

Determinación de macro elementos en exudado de hojas de zábila (*Aloe vera* (L.) Burm. f.)

Macroelements determination in zabila leaves exudate (Aloe vera (L.) Burm. f.)

Oswaldo R Saavedra A¹, Carlos E Rondón¹

RESUMEN

El *Aloe vera* (L.) Burm. f. (zábila) es una planta utilizada por sus propiedades medicinales, la parte utilizada de esta planta es su hoja, de ésta se extraen dos componentes: los cristales y el exudado. En esta investigación se estudió la concentración de macro elementos presentes en el exudado de hojas de zábila, a saber: sodio (Na), calcio (Ca), magnesio (Mg) y potasio (K) por espectrometría de absorción atómica en llama (FAAS). Las plantas estudiadas fueron cultivadas en la ciudad de Coro, estado Falcón. Las muestras compuestas de exudado se recolectaron en hojas ubicadas en las posiciones bajas, medias y superiores de las plantas. Luego se secaron por liofilización, y se mineralizaron: 0.25 g de muestra de exudado se sometieron a digestión ácida, con 1:2 HNO₃ concentrado y H₂O₂ en plancha de calentamiento. Se utilizó material certificado NIST 1572, USA: Hojas de plantas cítricas, para evaluar la exactitud del método, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los valores del material de referencia con los valores obtenidos con el método aplicado en esta investigación. El promedio de la desviación estándar relativa (RSD) fue de 1.41%, lo que certifica la precisión del método empleado. Las concentraciones de los macro elementos encontradas fueron: Na: $0.24 \pm 0.03\%$ p/p, K: $0.69 \pm 0.13\%$ p/p, Ca: $0.07 \pm 0.01\%$ p/p y Mg: $0.01 \pm 0.00\%$ p/p. El método empleado para determinar la concentración de Na, Ca, Mg y K en muestras de exudado de zábila por FAAS fue exacto, preciso y libre de interferencias.

Palabras claves: Macroelementos en *Aloe vera* (L.) Burm. f., metales en zábila, FAAS.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the metals in *Aloe vera* (L.) Burm. f. (zabila). These metals are necessary in the human organism; namely: Na, K, Ca y Mg. It was digested for 1 hour in a hot plate at 70 °C 0.25 g of lyophilized exudate with 1:2 nitric acidic and hydrogen peroxide. It was no found significant statistics differences at 95% of confidence between the standard calibration curve and the aqueous calibration curve, so no matrix effect was observed. The recovery studies was satisfactory, the mean value was $99.77 \pm 2\%$. It was no found significant statistics differences at 95% of confidence between the certified values (NBS: Citrics leaves 1572) of studied metals and the values found with the applied methodology. The concentrations of these elements in the real composed samples were: Na: $0.24 \pm 0.03\%$ w/w; K: $0.69 \pm 0.13\%$ w/w; Ca: $0.07 \pm 0.01\%$ w/w; Mg: $0.01 \pm 0.00\%$ w/w. The method used to determine the determined elements was exact, precise and free from interferences.

Key words: Macroelements en *Aloe vera* (L.) Burm. f., metals in zabila - FAAS.

¹ Laboratorio de Espectroscopía Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, La Hechicera, Mérida 5101-A. Venezuela. saavedra@ula.ve / crondon@ula.ve

INTRODUCCIÓN

El *Aloe vera* (L.) Burm.f. está entre las plantas que se considera tienen propiedades medicinales (1). Algunas enfermedades tratadas con *Aloe vera*, en las que se ha conseguido un alivio o curación de las mismas, son: colitis, bursitis, artritis, asma, úlceras estomacales, venas varicosas, quemaduras solares, quemaduras de tercer grado causadas por rayos X, quemaduras por radiaciones atómicas (2).

Desde un punto de vista químico, el *Aloe vera* contiene una resina, glucósidos, ácidos orgánicos, aminoácidos, aceites esenciales, sustancias amorfas, agua y minerales. Entre los glucósidos se tiene aloína (barbaloina), la cual es el componente principal conteniendo de 12-30 por ciento; isobarbaloina y la betabarbaloina; 0.10 – 0.20 por ciento de emodina; aloe-emodina; crisofanol; rheina; diglicósidos A y B; homonataloina (3).

Entre los compuestos no derivados de la antraquinona se reportan aloesina y aloeresina (3). Mientras que, entre los minerales reportados se tienen aluminio, bario, boro, cadmio, calcio, cromo, cobre, hierro, litio, magnesio, manganeso, fósforo, potasio, sodio, zinc, germanio, bismuto, mercurio, plomo y plata (4). En este trabajo se presenta la concentración de macro elementos como el Na, Ca, Mg y K en el exudado de hojas de *Aloe vera*, en muestras compuestas de plantas cultivadas en la ciudad de Santa Ana de Coro, Venezuela, mediante la técnica FAAS.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Las muestras compuestas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. se recolectaron en la ciudad de Santa Ana de Coro, municipio Miranda del estado Falcón, Venezuela, en época de inflorescencia, en marzo de 2005, en plantas de 3 años de edad. Se obtuvo muestra compuesta de exudado de hojas ubicadas en la parte inferior, media y superior de las plantas. La muestra final la conformaron el exudado compuesto obtenido de 12 plantas de *Aloe vera*.

Procesamiento de las muestras

Las muestras compuestas de exudado obtenidas de las hojas del *Aloe vera* (L.) Burm. f. fueron procesadas se-

gún esquema previamente publicado (5, 6). Se presentan, a manera de ilustración, algunos aspectos resaltantes.

Esquema de digestión

Las condiciones fijadas para el proceso de digestión ácida fueron las siguientes.

Tabla 1
Parámetros para la digestión de las muestras

| Parámetros | Valor |
|--|--------|
| Masa de muestra | 0.25 g |
| Volumen de HNO ₃ | 4 mL |
| Volumen de H ₂ O ₂ | 8 mL |
| Tiempo de digestión | 1 hora |
| Temperatura de calentamiento | 70 °C |
| Volumen final de dilución | 25 mL |

Fuente: (5, 6)

Todos los análisis, tanto de la muestra compuesta de exudado de zábila como de material de referencia certificado, se realizaron por triplicado, utilizando patrones acuosos; ya que existen evidencias empíricas que el ácido empleado en la digestión por vía húmeda no tiene influencia en los resultados que se obtienen, dado que no hay diferencias estadísticamente significativas, a un nivel de confianza del 95%, entre la pendiente obtenida con patrones de calibración acuosos y la obtenida en medio ácido (7, 8).

Equipos y accesorios

Equipo de Absorción atómica con atomización en Llama Perkin Elmer, modelo 3100, acoplado con una computadora personal dtk Tech-1632 con software Gem Desktop, Gem/3; liofilizador, marca LyovaC GT 2. Leybold –Heraeus; plancha de calentamiento, marca Thermoline, tipo 2200; balanza electrónica, marca ER-180A. AND; estufa, marca Beckman, modelo 1270; lámparas de cátodo hueco monoelemental de: Na, Ca, Mg y K; material de vidrio de uso común en el laboratorio, lavado antes de su uso con agua y detergente, enjuagado con ácido nítrico al 5% v/v y con agua desionizada.

Reactivos

Los reactivos utilizados fueron todos de grado analítico (tabla 2). El agua empleada para preparar las soluciones fue desmineralizada y desionizada (Milipore) con una conductividad de $18 \text{ M } \Omega\text{-cm}^{-1}$.

RESULTADOS

Las características analíticas del método empleado en la determinación de Na, K, Ca y Mg, la validación de la metodología, estudio de interferencias, la exactitud y precisión fueron reportados en investigación previa (5). Un resumen de los aspectos relevantes se presenta seguidamente.

En las Tabla 3 y 4 se señalan las características analíticas obtenidas para la determinación de los macro elementos Na, K, Mg y Ca durante su medición por FAAS.

Estudio de interferencias

El estudio de interferencias por parte de la matriz, en la determinación de metales en exudado de zábila, se realizó a través de curvas adición de estándar y de calibración sencilla, con patrones acuosos de Sodio.

Para determinar si hay o no diferencias estadísticamente significativas, entre las pendientes de la curva de calibración acuosa (mCCA) y la de adición de estándar (mCAE) del sodio, se procedió a realizar un análisis estadístico, empleando el estadígrafo t-Student (9).

Tabla 2
Reactivos empleados en la investigación

| Nombre | Fórmula | Pureza/densidad | Marca |
|-----------------------|----------------------------|-----------------|----------------|
| Carbonato de calcio | CaCO_3 | 99 % | Riedel De Häen |
| Magnesio (virutas) | Mg | 99,5% | Merck |
| Cloruro de sodio | NaCl | 99,5% | Analar |
| Nitrato de estroncio | $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ | 100% | Ucb |
| Cloruro de cesio. | CsCl | 99,9% | Sigma. |
| Cloruro de potasio | KCl | 99,5% | Merck. |
| Ácido clorhídrico | HCl | 37% / 1.19g/mL | Riedel De Häen |
| Ácido nítrico | HNO_3 | 65% / 1.40 g/mL | Riedel De Häen |
| Peróxido de hidrógeno | H_2O_2 | 35% / 1.13 g/mL | Riedel De Häen |

Tabla 3
Características analíticas del Na y K

| Características | Na | K |
|--|---|---|
| Ecuación de la recta | Abs. = $-4.85\text{E-}4 + 0.6709*[\text{Na}]$ | Abs. = $1.63\text{E-}04 + 8.01\text{E-}04*[\text{K}]$ |
| Coefficiente de determinación | 0.9997 | 0.9999 |
| Sensibilidad (m) | $0.6709 \text{ (mg/L)}^{-1}$ | $8.01\text{E-}04 \text{ (mg/L)}^{-1}$ |
| Límite de detección (LOD) | 0.004 mg/L | 1.75 mg/L |
| Límite de cuantificación (LOQ) | 0.01 mg/L | 0.0048 mg/L |
| Intervalo de trabajo (LOQ – LOL) | 0.01-0.4 mg/L | 5.99- 400 mg/L |
| Concentración característica (c_0) | 0.0058 mg/L | 5.4591 mg/L |
| Desviación estándar relativa (RSD) | 0,25% | 0,30% |

Tabla 4
Características analíticas del Ca y Mg

| Características | Ca | Mg |
|--|-----------------------------|------------------------------|
| Ecuación de la recta | Abs.= 0.0045 + 0.0375*[Ca] | Abs.= 0.01529 + 0.73757*[Mg] |
| Coefficiente de determinación | 0.9993 | 0.9993 |
| Sensibilidad (m) | 0.0375 (mg/L) ⁻¹ | 0.73757 (mg/L) ⁻¹ |
| Límite de detección (LOD) | 0.056mg/L | 0.0078 mg/L |
| Límite de cuantificación (LOQ) | 0.19 mg/L | 0.026 mg/L |
| Intervalo de trabajo (LOQ – LOL) | 0.19 - 2 mg/L | 0.026-0.5 mg/L |
| Concentración característica (c ₀) | 0.1027 mg/L | 0.0024 mg/L |
| Desviación estándar relativa (RSD) | 0.76% | 0.44% |

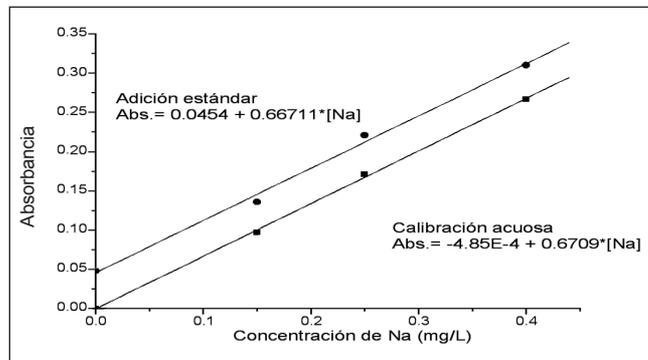


Figura 1. Curva de calibración acuosa (■) y de adición estándar (●) para sodio.

Al comparar, estadísticamente, los valores de las pendientes de la curva de calibración sencilla con la curva de adición de estándar obtenidos para el elemento sodio, se observa que no existen diferencias significativas entre las pendientes; ya que la *t*-Student calculada es menor que la *t*-Student crítica, a un nivel de confianza del 95%. Este resultado pone en evidencia que no existe interferencia causada por la matriz en la determinación de sodio por FAAS. Por lo tanto, es posible emplear la curva de calibración sencilla con patrones acuosos en la determinación de sodio en muestra vegetal.

Tabla 5

Prueba de significación mCCA y mCAE para el sodio

| m (CCA) | m (CAE) | t-Student Calculada | t-Student Crítica |
|---------|---------|---------------------|-------------------|
| 0.6709 | 0.66711 | 0.75 | 2.45 |

Validación

La metodología desarrollada se validó mediante estudios de exactitud, utilizando una muestra certificada de plantas cítricas NIST-1572, para todos los metales analizados. Los valores obtenidos no difieren significativamente ($p < 0.05$) de los valores reportados, y la precisión (RSD%) fue menor a un 5%. El método empleado

Tabla 6

Exactitud y precisión del método

| Elementos | Concentración | | Exactitud t- Student Calculada | Precisión(%) |
|-----------|--|---|--------------------------------------|--------------|
| | Valores obtenidos ($\bar{x} \pm s$) | Valores certificados ($\bar{x} \pm s$) | | |
| Na (%) | 149.00 ± 7.21 | 160 ± 20.00 | 0.89 | 4.80 |
| K (%) | 1.76 ± 0.00 | 1.82 ± 0.06 | 1.68 | 0.19 |
| Ca (%) | 3.10 ± 0.03 | 3.15 ± 0.10 | 2.96 | 0.89 |
| Mg (%) | 0.55 ± 0.00 | 0.58 ± 0.03 | 1.68 | 0.36 |

para la determinación de Na, K, Ca y Mg en exudado de hojas de zábila por FAAS fue exacto, preciso y libre de interferencias.

Al comparar, estadísticamente, los valores de concentración obtenidos para cada uno de los elementos con los valores certificados, se observa que no existen diferencias significativas entre estos valores, ya que en todos los casos la t-Student calculada es menor que la t-Student, a un nivel de confianza del 95%; lo que pone en evidencia la exactitud del método aplicado. Con relación a la precisión, el promedio de la desviación estándar relativa (RSD) fue de 1,41%, no superando el 5% la RSD, lo que certifica la precisión del método empleado.

Estudio de recuperación

Se realizó estudio de recuperación al sodio, con la finalidad de detectar alguna posible pérdida o contaminación de estos analitos con la metodología empleada. Los resultados encontrados fue en valor promedio de $99.77 \pm 2\%$ de recuperación, lo cual pone en evidencia la exactitud de la metodología empleada en la determinación del sodio por FAAS.

Muestras compuestas de exudado de hojas de zábila

Seguidamente, se presentan los resultados obtenidos de la determinación de los metales en estudio en exudado de hojas de zábila, en las 12 muestras compuestas analizadas en esta investigación.

Tabla 7

Media poblacional (μ) e intervalos de confianza (ic) de los metales en acíbar de zábila

| Metales | Concentración % p/p | $\mu \pm ic$ |
|---------|---------------------|-----------------|
| Na | | 0.24 ± 0.03 |
| K | | 0.69 ± 0.13 |
| Ca | | 0.07 ± 0.01 |
| Mg | | 0.01 ± 0.00 |

Comparando los valores de concentración para estos macroelementos determinados, la mayor concentración correspondió al potasio, seguido del sodio, luego calcio y, finalmente, la menor concentración fue para el magnesio.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para la concentración de los macroelementos investigados se encuentran dentro del rango reportado en la investigación documental (ver tabla 8). Mientras que, en relación con los requerimientos diarios de estos elementos, el exudado de la zábila contiene la cantidad suficiente para coadyuvar a satisfacer las necesidades de estos macro elementos en el organismo.

Tabla 8
Concentraciones de algunos macro elementos en plantas.

| Metales | % p/p | Requerimientos/día* |
|---------|------------|---------------------|
| Na | 0.01 - 1.0 | 460 mg |
| K | 0.20 - 3.5 | 782 mg |
| Ca | 0.10 - 10 | 0.8-1 g |
| Mg | 0.05 - 1.0 | 300-350 mg |

Fuente: (10), (11*).

Con respecto a los valores reportados en investigaciones empíricas, Madrid (4), reporta valores mayores para Na (1,72% p/p), K (20,92% p/p) y Ca (7,16% p/p) en pasta de zábila; similarmente, Bouche y Gjerstad (12), encontraron también valores mayores para Na (1,5% p/p), K (6,6% p/p) y Ca (4,7% p/p), en extracto liofilizado del jugo del *Aloe vera*.

Las discrepancias encontradas en el contenido de metales en estas investigaciones puede estar relacionado, entre otras variables, con la distintas procedencias de las plantas investigadas, las cuales difieren en condiciones de cultivo, esto es, el tipo y cantidad de fertilizante, propiedades del suelo, otras.

Asimismo, el hecho que se haya encontrado una concentración de metales menor a las encontradas en otras investigaciones, es una evidencia que estas muestras provienen de plantas silvestres, por lo que no han recibido suministro de fertilizantes.

Se puede expresar que los resultados reportados en este estudio aportan nuevos datos sobre el contenido mineral en exudado de zábila que, potencialmente, puede complementar la información existente y servir de base para los casos en los cuales no existe información sino sólo de carácter cualitativo. Asimismo, contribuyen a

Tabla 9
Esquema comparativo de valores de macro elementos

| Investigaciones | % K | % Na | % Ca | % Mg |
|-----------------------|-------|------|------|------|
| Madrid | 20.92 | 1.72 | 7.16 | – |
| Bouchey y Gjerstad | 6.6 | 1.5 | 4.7 | – |
| Saavedra ^a | 0.69 | 0.24 | 0.07 | 0.01 |

a: Datos obtenidos en la presente investigación.

establecer los niveles regulares de elementos esenciales en esta planta de amplio uso en la medicina popular.

Debe señalarse, que en la revisión documental y empírica, referida la última a investigaciones previas de naturaleza experimental o de campo, realizada no se reportan valores de los metales investigados en exudado de zábila; los valores reportados están referidos a pasta de zábila, extracto obtenido de la planta y del gel o cristal.

CONCLUSIONES

Las concentraciones de los metales presentes en el acíbar de la zábila se encuentran dentro del rango reportado en investigaciones documentales y difieren de las reportadas en investigaciones empíricas, esto es, las investigaciones de orden experimental. Las medias poblacionales y los intervalos de confianza de las concentraciones de estos macro elementos fueron las siguientes: Na: $0.24 \pm 0,03\%$ p/p, K: $0.69 \pm 0,13\%$ p/p, Ca: $0.07 \pm 0,01\%$ p/p y Mg: $0.01 \pm 0,00\%$ p/p. El método utilizado para la determinación de los elementos antes mencionados es exacto, preciso y libre de interferencias.

Las concentraciones de los macro elementos encontrados en el exudado de zábila, constituyen una fuente que puede contribuir con el aporte de los requerimientos diarios de estos elementos al organismo y, de esta manera, cooperar en la preservación o recuperación de la salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Grindlay D, Reynolds T. The Aloe Vera phenomenon: A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. J. Ethnopharmacol. (16), 1986.
- (2) Claus EP, Tyler VE. Farmacognosia. Buenos Aires, Argentina: Editorial Ateneo; 1977.
- (3) Trease E, Evans M. Farmacognosia. 13^{ava} edición. Buenos Aires Argentina: McGrawHill; 1991.
- (4) Madrid J. Separación de aloína en pasta de zábila. Trabajo de ascenso. Instituto Universitario de Tecnología Alonso Gamero; 1996.
- (5) Saavedra O, Rondón CE. Distribución de metales en el acíbar de hojas de zábila (*Aloe vera* (L.) Burm. f.). Avances en Química. 3 (2), 2008.
- (6) Saavedra O, Rondón CE. Determinación de microelementos en acíbar de hojas de zábila (*Aloe vera* (L.) Burm. f.). Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel. 40 (1), 2009.
- (7) Burguera JL, Burguera M, Carrero P, Rivas C, Gallignani M, Bruneto MR. Determination of iron and zinc in adipose tissue by on-line microwave-assisted mineralization and flow-injection graphite furnace atomic absorption spectrometry. Anal. Chim. Acta. (308), 1995.
- (8) Cañas I. Estudio sistemático de los métodos de digestión de tejido biológico para la determinación de elementos biogénicos por espectroscopia de absorción atómica. Trabajo Especial de Grado. Universidad de los Andes; 2003.
- (9) Miller JC, Miller JN. Statistics for analytical chemistry. 3^{ra} edición. Londres, Inglaterra: Ellis Horwood PTR Prentice Hall; 1993.
- (10) Chapman HD, Pratt PF. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. México: Trillas; 1973.
- (11) Belitz HD, Grosch W. Química de los alimentos. Zaragoza, España: Acribia; 1988.
- (12) Bouchey GD, Gjerstad G. Chemical studies of *Aloe vera* juices. Quaterly Journal of Crude Drug Research. (9), 1969.