

Caracterización fitoquímica de los extractos de acetona y contenido de lignina en culmos de *Guadua angustifolia*

Oscar Marino Mosquera Martínez¹, Lina María González Cadavid, Yeny Juliana Cortés Ossa², Juan Carlos Camargo García³

Resumen

Se obtuvieron los extractos de acetona, acuosos y etanólicos mediante maceración de 63 muestras de culmos de *Guadua angustifolia* Kunth procedentes de la finca Yarima, Pereira, (Colombia). Los extractos de acetona fueron caracterizados fitoquímicamente por cromatografía de capa delgada y se encontraron los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, fenoles, terpenos, flavonoides y saponinas. Además, se cuantificó la lignina ácida insoluble, la cual se caracterizó por espectroscopia infrarroja; se encontró que esta corresponde al tipo siringilo-guaiocilo.

Palabras claves: *Guadua angustifolia*; compuestos orgánicos; compuestos fenólicos; metabolitos secundarios; espectroscopia infrarroja; Colombia.

Abstract

Phytochemical characterization and lignin content in culms of *Guadua angustifolia*.

Acetone, aqueous and ethanolic extracts of 63 samples of *Guadua angustifolia* Kunth were obtained of material from the farm Yarima, Pereira (Colombia). Acetone extracts were characterized by thin layer chromatography; alkaloids, phenols, terpenes, flavonoids and saponins were the secondary metabolites found. The insoluble lignin was quantified and characterized by FT-IR (Fourier transformation infrared spectroscopy); results showed syringyl and guaiacyl types.

Keywords: *Guadua angustifolia*; organic compounds; secondary metabolites; infrared spectroscopy; Colombia.

Introducción

La guadua (*Guadua angustifolia* Kunth) es una especie de bambú nativa de las regiones tropicales del centro y sur de América. La especie pertenece a la familia Poaceae, tribu Bambuseae (Kelchner 2013). Este es un recurso natural renovable y ampliamente utilizado en la cons-

trucción y elaboración de artesanías (Camargo y Rodríguez 2011). En Colombia existen cerca de 51.000 ha de coberturas boscosas dominadas por esta especie; solo en la zona cafetera se ha estimado que crecen cerca de 28.000 ha (Kleinn y Morales 2006). Además, es la especie de bambú de mayor importancia

ecológica, social, económica, cultural y comercial, por lo que se considera uno de los recursos forestales más valiosos del país (Mejía et al. 2009).

La guadua está constituida principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. Esta última es el tercer constituyente más abundante y le confiere a la guadua

¹ Grupo de Biotecnología-Productos Naturales (GB-PN). Escuela de Tecnología Química, Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia. omosquer@utp.edu.co

² Químicas Industriales. Escuela de Tecnología Química, Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.

³ Profesor titular. Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia. jupipe@utp.edu.co

gran resistencia estructural por ser una macromolécula amorfa con tres monolignoles fundamentales: alcohol *p*-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico. Estos componentes forman diferentes unidades de lignina por medio de polimerizaciones denominadas *p*-hidroxifenilo (H), guaiocilo (G) y siringilo (S) (Xue et al. 2012).

La lignina es ampliamente utilizada para la elaboración de sustancias bioquímicas, biocombustibles, resinas fenólicas, epóxicas y en una gran variedad de nuevas aplicaciones (Sun et al. 2012). Para la industria de polímeros ofrece un gran potencial debido a sus importantes propiedades estructurales (Khalil et al. 2013), así como para la industria farmacéutica, por su potencial nutraceutico (Mejía et al. 2009).

Los objetivos del presente estudio fueron: 1) caracterizar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de acetona de

culmos de *G. angustifolia*; 2) determinar el contenido de lignina ácida insoluble caracterizada por espectroscopia infrarroja (FT-IR). El material empleado se recolectó en la finca Yarima, sur del municipio de Pereira, Risaralda, Colombia, entre las coordenadas 75°45'50"W; 75°46'40"W; 4°47'30"N; 4°48'20"N. La finca está localizada en las estribaciones de la Cordillera Central, a 1150 msnm, en una zona ecológica de transición entre las laderas de las montañas andinas hacia el valle del río Cauca (Marulanda 2010).

Material vegetal evaluado

En forma aleatoria se recolectaron 63 muestras de culmos en varios individuos de *G. angustifolia* de 48 meses de edad en tres zonas diferentes (rodales) de la finca Yarima (Figura 1). Cada rodal está compuesto por siete parcelas con una dimensión de 10 x 10 m².

Extracción

De cada culmo recolectado, se extrajeron muestras según el procedimiento descrito por Mosquera et al. (2010). En resumen, se tomaron cinco gramos (5 g) de material seco y molido de cada culmo de guadua, se sometieron a extracción con acetona a 45°C durante seis horas; agua a 80°C durante una hora y etanol a 60°C durante seis horas; se emplearon las normas TAPPI 204 y 264 om-07 (TAPPI 2006). Cada extracción se realizó por duplicado. Los extractos fueron concentrados a sequedad a presión reducida y almacenados a -10°C hasta su utilización.

Caracterización por cromatografía en capa delgada de los extractos de acetona de *G. angustifolia*

Los metabolitos secundarios de los extractos de acetona de *G. angustifolia* se caracterizaron por cromatografía en capa delgada (CCD) siguiendo el protocolo de

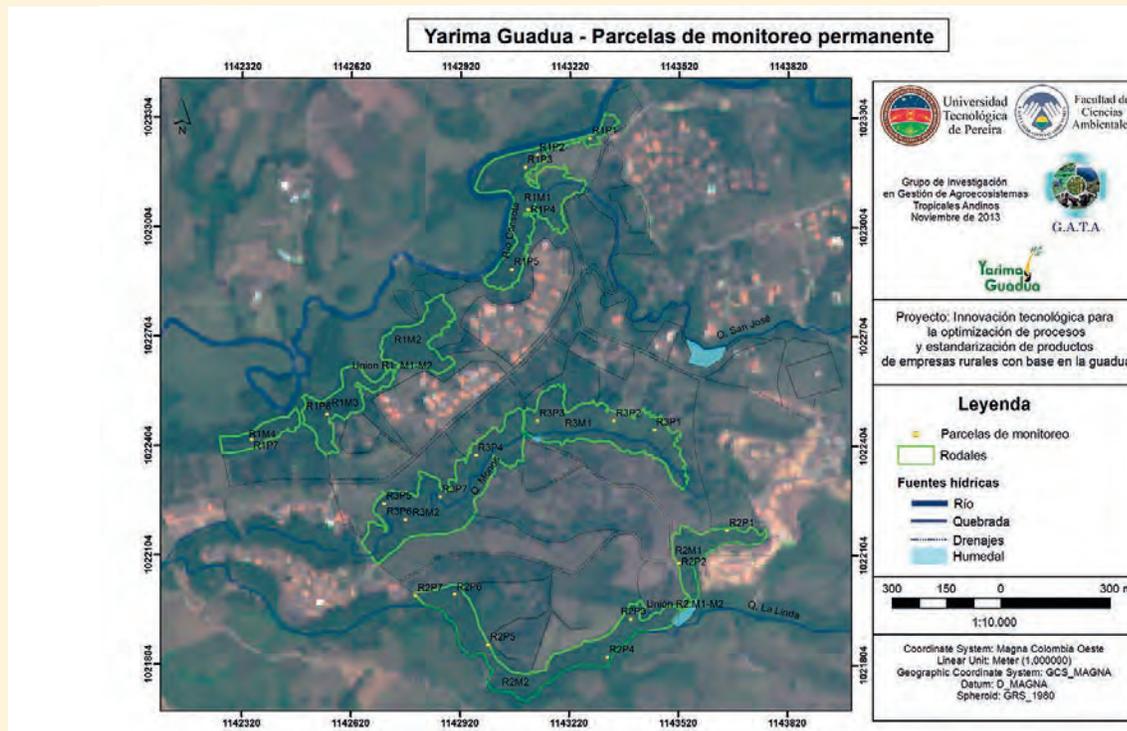


Figura 1. Zonas de recolección de las muestras de *Guadua angustifolia* en finca Yarima, Pereira, Colombia

Wagner y Bladt (1996). Se emplearon cromatoplasmas de sílica gel 60 F254 (5×4 cm); el sistema de elusión utilizado fue *n*-hexano-acetato de etilo (85:15); los núcleos fitoquímicos fueron detectados por su color característico después de la inmersión de la cromatoplasma en cada revelador específico (Cuadro 1).

Extracción y cuantificación de lignina ácida insoluble

Para la extracción de la lignina insoluble se siguió la metodología descrita por Mosquera et al. (2010). El procedimiento se realizó por duplicado en días diferentes para verifi-

car la reproducibilidad del método. El porcentaje de lignina insoluble en la muestra se determinó mediante la siguiente ecuación: % lignina insoluble = (Peso del residuo/250 mg) × 100.

Caracterización estructural de lignina ácida insoluble

La caracterización estructural de la lignina ácida insoluble se hizo en un espectrofotómetro FT-IR Cary 630 (Agilent Technologies). Cada espectro fue adquirido en un rango de 4000/cm a 650/cm con una resolución de 4/cm y con 64 barridos por muestra.

Resultados y discusión

Obtención de extractos de *G. angustifolia*

Del proceso de extracción de 5 g de cada muestra de *G. angustifolia* sometida a extracción se obtuvo, en promedio, 261,15 mg de extracto de acetona, 277,50 mg de extracto acuoso y 51,96 mg de extracto etanólico. Esto concuerda con resultados obtenidos por el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira, con muestras de las fincas Nápoles y Bambusal: 237 mg de extracto acuoso y 35 mg de extracto etanólico (Mosquera et al. 2011).

Los mayores porcentajes de masa de los extractos de acetona se encontraron en las parcelas 2 y 5 del rodal 1 (Figura 2a); para los extractos acuosos, los mayores porcentajes se evidenciaron en las parcelas 1, 3 y 5 del rodal 1; parcelas 1, 4 y 5 del rodal 2 y parcelas 5, 6 y 7 del rodal 3 (Figura 2b). Por otra parte, los mayores porcentajes de masa en los extractos etanólicos se presentaron en las parcelas 2, 4 y 5 del rodal 1 y en las parcelas 1, 4 y 6 del rodal 2 (Figura 2c).

Entre los extractos acuosos y etanólicos no se dieron diferencias significativas en términos estadísticos en cuanto a la magnitud de las masas en las parcelas evaluadas. Mientras que para el extracto de acetona, fue mayor el contenido del extracto en las parcelas 2 y 5 del rodal 1.

Caracterización fitoquímica de los extractos de acetona por cromatografía en capa delgada

En todas las muestras analizadas se evidenció la presencia abundante de flavonoides (Cuadro 2). Estudios realizados por Keski-Saari et al. (2008) reportaron la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides en los culmos de bambúes *Yushania chungii*, *Fargesia robusta*, *Fargesia denudata*, *Fargesia rufa* y *Fargesia scabrida*, lo cual concuerda con lo encontrado en este estudio, dado que en las muestras de los tres roda-

Foto: Lina María González Cadavid



El material para el alivio se obtuvo de rodales de 48 meses de edad

Cuadro 1. Metabolitos secundarios evaluados en los extractos de acetona de *G. angustifolia* proveniente de finca Yarima, Pereira, Colombia

Metabolitos secundarios	Revelador	Color característico de la mancha
Alcaloides	Dragendorff	Anaranjado
Esteroides y/o saponinas esteroidales	Liebermann – Burchard	Amarillo, verde o azul
Esteroles		Rosa pálido, gris o amarillo claro
Triterpénos y/o saponinas triterpénicas		Morado
Flavonoides	AlCl ₃ al 1% en etanol absoluto (UV 360 nm)	Fluorescencia blanca, amarilla, roja, verde, naranja o rosada
Taninos: hidrolizables y/o compuestos fenólicos, o taninos condensados	FeCl ₃ al 5% en HCl 0.5 N	Azul aguamarina o azul oscuro para fenoles y/o taninos hidrolizables; verde o café para taninos condensados
Quinonas	KOH al 5% en etanol absoluto (UV 360 nm)	Fluorescencia amarilla, naranja, roja o violeta

les (R1, R2, R3) se detectó presencia abundante de flavonoides. Una evaluación de los extractos hidrometanólicos de culmos de *Guadua angustifolia* por HPLC detectó bandas de absorción a 300 nm (Hernández et al. 2010), lo cual podría corresponder a la presencia de flavonoides pues, según (Surveswaran et al. 2007), este tipo de compuestos presentan bandas de absorción en el UV en un rango de 255 hasta 365 nm. Adicionalmente, los extractos de acetona mostraron una abundancia considerable de terpenos, saponinas tritéricas y esteroidales. En menor presencia, se detectaron alcaloides y fenoles. Las muestras evaluadas no evidenciaron la presencia de quinonas.

El análisis de los metabolitos secundarios demostró que *G. angustifolia* posee un gran potencial para ser utilizado por la industria; esos metabolitos son, por lo tanto, una fuente promisoría para el aislamiento e identificación de compuestos más abundantes de extractos obtenidos en este trabajo. Zhang et al. (2005) identificaron compuestos antioxidantes en las hojas de *Phyllostachys nigra* (una especie de bambú), los cuales fueron denominados AOB (*antioxidant of bamboo*). Los AOB tienen el código GB-2760 como antioxidantes de alimentos en China (Mejía et al. 2009). Además, de la corteza de *Phyllostachys heterocycla* (Poaceae) se aisló el compuesto 2,6-dimetoxi-p-benzoquinona, el cual demostró actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* (Nishina et al. 1991). Esto demuestra que los metabolitos secundarios presentes en las especies de bambú poseen bioactividad importante.

Extracción y cuantificación de lignina ácida insoluble
La lignina ácida insoluble presente en los culmos de *G. angustifolia* se evaluó para cada una de las 63 muestras; luego los valores fueron promediados y analizados por parcela. En el Cuadro 3 se detallan los porcentajes de lignina encontrados en las parcelas evaluadas. Al comparar el porcentaje de lignina insoluble contenida en las muestras colectadas, se observó que el contenido es mayor en las parcelas 2, 3 y 5 del rodal 2 y en las parcelas 3, 5 y 6 del rodal 3. El test de anova no mostró diferencias estadísticas significativas entre parcelas de cada rodal, pero sí entre rodales. El contenido de lignina se encuentra en los rangos reportados para este tipo de cultivo (Sasaki et al. 2013) y no presenta mucha variación a los reportados para otras áreas del departamento de Risaralda (23,60-38,20%) (Mosquera et al. 2010), lo cual puede deberse a las características edáficas y climáticas del suelo.

Caracterización estructural de la lignina ácida insoluble de *G. angustifolia*

La espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FT-IR) ha sido ampliamente utilizada para caracterizar los componentes de la biomasa a través de las bandas de

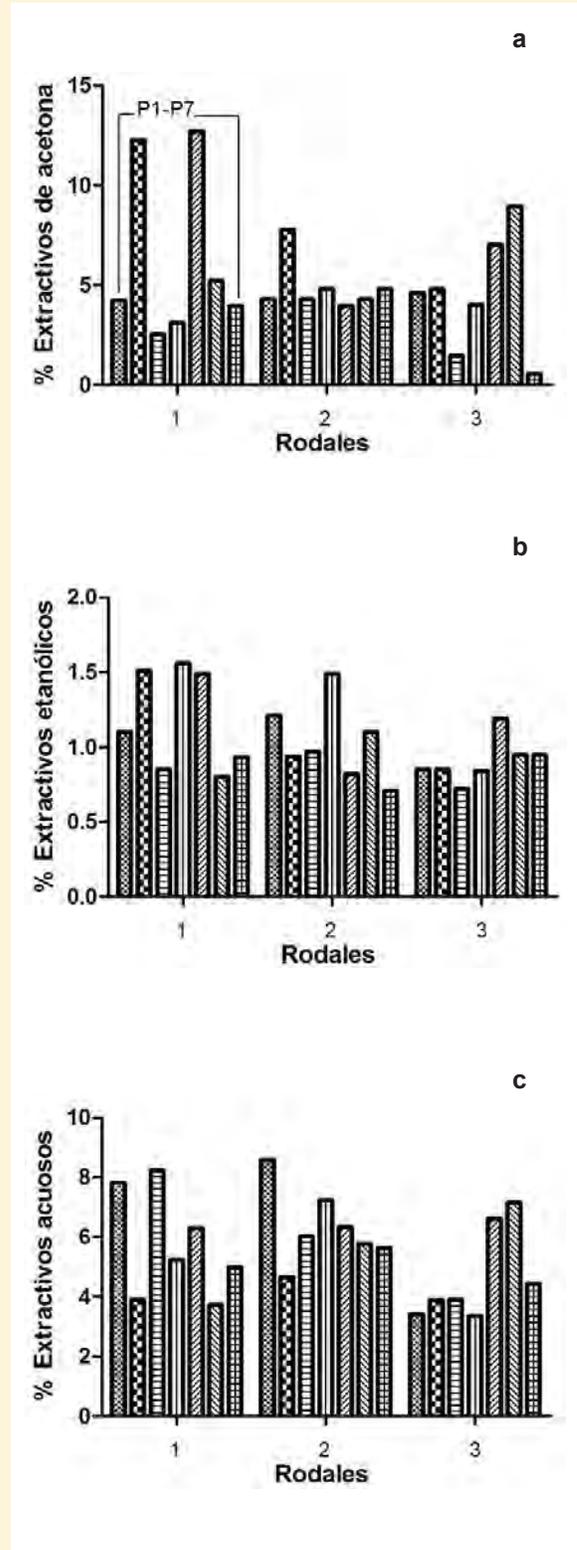


Figura 2. Contenido de extractos de acetona (a), acuosos (b) y etanólicos (c) obtenidos de culmos de *Guadua angustifolia* de finca Yarima, Pereira, Colombia

Cuadro 2. Metabolitos secundarios detectados por CCD en los extractos de acetona de muestras de *G. angustifolia* provenientes de finca Yarima, Pereira, Colombia

Núcleo fitoquímico	Rodal 1							Rodal 2							Rodal 3								
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7		
Alcaloides	++	++	++	++	++	+	+	-	+	+	-	++	++	+	+	+	+	+	++	-	-	-	
Fenoles	-	-	-	-	+	+	-	-	-	++	++	+	++	++	-	-	-	-	-	+	+	+	
Terpenos	++	+	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Flavonoides	++	+++	++	++	++	+	++	+	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Saponinas esteroideas	-	+	-	-	+	-	+	+	++	++	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Saponinas triterpénicas	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
Quinonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+++ Presencia abundante; ++ Presencia intermedia; + Presencia del núcleo; - Ausencia del núcleo

Cuadro 3. Contenido de lignina ácida insoluble en las parcelas evaluadas de la finca Yarima, Pereira, Colombia

Parcela	% Lignina ± DS*		
	Rodal 1	Rodal 2	Rodal 3
1	24,70 ± 0,58	26,80 ± 0,13	27,19 ± 1,30
2	28,00 ± 1,03	28,60 ± 0,33	26,38 ± 1,22
3	23,80 ± 1,39	28,80 ± 0,53	29,51 ± 1,22
4	25,30 ± 1,16	28,00 ± 0,49	25,13 ± 0,47
5	24,10 ± 1,11	28,50 ± 0,84	28,45 ± 0,89
6	25,50 ± 1,10	27,20 ± 1,07	28,92 ± 1,73
7	22,80 ± 0,65	27,10 ± 0,64	28,00 ± 0,82

*Valores de la media ± desviación estándar (DS) (n = 2)

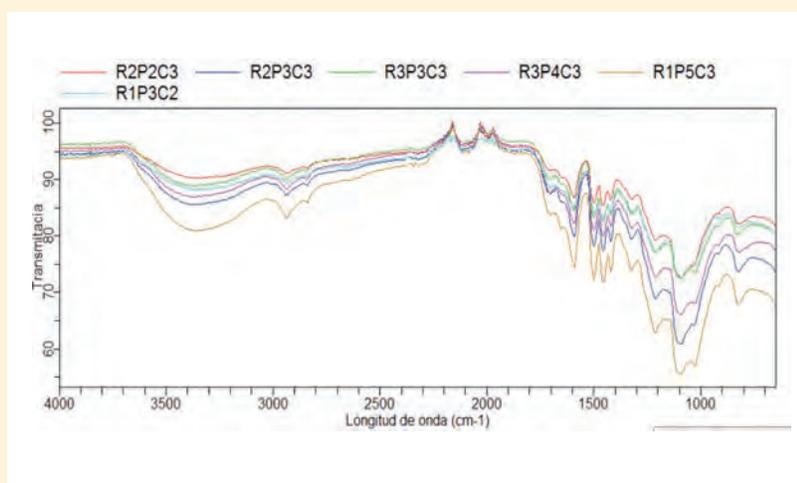


Figura 3. Espectros FT-IR superpuestos de la lignina ácida insoluble procedente de culmos de guadua obtenidos en finca Yarima, Pereira, Colombia

absorción de los grupos funcionales (Xu et al. 2013). Los espectros FT-IR de la lignina ácida insoluble de los culmos de *G. angustifolia* se presentan en la Figura 3, donde se observa una banda ancha de absorción entre 3700 - 3200/cm centrada a 3367/cm. Esta corresponde a la vibración de estiramiento del grupo O-H en anillos aromáticos; asimismo, la banda que se presentó a 2938/cm proviene de las vibraciones simétricas y asimétricas del C-H en grupos metil o metileno (Wen et al. 2013) y, de igual manera, la banda de absorción a 1455/cm es característica de las vibraciones asimétricas del C-H en los grupos metil, metileno y metoxilo (Li et al. 2012).

Los picos a 1593, 1499 y 1421 fueron asignados a las vibraciones del esqueleto aromático, lo cual denota una estructura primaria de la lignina (Xu et al. 2005). La absorción del anillo siringilo se presentó a 1324/cm. Una característica singular de la lignina es la deformación del C-H aromático en el plano, la cual se presenta como una fuerte banda de absorción a 1115/cm y a 1026/cm para estructuras del tipo siringilo y guaioilo, respectivamente. Esto concuerda con el estudio de Sun et al. (2012) con la especie de bambú *Neosinocalamus affinis*, en el cual la lignina fue extraída de los culmos con etanol y álcali.

Los espectros IR de seis muestras de lignina ácida insoluble de la finca Yarima no presentaron diferencias en las bandas de absorción, las cuales fueron del tipo de lignina siringilo-guaiocilo (SG). Este resultado es comparable con lo encontrado por Mosquera et al. (2010) con esta misma especie.

Conclusiones

El contenido de lignina ácida insoluble encontrado en culmos de guadua de tres áreas diferentes en la finca Yarima, Pereira, Colombia, fue más alto en los rodales 2 y 3. Esto evidencia su capacidad para ser usados en construcciones, dado que la lignina le confiere una mayor resistencia y flexibilidad al material.

En los extractos de acetona se determinó la presencia de núcleos fitoquímicos importantes, como fenoles y

flavonoides; sería interesante evaluar la actividad antioxidante de dichos extractos, así como aislar los metabolitos secundarios responsables de estas actividades biológicas para determinar su uso potencial en productos farmacéuticos y cosméticos. Ambos usos darían un mayor valor agregado al cultivo de la guadua en el Eje Cafetero.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a Colciencias (Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia), a la Universidad Tecnológica de Pereira y su Proyecto "Innovación tecnológica para la optimización de procesos y la estandarización de productos en empresas rurales con base en guadua", y a los propietarios de la finca Yarima.

Literatura citada

- Camargo, J.C.; Rodríguez, J.A. 2011. La importancia de la definición de la madurez de culmos de guadua. *In*: Mosquera, O.; Henao, E.; Quintero, H.; Rodríguez, J.; Suárez, J.; Camargo, J. Desarrollo tecnológico para optimizar la calidad de los productos obtenidos de bosques de Guadua: Definiendo la madurez de los culmos y mejorando los procesos de organización. Pereira, Colombia, UTP. p. 15-22.
- Hernández, A.; Arrabal, C.; Montoya, J.A. 2010. Aprovechamiento industrial de *Guadua angustifolia* a partir de los extractos vegetales. *Recursos Naturales y Ambiente* 61: 38-44.
- Kelchner, S.A. 2013. Higher level phylogenetic relationships within the bamboos (Poaceae: Bambusoideae) based on five plastid markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 67(2): 404-413.
- Keski-Saari, S.; Ossipov, V.; Julkunen-Tiitto, R.; Jia, J.; Danell, K.; Veteli, T.; Niemelä, P. 2008. Phenolics from the culms of five bamboo species in the Tangjiahe and Wolong Giant Panda Reserves, Sichuan, China. *Biochemical Systematics and Ecology* 36: 758-765.
- Khalil, H.P.S.; Aprilia, N.A.; Bhat, A.H.; Jawaid, M.; Paradah, M.T.; Rudi, D. 2013. A *Jatropha* biomass as renewable materials for biocomposites and its applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 22: 667-685.
- Kleinn, C.; Morales, D. 2006. An inventory of guadua (*Guadua angustifolia*) bamboo in the Coffee Region of Colombia. *European Journal of Forest Research* 125(4): 361-368.
- Li, M.; Sun, S.; Xu, F.; Sun, R. 2012. Microwave-assisted organic acid extraction of lignin from bamboo: Structure and antioxidant activity investigation. *Food Chemistry* 134(3): 1392-1398.
- Marulanda, L. 2010. Pasado y futuro de los bosques de guadua en el Eje Cafetero Colombiano. El caso de Yarima Guadua. *Recursos Naturales y Ambiente* 61: 6-10.
- Mejía, A.I.; Gallardo, C.; Vallejo, J.J.; Ramírez, G.; Arboleda, C.; Durango, E.S.; Jaramillo, F.; Cadavid, E. 2009. Plantas del género *Bambusa*: importancia y aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. *Vitae* 16: 396-405.
- Mosquera, O.M.; Cortés, Y.J.; Niño, J. 2010. *Guadua angustifolia* en la Ecorregión Cafetera Colombiana. Extracción y cuantificación de lignina insoluble. *Recursos Naturales y Ambiente* 61: 11-17.
- Mosquera, O.M.; Ríos, A.M.; Cortés, Y.J.; Niño, J. 2011. Contenido de azúcares y lignina en culmos de guadua y su estado de madurez. *In*: Mosquera, O.; Henao, E.; Quintero, H.; Rodríguez, J.; Suárez, J.; Camargo, J. Desarrollo tecnológico para optimizar la calidad de los productos obtenidos de bosques de Guadua: Definiendo la madurez de los culmos y mejorando los procesos de organización. Pereira, Colombia, UTP. p. 34-56.
- Nishina, A.; Hasegawa, K.; Uchibori, T.; Seino, H.; Osawa, T. 1991. 2,6-Dimethoxy-p-benzoquinone as an antibacterial substance in the bark of *Phyllostachys heterocycla* var. *Pubescens* a species of thick-stemmed bamboo. *Journal of agricultural and food chemistry* 39(2): 266-269.
- Sasaki, C.; Wanaka, M.; Takagi, H.; Tamura, S.; Asada, C.; Nakamura, Y. 2013. Evaluation of epoxy resins synthesized from steam-exploded bamboo lignin. *Industrial Crops and Products* 43: 757-761.
- Sun, S.; Li, M.; Yuan, T.; Xu, F.; Sun, R. 2012. Sequential extractions and structural characterization of lignin with ethanol and alkali from bamboo (*Neosinocalamus affinis*). *Industrial Crops and Products* 37: 51-60.
- Surveswaran, S.; Cai, Y.; Corke, H.; Sun, M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry* 102: 938-953.
- TAPPI (Leading technical association for the pulp, paper, and converting industry). 2006. T222 om-06. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. 5 p.
- Wagner, H.; Bladt, S. 1996. *Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas*. Berlin, Germany, Verlag Springer.
- Wen, J.; Xue, B.; Xu, F.; Sun, R.; Pinkert, A. 2013. Unmasking the structural features and property of lignin from bamboo. *Industrial Crops and Products* 42: 332-343.
- Xu, F.; Sun, R.; Sun, J.; Liu, C.; He, B.; Fan, J. 2005. Determination of cell wall ferulic and p-coumaric acids in sugarcane bagasse. *Analytica Chimica Acta* 552: 207-217.
- Xu, F.; Yu, J.; Tesso, T.; Dowell, F.; Wang, D. 2013. Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review. *Applied Energy* 104: 801-809.
- Xue, B.; Li, M.; Xu, F.; Sun, R.; Jones, G. 2012. Microwave-enhanced alkali treatment of *Pinus yunnanensis*: Physicochemical characterization of the dissolved lignins. *Industrial Crops and Products* 36: 209-216.
- Zhang, Y.; Bao, B.; Lu, B.; Ren, Y.; Tie, X.; Zhang, Y. 2005. Determination of flavone C-glucosides in antioxidant of bamboo leaves (AOB) fortified foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet diode array detection. *Journal of Chromatography A* 1065(2): 177-185.