

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Índice De Caída Fúngico

Un método FN modificado para la determinación de la actividad alfa-amilásica en harinas suplementadas con amilasas fúngicas.

Definición

El método se basa en la aptitud de la alfa amilasa (fúngica o cereal) para licuar el almidón gelatinizado y reducir su viscosidad a una temperatura prefijada, 90 °C. El Índice de Caída Fúngico (FFN, Fungal Falling Number) mide la actividad total (fuerza) de la enzima por medio de un agitador viscosimétrico que cae por su propio peso a través de una suspensión acuosa en caliente. El tiempo que invierte el agitador en caer una distancia fija está correlacionado con la concentración del enzima. El valor del FFN está relacionado inversamente a la concentración de enzima. Un valor bajo del FFN indica una concentración de enzima elevada y viceversa.

Aparato

1. FN 1500 versión Fungal (FN1500 con regulación de temperatura)
2. pH metro
3. Pipetas

Reactivos

1. Agua destilada (o agua de pureza equivalente).
2. Ácido acético glacial 100% (CH_3COOH , >99.8%, grado analítico).
3. Acetato cálcico monohidratado ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, grado analítico).
4. Substrato de almidón de patata para el Índice de Caída Fúngico.

Preparación de la Solución Tampón

Pesar 12,0 g de acetato cálcico monohidratado en un matraz aforado de 1 litro (0,07 M) añadir aproximadamente 500 ml de agua destilada. Añadir ácido acético glacial (1,2-1,4 ml) y diluir con agua destilada hasta enrasar a 1 litro. El pH debería ser de 5,20 - 5,40. No conservar la solución preparada más de tres días.

Determinación

El método del Índice de Caída Fúngico mide la actividad alfa amilásica total en la harina, es decir, la alfa amilasa cereal natural (que varía de una harina a otra) más cualquier amilasa fúngica (o malta) añadida a la harina.

1. Llenar el baño maría con agua destilada o agua de pureza equivalente hasta el borde superior del nivel de control de agua.
2. Abrir el circuito de agua de refrigeración y conectar el aparato. El circuito de refrigeración debería estar en marcha todo el tiempo que permanezca encendido el aparato para evitar pérdidas de agua del baño maría.
3. Seleccionar Code 8 (Temperatura) y que “FUNGAL ON/*FUNGAL PRENDIDO*” esté activo. Véase más abajo “Procedimiento de activación del ensayo del Índice de caída fúngico (FFN)”.
4. Pipetear $30 \pm 0,2$ ml de disolución tampón (a 22 ± 2 °C) dentro del tubo FN limpio y seco. Pesar 5,0 g nominales (base 14% de humedad) de almidón de patata y posteriormente 5,0 g (base 14% de humedad) de harina de trigo y transferirlos al tubo.
5. Ajustar el tapón limpio y seco al tubo viscosimétrico y agitar vigorosamente de 20 a 25 segundos, hasta que toda la harina y el almidón de patata estén en suspensión en la disolución tampón. Retirar el tapón y raspar sobre el tubo los residuos sólidos pegados al tapón. Usar un agitador viscosimétrico limpio y seco y arrastrar las partículas sólidas pegadas a las paredes del tubo hacia la suspensión líquida. Colocar el tubo en el interior del baño no más tarde de 40 segundos después de haber añadido el almidón de patata y arrancar el aparato inmediatamente. La agitación comenzará al cabo de 5 segundos y continuará hasta los 60 segundos.

Tras el primer ciclo de agitación, el agitador permanecerá en la posición superior y se producirá una pausa de 1 minuto. Durante la pausa el contador lo hará cuenta atrás. La pantalla mostrará PAUSA 0:59 y contará hasta 0:0 durante la pausa de 1 minuto. Posteriormente el temporizador se pone a 0 y comienza el segundo ciclo de agitación. El Índice de Caída Fungal (FFN) se cuenta a partir del segundo ciclo de agitado. Tras el segundo ciclo de agitación el agitador es soltado en la posición superior para ir cayendo a través de la muestra como para el Índice de Caída clásico.

Activación del procedimiento de ensayo del Fungal FN

Bajo el Código 8, Temperatura, están los códigos incluidos para la selección del procedimiento de ensayo del Fungal FN. Tras pulsar CODE, 8, ENTER aparecerá la siguiente lista cuando se vaya validando con ENTER:

T XX.X AD YY.Y	Como en el programa clásico del FN muestra la temperatura del sensor y el valor AD.
FUNGAL= OFF *	El asterisco indica que el método Fungal está inactivado.
FUNGAL= ON	Selección del método Fungal. Para seleccionar Fungal pulsar ENTER durante 2 o más seg cuando se esté en esta fila. El asterisco aparecerá entonces en esta fila y desaparecerá de la fila "FUNGAL OFF/FUNGAL APAGADO".
TEMP 90	Punto de ajuste de regulación de temperatura, no será cambiado del valor por defecto 90 °C. Pulsar ENTER para continuar a la fila siguiente.
PAUSE 01	Punto de ajuste de la pausa entre la primera y segunda agitación en el ensayo del Fungal FN, no será cambiado del valor por defecto 01 (minutos). Pulsar ENTER para continuar a la fila siguiente.

Funciones del Sistema.

- El sistema informará cuando la temperatura del baño sea diferente de la de consigna. Al ir calentándose, la pantalla indicará "BATH COLD WAIT/BAÑO FRIO ESPERE" hasta alcanzar 5 grados para los 90 °C. Entonces la pantalla mostrará "WAIT TEMP 15:00/ESP. TEMP 15:00" y un temporizador hará la cuenta atrás de los 15 minutos restantes. Tras los 15 minutos el aparato estará listo para la operación y la pantalla mostrará: F 0.
El tiempo total para alcanzar los 90°C será aproximadamente de 30-35 minutos.
- Si la selección del método Fungal FN cuando el agua esté ya calentada a 100 °C (temperatura de ebullición), la pantalla mostrará "WAIT TEMP 15:00/ESP. TEMP 15:00". Cuando el temporizador haya contado los 15 minutos el baño estará estabilizado a 90 °C. El aparato estará entonces listo para el ensayo del Índice de Caída Fungal.
- Cuando se cambie del ensayo Fungal al ensayo clásico deberá seleccionarse la línea FUNGAL OFF/FUNGAL APAGADO tras ser seleccionada bajo el Code 8 tal como se describe más arriba. En pantalla aparecerá la alarma "BATH COLD WAIT/BAÑO FRIO ESPERE" y a los 95°C aparecerá: "WAIT TEMP 5:00/ESP. TEMP 5:00" y el

contador contará 5 minutos. El aumento de temperatura desde los 90 °C hasta el punto de ebullición llevará aproximadamente 10 minutos.

- Cuando el método Fungal FN está funcionando, puede saberse cuando se activa la regulación de temperatura observando de la lampara piloto del baño. La lámpara se encenderá y apagará periódicamente. Si la temperatura del baño se desvía $\pm 1^\circ$ de 90°C aparecerá la información "HIGH TEMP/TEMP ALTO" or "BATH COLD WAIT/BAÑO FROI ESPERE". Si la temperatura baja de 85°C (consigna de 90°C menos 5°C) por ejemplo si se añadiese agua fría al baño, también se activará el elemento de calefacción vertical para aumentar la temperatura. Cuando de nuevo se alcancen los 85°C de nuevo aparecerá en pantalla y empezará la cuenta atrás de 15 minutos antes de que el aparato esté listo para trabajar de nuevo.

Corrección del peso de la muestra a base de 14 % de humedad (Método Fungal)

Humedad (%)	Peso (g)	Humedad (%)	Peso (g)	Humedad (%)	Peso (g)
8,0	4,67	12,0	4,89	16,0	5,12
8,2	4,68	12,2	4,90	16,2	5,13
8,4	4,69	12,4	4,91	16,4	5,14
8,6	4,70	12,6	4,92	16,6	5,16
8,8	4,71	12,8	4,93	16,8	5,17
9,0	4,73	13,0	4,94	17,0	5,18
9,2	4,74	13,2	4,95	17,2	5,19
9,4	4,75	13,4	4,97	17,4	5,21
9,6	4,76	13,6	4,98	17,6	5,22
9,8	4,77	13,8	4,99	17,8	5,23
10,0	4,78	14,0	5,00	18,0	5,24
10,2	4,79	14,2	5,01	18,2	5,26
10,4	4,80	14,4	5,02	18,4	5,27
10,6	4,81	14,6	5,04	18,6	5,28
10,8	4,82	14,8	5,05	18,8	5,30
11,0	4,83	15,0	5,06	19,0	5,31
11,2	4,84	15,2	5,07	19,2	5,32
11,4	4,85	15,4	5,08	19,4	5,33
11,6	4,86	15,6	5,09	19,6	5,35
11,8	4,88	15,8	5,11	19,8	5,36
12,0	4,89	16,0	5,12	20,0	5,38

Fórmula usada: $\text{Peso (g)} = 5,00 * (100-14) / (100-\text{Humedad}(\%)).$