrel, N x 6,25 átszámítási faktort használva.
17. A másik párhuzamos minta csapadékát hamvasszuk 5 órán keresztül 525°C-on. Hűtsük le exsikkátorban, majd mérjük meg a súlyát 0,1 mg-os pontossággal. A hamu súlyának a meghatározásához vonjuk le a szűrő és a Celite súlyát.

Az összes diétás rost tartalom meghatározásának menete



8. Az eredmény kiszámítása

Korrekciónélküli vak érték (m_{vcs}) = párhuzamos vak-csapadék átlagtömege (15. lépés) mg-ban

Vak-csapadék fehérje tartalma (m_{vf}) = $m_{vcs} \times \% \text{ vak fehérje tartalma (16. lépés)}/100$

Vak-csapadék hamu tartalma (m_{vh}) = $m_{vcs} \times \% \text{ vak hamu tartalma (17. lépés)}/100$

Korrigált vak érték (m_{vak}) = $m_{vcs} - m_{vf} - m_{vh}$

Csapadék átlagtömeg (m_{mcs}) = párhuzamos minta-csapadék átlagtömege (15. lépés) mg-ban

Minta-csapadék fehérje tartalma (m_{mf}) = $m_{mcs} \times \% \text{ minta fehérje tartalma (16. lépés)}/100$

Minta-csapadék hamu tartalma (m_{mh}) = $m_{mcs} \times \% \text{ minta hamu tartalma (17. lépés)}/100$

Korrigált minta-csapadék (m_{cs}) = $m_{mcs} - m_{mf} - m_{mh} - m_{vak}$

Minta-tömeg (m_m) = a párhuzamos minták tömegének az átlaga mg-ban

$$\text{Összes diétás rosttartalom (TDF) \%} = m_{cs}/m_m \times 100$$

9. A módszer reprodukálhatósága

A módszer reprodukálhatósága kevesebb, mint 5%.