



DETERMINACIÓN DE AMILOSA EN PRESENCIA DE AMILOPECTINA EN ALMIDÓN DE ARROZ APLICANDO LA ESPECTROSCOPIA DERIVADA

DETERMINATION OF AMYLOSE IN THE PRESENCE OF AMILOPECTIN IN RICE STARCH APPLYING THE DERIVATIVE SPECTROMETRY

*** A. Carrasquero-Durán¹, P. B. Navas²**

⁽¹⁾Departamento de Química, Universidad Pedagógica Experimental Libertador (UPEL), Maracay, Venezuela

⁽²⁾Facultad de Agronomía, Instituto de Química y Tecnología, Universidad Central de Venezuela (UCV), Maracay, Venezuela

Artículo recibido: 23/01/15

Artículo aceptado: 27/05/15

RESUMEN

El método espectrofotométrico basado en la formación del complejo azul de yodo ha sido ampliamente utilizado para la cuantificación simple y rápida de amilosa. Sin embargo, la presencia de la amilopectina, que también forma un complejo coloreado con el yodo, interfiere en la determinación. Para reducir esta interferencia se aplicó la espectroscopia derivada (ED) y sus resultados fueron comparados con el método de la calibración directa (CD). Se prepararon disoluciones patrones que contenían amilosa y almidón ceroso de arroz como fuente de amilopectina para la calibración y validación de los modelos matemáticos. Los resultados de la CD produjeron valores sobreestimados de amilosa, mientras que al emplear la ED los resultados mostraron una mayor exactitud al reducirse el efecto de la interferencia de la amilopectina, sin la necesidad de la separación de ambos polisacáridos. Se propone el uso de la ED para la cuantificación del contenido verdadero de amilosa en el almidón de arroz.

Palabras clave: amilosa, amilopectina, quimiometría, primera derivada, espectros

ABSTRACT

The spectrophotometric method based on the blue iodine complex has been widely used for the simple and fast determination of amylose. However, the presence of amylopectin, which also forms a complex with iodine, interferes to the amylose determination. To reduce this interference, the derivative spectroscopy (DS) was applied and the results were compared with the direct calibration (DC). Standard solutions of amylose with variable amounts of rice waxy starch as the source of amylopectin were prepared for the calibration and validation of mathematical models. Results showed that the direct amylose determination gave results that over estimate the true content of this polysaccharide. The DS reduced the interference of amylopectin, providing accurate results with very low errors. It was proposed the used of DS for the accurate, precise and simple determination of amylose in rice starch.

Keywords: amylose, amylopectin, chemometrics, first derivative, spectra

* Autor de correspondencia: Armando Carrasquero Durán. E-mail: acarrasquerod@gmail.com



1. INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que las propiedades de los almidones están condicionadas, entre otras cosas, por las concentraciones de sus dos polisacáridos más importantes: amilosa y amilopectina. Por ejemplo, el contenido de amilosa influye en propiedades como la gelatinización, retrogradación, solubilidad, textura entre otros (Xie et al., 2009), por lo que la cuantificación del contenido de amilosa es un aspecto importante para la caracterización y uso de los distintos almidones (Jansen et al., 2011).

Existen diversos métodos analíticos para la determinación de amilosa en los almidones de raíces, tubérculos y cereales. Por ejemplo, Mestres et al. (1996) han empleado la calorimetría de barrido diferencial para cuantificar estos polisacáridos. Con el mismo propósito, Stawski (2008) empleó el análisis termogravimétrico, con lo cual fue posible caracterizar cualitativa y cuantitativamente el tipo de polisacáridos presentes en un almidón. Algunas técnicas de separación como la cromatografía de exclusión de alta resolución se han adaptado para la determinación del contenido exacto de amilosa (Schwank et al., 1990).

Por otro lado, se han desarrollado otros métodos por vía húmeda, tal es el caso de las titulaciones potenciométricas y amperométricas (Schwank, et al., 1990). No obstante, muchos de estos métodos suelen ser costosos debido al equipamiento necesario o requieren de mucho tiempo para su ejecución, lo que limita su aplicación en los laboratorios donde deben ser analizadas cantidades grandes de muestras. Por tales razones, es muy frecuente el empleo del método colorimétrico desarrollado por Mc Cready et al., (1950), que se basa en la medición de la absorbancia de un complejo azul, que se forma cuando los iones I_3^- se ubican en el interior de las estructuras helicoidales que forman las moléculas de amilosa en disoluciones acuosas. La absorbancia de este complejo depende linealmente de la concentración de amilosa, por lo que se pueden establecer rectas de calibración de acuerdo al modelo matemático de la Ley de Beer-Lambert, para efectuar la determinación rápida y precisa de la concentración de este compuesto (Ávila et al., 2013), en lo que se denomina método de la calibración directa (CD).

El procedimiento ha sido ampliamente utilizado en distintos tipos de almidones, aportando resultados llamados "concentraciones aparentes de amilosa", sugiriendo que puede haber discrepancias con respecto al contenido real de este hidrato de carbono. La causa principal de las diferencias entre la concentración real y la obtenida por el método

analítico, es la presencia de la amilopectina, un polisacárido más ramificado que la amilosa que también produce un complejo coloreado con el ión triyoduro. Este complejo absorbe radiación electromagnética en la zona visible del espectro electromagnético, solapándose con la absorción debida al complejo de amilosa. Ello plantea la necesidad de desarrollar un método analítico, que sin perder la simplicidad y rapidez de un método espectrofotométrico, permita obtener resultados de mayor exactitud.

En este sentido, la quimiometría, que es una disciplina de la química donde se emplean modelos matemáticos y estadísticos para el tratamiento de los datos experimentales, ha sido muy utilizada para la resolución de mezclas de diferentes analitos, así como también para eliminar las interferencias que afectan a la cuantificación de una determinada sustancia (Chaydhary et al., 2011).

Se han desarrollado algunos métodos quimiométricos para la determinación de amilosa en presencia de amilopectina. Por ejemplo, Zhu et al. (2008) y Séne et al. (1997) han propuesto sistemas de ecuaciones lineales basados en la medición de la absorbancia a distintas longitudes de onda de mezclas de los complejos.

Una vez que se resuelven estos sistemas de ecuaciones, se obtienen las concentraciones de cada polisacárido. Sin embargo, la principal limitación de esos modelos reside en que puede ser necesario emplear sistemas de más de dos ecuaciones para obtener resultados exactos, lo cual complica el tratamiento matemático.

Otro procedimiento quimiométrico muy utilizado en la resolución de mezclas es la espectroscopía derivada (ED), que es una técnica en la cual se mide la pendiente de rectas tangentes en varios puntos de la curva que conforma el espectro de absorción de una sustancia. Estas pendientes representan la magnitud de los cambios que experimentan las absorbancias con el incremento de la longitud de la onda del haz de radiación que incide sobre el complejo absorbente. La primera derivada se puede calcular aplicando distintos procedimientos, entre los cuales está la siguiente Ecuación (1):

$$\left(\frac{\partial A}{\partial \lambda_{(nm)}} \right) = \frac{A_n - A_{n-1}}{\lambda_n - \lambda_{n-1}} \quad \text{Ec. 1}$$

En esa ecuación A_n y A_{n-1} representan las absorbancias a dos longitudes de ondas consecutivas (λ_n y λ_{n-1}). La representación gráfica de la primera



derivada frente a λ toma la forma de una curva continua que exhibe tres puntos característicos: un máximo positivo, que corresponde a la pendiente del punto en el cual el incremento de A en función a λ alcanza un valor máximo. Se observa también un valor mínimo negativo, que es debido a otro punto donde la pendiente de la recta tangente tiene un valor máximo, pero de signo negativo, ya que se ubica en el segmento de la curva del espectro donde la absorbancia disminuye. El tercer punto es conocido como el "punto de anulación", ya que el valor de la primera derivada se iguala a cero y coincide con el máximo de absorción del complejo absorbente. La primera derivada se anula en este punto, porque la recta tangente al punto de máxima absorción es totalmente horizontal y su pendiente se iguala a cero, siendo además, independiente de la concentración del compuesto en la disolución, ya que el máximo de absorción ocurre siempre a la misma λ y no varía con la concentración. Por lo tanto, si se efectúan las medidas en el punto de anulación de un componente en una mezcla, el valor medido será debido solamente a la contribución de los otros componentes de dicha mezcla (Castaño-Vidriales, 1991; Howard y Workman, 2003).

Aún cuando la ED se ha introducido desde hace varios años en la química analítica, no es frecuente encontrar ejemplos de su aplicación en el análisis de alimentos, debido a la dificultad que existía hace algunos años para disponer de equipos capaces de realizar en forma automática barridos espectrofotométricos. En la actualidad, se emplean instrumentos que disponen de convertidores de señales analógicas en digitales y que son controlados por computadores personales, los cuales registran automáticamente los espectros de absorción, y también realizan los cálculos necesarios para representar las derivadas de diversos órdenes para esos espectros.

En este estudio y debido a que la presencia de la amilopectina puede considerarse como una interferencia en la determinación exacta del contenido de amilosa (Fitzgerald et al., 2009), se consideró que la ED podría resolver una mezcla de los complejos Amilosa- I_3^- y Amilopectina- I_3^- por medios estrictamente matemáticos, sin tener que llevar a cabo la separación física de ambos complejos. Por lo tanto, el propósito de este trabajo fue el de emplear la ED en el desarrollo de un método analítico espectrofotométrico, simple y rápido para la determinación del contenido exacto de amilosa en presencia de la amilopectina en el almidón de arroz.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Reactivos

Se emplearon los siguientes reactivos de grado analítico: KOH, HCl, I_2 , KI suministrados por Sigma-Aldrich (Estados Unidos). El patrón de amilosa fue suministrado por Merck (Alemania). Para preparar las disoluciones se utilizó agua destilada y desionizada (Water Pro PS. Labconco, Estados Unidos).

2.2 Almidón de arroz

Para evaluar el efecto de la presencia de la amilopectina en la determinación de la amilosa, se empleó una harina de arroz ceroso con un contenido de amilopectina superior al 98 %.

2.3 Disoluciones patrones

Se pesó una masa de 100 ± 1 mg de amilosa y se colocó en un vaso de precipitados de 50 mL, se añadieron 10 mL de NaOH 2 M y se agitó continuamente hasta la disolución completa. Posteriormente se transfirió a un matraz aforado de 100 mL para completar hasta la marca con agua destilada-desionizada. De esta forma se obtuvo una disolución de trabajo de amilosa de $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

El almidón ceroso de arroz fue empleado como matriz para evaluar el efecto de la amilopectina en la determinación espectrofotométrica de amilosa. Para ello se pesaron 100 ± 1 mg de almidón, a los que se agregaron 10 mL de NaOH 2 M, se agitó continuamente hasta la completa disolución. Posteriormente se transfirió a un matraz aforado de 100 mL para completar hasta la marca con agua destilada-desionizada.

2.4 Patrones para la aplicación de los métodos quimiométricos

Se prepararon dos series de disoluciones patrón. Para la primera serie se agregaron, a matraces aforados de 10 mL, alícuotas de la disolución madre de amilosa que contenían entre 0,1 y 0,5 mg. Para la segunda serie de patrones se utilizó la disolución madre de almidón ceroso, de donde se tomaron alícuotas que representaban cantidades desde 0,8 a 4,0 mg, y que también se colocaron en matraces aforados de 10 mL. En estos matraces se desarrolló el color de los complejos por el método que se describirá más adelante y las disoluciones fueron empleadas para obtener los espectros de absorción, las primeras derivadas y las curvas de calibración de la amilosa.



Para la matriz de validación se prepararon 20 disoluciones en las cuales estuvieron presentes tanto la amilosa como la amilopectina proveniente del almidón ceroso de arroz a distintas concentraciones de ambos componentes, con el propósito de evaluar el efecto de la amilopectina en la cuantificación de la amilosa.

2.5 Formación del complejo amilosa-yodo

En matraces aforados de 10 mL se agregaron las alícuotas de amilosa y almidón soluble necesarias para obtener los distintos patrones. Se añadieron 2 mL de una disolución reguladora de ácido acético + acetato de sodio (0,5 M) a pH 3,6 y 2 mL de la disolución de I₂ (0,2 g) saturada con KI. Finalmente se completó hasta la marca del aforo con agua destilada-desionizada y se dejó en reposo por 10 minutos para permitir que se desarrollara el color de los complejos.

2.6 Equipos, análisis estadísticos y tratamiento de los datos

Se utilizó un espectrofotómetro Agilent 4853 con celdas de polietileno de 1 cm de paso de luz, el cual fue acoplado a un computador personal provisto del programa CHEMSTATION (Agilent, Estados Unidos) para el registro de los espectros de absorción y de la primera derivada entre los 350 y 700 nm, con un intervalo de 10 nm. Los tratamientos estadísticos de las calibraciones univariadas fueron realizados empleando el software estadístico TANAGRA 1.4.28 (Lyon, Francia).

Los límites de detección (L_D) y cuantificación (L_C) para cada método fueron calculados aplicando las Ecuaciones 2 y 3 (Badulescu et al., 2008)

$$L_D = \frac{3,3 \times S_a}{b} \quad \text{Ec. 2}$$

$$L_C = \frac{10 \times S_a}{b} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde S_a es la desviación estándar de la ordenada en el origen y b la pendiente de las rectas de regresión.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Optimización de las condiciones experimentales para la formación del complejo amilosa-yodo

Se evaluó el efecto de variables como el pH, volumen de la disolución reguladora de ácido acético/acetato de sodio (1 mol L⁻¹) y el volumen de la disolución de I₂-KI, sobre la absorbancia de una disolución que contenía 1 mg de amilosa.

Se pudo comprobar que la adición de 1 mL de la disolución reguladora a pH 3,6 junto con 100 μL de la mezcla de I₂-I fue suficiente para alcanzar el máximo de absorción del complejo azul de amilosa a 630 nm, de tal forma que estas condiciones fueron consideradas como las óptimas para la determinación del analito.

3.2 Espectros de absorción de los complejos de amilosa-I₂ y amilopectina-I₂

La coloración azul que toma la disolución de amilosa al ser tratada con el I₂ se debe a la reacción entre el polímero y el halógeno, el cual se coloca en el centro de la estructura helicoidal que forma la amilosa en disolución acuosa (Yu et al., 1996), tal como se representa en la Figura 1.

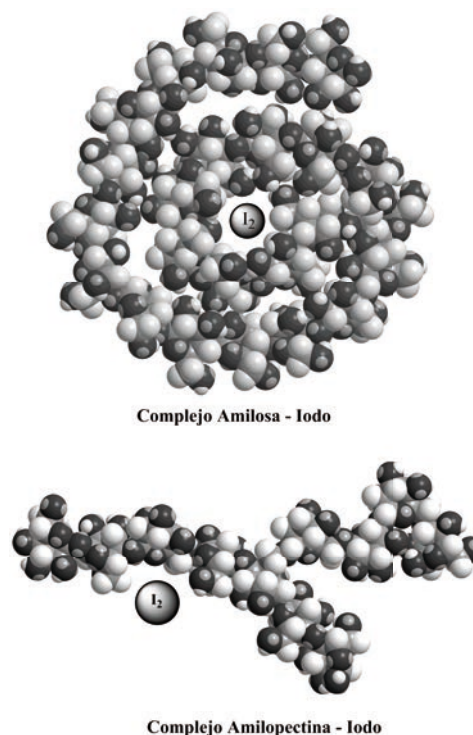


Figura 1. Estructuras moleculares de los complejos absorbentes



La amilopectina también puede formar un complejo con el yodo, pero debido a que el polisacárido tiene una estructura más ramificada, se dificulta la interacción entre las moléculas y por eso el complejo de amilopectina-I₂ exhibe una menor absorción de radiación.

En los espectros de absorción en la región visible para los complejos que forman, tanto la amilosa pura como la amilopectina presente en el almidón ceroso de

arroz (Figura 2), se observan máximos de absorción a 650 nm y 480 nm respectivamente, que coinciden con los valores reportados en otros estudios (Séne, et al., 1997). La amilopectina exhibe una banda de absorción que cubre desde los 450 hasta los 850 nm, coincidiendo con la banda de absorción de la amilosa.

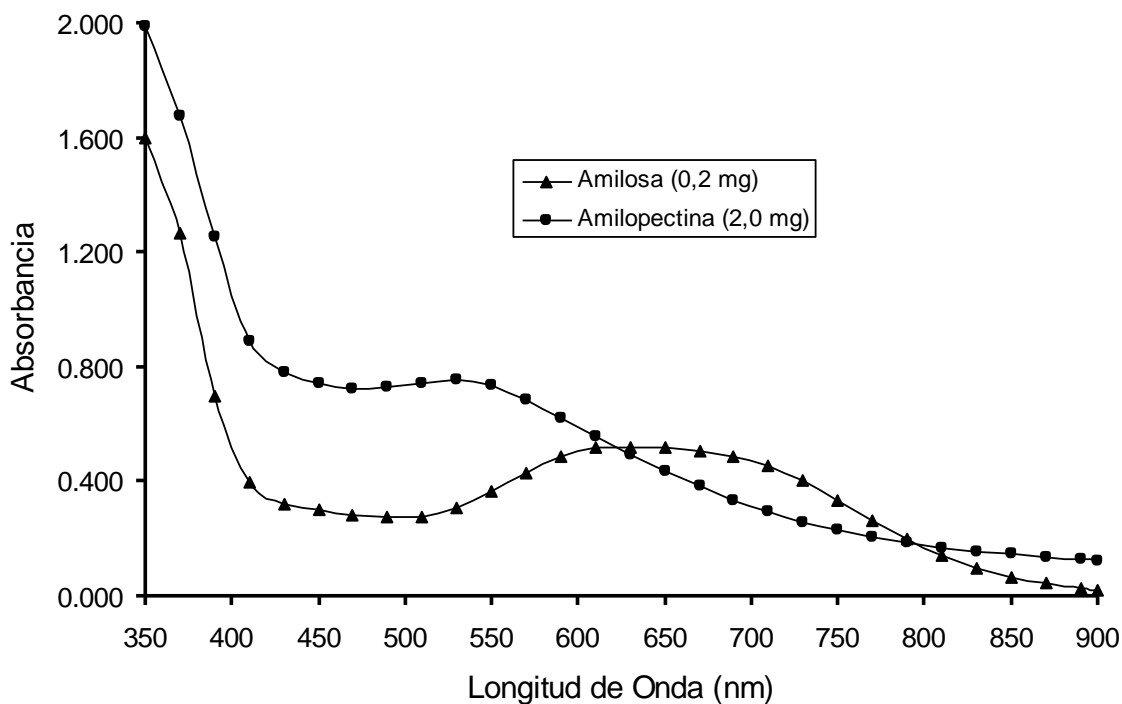


Figura 2. Espectros de absorción de los complejos amilopectina-I₂ y amilosa-I₂

Este solapamiento de las bandas de absorción es la razón de la interferencia que produce la amilopectina, obteniéndose resultados inexactos en la determinación de la amilosa, debido a que la absorbancia medida corresponde a la absorción simultánea de los dos complejos. Esto podría cuestionar la validez de los resultados basados en la “concentración aparente”, en aquellos almidones en los que estén presentes ambos polisacáridos, debido a que se estarían reportando contenidos de amilosa superiores a los verdaderos. En consecuencia, se hace necesaria la eliminación de esta interferencia, para lo cual se pueden emplear métodos de separación como

la cromatografía o la precipitación fraccionada. Sin embargo, ya se ha señalado que dichos métodos son, o bien muy costosos por los equipos necesarios, o consumidores de mucho tiempo.

Al representar la primera derivada del espectro de la amilosa (Figura 3) se observó la presencia de un pico máximo a 560 nm y otro mínimo a 760 nm, que corresponden a las longitudes de onda en las cuales las pendientes de un punto tangente a la curva del espectro toman un valor máximo positivo o negativo (Howard y Workman, 2003).

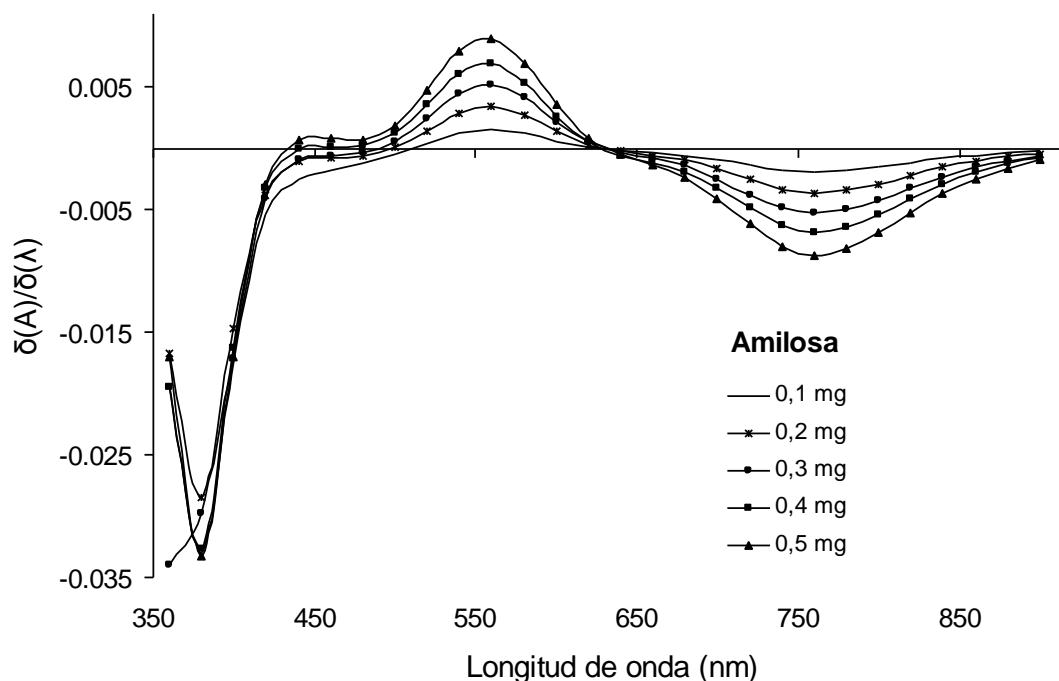


Figura 3. Primera derivada del espectro del complejo amilosa-I₂

Por otro lado, a 630 nm, la primera derivada del espectro se iguala a cero, ya que corresponde al máximo de absorción del complejo de amilosa-I₂, donde la pendiente del punto tangente se anula.

Con respecto a la amilopeptina, la primera derivada muestra valores máximos y mínimos a 500 y 600 nm respectivamente (Figura 4), mientras que el punto de anulación se ubicó a 540 nm, coincidiendo con el máximo de absorción del complejo con yodo. Se pudo comprobar que el punto de anulación cumplió con la propiedad de ser independiente de la concentración de la amilopeptina. A esa misma longitud de onda, la primera derivada de la amilosa toma valores positivos y proporcionales a la concentración.

En otras palabras, el valor que se obtenga para la primera derivada del espectro de una mezcla de amilosa y amilopeptina a 540 nm, se deberá

únicamente a la presencia del polisacárido lineal, anulándose de esta forma el efecto de la interferencia del otro compuesto presente en el almidón de arroz.

3.2 Aplicación de la CD y primera derivada del espectro de absorción en la determinación de amilosa en presencia de amilopeptina

A partir de los contenidos de amilosa en los patrones de calibración y sus respectivas absorbancias a 630 nm, se aplicó la CD, para la cual se calculó la ecuación de regresión según el modelo de Beer-Lambert (Miller y Miller, 2008). La Tabla 1 muestra un coeficiente de regresión cercano a la unidad que confirmó la relación lineal entre la absorbancia y la concentración del complejo de yodo, tal como lo establece el método de Mc Cready.



Tabla 1. Parámetros estadísticos de las ecuaciones de regresión

Parámetros Estadísticos	Calibración Directa ($\lambda = 630 \text{ nm}$)	Primera derivada ($\lambda = 540 \text{ nm}$)
Coefficiente de determinación (R^2)	0,9997	0,9996
Pendiente (b)	2,364	0,01663
Desviación estándar de b (S_b)	0,023	0,00017
Ordenada en el origen (a)	0,055	-0,00047
Desviación estándar de a (S_a)	0,007	0,00006
Límite de detección (mg)	0,01	0,01
Límite de cuantificación (mg)	0,03	0,04

Tabla 2. Determinación de amilosa en presencia de amilopeptina aplicando los tres métodos quimiométricos

Muestra	mg presentes		mg de amilosa calculados ⁽¹⁾	
	Almidón ceroso	Amilosa	CD	ED
1	0,00	0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2	0,00	0,30	0,32 ± 0,02	0,29 ± 0,01
3	0,70	0,00	0,60 ± 0,02	0,00 ± 0,00
4	0,70	0,30	0,36 ± 0,02	0,28 ± 0,01
5	0,90	0,10	0,21 ± 0,01	0,07 ± 0,01
6	0,80	0,20	0,27 ± 0,02	0,18 ± 0,01
7	1,00	0,50	0,58 ± 0,02	0,49 ± 0,02
8	1,00	1,00	1,14 ± 0,03	1,02 ± 0,03
9	0,80	0,10	0,16 ± 0,01	0,08 ± 0,01
10	0,75	0,15	0,21 ± 0,01	0,12 ± 0,01
11	1,00	0,25	0,42 ± 0,02	0,22 ± 0,02
12	0,70	0,12	0,24 ± 0,01	0,10 ± 0,01
13	0,60	0,23	0,32 ± 0,02	0,23 ± 0,02
14	1,50	0,40	0,62 ± 0,03	0,38 ± 0,02
15	0,60	0,16	0,22 ± 0,01	0,14 ± 0,01
16	1,20	0,10	0,27 ± 0,01	0,06 ± 0,01
17	0,50	0,50	0,59 ± 0,02	0,50 ± 0,02
18	0,80	0,60	0,72 ± 0,03	0,61 ± 0,02
19	1,00	0,30	0,47 ± 0,02	0,27 ± 0,02
20	1,50	0,23	0,44 ± 0,02	0,20 ± 0,02
		Error absoluto⁽²⁾	0,13 ± 0,05	0,02 ± 0,01

⁽¹⁾Valores promedio y desviaciones típicas (n=3)

⁽²⁾Valor promedio e intervalo de confianza del 95% (n=20)



Por otro lado, para la ED se emplearon los valores de la primera derivada del espectro de la amilosa a 540 nm ya que, como se ha señalado, esa longitud de onda correspondía al punto de anulación del complejo de amilopeptina. También se obtuvo una ecuación de regresión lineal, con un coeficiente de determinación cercano a la unidad, estableciéndose de esta manera la dependencia lineal del valor de la primera derivada a 540 nm con la concentración del amilosa en el complejo.

Con respecto a los límites de detección, los resultados indicaron que ambos métodos resultaron equivalentes en su capacidad para detectar la presencia de la amilosa, con un L_D de 0,01 mg en ambos casos. En lo que respecta al límite de cuantificación, la ED produjo un valor ligeramente más elevado (0,04 mg) que la CD (0,03 mg).

Para el cálculo de los contenidos de amilosa en los patrones de validación, se utilizaron los valores de las pendientes y ordenadas en el origen, obtenidos tanto por CD como por la ED. La Tabla 2 muestra tanto los contenidos reales de amilosa para cada patrón de validación y los valores calculados por ambos métodos quimiométricos.

Las mayores diferencias entre los valores reales y los calculados se produjeron con la CD. Por ejemplo, en el caso de la muestra 3, se obtuvo un contenido de amilosa de 0,6 mg, que no es verdadero, ya que esa muestra sólo contenía almidón ceroso. En los restantes patrones se apreció una sobreestimación del contenido del polisacárido que fue mayor, a medida que el contenido de amilopeptina proveniente del almidón ceroso también era mayor. Como ya se ha señalado, esta sobreestimación es debida al aporte que hace el complejo amilopeptina- I_2 a la absorbancia medida a la longitud de onda de trabajo.

Para estimar el error que se comete al aplicar cada modelo matemático se calculó el error absoluto, para lo cual se restó al valor verdadero de amilosa el valor calculado con las ecuaciones de regresión. Los resultados de signo negativo indicaban la sobreestimación del valor verdadero, mientras que un error de signo positivo representaba una subestimación del valor real de amilosa en el patrón de validación.

El error absoluto promedio fue representado por la media aritmética de los valores absolutos de todos los

errores, independientemente de que su valor fuese negativo. Los resultados indicaron que en la calibración directa el error promedio fue de 0,13 mg, que estuvo muy por encima de los límites de detección y cuantificación para este método. En consecuencia es posible reportar o bien la presencia de amilosa en muestras en las cuales esté ausente esta molécula o contenidos superiores a los realmente presentes en un almidón.

Al reducir el efecto de la interferencia de la amilopeptina aplicando la ED, el error promedio disminuyó hasta 0,02 mg, que fue inferior a los límites de cuantificación y detección, impidiéndose de esta forma la posibilidad de detectar la presencia de la amilosa cuando la molécula no esté realmente presente.

La representación gráfica de los errores absolutos para cada método de cuantificación en función a la cantidad de almidón ceroso presente (Figura 4), mostró que en el caso de la CD los errores estuvieron seriamente afectados por la presencia de la amilopeptina. A medida que la cantidad de interferente fue mayor, el error absoluto se incrementó, siendo siempre de signo negativo, evidenciándose la sobreestimación cada vez mayor de la amilosa.

Por otro lado, al usar la ecuación de regresión de la primera derivada del espectro, los errores absolutos fueron menores y se distribuyeron de manera aleatoria, entre los valores -0,01 y 0,05 mg (Figura 5). Esto evidencia que estos errores fueron independientes de la cantidad de amilopeptina presente. Esto demostró que el método matemático basado en la primera derivada del espectro pudo eliminar el efecto de la interferencia de la amilopeptina sin tener que recurrir a la separación física.

Otros criterios de calidad para un método analítico son la repetibilidad y reproducibilidad de los resultados. En este trabajo se pudo comprobar que tanto la calibración directa como la ED produjeron resultados repetibles y reproducibles, con errores inferiores al 1 %.

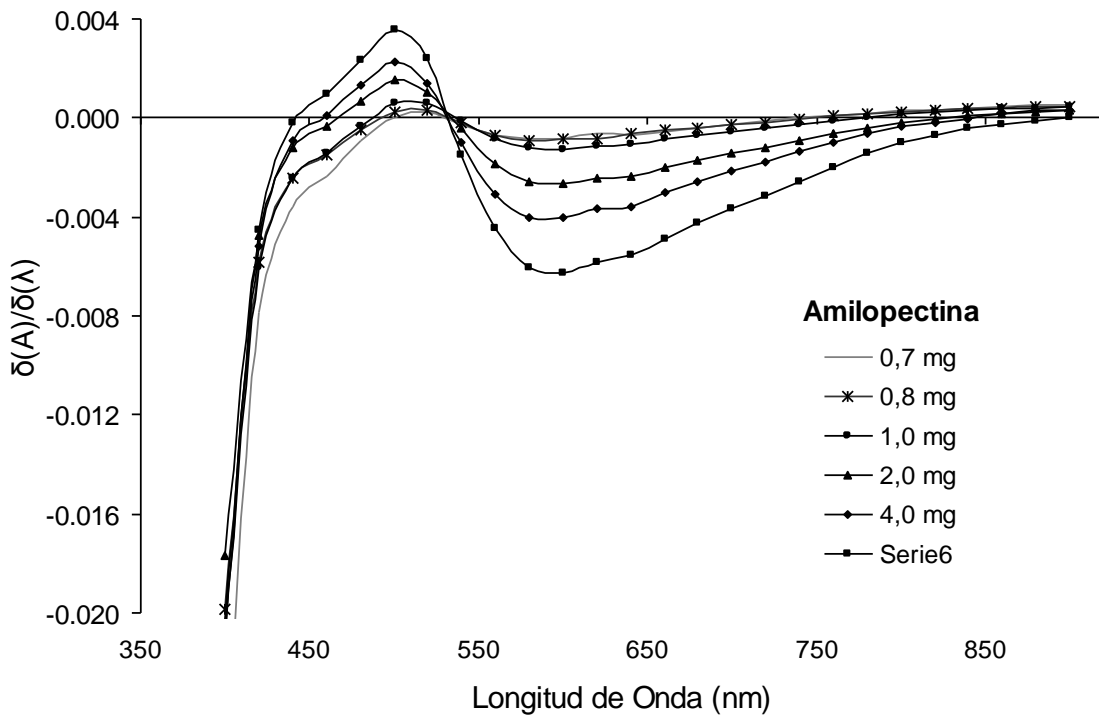


Figura 4. Primera derivada del espectro del complejo amilopectina-I₂

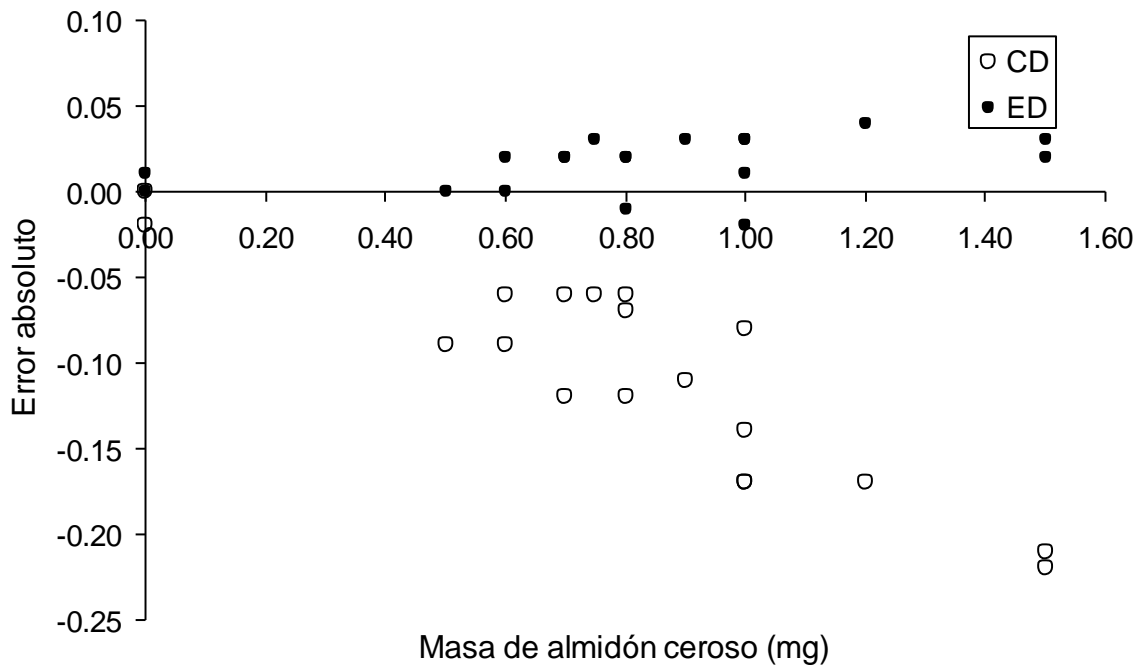


Figura 5. Dependencia del error absoluto de predicción con respecto al contenido de amilopectina presente



4. CONCLUSIONES

Con base en los resultados de este trabajo se puede concluir que la amilopeptina, al producir un complejo coloreado con el yodo, interfiere en la determinación espectrofotométrica de la amilosa y, en consecuencia, la determinación del contenido de “amilosa aparente” por CD, si bien puede producir resultados altamente precisos, estos tienden a ser sobreestimados y de poca exactitud.

En segundo lugar, se puede concluir que la espectroscopia derivada es un procedimiento sencillo en el cual el espectrofotómetro registra por medio de su propio software controlador los valores de la primera derivada de los espectros electromagnéticos del complejo amilosa- I_2 . A partir de allí se pueden calcular las rectas de calibración, sin que ello implique modificaciones importantes al método original de determinación de la amilosa. Los resultados obtenidos son de mayor precisión y exactitud en comparación con los que aporta la calibración directa.

Por último, se concluye que la espectroscopia derivada puede emplearse en la determinación del contenido en amilosa del almidón de arroz, a fin de obtener resultados precisos y exactos de una manera simple, rápida y con espectrofotómetros de uso común en la mayoría de los laboratorios de análisis de alimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ávila, M., Ávila, J., Hernández, H., Verde, O., Romero, M., y Alejos, J. (2013). Evaluación de la precisión de dos laboratorios venezolanos para la determinación de amilosa aparente en arroz (*Oryza sativa* L.) pulido. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 4(1), 24-31.
- Badulescu, M., Balalau, D., Căcovenan, I., Ilie, M., y Baconi, D. (2008). UV-VIS Spectrophotometric assay of metoprolol. Note 2. Method Validation. *Farmacia*, 56(4), 363-370.
- Castaño-Vidriales, J. J. (1991). Espectrometría derivada en química clínica. *Química Clínica*, 10(5), 347-359.
- Chaydhary, J., Jain, A., y Saini, V. (2011). Simultaneous estimation of multicomponents formulations by UV-Visible spectroscopy: an overview. *International Journal of Pharmacy*, 2(12), 81-83.
- Fitzgerald, M. A., Bergman, C. J., Resurreccion, P., Möller, J., Jimenez, R., Reinke, R. F., et al. (2009). Addressing the dilemmas of measuring amylose in rice. *Cereal Chemistry*, 86(5), 492-498.
- Howard, M., y Workman, J. (2003). Derivatives in spectroscopy. *Spectroscopy*, 18(4), 32-37.
- Jansen, G., Ordon, F., Knopf, E., y Dieckmann, K. (2011). Rapid methods for selecting single kernels of waxy barley. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84, 6-10.
- Mc Cready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V., y Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables, application to peas. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156-1158.
- Mestres, C., Matencio, F., Pons, B., Yajid, M., y Flidel, G. (1996). A rapid method for determination of amylose content by using differential scanning calorimetry. *Starch/Stärke*, 48(1), 2-6.
- Miller, J. N., y Miller, J. C. (2008). *Estadística y quimiometría para química analítica* (4ª ed.). Madrid (España): Pearson Education.
- Schwank, U., Jacobi, A., Drawert, F., y Fischbeck, G. (1990). Halbkornmethode zur estimmung des Amylosegehalts in Gerste. *Starch/Stärke*, 42, 86-89.
- Séne, M., Thévenot, C., y Prioul, L. J. (1997). Simultaneous Spectrophotometric Determination of Amylose and Amylopectin in Starch from Maize Kernel by Multi-wavelength Analysis. *Journal of Cereal Science*, 26, 211-221.
- Stawski, D. (2008). New determination method of amylose content in potato research. *Food Chemistry*, 110, 777-781.
- Xie, F., Long, L., Su, B., Liu, P., Wang, J., Liu, H., et al. (2009). Rheological properties of starches with different amylose/amylopectin ratios. *Journal of Cereal Science*, 49, 371-377.
- Yu, X., Houtman, C., y Atalla, R. H. (1996). The complex of amylose and Iodine. *Carbohydrate Research*, 292, 129-141.
- Zhu, T., Jackson, D. S., Wehling, R. L., y Geera, B. (2008). Comparison of amylose determination methods and the development of a dual wavelength iodine binding technique. *Cereal Chemistry*, 85(1), 51-58.