

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**ESTADO ACTUAL DEL CONCEPTO DE FIBRA ALIMENTARIA Y DE
LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS**

Alumna: Aitana Martín Escaño.

Tutoras: Dra. Beatriz Rodríguez Galdón,

Dra. Elena María Rodríguez Rodríguez.

Área de Nutrición y Bromatología.

Curso académico 2020/ 2021.

ÍNDICE

Glosario	3
Resumen	4
Abstract	4
Introducción	6
Objetivo	7
Materiales y métodos	7
Resultados y discusión	8
Concepto de fibra alimentaria	8
Métodos de análisis	9
Fibra cruda	12
Fibra detergente neutra y ácida	12
Método de Prosky	13
Método de Englyst	14
Método de McCleary	15
Conclusiones	18
Bibliografía	19

GLOSARIO

ADF: fibra detergente ácida.

ADL: lignina detergente ácida.

AOAC: Association of Official Agricultural Chemists.

GC: cromatografía de gases.

HMWDF: fibra dietética de alto peso molecular.

HPLC: cromatografía líquida de alta eficacia.

IDF: fibra dietética insoluble.

LMWDF: fibra dietética de bajo peso molecular.

NDF: fibra detergente neutra.

NSP: polisacáridos no amiláceos.

SDF: fibra dietética soluble.

SDFP: fibra dietética soluble que precipita con etanol (78%).

SDFS: fibra dietética soluble que no precipita con etanol (78%).

TDF: fibra dietética total.

RESUMEN

La fibra dietética está constituida por partes de la planta y carbohidratos, que no son digeridos a nivel del tracto gastrointestinal llegando intactos al intestino grueso, donde ejercen efectos beneficiosos sobre el individuo que los consume. El concepto de fibra, así como los métodos para su determinación, han ido cambiando de forma paralela. Aunque el término de fibra dietética fue introducido por Hipócrates, fue Trowell el primero que expuso una definición que ha ido evolucionando hasta derivar en la que es la definición actual de fibra alimentaria. Los métodos de análisis para determinarla también se han visto expuestos a modificaciones en función de la aplicación de nuevas técnicas asociadas al desarrollo de la tecnología y al concepto del propio término de fibra. La Association of Official Agricultural Chemists ha aceptado diferentes métodos de análisis para la determinación de la fibra dietética. Cada actualización permitió conocer nuevos aspectos de la misma, de forma más específica y exacta, combinando métodos enzimático-gravimétricos y enzimático-químicos con técnicas cromatográficas que aportaban mayor sensibilidad. Se ha pasado de técnicas que solo permitían determinar la fibra cruda (1859), a métodos como el de Prosky et al. (1985) y a otros más actuales como el de McCleary et al. (2012) con los que ya se podía determinar la fibra dietética.

Palabras clave: fibra dietética, métodos de análisis, métodos enzimático-gravimétricos, métodos enzimático-químicos.

ABSTRACT

Dietetic fibre is a combination of parts of the plants and carbohydrates not being digested in the gastrointestinal tract, a characteristic of broad interest due to the physiological impact, able to have beneficial effects on the person who ingests it. The fibre concept and the analytical methods have been changing in parallel. Although the first time it was spoken as a unique form was by Hippocrates, Trowell was the first one to come up with a definition that has evolved to the current description of dietary fibre. The analytical methods have also been exposed to modifications dependent on novel techniques associated with the development of technology and the conceptions of the term fibre itself. The Association of Official Agricultural Chemists has accepted different analysis methods for determining dietary fibre. Each update allows knowing

new aspects of it, more concrete and exactly, combining enzymatic-gravimetric and enzymatic- chemical methods with chromatographies that provide greater sensitivity. It has switched from techniques that only allow the determination of crude fibre (1859) to methods such as Prosky et al. (1985) to more common ones such as McCleary et al. (2012) that already let determine the dietary fibre.

Key words: dietetic fibre, analysis methods, enzymatic-gravimetric methods, enzymatic-chemical methods.

INTRODUCCIÓN

Entre los componentes de los alimentos con efectos beneficiosos se presenta la fibra dietética o alimentaria.¹ Es un término que ha tenido una gran variedad de definiciones a lo largo del tiempo, siendo un campo de interés que se encuentra en continuo estudio. Se caracteriza porque no es digerida a nivel del tracto gastrointestinal, y presenta características beneficiosas para el estado de salud de las personas que la consumen. En general, disminuye la predisposición a padecer enfermedades tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares, *diabetes mellitus* tipo 2 y diferentes afecciones gastrointestinales.²

Los componentes de la fibra dietética están íntimamente relacionados con la microbiota intestinal, es decir, con los microorganismos beneficiosos que habitan en la mucosa intestinal. Estos componentes de la dieta llegan hasta a esa zona sin ser metabolizados y son susceptibles de un proceso de fermentación, permitiendo el crecimiento y desarrollo de ciertos microorganismos que presentan actividad tanto metabólica como protectora.³

La fibra dietética puede clasificarse en función de su origen botánico, naturaleza química, composición química, propiedades físico-químicas, pero la clasificación que más predomina se basa en el comportamiento de la fibra ante la exposición al agua, y la fermentación que presenta a nivel fisiológico.⁴

OBJETIVO

El objetivo de esta revisión bibliográfica es exponer cómo ha cambiado el término fibra alimentaria a lo largo del tiempo y su estado actual, así como los métodos de análisis, detallando en qué consiste cada uno de ellos y describiendo los que actualmente se aplican para su análisis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de esta revisión bibliográfica la búsqueda de información se realizó a través del punto Q de la Biblioteca de la Universidad de la Laguna. Se buscaron artículos a partir de la base de datos online Pubmed, Elsevier y otras páginas online oficiales como la de FAO. Las palabras utilizadas para la compilación de información se basaron en combinaciones entre “fibre”, “fiber”, “dietetic”, “analytical methods”, “enzymatic methods”, “gravimetric methods” “chemical methods”, “AOAC”, entre otros. La selección de los artículos se basó en la información de interés que presentaban respecto del objetivo de este trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concepto de fibra alimentaria

El concepto de fibra ha ido cambiando a medida que se ha avanzado en los métodos de análisis, es por ello que su definición se ha visto dificultada por estos tres aspectos: ⁵

- La incapacidad de asociar la fibra dietética como un solo grupo de sustancias químicas relacionadas entre sí.
- La gran variedad de funciones fisiológicas que presenta.
- La dificultad para poder caracterizarla analíticamente de forma precisa.

Actualmente, se define como las partes de la planta o sus extractos y carbohidratos resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, con fermentación parcial o total en el intestino grueso. Incluye: oligosacáridos no digeribles con grado de polimerización de 3 o más unidades monoméricas, polisacáridos no digeribles, lignina y a otras sustancias asociadas a las plantas que no son digeribles. ⁶ Las propiedades que se encuentran asociadas a la fibra a nivel fisiológico son dependientes de sus características fisicoquímicas.

El concepto de fibra fue introducido por Hipócrates (400 a.C.), pero no fue hasta los años 70 que volvió a retomarse su estudio. ^{7,8} Trowell, en 1972, propuso una primera definición como “los constituyentes no digeribles que se encuentran en la pared de la célula vegetal”. ⁹

Años después esta definición fue ampliada para incluir otros componentes no digeribles que no formaban parte de la pared celular. Así, el Department of National Health and Welfare Canada, en 1985, introdujo otra definición donde se exponía que la fibra dietética derivaba de los componentes endógenos de las plantas que formaban parte de la dieta, y que eran resistentes a los procesos de digestión por las enzimas producidas por el humano, e incluía a sustancias no nutritivas. ¹⁰

A continuación, la organización Life Sciences Research Office retomó la definición anterior de la fibra, es decir, componentes propios de la planta que son resistentes a los procesos de digestión humana, pero excluyó a aquellas sustancias que se encontraban en la pared celular y otros productos no nutritivos. ¹⁰

La American Association of Cereal Chemists actualizó la definición de fibra dietética en el año 2000, describiéndola de forma análoga a la que se recoge actualmente, es decir, que es un conjunto diverso de sustancias resistentes a la digestión y absorción en el intestino, y que pasa por un proceso de fermentación en el intestino grueso, considerando también el impacto fisiológico de la fibra alimentaria.¹¹

En cuanto a si toda la fibra alimentaria puede ser considerada como prebiótica y viceversa, hay que indicar que los prebióticos pueden ser presentados, en su mayoría, como fibra dietética prebiótica, pero la fibra alimentaria no, debido a que presenta una fracción fermentable y otra que no lo es.¹² La fracción fermentable sí se puede considerar como fibra dietética prebiótica, puesto que se usa como fuente de carbono para el crecimiento de los microorganismos beneficiosos de la microbiota. Además, produce de manera específica y selectiva cambios de la flora intestinal que se traducen en efectos beneficiosos sobre la salud de la persona. Las modificaciones sobre la microbiota no suponen un beneficio directo sobre la salud del hospedador en la mayoría de los casos, sino que se encuentran relacionados.¹³

La fracción no fermentable, independientemente de su solubilidad, también es responsable de diferentes efectos beneficiosos tales como aumentar la retención hídrica y la viscosidad, favorecer una microbiota adecuada, permitir intercambio de iones, modificar el tamaño de las heces e, incluso, disminuir la absorción de ciertos nutrientes (azúcares, lípidos) al reducir la exposición de estos a la pared intestinal.¹⁴

Métodos de análisis

Los componentes que se encuentran incluidos en la fibra alimentaria son dependientes de los avances en los métodos de análisis. En sus inicios se podía analizar empleando métodos indirectos (por diferencia respecto del resto de componentes del alimento) y mediante el método de “fibra cruda” (AOAC 962.09), que data de 1859, aunque apareció por primera vez desarrollado en la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) muchos años después. Al mismo tiempo, unos investigadores, entre los que se encontraba Van Soest, comenzaron a usar detergentes para estimar de forma mucho más rápida los valores de lignina, celulosa y hemicelulosas, y que el método de fibra cruda era incapaz de determinar. La importancia de este avance radicó en que se

podieron determinar los componentes de la pared celular de las plantas, que posibilitó conocer los aportes de fibra de los forrajes con los que se alimentaba al ganado. Esta técnica basada en el uso de detergentes se concretó en los métodos de fibra detergente neutra (NDF, 1964), y sus variantes, fibra detergente ácida (ADF, 1963) y lignina detergente ácida (ADL, 1963).¹⁵

Posterior a estos métodos, se desarrolló el método de Prosky et al. (AOAC 985.29, 1985), con el que se empezó a determinar la fibra dietética, ya que con los métodos anteriores sólo se podía determinar una parte de la fibra, concretamente la fibra insoluble. Este nuevo procedimiento permitió conocer la fibra dietética a partir de las moléculas de alto peso molecular (HMWDF), y fue mejorada para separar las dos fracciones, soluble e insoluble, siendo la suma de ambas el método oficial para cuantificar la fibra dietética total (AOAC 991.43, 1992).¹⁶ Estos métodos son los más utilizados y prácticamente todos los datos que aparecen en las actuales tablas de composición de alimentos se han obtenido con este método.¹⁷

Ambos procedimientos mencionados son métodos enzimático-gravimétricos, puesto que emplean enzimas para hidrolizar determinados componentes que interfieren en el análisis y la determinación final se realiza por gravimetría. Sus principales limitaciones son la incapacidad de determinar la presencia de fibra dietética de bajo peso molecular (LMWDF), la cual forma parte del concepto actual de fibra, y no determinar todas las formas de almidón resistente.¹⁸

Estas limitaciones, y la necesidad de poder caracterizar los componentes de la fibra dietética, derivaron en la búsqueda de nuevas técnicas que requerían de métodos instrumentales más sofisticados en los que se acoplaban los métodos enzimático-químicos con la aplicación de técnicas cromatográficas. Inicialmente, se basaron en la eliminación de azúcares y almidones por medio de enzimas específicas, precipitando y recuperando la fracción soluble polisacáridica no amilácea, realizando la cuantificación por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), colorimetría o gravimetría.¹⁸

Los métodos enzimático-químicos para analizar las fracciones polisacáridicas no amiláceas (NSP), se basaron en trabajos previos como el de Southgate (1969), y permitieron conocer los diferentes tipos de componentes presentes en la fibra dietética, tal es el caso del método de Englyst et al. (1994).¹⁹

Los métodos de análisis citados hasta ahora excluían a los oligosacáridos de 3 a 9 unidades de la definición e incluían los NSP, lignina y algún almidón resistente a las enzimas digestivas (Figura 1).⁹ Para poder determinarlos se propusieron los métodos de McCleary et al. (AOAC 2009.01 y AOAC 2011.25). Se basan en métodos enzimático-químicos para cuantificar los componentes de la fibra alimentaria recogidos en la actual definición de fibra del *Codex Alimentarius*, incluyendo la LMWDF.²⁰

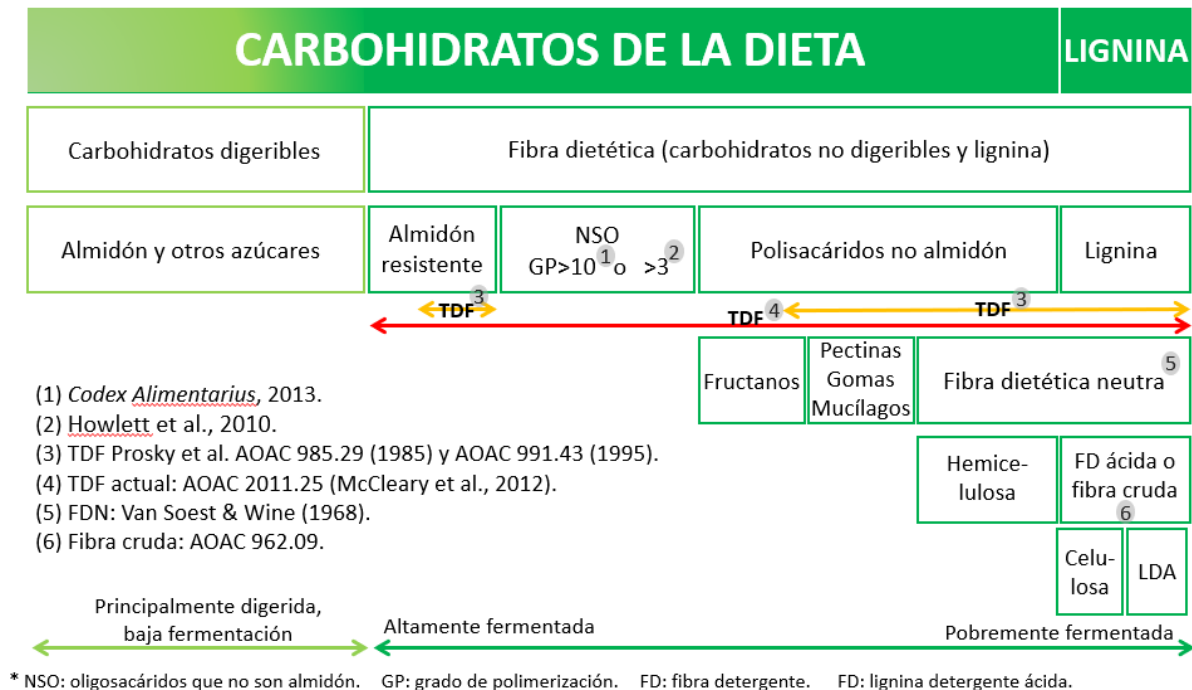


Figura 1. Componentes de los carbohidratos de la dieta y los métodos que se aplican para su determinación. Fuente: Rochus.²¹

Por lo tanto, el análisis de la fibra dietética se puede abordar de dos maneras diferentes: a partir de métodos que permiten conocer valores específicos para diferentes constituyentes después de procesos hidrolíticos; o por medio de métodos empíricos que miden de forma inespecífica componentes intactos, a partir de técnicas gravimétricas y por exclusión de tamaños.²²

La detección de las moléculas correspondientes a los diferentes componentes de la fibra dietética puede realizarse a partir de distintos métodos, como las técnicas cromatográficas (GC y HPLC), las cuales permiten determinar moléculas de bajo peso molecular; métodos colorimétricos para medir azúcares con grupos reducidos; o métodos colorimétricos ligados a enzimas aplicados a moléculas específicas.¹⁹

Las técnicas enzimático-gravimétricas son mucho más sencillas, baratas, rápidas y adecuadas para análisis rutinarios, pero no ofrecen datos con respecto a los diferentes componentes de la fibra dietética. En cambio, los métodos enzimático-químicos, que aplican el uso de técnicas colorimétricas y cromatográficas, permiten conocer de una manera mucho más específica las distintas fracciones; aunque suponen una mayor cantidad de tiempo y costes, como un personal mucho más cualificado.²³ A continuación se describen los métodos más importantes que se han desarrollado para cuantificar la fibra dietética.

FIBRA CRUDA

Este método (AOAC 962.09) se basa en tratar la muestra con ácidos y bases diluidos de manera secuencial, lo que permite su extracción y eliminación de otros componentes. El principal problema reside es que sólo determina una parte de la fracción insoluble, por consiguiente, una alta proporción de la fibra se elimina durante el proceso y los valores obtenidos son variables.²⁴

Debido a la gran limitación del método de la fibra cruda, se comenzó a investigar otras técnicas que pudieran determinar la fibra alimentaria; pero se encontraron con varios inconvenientes:

- Conflictos entre la definición y qué componentes formaban parte de la fibra dietética.
- La dificultad para determinar lignina, celulosa y hemicelulosa.
- Conseguir separar la lignina de las impurezas.
- La capacidad para poder aislar la fibra no digerible y la relación con la fibra dietética.²⁵

FIBRA DETERGENTE NEUTRA Y ÁCIDA

El método de la fibra detergente neutra (NDF, AOAC 2002.04)²⁶ incluye, como principales componentes, el estudio de celulosa, hemicelulosa y lignina.²⁷ Es un método rápido que se basa en el uso de α -amilasa y sustancias como lauril sulfato sódico, EDTA o trietilenglicol que permiten la eliminación de todos aquellos materiales no recogidos en la definición de fibra, permitiendo conocer la fibra insoluble y, realizando las separaciones adecuadas, los valores relativos a los componentes previamente comentados.²⁶ En sus primeras aplicaciones, se vio limitado por los niveles de almidón

de las muestras, lo que motivó que se realizaran modificaciones, incorporando enzimas para degradarlo.⁸

La amilasa es una de las enzimas que mayor uso tiene en este tipo de métodos, ya que puede llegar a eliminar las fracciones de almidón presentes. La contaminación por proteínas también influye en la determinación, aplicándose proteasas para su eliminación. Inicialmente se ensayaron diferentes amilasas, entre ellas una obtenida a partir de *Bacillus subtilis*, la cual es termoestable y fácil de eliminar con la temperatura o por la exposición a EDTA. Esta amilasa fue aceptada por la AOAC y permitió eliminar el almidón de forma efectiva, manteniendo casi intactos los de hemicelulosas, en comparación con otras enzimas similares.⁸

La fibra detergente ácida (AOAC 973.18, ADF)²⁸ permite conocer los datos de celulosa y lignina, de la fibra insoluble ácida, que es la fracción que se recoge después de la exposición de ADF a elevadas temperaturas.⁸ Además, permite conocer, por diferencia, el contenido de hemicelulosas y determinar la digestibilidad de la fibra dietética, aunque no es un dato válido para fines nutricionales.^{8,28}

Los resultados obtenidos a partir de estas técnicas permiten determinar la fibra dietética insoluble y, en el caso del método ADF, supone un paso importante para el análisis de lignina.²⁹

Puede realizarse un tratamiento secuencial con la combinación de NDF y ADF o viceversa que permite obtener valores relativos a los componentes de la fibra muchos más específicos, pero no puede aplicarse en todos los casos, puesto que hay situaciones específicas en las que fracciones de interés pueden perderse durante el proceso.⁸

MÉTODO DE PROSKY

El método AOAC 991.43 es una modificación del método 985.29, y ambos métodos han sido y son considerados como los de referencia para la determinación de la fibra alimentaria. Permiten conocer la fibra dietética a partir de la suma de la fibra soluble e insoluble; pero presentan limitaciones ya que no se pueden conocer los niveles de inulina, fructooligosacáridos y polidextrosas que son también componentes de la fibra alimentaria, según el concepto actual.²¹

Se aplican técnicas enzimáticas, tratando a la muestra con enzimas para eliminar almidón y proteínas, y posteriormente con alcohol para precipitar la fibra soluble, la

cual se puede separar por filtración. El residuo del filtrado, que contiene la fracción insoluble y la soluble que ha precipitado, se lavan con disolventes orgánicos para luego ser secadas y pesadas. Por eso también se le conoce como método enzimático-gravimétrico, puesto que el valor obtenido por diferencia de pesada debe corregirse para eliminar los pesos de cenizas y de proteínas del residuo.³⁰ La fracción remanente presente en el filtrado, la soluble que no precipita con etanol del 78% (SDFS), no puede ser determinada por este método.

Esta técnica sólo permite conocer la fracción HMWDF, por lo que para cuantificar la LMWDF se requiere de técnicas más específicas y sensibles.

MÉTODO DE ENGLYST

Esta técnica de Englyst et al. (1994) no está recogida por la AOAC, usándose como método paralelo a los aceptados por la AOAC en la determinación de la fibra dietética. Se basa en hidrolizar el almidón y eliminar los azúcares resultantes, para posteriormente tratar la muestra con ácidos y medir la cantidad de polisacáridos no amiláceos (NSP) presentes en la fibra recuperándolos al exponerlos con etanol al 78% (Figura 2).³¹ Así, se pueden analizar las fracciones que componen NSP de otros componentes de la fibra. Ante la exposición de distintas enzimas y sustancias químicas, para poder aislar los NSP en su forma más sencilla, se pueden cuantificar ciertos componentes si se ignora o se detiene el proceso en ciertos pasos específicos, determinando los azúcares en que son degradados mediante técnicas cromatográficas. Se puede conocer el valor total de fibra a partir de la determinación colorimétrica de los azúcares reductores.¹⁹

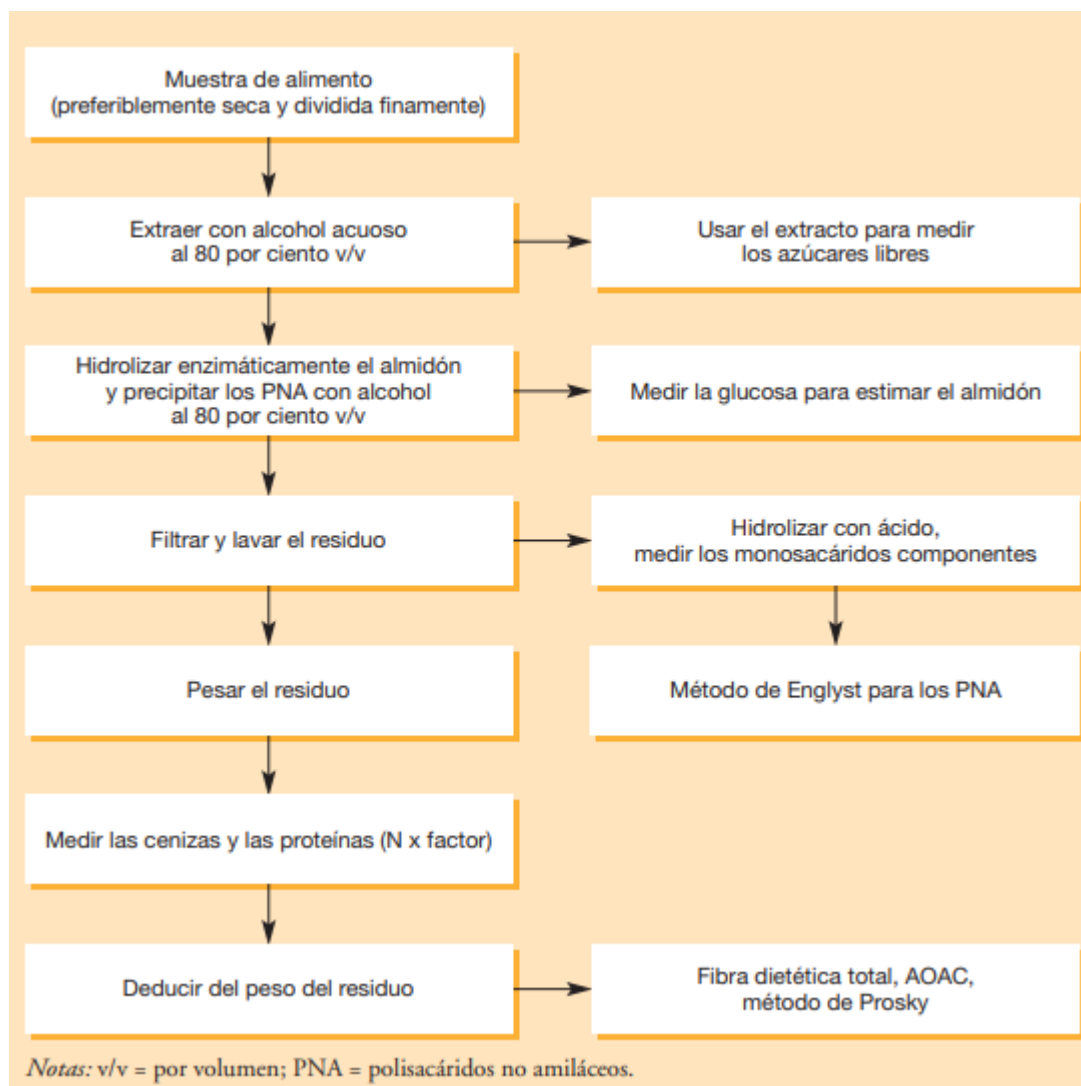


Figura 2. Tratamiento inicial para la aplicación del método de Englyst et al. (1994) y del método de Prosky et al. Fuente: Greenfield y Southgate.³¹

Este método se modificó en el año 2007 para incluir a los fructanos, siendo necesario eliminar de forma específica y total los carbohidratos digeribles empleando diferentes enzimas. Una vez descartadas esas moléculas, se adiciona inulinasa, que permite calcular la glucosa y fructosa que proceden de la hidrólisis de los fructanos, por medio de HLPC.¹⁹

MÉTODO DE McCLEARY

Con la definición actual de fibra era necesario disponer de un método que permitiera conocer la TDF (fibra dietética total), incluyendo el almidón resistente y LMWDF. Por ello, se combinaron varios métodos previamente aceptados por la AOAC, obteniéndose el método de McCleary et al. (AOAC 2009.01, 2010).²⁰

Se basa en el uso de la α -amilasa pancreática y aminoglucosidasas, para que el almidón no resistente sea hidrolizado, mientras que las proteínas se eliminan por digestión enzimática con proteasas. Para establecer los niveles de HMWDF, se usa etanol u otras sustancias metiladas, con objeto de realizar su precipitación, de tal manera que se puede determinar las fracciones IDF y SDFP.³² La otra fracción que no precipita se cuantifica por medio de cromatografía líquida, puesto que no puede ser determinada por métodos gravimétricos y requiere de técnicas más sensibles para ello³⁰ (Figura 3).

El método AOAC 2009.01 es actualmente el método de referencia para determinar la TDF en alimentos, obtenida a partir de la suma de HMWDF y la fracción SDFS.

- HMWDF \rightarrow IDF + SDFP: por métodos gravimétricos.
- SDFS: por HPLC.³³

Posteriormente, también se modificó este método, desarrollándose el método AOAC 2011.25 (2012) por los mismos autores. La diferencia con el anterior reside en la capacidad de cuantificar la TDF y las fracciones soluble e insoluble por separado.^{19, 33} Por consiguiente, permite conocer la SDF e IDF de alto peso molecular de manera independiente y la fracción de LMWDF.³⁴

Modified Enzymatic-Gravimetric ("McCleary") Method (AOAC 2009.01, 2011.25)

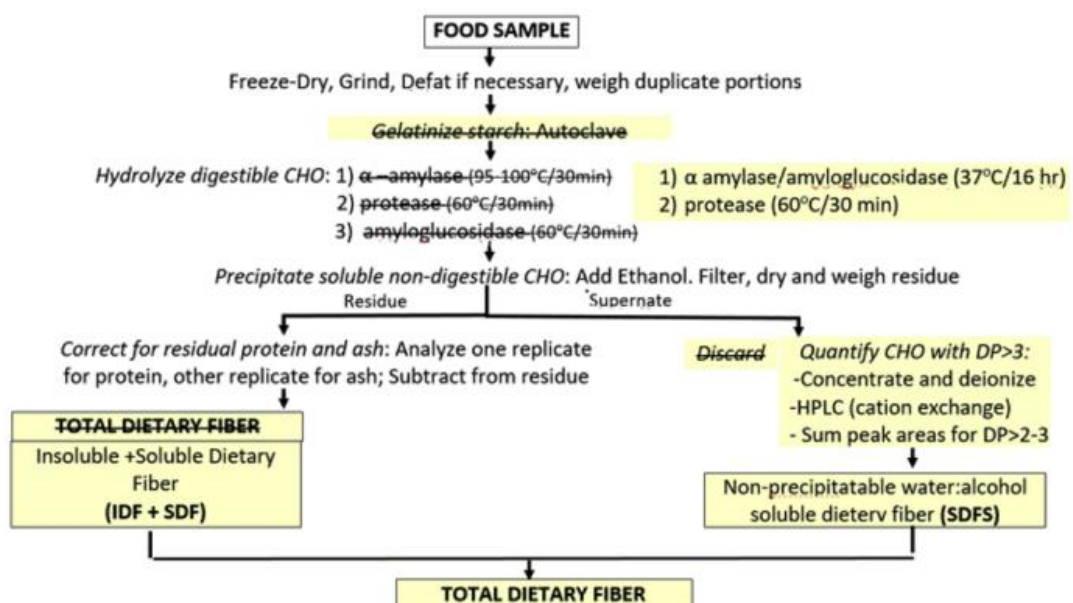


Figura 3. Métodos AOAC 2009.01 y AOAC 2011.25 desarrollados a partir del método AOAC 985.29, siendo los pasos en amarillo los pasos propios del método de McCleary et al.³⁴

Si en la determinación de la fibra alimentaria la fracción de LMWDF no es significativa y por lo tanto se encuentra en muy bajo porcentaje, los datos de TDF obtenidos a partir del método de Prosky et al. (AOAC 991.43) y por el método de McCleary et al. (AOAC 2011.25) deberían ser similares.³⁴

En la Figura 4 se comparan los datos obtenidos de HMWDF y LMWDF por los métodos AOAC 991.43 y el AOAC 2011.25, analizados en varias frutas. En el caso de la ciruela (1ª gráfica) y yaca (3ª gráfica) presentan valores de TDF diferentes por ambos métodos aplicados, lo que se debe a que la LMWDF solo se determina por el método AOAC 2011.25. En cambio, en el caso de atemoya (2ª gráfica) y coco maduro (4ª gráfica) sucede todo lo contrario, el valor obtenido de LMWDF no es importante por lo que el dato de TDF debería ser igual en ambos métodos, pero esto no es así en atemoya. Esta diferencia en el dato de TDF obtenido por ambos métodos no se debe a la fracción LMWDF, sino a la fracción HMWDF.

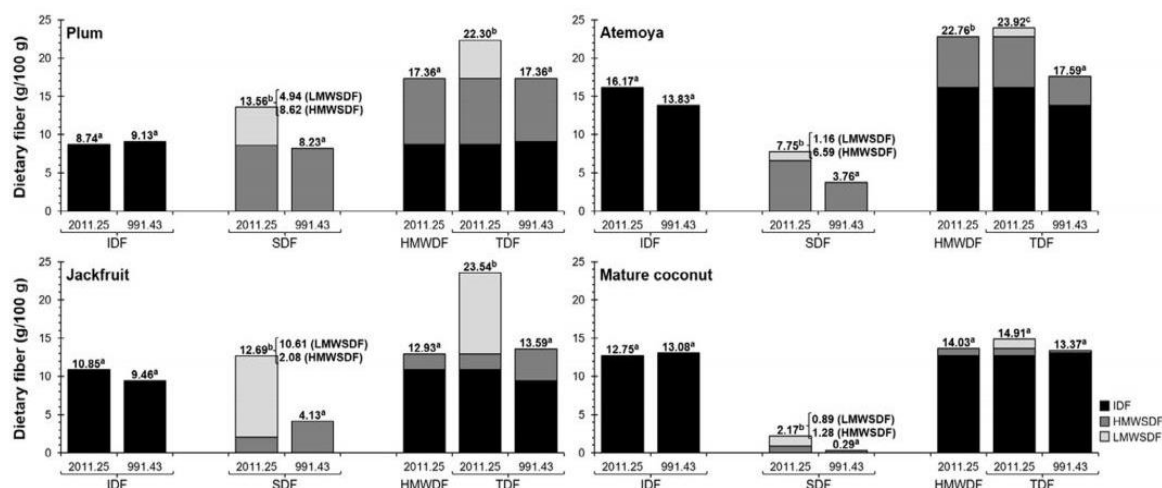


Figura 4. Comparación de los valores de IDF, SDF y TDF obtenidos a partir del método de Prosky (AOAC 991.43) y el método de McCleary (AOAC 2011.25), a partir de diferentes frutas expuestas a ambos métodos de análisis. Fuente: Tobaruela²⁰

CONCLUSIONES

La fibra dietética es un conjunto de sustancias complejas que presentan características diferentes y que aportan efectos beneficiosos para la salud de la persona que la consume.

Para el análisis de la fibra dietética se han propuesto diferentes métodos oficiales, los cuales se han ido revisando de forma periódica a medida que ha ido evolucionando el concepto de fibra y las técnicas analíticas que posibilitan su determinación.

En la actualidad, el método que permite determinar la fibra dietética de acuerdo con la última definición de la misma, es el propuesto por McCleary y colaboradores (método AOAC 2011.25). Con este método es posible analizar la fibra insoluble, almidón resistente y toda la fibra dietética soluble, tanto la que precipita como la que no en función de su peso molecular, aplicando técnicas enzimático-gravimétricas y químicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hijová E, Bertková I, Štofilová J. Dietary fibre as prebiotics in nutrition. *Cent Eur J Public Health*. 2019;27(3):251-5.
2. Wei B, Liu Y, Lin X, Fang Y, Cui J, Wan J. Dietary fiber intake and risk of metabolic syndrome: A meta-analysis of observational studies. *Clin Nutr*. 2018;37(6 Pt A):1935-42.
3. Flint HJ. The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutr Rev*. 2012;70 Suppl 1:S10-3.
4. Trejo-Márquez MA, Lira-Vargas AA, & Pascual-Bustamante S. Fibra para el futuro: propiedades y beneficios. En: Ramirez-Ortiz ME, editor. *Alimentos funcionales de hoy* [Internet]. OmniaScience; 2016. p. 1-34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.361>
5. Jones JM. Dietary fiber future directions: integrating new definitions and findings to inform nutrition research and communication. *Adv Nutr*. 2013;4(1):8-15.
6. Verspreet J, Damen B, Broekaert WF, Verbeke K, Delcour JA, Courtin CM. A critical look at prebiotics within the dietary fiber concept. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2016;7(1):167-90.
7. Slavin J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 2013;5(4):1417–35.
8. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*. 1991;74(10):3583-97.
9. Institute of Medicine (US) Panel on the Definition of Dietary Fiber and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Definitions of dietary fiber. En: *Dietary reference intakes proposed definition of dietary fiber*. Washington (DC) Estados Unidos de América: National Academic Press; 2001. p. 3-11.

10. National Research Council (US) Committee on Diet and Health. Dietary fiber. En: Diet and health: implications for reducing chronic disease risk. Washington (DC), Estados Unidos de América: National Academies Press; 1989. p. 291-310.
11. Dietary Fiber Definition Committee to the Board of Directors of the American Association Of Cereal Chemists. The definition of dietary fiber. Cereal Foods World. 2001;46(3):15.
12. Holscher HD. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. Gut Microbes. 2017;8(2):172-84.
13. Carlson JL, Erickson JM, Lloyd BB, Slavin JL. Health effects and sources of prebiotic dietary fiber. Curr Dev Nutr. 2018;2(3).
14. Dai F-J, Chau C-F. Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. J Food Drug Anal. 2017;25(1):37-42.
15. Gaafar H, Eweedah N, Abdel-Raouf E, Hagag W. Effect of limestone supplementation on ruminal degradability of fiber fractions for different kinds of silage. Livest Res Rural Dev. 2010;23:7.
16. Garcia-Amezquita LE, Tejada-Ortigoza V, Heredia-Olea E, Serna-Saldívar SO, Welti-Chanes J. Differences in the dietary fiber content of fruits and their by-products quantified by conventional and integrated AOAC official methodologies. J Food Compost Anal. 2018;67:77-85.
17. Nishibata T, Tashiro K, Kanahori S, Hashizume C, Kitagawa M, Okuma K, Gordon D. Comprehensive measurement of total nondigestible carbohydrates in foods by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography. J Agric Food Chem. 2009;57(17):7659-65.
18. Hindrichsen IK, Kreuzer M, Madsen J, Bach Knudsen KE. Fiber and lignin analysis in concentrate, forage, and feces: detergent versus enzymatic-chemical method. J Dairy Sci. 2006;89(6):2168-76.
19. Englyst KN, Liu S, Englyst HN. Nutritional characterization and measurement of dietary carbohydrates. Eur J Clin Nutr. 2007;61 Suppl 1(S1):S19-39.

20. Tobaruela E de C, Santos A de O, Almeida-Muradian LB de, Araujo E da S, Lajolo FM, Menezes EW. Application of dietary fiber method AOAC 2011.25 in fruit and comparison with AOAC 991.43 method. *Food Chem.* 2018;238:87-93.
21. Rochus K. General introduction. En: Can fermentation-derived propionic acid spare glucogenic amino acids in domestic cats? Bélgica; 2013. p. 15-56.
22. Englyst K, Quigley M, Englyst H, Parmar B, Damant A, Elahi S, Lawrance P. Evaluation of methods of analysis for dietary fibre using real foods and model foods. *Food Chem.* 2013;140(3):568-73.
23. Li YO, Komarek AR. Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis, and applications. *Food quality and safety.* 2017;1:47-59.
24. Kay RM. Dietary fiber. *Journal of Lipid Research.* 1982;23:221-42.
25. Van Soest PJ, McQueen RW. The chemistry and estimation of fibre. *Proceedings of the Nutrition Society.* Cambridge University Press; 1973;32(3):123-30.
26. Barbosa MM, Detmann E, Rocha GC, de Oliveira Franco M, de Campos Valadares Filho S. Evaluation of laboratory procedures to quantify the neutral detergent fiber content in forage, concentrate, and ruminant feces. *J AOAC Int.* 2015;98(4):883-9.
27. Van Soest PJ, Wine RH. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. IV. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. *J AOAC Int.* 1967;50(1):50-5.
28. Möller J. Gravimetric Determination of Acid Detergent Fiber and Lignin in Feed: Interlaboratory Study. *J AOAC Int.* 2009;92(1):74-90.
29. Van Soest PJ. Rapid method for the determination of fiber and lignin. II. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. *J AOAC Int.* 1990;73(4):491-97.
30. Cho S, Prosky L. Complex carbohydrates: definition and analysis. En: Cho S, Prosky L, Dreher M, editor. *Complex carbohydrates in foods.* Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 142-59.
31. Greenfield H, Southgate DAT. Examen de los métodos de análisis. En: Burlingame BA, Charrondiere UR, editor. *Datos de composición de alimentos: obtención, gestión y utilización*, 2ed. Roma, Italia: Food & Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2003. p. 107-62.

32. McCleary BV, DeVries JW, Rader JI, Cohen G, Prosky L, Mugford DC, Champ M, Kazuhiro O. Determination of total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study. *J AOAC Int.* 2010;93(1):221-33.

33. McCleary BV. Total dietary fiber (CODEX definition) in foods and food ingredients by a rapid enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: Collaborative study, first action 2017.16. *J AOAC Int.* 2018;102(1):196-207.

34. Phillips KM, Haytowitz DB, Pehrsson PR. Implications of two different methods for analyzing total dietary fiber in foods for food composition databases. *J Food Compost Anal.* 2019;84(103253):103253.