

## Determinación del potencial antioxidante en extractos de vinagre *Guadua angustifolia* Kunth para aplicaciones alimenticias

### Determination of the antioxidant potential in *Guadua angustifolia* Kunth vinegar extracts for food applications

Dra. C. Carolina Arboleda Echavarría, Dr. Faiber Jaramillo Yepes, QF.  
Herman Palacio Torres

Universidad de Antioquia. Medellín-Antioquia, Colombia.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** los vinagres producidos durante la pirolisis de *Guadua angustifolia* Kunth, son una fuente de compuestos fenólicos con alta actividad antioxidante; en la literatura se reporta que se han logrado extraer cerca de 400 compuestos de interés de especies similares, con aplicación farmacéutica, cosmética y alimentaria. Debido a este potencial, la guadua representa una importante alternativa de desarrollo científico, tecnológico y económico.

**Objetivos:** identificar los compuestos fenólicos del vinagre de guadua, investigar su capacidad antioxidante y medir la eficiencia del proceso de refinación para incorporar el vinagre refinado en una formulación alimenticia.

**Métodos:** el vinagre de guadua se caracterizó por cromatografía de gases y luego se sometió a un proceso de destilación fraccionado y a un proceso enzimático para eliminar compuestos tóxicos. Posteriormente se usaron diferentes concentraciones de vinagre refinado y de maltodextrina para la elaboración de las diferentes formulaciones. La actividad antioxidante en las formulaciones se determinó por los métodos ABTS y DPPH, y la concentración de siringol se cuantificó por HPLC.

**Resultados:** los procesos de refinación lograron eliminar los compuestos tóxicos casi en su totalidad. Las formulaciones alimenticias preparadas sobre la base de vinagre de guadua presentan una actividad antioxidante hasta de 940,16  $\mu\text{mol/L}$ . La concentración de siringol en las formulaciones oscila entre 20 y 100 ppm.

**Conclusiones:** se logró incorporar el vinagre de guadua en el desarrollo de una bebida alimenticia con propiedades antioxidantes. La actividad antioxidante resultó 10 veces mayor que las bebidas comerciales.

**Palabras clave:** *Guadua angustifolia* Kunth, vinagre, actividad antioxidante, alimentos.

## ABSTRACT

**Introduction:** the vinegars produced during the pyrolysis of *Guadua angustifolia* Kunth, are a source of phenolic compounds with high antioxidant activity. There are reports in the international literature about the extraction of nearly 400 compounds from other similar species with pharmaceutical, cosmetic and food applications. Because of this potential, *Guadua* is an important alternative for scientific, technological and economic development.

**Objectives:** to identify the phenolic compounds from guadua vinegar, to further investigate their antioxidant capacity and to measure the efficiency of the refining process to incorporate the refined vinegar into the food formulation.

**Methods:** guadua vinegar was characterized through the gas chromatography technique and then was subjected to a fractional distillation process and to an enzymatic process for removing toxic compounds. Afterwards, different concentrations of maltodextrin and refined vinegar were used to make the formulations. Antioxidant activity in the formulations was determined by the ABTS and DPPH methods and the concentration of syringol was measured by HPLC.

**Results:** the refining process managed to eliminate almost all the toxic compounds. The food formulations with guadua vinegar had antioxidant activity of up 940.16  $\mu\text{mol/L}$ . The syringol concentration in the formulations ranged 20 to 100 ppm.

**Conclusions:** it was possible to incorporate guadua vinegar in the preparation of a food beverage with antioxidant properties. The antioxidant activity of this beverage was 10 times greater than that of the commercial ones.

**Key words:** *Guadua angustifolia* Kunth, vinegar, antioxidant activity, food.

---

## INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son compuestos naturales protectores que están presentes en plantas, vegetales, frutas, verduras y en diversas bebidas. El organismo humano posee un sistema antioxidante endógeno mediado por diversas enzimas como la catalasa, la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa, entre otras, sin embargo, en algunas ocasiones, este mecanismo de defensa no es suficiente, por lo que es necesario la ingestión de antioxidantes exógenos mediante la alimentación o en forma de suplementos.<sup>1-9</sup>

Cuando el equilibrio entre antioxidantes y pro-oxidantes en el organismo humano se altera y las defensas totales antioxidantes fallan o se incrementa la producción de radicales libres los cuales son moléculas altamente reactivas e inestables, se produce una situación de estrés oxidativo; este puede producir mutaciones en las bases del ADN, oxidar proteínas, peroxidación lipídica, que causan daño en la membrana celular. igualmente, este mecanismo está asociado a la capacidad de los radicales libres de activar sustancias cancerígenas.<sup>1,5,10</sup>

Las plantas son fuente de compuestos con actividad antioxidante que podrían contribuir a la protección del organismo frente a enfermedades degenerativas como el cáncer y otras. El bambú es una hierba perenne, gigante, arbolada que pertenece

---

al grupo de las angiospermas,<sup>11</sup> al orden monocotiledónea<sup>12</sup> y se clasifican bajo la subfamilia Bambusoideae.<sup>13,14</sup>

El vinagre de bambú se obtiene durante la producción de carbón por un proceso de pirolisis. El vapor producido por este proceso es condensado y recolectado como un líquido marrón-rojizo. Según varios autores<sup>15-18</sup> el vinagre de bambú refinado puede procesarse para obtener aromas, conservantes alimenticios y antisépticos. También se le conocen aplicaciones medicinales para curar alergias, dermatitis, diabetes, facilitar el crecimiento del cabello y curar el acné;<sup>19-21</sup> usualmente se encuentra en varias presentaciones como en polvo, concentrado, refinado, crudo y vinagre sin aromas. Según varios autores<sup>18-20</sup> el vinagre de bambú se puede fraccionar y de este se puede obtener una fracción orgánica, una neutra y una fenólica; de las cuales se destaca la fracción fenólica que contiene una alta cantidad de compuestos antioxidantes.

La guadua es una clase de bambú que crece en forma natural en Colombia. Se considera como una de las plantas nativas más representativas de los bosques andinos. Desde hace siglos ha sido utilizada tradicionalmente como material de construcción, y ahora se ha incrementado su uso debido a la corriente actual de búsqueda de materiales para el desarrollo sostenible.

Según *Mejía* y otros,<sup>22</sup> el vinagre de guadua se obtiene de la misma manera que el vinagre de bambú y se compone en 90 % de agua; cuando es deshidratado contiene 13 % de ácidos orgánicos, 44 % de compuestos fenólicos, 4 % de aldehídos, 22 % de compuestos tipo cetonas, 4 % de compuestos alcoholes y ésteres, y 13 % de otros componentes.

De la industria de la construcción y laminados con guadua se generan residuos como aserrín, astillas y recortes, que actualmente no se les da ningún tipo de manejo y generan un problema ambiental. El aprovechamiento de los residuos de la guadua para la producción de vinagre crea una alternativa que incentiva el desarrollo sostenible de la cadena de la guadua, porque a partir de este se puede obtener una materia prima con potencial aplicación en las industrias farmacéutica y alimentaria, para el desarrollo de productos de alto valor agregado como alimentos funcionales y nutraceuticos.

El objetivo general de este trabajo radicó en incorporar el vinagre de guadua en una formulación alimenticia, siendo necesario para este cometido la aplicación de un sistema de refinación que permitiera la remoción de algunos compuestos como el metanol y el fenol. Adicionalmente se evaluó la actividad antioxidante de los extractos del vinagre de guadua y se identificaron algunos de los componentes con actividad antioxidante presentes en el vinagre.

## MÉTODOS

### Vinagre de *Guadua angustifolia* Kunth

El vinagre de *Guadua angustifolia* Kunth fue comprado a Colguadua, empresa ubicada en Caicedonia, Valle del cauca (Colombia); obtenido a través de un proceso de pirolisis que experimentan los culmos de guadua provenientes de un cultivo tecnificado.

### **Caracterización de compuestos presentes en el vinagre por cromatografía gaseosa acoplada a masas (GC-MS)**

Muestras de vinagre de guadua con 5 meses de reposo se mezclaron con dietiléter y se pusieron en agitación magnética durante 30 min. Pasado el tiempo de agitación, se realizó una separación de fases y la fracción orgánica se caracterizó por cromatografía de gases acoplada a masas con un equipo GC-MS VARIAN 3800 saturno 200 con detector selectivo de masas VARIAN 3800 y saturno 2000. Columna *db-wax cross bonded carbowax* de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,5 µm de espesor de película. Detector tipo trampa de iones, rango de detección: 30 a 400 Da, ionización por impacto electrónico: 70 eV. Temperatura de línea de transparencia 280 °C. Las condiciones del horno eran: inicio a 60 °C durante 2 min, se subió a una velocidad de 5 °C/min hasta 200 °C, se mantuvo a esta temperatura por 15 min. La temperatura del detector fue 50 °C y la del inyector 250 °C. Se utilizó helio como gas de arrastre y una relación *split* 40:1.

### **Refinación de vinagre de *Guadua angustifolia* Kunth**

#### *Eliminación de metanol*

La eliminación del metanol se realizó usando un sistema de destilación fraccionado acoplado a un sistema de vacío. El vinagre a refinar se depositó en un balón de reflujo y se ensambló todo el sistema de destilación. Se lleva el sistema hasta 40 °C con agitación magnética a 200 rpm, posteriormente se estabilizó la temperatura en 68 °C y el sistema permaneció en estas condiciones durante 10 min más. Una vez cumplido todo el tiempo de destilación, el vinagre se pasó por un filtro *Whatman* y se refrigeró a 2 °C. Por último, se realizó un muestreo del vinagre refinado y se verificó que la concentración de metanol se encontrara por debajo de 150 ppm utilizando un equipo de GC-FID (cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama).

#### *Eliminación de fenol*

El tratamiento enzimático propuesto para la eliminación del fenol presente en el vinagre de *G. angustifolia* brevemente consistió en poner el vinagre en contacto con una fenoloxidasas (lacasa obtenida de hongos basidiomicetes),<sup>23,24</sup> en un matraz de reacción con capacidad para 250 mL. La concentración de enzima<sup>25-52</sup> utilizada fue 250 U/L mientras que el vinagre se evaluó a tres concentraciones diferentes 5, 10 y 20 %. A continuación los matraces se pusieron en agitación orbital por diferentes intervalos de tiempo en condiciones controladas de temperatura.

### **Evaluación toxicológica de vinagre de *guadua* refinado**

La toxicidad del vinagre se evaluó por *MB Research Laboratories 1765 Wentz Road*.

Una categoría de toxicidad se asignó basada en los resultados de mortalidad y las señales de significancia clínica de la toxicidad de acuerdo con el *Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals* (GHS).

La prueba se realizó con una dosis administrada oralmente hasta un nivel de 2 000 mg/kg. La dosis se administró a 6 ratas del sexo femenino. Los animales se observaron a los 15 min, 1, 2, y 4 h luego de la dosis y una vez al día durante 14 d,

para evaluar toxicidad, mortalidad y efectos farmacológicos. Los animales se sacrificaron humanamente usando CO<sub>2</sub>.

### **Preparación de formulaciones de vinagre de *Guadua* con maltodextrina**

Se prepararon tres soluciones de vinagre a unas concentraciones % v/v, vinagre: agua, de 5, 10 y 20 %. Cada una de estas soluciones se mezcló con maltodextrina a 30, 45 y 60 % p/v. Las mezclas fueron finalmente sometidas a un proceso de secado por *spray* para obtener un polvo blanco que sería la forma comercial del producto. Para los ensayos de actividad antioxidante y evaluación cromatográfica se hicieron diluciones de las anteriores soluciones.

### **Análisis de actividad antioxidante**

Se determinó la actividad antioxidante de formulaciones alimenticias sobre la base de vinagre de *Guadua* en diferentes concentraciones, por los métodos abajo descritos. Adicionalmente se evaluó la actividad antioxidante de dos bebidas comerciales con proclama antioxidante.

### **Actividad inhibidora del radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)**

La actividad inhibidora del radical 1,1-difenil-2-picril-hidracilo (DPPH) de las formulaciones fue determinada siguiendo el método de *Cavin* y otros.<sup>44</sup>

### **Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) ABTS**

La actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) de las formulaciones se determinó siguiendo el método de *Re* y otros.<sup>45</sup>

### **Determinación de la concentración de siringol por HPLC**

Se utilizó un equipo HPLC Shimadzu equipado con una bomba de gradiente cuaternaria (LC-20AD), un detector de arreglo de diodos (SPD-M20A), un automuestreador (SIL-20A HT), controlado por el *software LC Solution*. Se usó una columna analítica RP-C18 (250 x 4,0 mm d.i., 5 µm tamaño de partícula). La longitud de onda para la detección UV fue 270 nm. El flujo de la fase móvil fue de 1.0 ml/min a temperatura ambiente. La fase móvil A fue agua y la fase móvil B metanol, se usó una elución por gradiente y un tiempo total de análisis de 44 min. El volumen de inyección resultó de 20 µL.

Se preparó una curva de calibración de siringol en un rango de 1,0100 75,4086 mg.L<sup>-1</sup>. La curva fue de 7 niveles y la concentración de siringol se calculó por el área bajo la curva del estándar. Las soluciones de trabajo de siringol se prepararon en agua-metanol y se almacenaron a 4 °C en frascos ámbar hasta su uso.

## **RESULTADOS**

En la tabla aparecen varios compuestos de interés entre los cuales se encuentran el P-guayacol, fenol, siringol, 1,2 bencenodiol a 24,81; 27,83; 33,25 y 41,91 min, respectivamente.

**Tabla.** Compuestos volátiles representativos del vinagre de guadua identificados por cromatografía de gases y espectrometría de masas

| No. | Tiempo de retención | Compuesto                              |
|-----|---------------------|--|
| 1   | 3,26                | Metanol                                |
| 2   | 13,33               | 2-ciclopentan-1-ona-2-metil            |
| 3   | 16,82               | trans-2-metil-4-hexen-3-ol             |
| 4   | 24,17               | 2-ciclopenten-1-ona-2-hidroxi-3-metil  |
| 5   | 24,81               | p-guayacol                             |
| 6   | 25,57               | 2-ciclopenten-1-ona-3-etil-2-hidroxi   |
| 7   | 26,79               | Fenol-2-metoxi-4-metil                 |
| 8   | 27,15               | Maltol                                 |
| 9   | 27,83               | Fenol                                  |
| 10  | 28,27               | Fenol-4-etil-2-metoxi                  |
| 11  | 33,25               | Siringol                               |
| 12  | 35,69               | 1,2,4-trimetoxibenceno                 |
| 13  | 37,65               | benceno-1,2,3-trimetoxibenceno-5-metil |
| 14  | 41,91               | 1,2-bencenodiol-3metoxi                |

### Eliminación del metanol de vinagre de *Guadua*

Los resultados por cromatografía de gases y detección por ionización de llama muestran que el método de eliminación del metanol presente en el vinagre permitió disminuir la concentración de metanol hasta 143 mg/L.

En 24 h con una concentración de enzima de 250 U/L se logró la degradación de casi la totalidad del fenol presente en el vinagre diluido al 5 % (Fig. 1).

### Evaluación de la toxicidad del vinagre de *guadua*

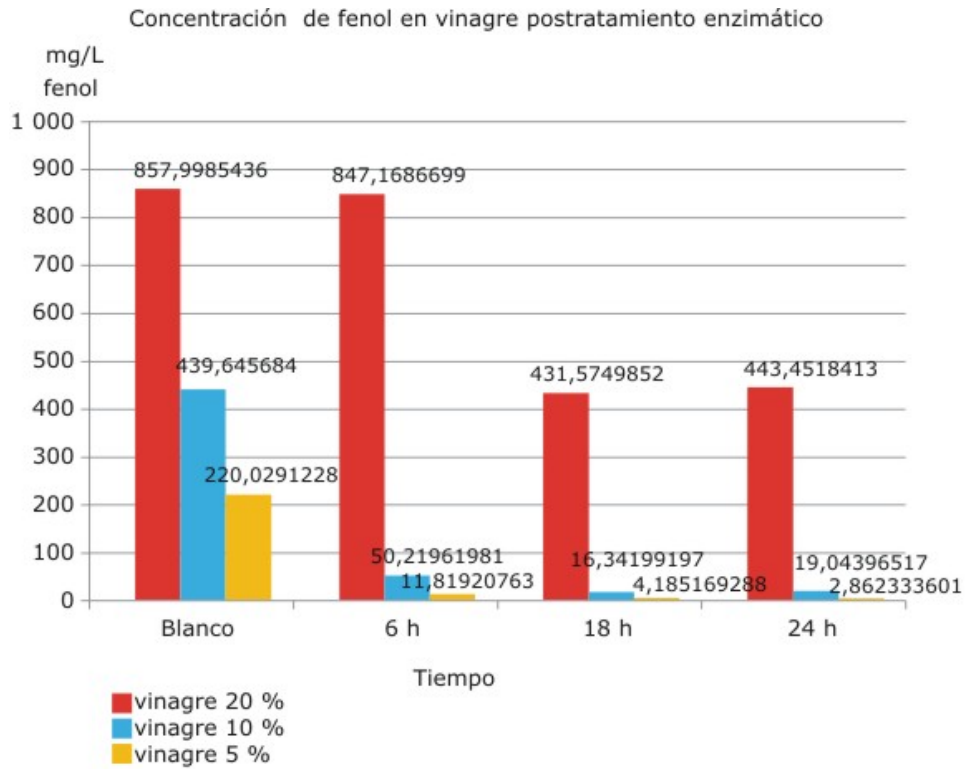
Las 6 ratas analizadas sobrevivieron a la dosis oral de 2 000 mg/kg. No se observaron signos físicos anormales luego de 14 d de exposición a una dosis de 2 000 mg/kg. Adicionalmente no se aprecian alteraciones físicas en la necropsia.

Con vinagre de guadua al 10 % se obtuvo una formulación con la mejor actividad antioxidante de 940,16  $\mu$ mol/L TEAC (Fig. 2). Concentraciones de maltodextrina superiores a 45 % interfieren con la determinación de actividad antioxidante.

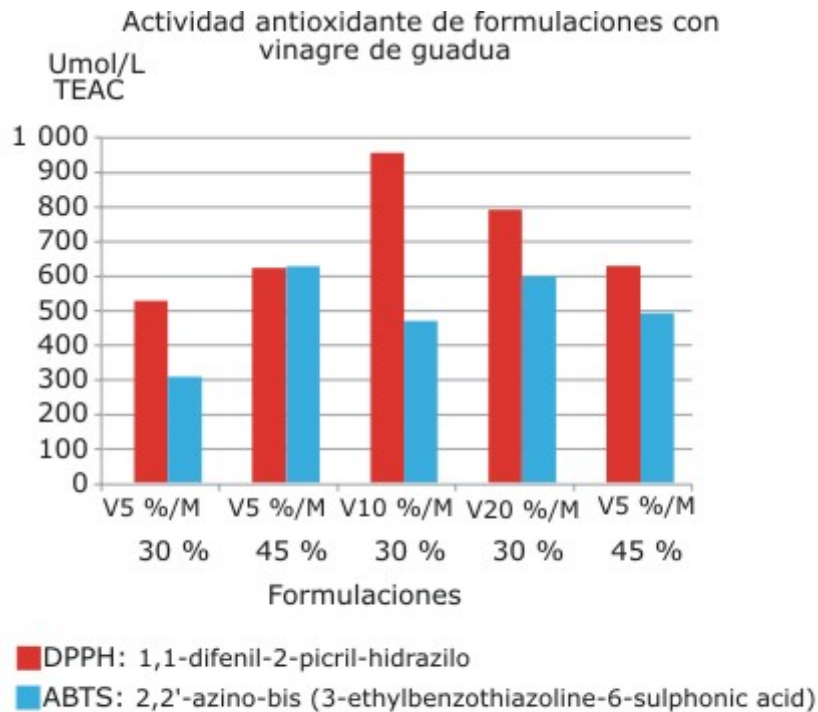
### Perfil cromatográfico de formulaciones con vinagre al 10 % y porcentajes de maltodextrina de 30 a 60 %

Por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y con la ayuda de un estándar, se determinó la presencia de siringol, el cual presenta un tiempo de retención de 26 min.

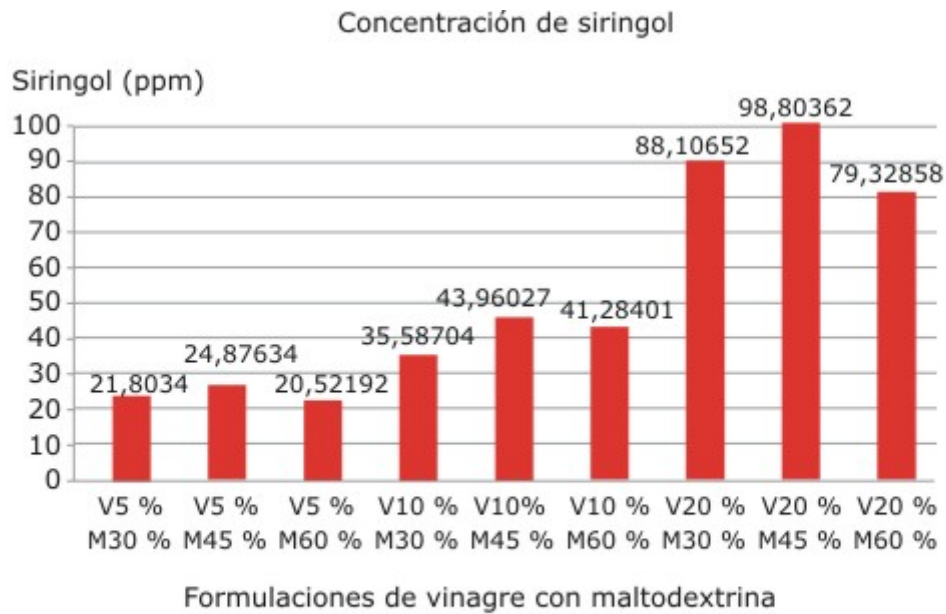
En la figura 3 se muestra la concentración del siringol cuantificado por HPLC en diferentes formulaciones con vinagre de guadua entre 5 y 20 %, así como maltodextrina entre 30 y 60 %.



**Fig. 1.** Eliminación de fenol del vinagre de guadua por fenoloxidasa de *Ganoderma* sp.



**Fig. 2.** Actividad antioxidante de formulaciones de vinagre de guadua con maltodextrina.



**Fig. 3.** Concentración de siringol en diferentes formulaciones vinagre de guadua con maltodextrina.

La formulación alimenticia con vinagre de guadua al 5 % y maltodextrina al 30 % muestra una actividad antioxidante mucho mayor que las bebidas comerciales (Fig. 4).



**Fig. 4.** Actividad antioxidante de dos bebidas alimenticias comerciales y la formulación de vinagre de guadua con los mejores resultados.



## DISCUSIÓN

Los resultados de caracterización realizada por cromatografía gaseosa demuestran que existen varios compuestos con potencial actividad antioxidante dentro del vinagre de guadua. Sin embargo, varios compuestos que hacen parte del extracto deben eliminarse para aplicaciones alimenticias, como son el metanol y el fenol (tabla).

El proceso de refinación del vinagre de guadua y específicamente la eliminación de metanol, permitió disminuir los niveles de este compuesto tóxico por debajo de 150 ppm. Esto indica una eliminación superior a 98 % sin un consumo excesivo de energía. De igual manera, el método propuesto para la eliminación del fenol por medios biotecnológicos demostró ser eficiente. En el vinagre diluido al 5 % se disminuyó el fenol en 98,93 %. En el vinagre diluido al 10 % se observó un comportamiento semejante al del vinagre al 5 %, donde la mayor transformación del fenol se logró en la hora 18, mientras que para la dilución al 5 % fue mejor a las 24 h. El vinagre más concentrado (20 %) fue el que presentó menor susceptibilidad al efecto de la enzima. La máxima transformación se logró de 49,73 % y se obtuvo a las 18 h de reacción (Fig. 1).

Al incrementarse la concentración del vinagre, la enzima pierde eficiencia en el proceso de eliminación del fenol (Fig. 1). Esto puede deberse a una inhibición por sustrato como también sucede en otros procesos de eliminación de fenoles por vía enzimática.<sup>23,24</sup> El aumento del fenol en el proceso de eliminación enzimática en las concentraciones 10 y 20 de vinagre puede deberse a aumento de la concentración por evaporación del medio. Experimentos adicionales usando el doble de concentración de la enzima (500 U/L), permitieron degradar la totalidad del fenol en 24 h (datos que no se muestran).

En general, el tratamiento enzimático permite disminuir los niveles de fenol hasta concentraciones inferiores a 5 mg/L, sin alterar la composición de otras especies fenólicas gracias a la especificidad de la enzima empleada.

El análisis toxicológico realizado al vinagre, posterior al proceso de refinación, no mostró muertes ni signos de deterioro físico en los animales de experimentación, lo cual indica la inocuidad del vinagre de guadua a una dosis de 2 000 mg/kg.

La actividad antioxidante no es directamente proporcional a la concentración del vinagre (Fig. 2). El vinagre es una matriz natural con una gran cantidad de componentes que pueden presentar reacciones sinérgicas o antagónicas. Adicionalmente se observó que cantidades de maltodextrina superiores a 45 % interfieren con las pruebas de captación de radicales libres, por las técnicas de DPPH y ABTS.

Por HPLC se cuantificó la concentración de siringol en las diferentes formulaciones. Los resultados encontrados demuestran que no existe una relación directa entre la actividad captadora de radicales libres y su concentración en la formulación. Esto se debe en parte a que en el vinagre de guadua el siringol no es la única molécula con actividad antioxidante, porque se ha detectado guayacol y muchos más compuestos con espectros típicos de ácidos fenólicos con potencial actividad antioxidante, los cuales han sido empleados en composiciones farmacéuticas o como agentes o ingredientes de alimentos funcionales.<sup>53</sup> El perfil cromatográfico de las formulaciones mostró la presencia de un compuesto con bastante intensidad, que se logró aislar por cromatografía preparativa y aunque no se consiguió elucidar su estructura, se sabe que es un compuesto de naturaleza fenólica. Adicionalmente se evaluó su actividad captadora de radicales libres, encontrándose una actividad de 30,9  $\mu\text{mol/L}$  TEAC a una concentración de 0,235 %.

Con el vinagre al 10 % se obtuvo una formulación con la mejor captación del radical DPPH de 940,16  $\mu\text{mol/L}$  TEAC, actividad muy superior a la hallada en los té comerciales que fueron preparados para una mejor interpretación y comparación de los resultados de la actividad captadora de radicales libres.

Por último, se puede afirmar que los procesos de refinación y evaluación toxicológica permitieron hacer la incorporación del vinagre de guadua en una formación alimenticia, con características antioxidantes superiores a las de bebidas comerciales, convirtiéndola en una fuente alternativa de antioxidantes naturales para contrarrestar el efecto negativo de los radicales libres en el organismo.

## AGRADECIMIENTOS

Al apoyo financiero del Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI), Universidad de Antioquia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sabater J, Sabater G, Arambarri AM. Farmacia Meritxell [sitio en internet]. [citado 20 May 2009]. Disponible en: <http://www.farmaciameritxell.com/productes/Antiaging.pdf>
2. Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cubana Med Milit. 2002; 31(2): 126-33.
3. Martínez S, González J, Culebras JM, Tuñón MJ. Revisión. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 2002; 17(6): 271-8.
4. Boots A, Haenen G, Bast A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol. 2008; 585(2-3): 325-37.
5. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 4 ed. Londres: Oxford University Press; 2006.
6. Georgetti SR, Casagrande R, Fernandez CR, Pereira W, Vieira MJ. Spray drying of the soybean extract: Effects on chemical properties and antioxidant activity. Science Direct. 2008; (41): 1521-7.
7. Bhanja T, Rout S, Banerjee R, Bhattacharyya BC. Studies on the performance of a new bioreactor for improving antioxidant potential of rice. Science Direct. 2008; (41): 1459-65.
8. Conde E, Cadahía E, García MC. HPLC Analysis of flavonoids and phenolic acids and aldehydes in *Eucalyptus* spp. Chromatographia. 1995; 41(11/12): 657-60.
9. Harborne JB. The flavonoids, advances in research since 1986. Londres: Chapman & Hall; 1996. p. 619-20.
10. Álvarez E, Orallo F. Actividad biológica de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer. OFFARM. 2003; 22(10): 130-40.

11. Chapman GP. The biology of grasses. Londres: CAB International; 1996.
12. AbdLatif MWA, Wan T, Fauzidah A. Anatomical features and mechanical properties of three Malaysian bamboos. *J Trop For Sci.* 1990;2(3):227-34.
13. Chapman GP. The bamboos. Serie 19. Londres: Linnean Society Symposium Series; 1997.
14. Andy WCL, Gang Ch, Frank H. Tainter Comparative treatability of Moso bamboo and Southern pine with CCA preservative using a commercial schedule. *Bioresource Technol.* 2001;77(1):87-8.
15. Wong KM. The bamboos of Peninsular Malaysia. 41a ed. Sabah: Malayan Forest Records; 1995.
16. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, República de Colombia. Talleres de presentación de avances de proyectos de I+D+I en las cadenas de guadua y forestal. Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural [Sitio en Internet]. [Citado 20 Sep 2009]. Disponible en: [http://sigp.minagricultura.gov.co/soporte/noticias/Boletin\\_Taller\\_Guadua\\_Forestal.pdf](http://sigp.minagricultura.gov.co/soporte/noticias/Boletin_Taller_Guadua_Forestal.pdf)
17. Chen Xuhe, Lou Yiping, Hao Ying (Editores). International Workshops on bamboo industrial utilization [Sitio en Internet]. [Citado 20 Sep 2009]. Disponible en: [http://www.inbar.int/publication/txt/INBAR\\_PR\\_13.htm](http://www.inbar.int/publication/txt/INBAR_PR_13.htm)
18. Yoshihiko A, Yuka T, Soota I, Miho T, Takeshi N. Volatile Organic compounds with characteristic odor in bamboo vinegar. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2006;70(11):2797-9.
19. Jun M, Tohru U, Takeshi F. Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plants. *J Wood Sci.* 2003;49(3):262-70.
20. Jun M, Tohru U, Takeshi F. Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plants II: composition of moso bamboo vinegar at different collection temperature and its effects. *J Wood Sci.* 2004;50(5):470-6.
21. Sulaiman RJ, Murphy RH, Sanchis CG. The inhibition of microbial growth by bamboo vinegar. *J Bamboo Rattan.* 2005;4(1):71-80.
22. Mejía AI. Plantas del género bambusa: importancia y aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. *Vitae.* 2009;16(3):396-405
23. Reed M, Lieb A, Nijhout F. The biological significance of substrate inhibition: A mechanism with diverse functions. *Bioessays.* 2010;32:422-9.
24. Pramparo L. Study of a torus bioreactor for the enzymatic elimination of phenol [Tesis Doctoral]. Tarragona: Universitat Rovira i Virgili; 2008.
25. Eriksson KE, Blanchette RA, Ander P. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 1990. p. 397.
26. Martínez AT, Camarero S, Guillen F, Gutierrez A, Munoz C, Varela E. Progress in biopulping of non-woody materials: chemical, enzymatic and ultrastructural aspects

- of wheat straw delignification whit ligninolytic fungi from de genus *Pleurotus*. Fems Microbiol Rev. 1994;13:265-73.
27. Russell R, Paterson M. Ganoderma -A terapeutical fungal biofactory. Phytochemistry. 2006;67:1985-2001.
28. Fujita R, Liu J, Shimizu K, Konishi F, Noda K, Kumamoto S, et al. Anti-androgenic activities of *Ganoderma lucidum*. J Ethnopharmacol. 2005;102:107-12.
29. Horng-Huey Ko, Hung C. Antiinflammatory triterpenoids and steroids from *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae*. Phytochemistry. 2008;69:234-9.
30. Seong-Kug Eo, Young-So Kim. Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from *Ganoderma lucidum*. J Ethnopharmacol. 1999;68:129-36.
31. Maganhotto CM, Soares DM, Oliveira PR. Ligninolytic enzyme production by *Ganoderma spp*. Enzyme Microbial Technol. 2005;37:324-9.
32. Mau JL, Lin HC, Chin-Chu-Chen. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. J Agric Food Chem. 2002;50(21):6072-7.
33. Mau JL, Lin HC, Chin-Chu-Chen. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. Food Research International. 2002;35:519-26.
34. Mau JL, Tsai SY, Tseng Y, Huang S. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. Food chemistry. 2005;93:641-9.
35. Arboleda C, Mejia AI, Franco AE, Jimenez GA, Penninckx MJ. Autochthonous white rot fungi from the tropical forest of Colombia for dye decolorisation and ligninolytic enzymes production. Sydowia 2008;60(2):165-80.
36. Murugesan K, Kim YM, Jeon JR, Yoon-Seok Chang YS, Effect of metal ions on reactive dye decolorization by laccase from *Ganoderma lucidum*. Journal of Hazardous Materials. 2009;168(1):523-9.
37. Mester T, Peña M, Field JA. Nutrient regulation of extracellular peroxidases in the white-rot fungus *Bjerkandera sp*. BOS55. Applied Microbiol biotechnol. 1995;44:778-84.
38. Fang QH, Zhong JJ. Submerged fermentation oh higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites-Ganoderic acid and polysaccharide. Biochemical Engineering J. 2002;10:61-5.
39. Tang YJ, Zhong JJ. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid. Enzyme Microbial Technol. 2002;31:20-8
40. Hinkelmann K, Jo J. Linear trend-free Box-Behnken designs. J Statical Planning Interference. 1998;72(1-2):347-54.
41. Paszczyński A, Huynh VB, Crawford R. Comparison of ligninase-1 and peroxidase-m2 from de white-rot fungus *Phanerocheate chrysosporium*. Arch Biochem biophysics. 1986;244(2):750-65.

42. Waterman, Mole S. Analysis of phenolic plant metabolites. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1994.
43. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 1965;16(3):144-58
44. Cavin A, Hostettmann K, Dyatmyko W, Potterat O. Antioxidant and lipophilic constituents of *Tinospora crispa*. Planta Med. 1998;64:393-6.
45. Re R, Pellegrini R, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology Medicine. 1999;26(9-10):1231-7.
46. Baldrian P. Interaction of heavy metals with White-Rot fungus. Enzyme Microbiol Technol. 2003;32:78-91.
47. Wen Tang W, Liu JW, Zhao WM, Wei DZ, Zhong JJ. Ganoderic acid T from *Ganoderma lucidum* mycelia induces mitochondria-mediated apoptosis in lung cancer cells. Life Sciences. 2006;80:205-11.
48. Chen YG, Shen ZJ, Chen XP. Modulatory effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on serum antioxidant enzymes activities in ovarian cancer rats. Carbohydrate Polymers. 2009;78:258-62
49. Chen XP, Chen Y, Li SB, Chen YG, Lan JY, Liu LP. Free radical scavenging of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats. Carbohydrate Polymers. 2009;77:389-93.
50. Lakshmi B, Ajith TA, Janardhanan KK. Antimutagenic activity of methanolic extract of *Ganoderma lucidum* and its effect on hepatic damage caused by benzo[*a*]pyrene. J Ethnopharmacol. 2006;107:297-303.
51. Saltarelli R, Ceccaroli P, Lotti M, Zambonelli A, Buffalini M, Casadei L, et al. Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. Food Chemistry. 2009;116:143-51.
52. Gazak R, Sedmera P, Marzorati M, Riva S, Køen V. Laccase-mediated dimerization of the flavonolignan silybin. J Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2008;50:87-92.
53. Wang S. Pharmaceutical composition containing guaiacol derivatives and syringol derivatives extracted from natural plant vinegar [Patente US 2007/0065524 A1]. United States; 2007.

Recibido: 28 de febrero de 2012.

Aprobado: 17 de junio de 2012.

*Carolina Arboleda*. Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica. Carretera 50 A # 63 -85. Medellín- Antioquia, Colombia. Teléf.: (094) 2192310-09. Correo electrónico: [echavarria.carolina@gmail.com](mailto:echavarria.carolina@gmail.com)