

# Determinación de germanio en muestras de exudado de *Aloe vera* (L.) *Burm. f.* (zábila), mediante la espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica

## *Determination of germanium in leaves exudate samples of Aloe vera (L.) Burm. f. (zábila), by electrothermal atomic absorption spectrometry*

OSWALDO R SAAVEDRA A<sup>1</sup>, CARLOS E RONDÓN<sup>1</sup>

### RESUMEN

Esta investigación trata sobre la determinación de germanio en exudado de hojas de zábila, mediante la técnica analítica espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). El exudado de las hojas de zábila es el líquido amarillo y de sabor amargo que emana de las hojas de la planta cortadas en la base. Es también conocido como zumo o látex. Ha sido utilizado en el tratamiento de diversas afecciones tales como: tratamiento de heridas, infecciones bucales, irritaciones de la piel, otras. El germanio es un oligoelemento que ha sido utilizado como inmunoestimulante y en pacientes con neoplasia. La concentración del germanio presente en el exudado de *Aloe vera* (L.) *Burm.f.* fue de  $7.42 \pm 2.33 \mu\text{g/g}$ . La metodología empleada fue validada por estudio de recuperación, ubicándose en un valor promedio de  $97.43 \pm 2.22\%$ . La desviación estándar relativa fue de 2.88%, lo que es un indicativo de la precisión. El método utilizado para la determinación del elemento en cuestión es exacto, preciso y libre de interferencias.

**Palabras clave:** Germanio, ETAAS, *Aloe vera*, zábila, *Aloe vera* (L.) *Burm. f.*

### ABSTRACT

The objective of this work was to determine the concentration of germanium in *Aloe vera* (zábila) from leaves exudated, using the electrothermal atomic absorption spectrometry analytical technic (ETAAS). The exudated is a yellow and bitter liquid, used in wounds healing, skin irritations, mouth infections, etc. The germanium is a trace element used as immunestimulant in patients with tumour. A concentration of  $7.42 \pm 2.33 \mu\text{g/g}$  was found. The method for the determination of germanium was validated by recovery studies, a value of  $97.43 \pm 2.22\%$  was obtained for germanium, and the relative standar deviation (RSD%) was 2.88%. The method was exact, precise and free from interferences.

**Key words:** Germanium, ETAAS, *Aloe vera*, zábila, *Aloe vera* (L.) *Burm. f.*

<sup>1</sup> Laboratorio de Espectroscopía Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, La Hechicera, Mérida 5101-A. Venezuela. saavedra@ula.ve; oswaldo\_phd@hotmail.com; crondon@ula.ve

## INTRODUCCIÓN

El efecto terapéutico del germanio ha ocasionado algunas intoxicaciones por autoprescripción; lo que se ha hecho relevante en los enfermos de SIDA (Síndrome de inmunodeficiencia adquirida) quienes, en busca de recuperar la salud, emplean este elemento como "inmunostimulante". También lo utilizan pacientes con neoplasias (1).

La intoxicación crónica se caracteriza por nefropatía y, de no interrumpir la absorción del tóxico, cursa a la insuficiencia renal. Otros signos de toxicidad menos característicos son miopatía, hepatopatía, neuropatías, parálisis de los nervios craneales, alteraciones medulares y disfunciones del sistema nervioso autónomo (1).

El germanio forma hidruros —germanometano o germano ( $\text{GeH}_4$ ), germanoetano ( $\text{Ge}_2\text{H}_6$ ) y germanopropano ( $\text{Ge}_3\text{H}_8$ ) análogos a los formados por el carbono en la serie alcanos. Sus compuestos más importantes son el óxido germánico ( $\text{GeO}_2$ ) y los haluros. El germanio se separa de otros metales por destilación de su tetracloruro.

La formación de hidruros que forma el germanio, se evidencia en el método empleado en su determinación mediante generación de hidruro, utilizando la técnica de inyección en flujo y detección a través de la espectrometría atómica fluorescente con coprecipitación en línea (2).

El único compuesto importante en toxicología es el tetracloruro de germanio ( $\text{GeCl}_4$ ), que se forma tanto en la extracción para separarlo del cloruro de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ), como en la síntesis de compuestos organogermanios. El  $\text{GeCl}_4$  es un líquido volátil muy irritante, su impacto tóxico se produce sólo localmente (1).

El germanio se utiliza en la fabricación de semiconductores y materiales ópticos en forma de lentes y ventanas, debido a que es transparente a la radiación infrarroja (3).

La concentración de germanio en *Aloe arborescens* Miller se ha reportado en 70.82  $\mu\text{g/g}$  (4). También se ha encontrado en tabletas de *Aloe vera* en una concentración de 20.83  $\mu\text{g/g}$  (5).

El objetivo que se pretende lograr con esta investigación es determinar la concentración de Ge en muestras de exudado de hojas de zábila, mediante la espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica.

Esta técnica analítica seleccionada para la determinación de germanio en exudado de *Aloe vera* se justifica dado que permite determinar el analito a nivel de concentración de traza (6).

Por su parte, el exudado de las hojas de zábila es el líquido amarillo y de sabor amargo que emana de las hojas cortadas en la base, el cual se permite que escurra y se recolecta en un recipiente. El exudado también es conocido como zumo o latex (7).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales y equipos

Equipo de absorción atómica con atomización electrotérmica, marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 600. Liofilizador, marca LyovaC GT 2. Leybold-Heraeus. Balanza electrónica, marca ER-180<sup>a</sup>. AND. Lámpara de descarga sin electrodo de Ge. Tubo de grafito con plataforma de L'vov. 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 son todos grado analítico (tabla 1). El agua empleada para preparar las soluciones es desmineralizada y desionizada (Milipore) con conductividad de 18  $\Omega\text{-cm}^{-1}$ .

### Condiciones instrumentales para la determinación de Ge por ETAAS

La determinación de germanio en muestras de exudado de zábila mediante ETAAS, se realizó a través del

Tabla 1  
Reactivos empleados en la investigación

Nombre	Fórmula/ Símbolo	Pureza (%)/ Densidad	Marca
Germanio (metálico)	Ge	99.999	Alfa Products
Paladio	Pd	99.99	Merck
Nitrato de magnesio	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	99	Merck
Peróxido de Hidrógeno	$\text{H}_2\text{O}_2$	35 / 1.13 g/mL	Riedel De Häen
Ácido Nítrico	$\text{HNO}_3$	65 / 1.40 g/mL	Riedel De Häen

programa de horno de grafito cuyas condiciones instrumentales se muestra en la tabla siguiente.

**Tabla 2**  
**Condiciones instrumentales a utilizar en la determinación de Ge por ETAAS**

Etapa	Temperatura (C)	Rampa (s)	Duración (s)	Flujo de Argón (mL/min)
Secado	110	1	30	250
Secado	130	15	30	250
Pirólisis	1500	10	20	250
Atomización	2300	0	5 (Leer)	0
Limpieza	2450	1	3	250
Enfriamiento	20	3	5	250

Fuente: Programa espectrofotómetro de absorción atómica. Perkin Elmer AAnalyst 600.

Las temperaturas empleadas corresponden a valores proporcionados por el programa que contiene el espectrofotómetro de absorción atómica utilizado (Perkin Elmer AAnalyst 600).

La determinación de germanio se realizó mediante curva de calibración sencilla conteniendo 0.2% de HNO<sub>3</sub>. La cuantificación del analito se basa en el área de pico (absorbancia integrada). Así mismo las condiciones de operación incluyen un tiempo de integración de 5.0 s, volumen de muestra inyectada: 20 µL, masa de modificador: 0.003 mg de Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y 0.005 mg de Pd. La masa característica es de 25 pg. Algunos otros parámetros instrumentales de interés se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3**  
**Parámetros Instrumentales para Ge en ETAAS**

Parámetros	Valores
Corriente de la lámpara	220 mA
Longitud de onda (nm)	265.1 nm
Ancho de rendija (nm)	0.2 nm
Rango de trabajo (µg/mL)	100 µg/L

Fuente: Programa espectrofotómetro de absorción atómica. Perkin Elmer AAnalyst 600.

## Muestreo y procesamiento

### Muestreo

Las muestras de *Aloe vera* (L.) Burm. f. se recolectaron en la ciudad de Santa Ana de Coro, municipio Miranda del estado Falcón. Se obtuvo muestra de exudado de hojas inferiores, intermedias y superiores de las plantas, con la finalidad de conocer la concentración de germanio. Las muestras la conformaron el exudado obtenido de 12 plantas de *Aloe vera*.

### Procesamiento de las muestras

Las muestras de exudado se sometieron a liofilización y posterior digestión, de acuerdo con esquema reportado en anterior publicación (8; 9), para su análisis por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica para la determinación de germanio. En la tabla 4 se presentan los principales parámetros reportados.

**Tabla 4**  
**Parámetros para la digestión de las muestras**

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

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Validación de la metodología

#### Estudio de interferencias

El estudio de interferencias por parte de la matriz, en la determinación de germanio en exudado de zábila, se realizó mediante las curvas de adición de estándar y de calibración sencilla con patrones acuosos. Para ello, se obtuvo, en primer lugar, el perfil de atomización del germanio en ausencia y en presencia del modificador de matriz.

#### Perfiles de atomización del germanio

Se obtuvieron perfiles de atomización para germanio en patrones acuosos con y sin modificador químico. Los resultados obtenidos se presentan a continuación.

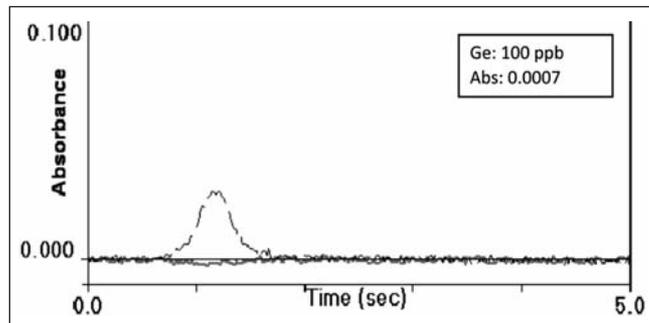


Figura 1. Perfiles de atomización del germanio sin modificador químico.

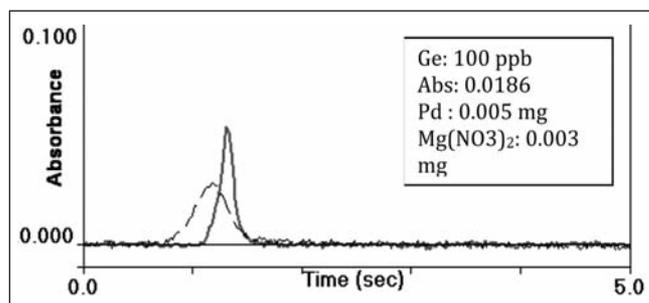


Figura 2. Perfiles de atomización del germanio 100 ppb con modificador químico.

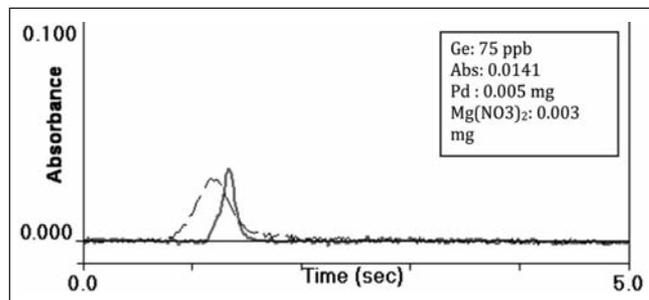


Figura 3. Perfil de atomización de germanio 75 ppb.

Se observa en las figuras 1, 2 y 3, que el perfil de atomización del germanio con modificador químico permite obtener una señal analítica definida y simétrica; mientras que el perfil de atomización sin modificador químico no muestra la señal del analito, sólo muestra la señal de fondo.

Se observa en estas figuras, que bajo las mismas condiciones de temperaturas de pirólisis y atomización, la absorción de fondo es apreciable en todos los casos. Los perfiles se perciben con buena simetría, resaltando los perfiles de 100 y 75 ppb de germanio con modificador

químico por su mejor definición. Los tiempos de aparición de la señal analítica son similares para todos los casos en ausencia o presencia de modificador químico.

La sensibilidad y la absorbancia fueron mayores en los casos en que se empleó modificador químico con relación a los casos en que no se utilizó modificador químico; por lo tanto, el efecto del modificador químico se observó en un aumento de la sensibilidad y la reproducibilidad. Estos resultados indican que la determinación de germanio por ETAAS debe realizarse utilizando modificador químico, ya que la sensibilidad es mayor. De manera que, tanto en la curva de calibración sencilla como en la de adición de estándar, se empleó modificador químico; que en éste caso se trató de nitrato de magnesio  $[Mg(NO_3)_2]$  y Pd.

#### Adición de estándar del germanio

A continuación se presenta la curva de calibración sencilla y la curva de adición estándar del germanio.

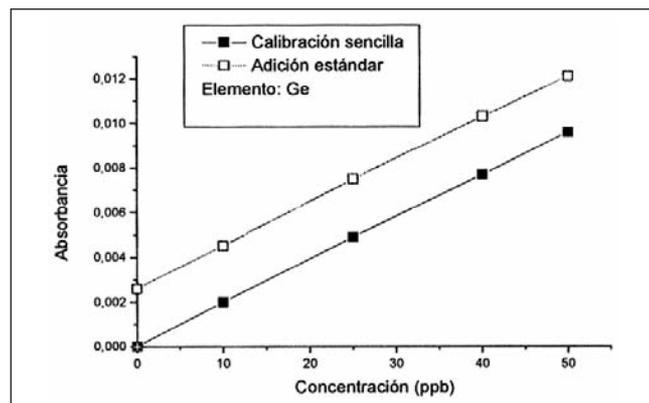


Figura 4. Curva de calibración sencilla y de adición estándar para germanio.

Para determinar si hay o no diferencias estadísticamente significativas entre las pendientes de la curva de calibración acuosa (mCCA) y la de adición estándar (mCAE) del germanio, se procedió a realizar un análisis estadístico empleando el estadígrafo t-Student (10).

Tabla 5  
Prueba de significación mCCA y mCAE para el germanio

m (CCA)	m (CAE)	t-Student calculada	t-Student crítica
1.92E-04	1.90E-04	0.00	2.78

Al comparar estadísticamente los valores de las pendientes de la curva de calibración acuosa con la curva de adición estándar obtenidos para el elemento germanio, se observa que no existen diferencias significativas entre las pendientes, ya que la  $t$ -Student calculada es menor que la  $t$ -Student crítica, con 4 grados de libertad y a un nivel de confianza del 95%; lo que pone en evidencia que no existe interferencia causada por la matriz en la determinación de germanio por ETAAS. En consecuencia, es posible utilizar curva de calibración con patrones acuosos para determinación de germanio en muestra de zumo de zábila.

Los resultados obtenidos para el germanio con respecto a la no existencia de interferencia de matriz, guardan concordancia con los reportados en investigaciones similares (11; 12), en las que se señala no haberse encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la pendiente de la curva de calibración obtenida con patrones acuosos y la curva de adición estándar, reportándose no haberse encontrado efecto de matriz.

#### Estudio de recuperación

Se realizó estudio de recuperación al germanio, con la finalidad de detectar alguna posible pérdida o contaminación de este analito con la metodología empleada. Los resultados encontrados se ubicaron entre 96.15% y 100.00%, con un valor promedio de  $97.43 \pm 2.22\%$  de recuperación, lo cual pone en evidencia la exactitud de la metodología empleada en la determinación del germanio por ETAAS.

Estos resultados guardan concordancia con los reportados en investigaciones empíricas, en las cuales el estudio de recuperación fue de 92 a 106% (13) y de 96 a 103% (14).

#### Características analíticas del método

Las características analíticas encontradas para la determinación de Ge por ETAAS, se presentan en tabla a continuación. En ellas se puede observar la ecuación de la curva de calibración ajustada, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), la pendiente ( $m$ ), el límite de detección (LOD), el límite de cuantificación (LOQ), el límite superior (LOL), el intervalo lineal (LOQ-LOL), la desviación estándar relativa (RSD) y la masa característica ( $m_0$ ).

**Tabla 6**  
**Características analíticas del Ge**

Características	Valor obtenido
Ecuación de la recta	Abs. = $5.29E-05 + 1.92E-04 \cdot [\text{Ge}]$
Coefficiente de determinación	0.9998
Sensibilidad ( $m$ )	$1.92E-04 \text{ } (\mu\text{g/L})^{-1}$
Límite de detección (LOD)	0.90 $\mu\text{g/L}$
Límite de cuantificación (LOQ)	3.01 $\mu\text{g/L}$
Intervalo lineal (LOQ – LOL)	3.01 -100 $\mu\text{g/L}$
Masa característica ( $m_0$ )	24 pg
Desviación estándar relativa (RSD)	2.88%

En relación a algunas características analíticas del método empleado para la determinación de germanio en la presente investigación, se encontraron similitudes y discrepancias con respecto a valores reportados en investigaciones empíricas en las que se determinó germanio en distintas matrices.

Así, se reporta una masa característica de 29 pg (14), valor cercano al encontrado en esta investigación que fue de 24 pg, valor muy próximo al señalado en las condiciones instrumentales del equipo utilizado que es de 25 pg; sin embargo, se ha reportado una masa característica de 53 pg (5), valor que difiere notablemente del valor obtenido en la investigación realizada. Asimismo, se han encontrado valores de 12 y 16 pg (13).

La precisión informada en otras investigaciones fue de 2.1% (5; 13), mientras que la obtenida fue de 2.88%, situándose ambas, en todo caso, por debajo del 5%, que es el valor máximo de aceptación para la precisión; no obstante, se ha reportado un valor de precisión ligeramente superior, esto es 5.6% (14).

#### Análisis de muestras de exudado de zábila

Seguidamente, se presentan y discuten los resultados obtenidos de la determinación de germanio en exudado de zábila en las 12 muestras analizadas en esta investigación.

En la tabla 7 se observa que la concentración de germanio en exudado de *Aloe vera* oscila entre 4.07 y 13.63  $\mu\text{g/g}$ . El promedio se ubica en  $7.42 \pm 3.50 \mu\text{g/g}$ , y la desviación estándar relativa (RSD) fue de 3.85, siendo ésta menor del 5%, indicando que las medidas realizadas se encuentran dentro del rango de precisión aceptada.

**Tabla 7**  
**Concentraciones de germanio en muestras de exudado de *Aloe vera***

Muestras	Concentración (ug/g) ( $X \pm s$ )	%RSD
1	5.36 $\pm$ 0.08	4.50
2	6.74 $\pm$ 0.04	3.94
3	7.90 $\pm$ 0.04	2.72
4	13.62 $\pm$ 0.08	3.99
5	13.63 $\pm$ 0.08	4.50
6	5.17 $\pm$ 0.04	5.46
7	4.07 $\pm$ 0.04	3.73
8	4.45 $\pm$ 0.04	3.94
9	4.51 $\pm$ 0.04	2.83
10	9.59 $\pm$ 0.04	2.72
11	9.66 $\pm$ 0.04	2.83
12	4.34 $\pm$ 0.04	5.07

Por otra parte, la concentración de germanio en *Aloe arborescens* Miller, una especie de Aloe, se ha reportado en 70.82  $\mu\text{g/g}$  (4); un valor significativamente mayor que el encontrado en la presente investigación para el *Aloe vera* (L.) Burm. f.

Con respecto al contenido de germanio en tabletas de *Aloe vera*, se ha informado de una concentración de 20.83  $\mu\text{g/g}$  (5); siendo este valor de concentración mayor que el señalado para el *Aloe vera*, pero más próximo al determinado en el *Aloe arborescens* Miller.

Con relación a la concentración de germanio encontrados en plantas distintas a la especie de Aloes, se reporta ajo 2.79  $\mu\text{g/g}$ , papas 1.85  $\mu\text{g/g}$ , soya 9.39  $\mu\text{g/g}$ , zanahoria 0.60  $\mu\text{g/g}$  (5). Se observa que el *Aloe vera* contiene una concentración mayor de germanio que el ajo, papas y zanahoria; pero posiblemente menor que la soya. Para té negro y té verde las concentraciones de germanio fueron 0.083  $\pm$  0.001  $\mu\text{g/g}$  y 0.085  $\pm$  0.002  $\mu\text{g/g}$  (14), siendo estas concentraciones menores a las encontradas para el mismo elemento en el *Aloe vera*.

La media poblacional y los intervalos de confianza para la concentración de germanio en exudado de *Aloe vera* es de 7.42  $\pm$  2.33  $\mu\text{g/g}$ . Este resultado reportado en este estudio aporta nuevos datos sobre el contenido de

germanio en el exudado de zábila, que potencialmente pueden complementar la información existente y servir de base para los casos en los cuales solo existe información de carácter cualitativo. Asimismo, contribuye a establecer los niveles regulares de este elemento en esta planta de amplio uso en la medicina popular, que, hasta ahora, no se han encontrado reportes de concentración de germanio en el *Aloe vera* (L.) Burm. f.

## CONCLUSIONES

El estudio de interferencia para el germanio, realizado mediante la curva de calibración sencilla y la curva de calibración con adición de estándar, no presenta evidencias de efecto de matriz, ya que no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las pendientes de ambas curvas al nivel de confianza del 95%.

El estudio de recuperación para este elemento fue satisfactorio, ubicándose en un valor promedio de 97.43  $\pm$  2.22%. La desviación estándar relativa fue de 2.88%, lo que es un indicativo de la precisión. Por lo tanto, el método utilizado para la determinación del elemento en cuestión es exacto, preciso y libre de interferencias.

La concentración del germanio presente en el exudado de *Aloe vera* (L.) Burm. f. fue de 7.42  $\pm$  2.33  $\mu\text{g/g}$ . Este valor es menor que el reportado para el *Aloe arborescens* Miller y se encuentra en cantidades similares en otras especies de plantas como la soya, pero contiene una concentración mayor de germanio que el ajo, papas y zanahoria.

Finalmente, la concentración de germanio presente en el exudado de zábila explica, en cierto grado, el impacto que esta planta tiene sobre la salud, debido a su naturaleza estimulante del sistema inmunológico, justificando su empleo como coadyuvante terapéutico en enfermos del Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida y en pacientes que sufren neoplasias.

## REFERENCIAS

- (1) Ladrón de Guevara J, Moya V. Toxicología médica. Clínica y Laboral. Madrid: McGraw-Hill; 1995.
- (2) Jianbo Shi, Zhiyong Tang, Chunhua Tan, Quan Chi, Zexiang Jin. Determination of trace amounts of germanium by flow injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry with on-line coprecipitation. Talanta. 2002.; 56: 711-716.

- (3) Welz B, Sperling M. Atomic absorption spectrometry. 3ra. ed. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH; 1999.
- (4) Wang X, Yang D, Zhang A. Nutrient composition and nutritional value of *Aloe Arborens* Miller. American Chemical Society; 2001.
- (5) McMahon M, Regana F, Hughes H. The determination of total germanium in real food samples including Chinese herbal remedies using graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *Food Chemistry*. 2006; 97 :411-417.
- (6) Skoog DA y Holler FJ y Nieman TA. Principios de análisis instrumental. Madrid, España : McGraw-Hill; 2001.
- (7) Tyler VE *et al.* Farmacognosia. 2ª edición. Buenos Aires, Argentina: Ateneo; 1979
- (8) Saavedra O, Rondón CE. Distribución de metales en el acíbar de hojas de zábila (*Aloe vera* (L.) *Burm. f.* *Avances en Química*. 2008; 3 (2): 49-58.
- (9) 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"*. 2009; 40 (1): 13-20.
- (10) Miller JC, Miller JN. Statistics for analytical chemistry. 3ª ed. Londres, Inglaterra: Ellis Horwood PTR Prentice Hall; 1993
- (11) Jiménez R. et al. Procedimiento analítico para la determinación de metales en tejido de peces (*Micropogonias furneri*) por espectroscopia atómica. *Nueva Revista Cubana de Química*; 2000. XII (1 ):32-41.
- (12) 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.
- (13) Yang L, Zhang De-giant. Direct determination of germanium in botanical samples by graphite furnace atomic sorption spectrometry with palladium-zirconium as chemical modifier. *Talanta*; 2002. 56: 1123-1129.
- (14) Zhang De-giant, Zhe-ming Ni, Han-wen Sun. Direct determination of parts-per-billion levels of germanium in botanical and coal fly ash by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistr.* 1997; 358: 641-645.