

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA E INOCUIDAD DE ALIMENTOS

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE POLIFENOLES Y MELANOIDINAS  
EXTRAÍDOS DE RESIDUOS DE *Coffea arabica*, EN BACTERIAS  
PATÓGENAS

TESIS PARA OPTAR AL GRADO MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA E  
INOCUIDAD DE ALIMENTOS

PRESENTADO POR:

ILIANA BEATRIZ MORALES RICO

ANGELA GUEDELIA PORTILLO DE PEREZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, JUNIO 2025

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA  
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

**RECTOR**

Ing. M.Sc Juan Rosa Quintanilla Quintanilla

**SECRETARIO GENERAL**

Lic. Pedro Rosalío Escobar Castaneda

**DECANA**

Licda. Nancy Zuleyma González Sosa

**SECRETARIA DE FACULTAD**

Licda. Eugenia Sorto Lemus

## HOJA DE APROBACIÓN DE PROYECTO DE TESIS

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE POLIFENOLES Y MELANOIDINAS EXTRAÍDOS  
DE RESIDUOS DE *Coffea arabica* EN BACTERIAS PATÓGENAS

### COMITÉ DE TESIS

M.Sc. Morena Lizette Martínez de Díaz

---

**Docente asesora**

M.Sc. Amy Elieth Morán Rodríguez

---

**Docente asesora**

M.Sc. Andrés Wilfredo Rivas Flores

---

**Tribunal evaluador**

PhD. David Francisco Torres Romero

---

**Tribunal evaluador**

M.Sc. Tatiana Burgos Sierra

---

**Coordinadora de Maestría**

M.Sc. Edith Alicia Torres de Cantón

---

**Coordinadora de Postgrado**

Ing. Iliana Beatriz Morales Rico  
Licda. Angela Gudelia Portillo de Pérez

---

**Estudiantes**

Fecha de entrega: junio de 2025

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecer a la Universidad de El Salvador, a la Facultad de Química y Farmacia y a cada uno de los maestros por permitir la formación y enriquecer nuestros conocimientos en el área de Microbiología e Inocuidad de Alimentos.

A las Docentes asesoras M.Sc. Amy Elieth Morán Rodríguez y M.Sc. Morena Lizette Martínez de Díaz, quienes, con sus conocimientos, experiencia, tiempo y paciencia en cada una de las revisiones y mejoras del documento, ejecución de la metodología y presentación de los resultados, fueron pilares importantes en la consolidación de esta investigación.

Al Tribunal Evaluador M.Sc. Andrés Wilfredo Rivas Flores y PhD. David Francisco Torres Romero, por la revisión y constructivos comentarios que ayudaron a enriquecer nuestra investigación.

Reconocemos y agradecemos el apoyo recibido del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y de la Planta piloto de la Escuela de Ingeniería Química e Ingeniería de Alimentos de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura que nos facilitaron las instalaciones y equipos para llevar a cabo la metodología de la investigación.

A la Dra. Tania Torres Rivera por sus aportes y consejos durante el desarrollo del mismo, a la M.Sc. Tatiana Burgos Sierra por la orientación y gentileza durante el proceso, al Lic. Daniel Rivas por su apoyo en el área estadística y a cada uno de los familiares, compañeros y amigos que formaron parte de este recorrido académico.

Iliana y Gudelia

## ÍNDICE

Contenido	pág.
ABREVIATURAS	
RESUMEN	
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN .....	xvii
CAPÍTULO II	
OBJETIVOS .....	21
2.1 OBJETIVO GENERAL .....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
CAPÍTULO III	
MARCO TEÓRICO.....	23
3.1 Orígenes del café .....	23
3.2 Compuestos bioactivos en CSG.....	25
3.2.1 Polifenoles .....	26
3.2.1.1 Polifenoles y actividad antimicrobiana.....	27
3.2.2 Clasificación de los polifenoles.....	28
3.2.2.1 Polifenoles flavonoides.....	29
3.3.2.2 Polifenoles No flavonoides.....	30
3.3.2.2.1 Acido gálico .....	30
3.2.2.Las melanoidinas .....	31

3.2.2.1 Las melanoidinas y la actividad antimicrobiana.....	33
CAPÍTULO IV	
METODOLOGÍA .....	36
4.1 Tipo de estudio .....	36
4.2 Criterios de selección .....	37
4.3 Parte experimental.....	37
4.3.1 Obtención de compuestos bioactivos.....	37
4.3.1.1 Preparación de los residuos de café gastados (SCG).....	37
4.3.1.2 Extracción de polifenoles .....	38
4.3.1.2.1. Presencia de polifenoles por método de Folin Ciocalteu utilizando ácido gálico como patrón .....	38
4.3.1.2.1.1 Preparación de curva de calibración.....	38
4.3.1.2.1.2 Preparación de blanco .....	39
4.3.1.2.1.3 Cuantificación de polifenoles en la muestra.....	39
4.3.1.3 Melanoidinas.....	40
4.3.1.3.1 Extracción de melanoidinas.....	40
4.3.1.3.2 Preparación de solución madre.....	41
4.3.1.3.3 Preparación de curva de calibración.....	41
4.3.1.3.4 Preparación de blanco.....	41
4.3.1.3.5 Cuantificación de melanoidinas en la muestra.....	41

4.3.2 Análisis <i>in vitro</i> de polifenoles y melanoidinas estraidos de SCG en bacterias patógenas.....	42
4.3.2.1 Estandarización del inóculo.....	42
4.3.2.2 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por microdilucion de polifenoles y melanoidinas.....	43
4.3.2.3 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por método modificado en pozos en agar Muller Hinton.....	45
4.4 Análisis y tratamiento estadístico de los datos .....	45
 CAPÍTULO V	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	48
5.1 Extraccion de compuestos bioactivos de los SCG.....	48
5.1.1 SCG utilizados como muestra .....	48
5.1.2 pH de los compuestos bioactivos.....	49
5.1.3 Humedad de la muestra .....	49
5.1.4 Presencia de polifenoles .....	51
5.1.5 Presencia de melanoidinas .....	53
5.2 Cuantificación de polifenoles y melanoidinas obtenidos del residuo de <i>Coffea arabica</i> con método de espectrofotometría UV-Vis .....	55
5.2.1 Cuantificación de polifenoles.....	55
5.2.2 Cuantificación de melanoidinas.....	56

5.3 Determinación de la actividad antimicrobiana de los polifenoles y melanoidinas extraídos del residuo de <i>Coffea arabica</i> .....	57
5.3.1 Estandarización de bacterias.....	57
5.3.2 Comportamiento del crecimiento microbiano .....	57
5.3.2.1. Comportamiento del crecimiento microbiano en 24 h ante el efecto de polifenoles .....	59
5.3.2.2 Comportamiento del crecimiento microbiano en 24 h ante el efecto de melanoidinas.....	59
5.4 Porcentaje del efecto inhibitorio de compuestos bioactivos y antibióticos en las bacterias.....	60
5.4.1 Porcentaje de efecto de inhibición de los compuestos bioactivos de de SCG y antibióticos en <i>Escherichia coli</i> .....	61
5.4.2 Porcentaje de efecto de inhibición de los compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	62
5.4.3 Porcentaje de efecto de inhibición de los compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
5.5 Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) .....	65
5.5.1 Concentración Inhibitoria Mínima por la técnica de placas multipozos.....	65
5.5.2 Concentración Inhibitoria Mínima por el método modificado de pozos en agar Muller Hinton .....	67
5.6 Análisis estadístico .....	68

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES .....74

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES .....77

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GLOSARIO

ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	pág.
1 Valor promedio de humedad de la muestra seca de SCG.....	49
2 Curva de calibración de polifenoles en los SCG a partir de estandarización con ácido gálico.....	51
3 Curva de calibración de melanoidinas en los SCG a partir solución madre de café molido sin usar.....	53
4 Cuantificación de polifenoles extraídos de SCG.....	55
5 Cuantificación de melanoidinas extraídos de SCG.....	56
6 Estandarización de bacterias .....	57
7 Comportamiento del crecimiento microbiano a las 24 h.....	58
8 Porcentaje del efecto antimicrobiano de los compuestos bioactivos en las bacterias .....	61
9 Concentración Inhibitoria Mínima .....	65
10 Datos de halos de inhibición utilizando el método modificado de pozos en agar M-H .....	67
11 Análisis de varianza de tres factores de las concentraciones de los tratamientos en las diferentes bacterias en estudio .....	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	pág.
1 Partes de un grano de café .....	24
2 Formación del ácido shikímico a partir de fosfoenolpiruvato .....	31
3 Mecanismos de la actividad antimicrobiana de las melanoidinas del café ...	34
4 Espectro de presencia de polifenoles en los SCG.....	51
5 Espectro de presencia de melanoidinas en los SCG.....	54
6 Crecimiento de bacterias a las 24 horas ante efecto de polifenoles.....	59
7 Crecimiento de bacterias a las 24 horas ante el efecto de melanoidinas.....	60
8 Efecto microbiano de compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en <i>Escherichia coli</i> .....	62
9 Efecto microbiano de compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en <i>Salmonella Typhimurium</i> .....	63
10 Efecto microbiano de compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en <i>Staphylococcus aureus</i> .....	64
11 Concentración Inhibitoria Mínima del efecto de polifenoles en las bacterias	66
12 Concentración Inhibitoria Mínima del efecto de melanoidinas en las bacterias.....	66
13 Halos de inhibición del efecto antimicrobiano de polifenoles en las bacterias	68
14. Halos de inhibición del efecto antimicrobiano de melanoidinas en las bacterias.....	68

## ÍNDICE DE ANEXOS

- 1 Diseño de siembra de los microorganismos en las placas multipozos
- 2 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de melanoidinas en *E. coli*
- 3 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de polifenoles en *E. coli*
- 4 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de tetraciclina en *E. coli*
- 5 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de trimetoprim sulfametoxazol en *E. coli*
- 6 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de melanoidinas en *S. Typhimurium*
- 7 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de polifenoles en *S. Typhimurium*
- 8 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de tetraciclina en *S. Typhimurium*
- 9 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de trimetoprim sulfametoxazol en *S. Typhimurium*
- 10 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de melanoidinas en *S. aureus*
- 11 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de polifenoles en *S. aureus*
- 12 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de tetraciclina en *S. aureus*.
- 13 Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de trimetoprim sulfametoxazol en *S. aureus*

## ABREVIATURAS

**$\lambda$** : Longitud de onda

**%T**: Transmitancia porcentual

**°C**: Grados Celsius

**$\mu\text{g/mL}$** : microgramos por mililitro

**$\mu\text{L}$** : microlitro

**Abs**: Absorbancia

**ANOVA**: Análisis de Varianza

**ATP**: Adenosín Trifosfato

**CF**: Compuestos fenólicos

**CIM**: Concentración Inhibitoria Mínima

**CS**: Cascarilla de café

**CSC**: Consejo Salvadoreño del Café

**Ct**: Concentración Total

**D.O.**: Densidad Óptica (Absorbancia)

**ELISA**: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas)

**Fd**: Factor de dilución

**g/L**: Gramos por litro

**h**: Hora

**L**: Litro

**M**: Molaridad (mol/L)

**m/v**: Masa/volumen

**mg/mL:** Miligramos por mililitro

**Min:** Minuto

**mL:** mililitro

**mM:** Milimolar (concentración molar)

**nm:** Nanómetro (longitud de onda)

**NPN:** Nitrógeno No Proteico

**NT:** Número de tratamiento

**OD600:** Densidad óptica a 600 nm

**p/p:** Peso/peso

**PF:** Polifenoles

**ppm:** Partes por millón

**R<sup>2</sup>:** Coeficiente de determinación

**s:** Segundo

**SCG:** *Spent Coffee Grounds* (Residuos de café gastado)

**UFC/mL:** Unidades Formadoras de Colonias por mililitro

**UA:** Unidades de absorbancia

**UV-Vis:** Ultravioleta-visible (Espectrofotometría)

## RESUMEN

Se investigó el potencial antimicrobiano de polifenoles y melanoidinas extraídos de residuos de café gastados (SCG). Se identificaron y cuantificaron los compuestos bioactivos y se evaluó su actividad antimicrobiana *in vitro* mediante la técnica de placa multipozos utilizando las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella entérica* serovariedad Typhimurium y *Staphylococcus aureus*. Se realizó una comparación con antibióticos de amplio espectro (tetraciclina y trimetoprim sulfametoxazol). La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se estableció a partir de mediciones de densidad óptica (absorbancia) en tiempos de 0, 2, 6 y 24 horas. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un Análisis de Varianza de tres factores (ANOVA) utilizando el programa estadístico R. De los extractos de SCG se obtuvo un promedio de 199.04 mg/100 mL de polifenoles y 2316.11 mg/100mL de melanoidinas. Todas las concentraciones evaluadas de polifenoles mostraron una baja efectividad antimicrobiana en todas las bacterias estudiadas y las concentraciones de melanoidinas una efectividad moderada para *E. coli* (4000 y 5000 µg/mL), para *Salmonella* Typhimurium (2000, 3000, 4000 y 5000 µg/mL) y para *S. aureus* (3000, 5000 y 8000 µg/mL) en comparación con los antibióticos tetraciclina y trimetoprim sulfametoxazol que presentaron una alta efectividad. El Análisis de varianza permitió identificar que tanto la concentración como el tratamiento tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta, y que existe una interacción significativa entre la concentración y el tratamiento. Por tanto, bajo las condiciones de este estudio, la actividad antimicrobiana presentada por los polifenoles y melanoidinas, con respecto a la presentada por los antibióticos de referencia, fue baja y/o moderada respectivamente, por lo que se considera que no podría utilizarse como agente terapéutico contra las bacterias estudiadas y que las melanoidinas, tienen potencial antimicrobiano para el desarrollo de un producto que pueda ser evaluado para fines no terapéuticos (aditivos alimentarios, desinfectantes naturales, entre otros).

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUCCIÓN**

## 1.0 INTRODUCCIÓN

En la actualidad diferentes estudios han reportado el uso de antimicrobianos como conservantes de alimentos para extender su vida útil, al controlar el crecimiento bacteriano en los productos finales, por ello se hacen esfuerzos por encontrar sustancias bioactivas efectivas contra bacterias patógenas en alimentos (Kukuminato, et al. 2021).

Los residuos de café gastados o Spent Coffee Grounds (SCG) son una fuente considerable de compuestos bioactivos como polifenoles y melanoidinas. A nivel mundial se generan alrededor de 6.000.000 toneladas de SCG. En la actualidad se estudian muchas aplicaciones de los SCG relacionadas con la inocuidad alimentaria por su alto potencial antimicrobiano demostrando ser eficaces contra bacterias y virus de relevancia sanitaria y alimentaria, incluyendo patógenos multirresistentes (Castro-Díaz et al. 2025).

Los polifenoles (PF) son moléculas naturales del metabolismo secundario de las plantas. Se consideran como compuestos bioactivos más abundantes en frutas, verduras y bebidas derivadas de algunas plantas. El café es una fuente considerable de compuestos polifenólicos, encontrados mayormente en el grano, pulpa y en los SCG. Los polifenoles son objeto de investigación debido a sus diversas funciones incluyendo la actividad antimicrobiana.

Así mismo, las melanoidinas del café han sido estudiadas en los SCG y son polímeros aniónicos de color marrón que se forman durante la reacción de Maillard entre azúcares reductores y aminoácidos a altas temperaturas como ocurre en el tostado del café. Están formadas principalmente por un esqueleto de carbohidratos con pocos anillos

insaturados y un pequeño componente de nitrógeno (Rufián-Henares y Morales 2008). La estructura química es compleja y aún se desconoce, su estudio en los últimos años está basado en muchas propiedades siendo la actividad antimicrobiana una de ellas (Rufián-Henares y Morales 2007).

La investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antimicrobiana de polifenoles y melanoidinas extraídos de residuos de *Coffea arabica* en bacterias patógenas. Para ello se llevó a cabo la recolección y secado de los SCG obtenidos del café utilizado de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador. Luego se procedió al aislamiento, extracción y cuantificación de polifenoles y melanoidinas, realizado en el Laboratorio de la Planta Piloto de la Escuela de Ingeniería Química e Ingeniería de Alimentos. El análisis *in vitro* de los polifenoles y melanoidinas en bacterias patógenas se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

Para el análisis *in vitro* del efecto antimicrobiano de los polifenoles y melanoidinas se utilizaron las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium y *Staphylococcus aureus*, determinando la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por la técnica de microdilución y el método modificado de pozos de agar M-H. Y para establecer el comportamiento que cada una de las variables en el análisis de datos se aplicó un Análisis de Varianza de tres factores en el paquete estadístico R de acceso libre.

El Análisis de varianza (ANOVA) permitió evaluar el efecto de la concentración, el tipo de tratamiento y la bacteria, así como sus interacciones, sobre una variable de respuesta (inhibición). Los resultados indicaron que tanto la concentración ( $F = 8.792$ ,  $p$

< 0.001), como el tratamiento ( $F = 87.626$ ,  $p < 0.001$ ) ejercieron un efecto significativo. En contraste, la variable “bacteria” no mostró un efecto significativo ( $F = 0.047$ ,  $p = 0.954$ ). Además, se observó una interacción significativa entre la concentración y el tratamiento aplicado (melanoidinas o polifenoles).

En conclusión, el estudio permitió identificar polifenoles y melanoidinas en los residuos de café gastados (SCG) de *Coffea arabica*, cuyos compuestos bioactivos demostraron baja y/o moderada actividad antimicrobiana en las tres bacterias evaluadas.

## **CAPÍTULO II**

### **OBJETIVOS**

## II. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

Determinar la actividad antimicrobiana de polifenoles y melanoidinas, extraídos de residuos de *Coffea arabica* en bacterias patógenas.

### 2.2 Objetivos específicos

1. Identificar la presencia de polifenoles y melanoidinas en residuos gastados de *Coffea arabica*.
2. Cuantificar los polifenoles y melanoidinas obtenidos de residuos gastados de *Coffea arabica*.
3. Determinar la actividad antimicrobiana de los polifenoles y melanoidinas extraídos de residuos gastados de *Coffea arabica*.

**CAPÍTULO III**  
**MARCO TEÓRICO**

### 3.0 MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Orígenes del café

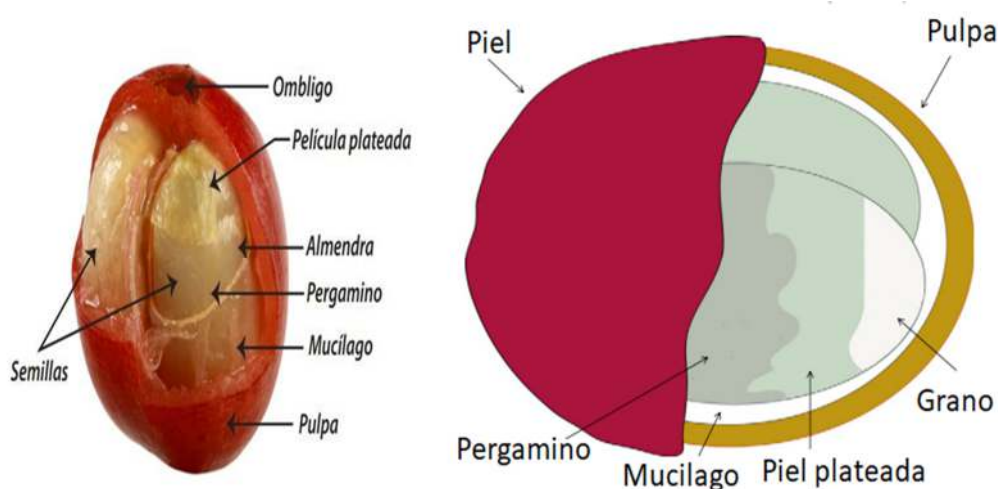
El café es un producto agrícola perteneciente a la familia Rubiaceae, género *Coffea*. con más de 70 especies, solo *Coffea arabica* (Arábica), constituye casi el 75%, y *Coffea canephora* (Robusta), que representa el 23-24% de la producción de café a nivel mundial (Arya, et al. 2022). En los últimos años, se ha comercializado alrededor del mundo y es producido en más de 80 países con zonas tropicales (Olmos-Padilla, et al. 2019).

Según investigaciones de Conteras et al. (2024) el café tiene sus orígenes en Etiopía, en Kaffa, siendo la introducción del café en América en 1720 de manera paulatina principalmente por la demanda de Europa, empezando por la colonia holandesa de Surinam y seguida por plantaciones en la Guyana Francesa. En 1730 los británicos introdujeron el café en Jamaica y, posteriormente se extendió al resto del Sur y Centroamérica e introducido en El Salvador a mediados del siglo XVIII entre los años 1800 y 1815 y en 1970 se dio la introducción la variedad Typica, de la especie *Arábica*.

El fruto de café es definido por Roa et al. (1999), como una baya drupácea, conformada por la pulpa, epidermis o exocarpio, y el mucílago o mesocarpio, que es una sustancia azucarada y gelatinosa, que forma una capa de 0,5 mm de espesor promedio (Fig. 1), recubiertos por dos capas, una llamada pergamino o endocarpio, la cual es dura y frágil, y la segunda, una membrana fina llamada espermodermo o película plateada.

## Figura 1

*Partes de un grano de café.*



La especie, la madurez, la fermentación, el secado, el almacenamiento, la tostación y el método de preparación de la bebida influyen en la composición química y en la calidad del sabor, acidez, cuerpo, amargo, dulzor y aromas de la taza de café (Puerta, 2011). Chaves-Ulate y Esquivel-Rodríguez (2019) afirman que “diversos investigadores han atribuido al consumo de café, y a muchos de sus componentes, efectos beneficiosos para el ser humano que van desde propiedades antioxidantes hasta actividad antimicrobiana” lo que le atribuye propiedades importantes de interés para estudiar en el control microbiano de algunas bacterias.

En El Salvador, en el periodo 2019/2020 se reportó una producción de café de 740,100 quintales de café oro uva, siendo este cultivo uno de los más importantes en el país (Consejo Salvadoreño del Café [CSC], 2021 citado por Castillo et al. 2021).

Se ha estimado que el consumo mundial del café para el año 2014 fue de 149,3 millones de sacos de café de 60 kg, para el periodo 2015/2016 fue de 151,3 millones de

sacos y para el año 2021 fue de hasta 175.5 millones de sacos, estimando que alrededor del 90 % del café preparado termina en SCG (Castro-Díaz et al. 2025, Kourmentza et al. 2018 y Magalhães et al. 2016). Debido al consumo de esta bebida, e incluso una costumbre cultural en muchos países, la demanda del café ha aumentado continuamente a nivel mundial, generando enormes cantidades de residuos sólidos (Kourmentza et al. 2018 y Magalhães et al. 2016).

Para Arya et al. (2022) los SCG se encuentran en la naturaleza y suelen originarse en el punto de consumo, son los residuos sólidos obtenidos después de preparar la bebida de café. La producción de SCG se distribuye en la industria del café molido, que utiliza alrededor del 50 % de la cosecha mundial de café, y en las cafeterías y los consumidores, que representan el 50 % restante y se generan en cantidades de hasta 6.000.000 toneladas anuales (De Otálora et al. 2020).

Según Jiménez-Zamora et al. (2015) los SCG son un subproducto con granulometría fina, alta carga orgánica y humedad “Su composición química se basa en celulosa, hemicelulosa, proteínas, grasas, polifenoles, minerales y diferentes productos formados por la reacción de Maillard durante el proceso de tostado, como las melanoidinas” Sin embargo, algunas moléculas bioactivas naturales, como ciertos polifenoles, también pueden perderse o modificarse (Díaz et al. 2017)

### **3.2 Compuestos bioactivos en SCG**

Los SCG son una importante fuente de compuestos bioactivos y se caracterizan por un alto contenido orgánico en forma de polisacáridos insolubles unidos al material, ácidos grasos y aminoácidos, polifenoles y minerales (Kouame et al. 2023, Franca y

Oliveira 2022., Kourmentza et al. 2018, Magalhães et al. 2016 y Jiménez-Zamora et al. 2015).

En la actualidad se estudian muchas aplicaciones de los SCG de interés relacionadas con la inocuidad alimentaria. Los compuestos bioactivos tienen un alto potencial antimicrobiano y han demostrado ser eficaces contra bacterias y virus de relevancia sanitaria y alimentaria, incluyendo patógenos multirresistentes (Castro-Díaz et al. 2025), junto con las melanoidinas le confieren al café propiedades antioxidantes, neuroestimulantes, antiinflamatorias y antimicrobianas, entre otras (Gallardo et al. 2023).

Estudios demuestran que el contenido de sustancias fenólicas en los productos tostados está en el rango de 322.80 a 334.42 mg equivalentes de ácido gálico/ 100 mL de bebida (Londoño et al. 2013) y los valores de melanoidinas en un 23% en café tostado (Esquivel y Jiménez 2012).

### **3.2.1 Polifenoles**

Castro-Díaz et al. (2025) indican que los SCG contienen compuestos fenólicos como los ácidos clorogénico, cafeico, gálico, ferúlico, elágico, p-cumárico, protocatequico y tánico, así como catequina, epicatequina, quercetina y rutina, y alcaloides como trigonelina y cafeína cuando se utilizan solventes polares o moderadamente polares, como etanol y metanol, en combinación con agua desionizada.

Los polifenoles son los compuestos bioactivos más abundantes en frutas, verduras y bebidas derivadas de algunas plantas (Belguidoum et al. 2014). Según Meng et al. (2018) los polifenoles son objeto de investigación debido a sus diversas funciones

como la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática, fotosíntesis, formación de componentes estructurales, defensa ante los factores adversos del ambiente como la agresión por patógenos e insectos y actividad antimicrobiana, entre otras.

Los polifenoles (PF) son moléculas naturales del metabolismo secundario de las plantas que derivan de las vías de Shiquimato y de los fenilpropanoides (figura 2) (Valencia et al. 2017). Según Quiñones et al. (2012) “La biosíntesis de los polifenoles como producto del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shikímico y la ruta de los poliacetatos. La ruta del ácido shikímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina) y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano)”.

El contenido de polifenoles en las plantas y frutos tiene variaciones que dependen del genotipo, especie, condiciones ambientales, exposición a la luz, grado de madurez, composición del suelo, grado de conservación, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento; participan en la función fisiológica de los vegetales y son componentes importantes de la dieta humana, aunque no se consideran como nutrientes (Grundhöfer et al. 2001, Valencia et al. 2017., Jiménez-Zamora et al. 2015 y Quiñones et al. 2012).

### ***3.2.1.2 Los polifenoles y actividad antimicrobiana.***

El café es una fuente considerable de compuestos polifenólicos (Vega et al. 2017), encontrados mayormente en el grano, pulpa y en los SCG (Chaves-Ulate y Rodríguez 2019). Investigadores y grandes industrias han mostrado un gran interés en estas

moléculas, lo que ha llevado a realizar diversos estudios con el fin de encontrar polifenoles con propiedades antimicrobianas en las que se ha dejado en evidencia que inhibe y llega a destruir la estructura celular del microorganismo facultando actividad bactericida (Rufián-Henares y Morales, 2007).

Martín-Gordo (2018), describe que algunos investigadores atribuyen la actividad antibacterial y antifúngica de los polifenoles a la capacidad de inhibir el crecimiento mediante mecanismos como la oxidación de enzimas específicas para inhibir la respiración, o por la unión a las cadenas de ADN interrumpiendo la reproducción o la síntesis de proteínas y elementos vitales para los microorganismos, mientras que otros polifenoles tienen la capacidad de romper las membranas celulares de algunos microorganismos, produciendo una apoptosis celular.

### **3.2.2 Clasificación de los polifenoles**

Los polifenoles son polihidroxifenoles tienen las características de múltiples unidades estructurales fenólicas, de ahí su nombre. Presentan una estructura molecular caracterizada por tener anillos aromáticos con al menos un grupo hidroxilo enlazado. Su diversidad estructural implica que exista un amplio grupo de moléculas pertenecientes a este grupo los cuales van desde estructuras simples hasta compuestos complejos. De manera general, se clasifican en: flavonoides (F) y no flavonoides (NF), Estas categorías se subdividen en varias subclases basadas en la estructura y el número de grupos sustituyentes en las unidades fenólicas y los tipos de enlace (De Rossi et al. 2025 y Valencia et al. 2017), siendo el objetivo de interés los polifenoles no flavonoides en la que se encuentran las sustancias bioactivas.

De Rossi et al. (2025) destacan que con base en las interacciones, los polifenoles se pueden dividir en dos categorías principales: (i) flavonoides libres (FF), que abarcan tanto agliconas de flavonoides libres como ácidos fenólicos libres, que también pueden presentarse en formas conjugadas unidas a compuestos de bajo peso molecular como azúcares, lo que los hace más disponibles; y (ii) fenólicos unidos insolubles (IBP), que son solubles (unidos de forma no covalente a la matriz) o insolubles (unidos covalentemente al sustrato).

### **3.2.2.1 Polifenoles Flavonoides.**

Los flavonoides, nombre que deriva del latín “flavus”, cuyo significado es “amarillo”, constituyen la subclase más abundante dentro del reino vegetal. Se descubrieron en el siglo pasado cuando se aisló de la cascara de limón una sustancia la citrina, y se demostró que su consumo regulaba la permeabilidad de los capilares. (Quiñones et al. (2012).

Según Castro (2019), los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común difenilpirano (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano heterocíclico. Se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre (también llamados agliconas flavonoides) y, además, se pueden presentar con sulfatos, dímeros o polímeros.

### **3.2.2.2 Polifenoles no flavonoides.**

Los polifenoles no flavonoides se dividen en dos subgrupos: ácidos benzoicos o cinámicos y sus derivados. Los derivados más importantes del ácido benzoico son el ácido gálico y elálgico presentes en distintos tipos de bayas y nueces. Sin embargo, los derivados más comunes del ácido cinámico son los ácidos cumáricos, cafeico, ferúlico y sinápico (Huerta et al. 2022).

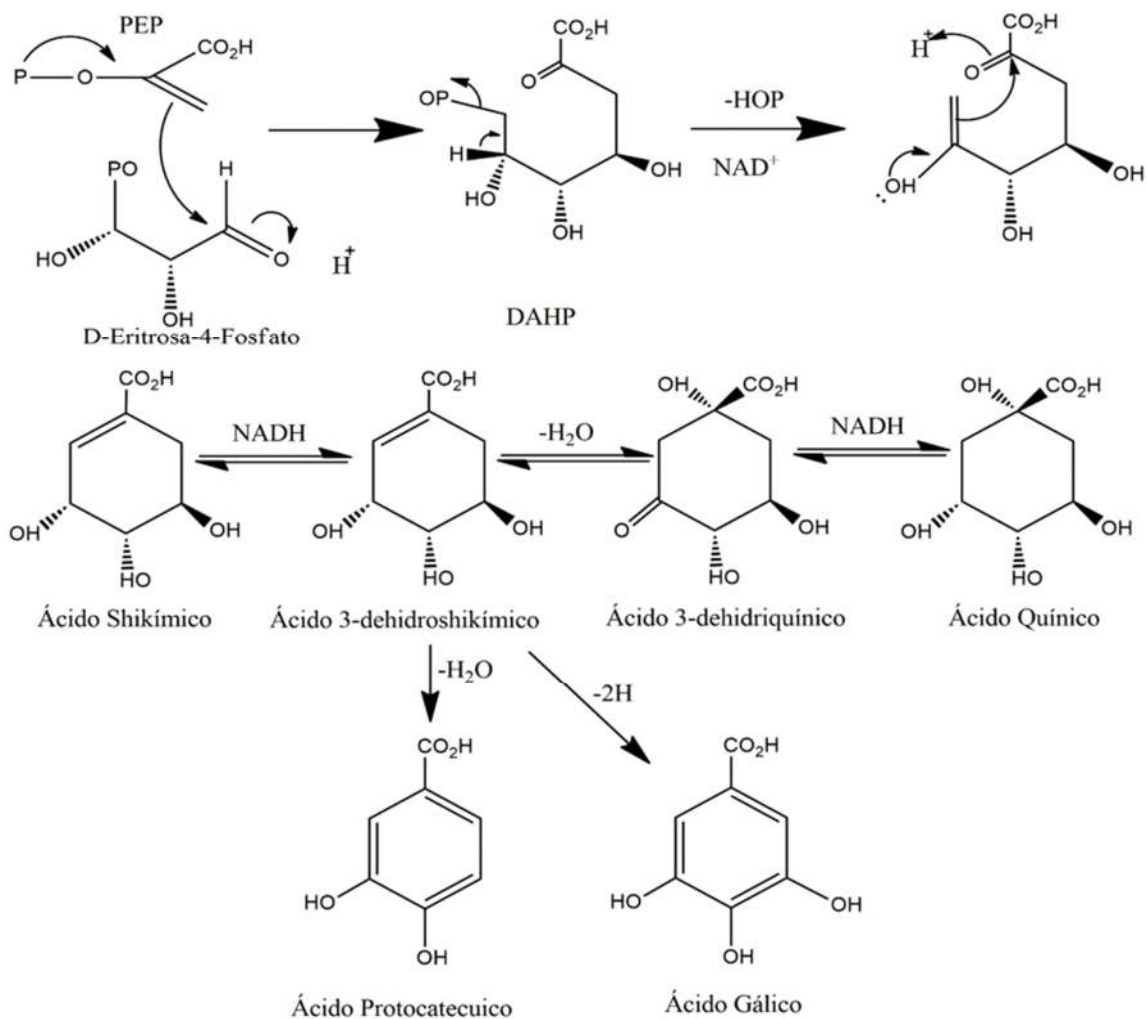
Estos compuestos orgánicos con un anillo fenólico y un grupo carboxílico asociado forman una estructura en carbono C6 y C1. Se encuentran además muy frecuentemente en las frutas en forma de ésteres. Los ácidos hidroxicinámicos con un esqueleto en el carbono C6 y C3, se encuentran principalmente como ácido cafeico y ferúlico conjugados con ácido tartárico o ácido quínico y en raras ocasiones en estado libre, estos compuestos presentes en un 10% en granos de café (*Coffea canephora*) son la principal ingesta de grupos fenólicos en consumidores regulares (Yuxi 2024, Singla et al. 2019, Valencia et al. 2017 y Peñarrieta et al. 2014)

#### **3.2.2.2.1 Ácido gálico.**

Diversos estudios han demostrado que el ácido gálico posee una notable actividad antimicrobiana. Díaz (2012), reveló que este compuesto exhibe actividad bactericida contra *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*. (Niño et al. 2020) evaluaron la actividad antimicrobiana de polifenoles de diversas fuentes, incluido el ácido gálico, frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, encontraron que los efectos obtenidos dependían de la concentración del compuesto, del tipo de polifenol utilizado y de la cepa bacteriana evaluada.

## Figura 2

Formación del ácido shikímico a partir de fosfoenolpiruvato. Fuente: Martin-Gordon.D.A.2017.



### 3.2.2. Las melanoidinas

Las melanoidinas del café son el material polimérico aniónico de color marrón que están formadas principalmente por un esqueleto de carbohidratos con pocos anillos insaturados y un pequeño componente de nitrógeno. Son los productos finales de la

reacción de Maillard, que tiene lugar durante el procesamiento térmico (cocción, horneado y asado) de alimentos que contienen azúcares reductores y compuestos que poseen grupos amino libres (Langner y Rzeski 2013). La estructura química es compleja y aún se desconoce, su estudio en los últimos años está basado en muchas propiedades siendo la actividad antimicrobiana una de ellas (Rufián-Henares y Morales 2008 y 2007).

Langner y Rzeski (2013) establecen que “la composición de las melanoidinas depende de los polisacáridos (galactomananos y arabinogalactanos), aminoácidos, proteínas y compuestos fenólicos (ácidos clorogénico, cafeico o ferúlico) presentes en el café. Algunos de los compuestos fenólicos están unidos al núcleo de las melanoidinas mediante interacción covalente, mientras que otros lo están mediante enlaces no covalentes”. Además, que los grupos fenólicos en la fracción de alto peso molecular (HMw) del café muestran una correlación con la concentración de melanoidinas (Bekedam et al. 2006).

Mesías y Delgado (2017) describen que, aunque desde un punto de vista químico, el conocimiento de su estructura aún es incierto, se asume que se encuentran dos tipologías principales en los alimentos: melanoidinas de tipo polisacárido, como las presentes en el café, y melanoidinas de tipo proteínico, conocidas como melanoproteínas, predominantes en productos de panadería

Según Langner y Rzeski (2013) Las melanoidinas de bajo peso molecular (LMW) constituyen hasta el 41% de todas las melanoidinas del café, y el resto (59%) son melanoidinas de alto peso molecular (HMW). El tiempo que se tarda en tostar los granos de café juega un papel crucial en su formación. Un tostado prolongado del café aumenta

la formación de melanoidinas de alto peso molecular (APM), mientras que el nivel de melanoidinas de bajo peso molecular (BPM) parece mantenerse inalterado

### **3.2.2.1 Las melanoidinas y actividad antimicrobiana.**

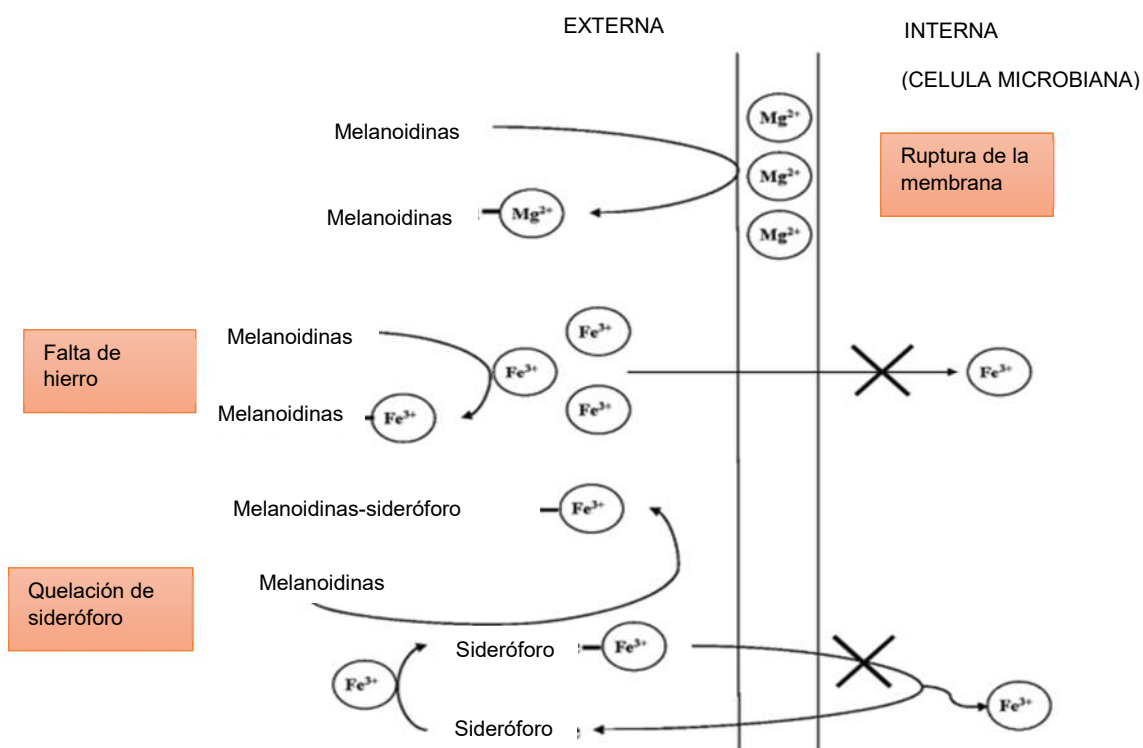
Las melanoidinas tienen la capacidad de absorber luz en longitudes de onda de hasta 420 nm y son las principales responsables del color marrón característico de alimentos como el café. Según Rufián-Henares y De la Cueva (2009), las melanoidinas podrían desarrollar la actividad antimicrobiana mediante la unión a metales esenciales como el hierro o su acción a la captación de serina, glucosa y oxígeno inhibiendo las enzimas catabolizadoras de azúcares de los microorganismos.

Rufián-Henares y De la Cueva (2009) han estudiado la actividad antimicrobiana de las melanoidinas del café contra diferentes bacterias patógenas, encontrando que dicha actividad se debe a sus propiedades quelantes de metales. Y han observado tres mecanismos de acción de las melanoidinas: a bajas concentraciones, ejercen actividad bacteriostática al quelar el hierro del medio de cultivo; en bacterias que producen sideróforos, las melanoidinas quelan el complejo sideróforo-Fe<sup>3+</sup>, lo que podría reducir la virulencia; y a altas concentraciones, las melanoidinas del café muestran actividad bactericida al eliminar cationes Mg<sup>2+</sup> de la membrana externa, causando disrupción celular y liberación de moléculas intracelulares.

Entre la actividad microbiana estudiada de las melanoidinas Langner y Rzeski (2013) describen que pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas como *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*.

**Figura 3**

*Mecanismos de la actividad antimicrobiana de las melanoidinas del café (Fuente: Rufián-Henares y De la Cueva, 2009)*



**CAPÍTULO IV**  
**METODOLOGÍA**

## 4.0 METODOLOGÍA

### 4.1 Tipo de estudio

El estudio realizado fue experimental con el propósito de identificar, cuantificar y determinar la actividad antimicrobiana de los polifenoles y melanoidinas de los SCG en bacterias. Las variables del estudio fueron los componentes (Polifenoles y melanoidinas), las concentraciones de los componentes bioactivos y las bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella entérica* subespecie *entérica* serovar Typhimurium y *Staphylococcus aureus*).

La extracción y cuantificación de los polifenoles y melanoidinas se realizó en el Laboratorio de la Planta Piloto de Ingeniería de alimentos de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura y el análisis microbiológico *in vitro* de la actividad antimicrobiana de los componentes activos en las bacterias se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD). Fue prospectivo ya que los resultados se fueron registrando a medida se fueron obteniendo los principios bioactivos del residuo del café y realizando los ensayos para comprobar el efecto inhibitorio de los principios activos *in vitro*.

El diseño experimental fue factorial ya que se manipularon dos variables de principio activo y concentración para evidenciar el nivel de inhibición que tiene sobre los microorganismos en estudio.

## 4.2 Criterios de selección

La metodología utilizada consistió en recolectar los SCG inmediatamente después de la preparación del café de la mañana. Se retiraron los residuos de la cafetera sin demora para evitar una exposición prolongada a altas temperaturas y se almacenaron en una bolsa estéril. Es importante destacar que los SCG recolectados no contenían aditivos.

## 4.3 Parte experimental

La parte experimental se desarrolló en dos fases, en la primera se obtuvieron los componentes activos (polifenoles y melanoidina) de los residuos de café gastados (SCG) y la segunda etapa consistió en el análisis *in vitro* de los componentes bioactivos de los polifenoles y melanoidinas en las bacterias.

### 4.3.1 Obtención de compuestos bioactivos

#### 4.3.1.1 Preparación de los residuos de café gastados (SCG).

A la muestra de café molido sin usar se le calculó el porcentaje de SCG generados a partir de 454 g después de preparada la bebida de café, a partir de la ecuación:

$$\% = \frac{\text{Cantidad de residuos de peso seco del café}}{\text{Café molido sin usar}} \times 100$$

Una vez recolectados los SCG, se colocaban en una estufa a temperatura de 110°C hasta obtener peso constante, se le determinó la humedad con una balanza de humedad.

#### **4.3.1.2. Extracción de polifenoles.**

El método que se utilizó para extraer los polifenoles y su cuantificación fue a partir de los estudios realizados por García et al. (2015), con algunas modificaciones. Para el aislamiento de polifenoles se utilizó un beaker de 250 mL en el que se colocaron 30 g de SCG y 100 mL de agua destilada. Se mezcló y se procedió a calentar en un Hot plate a una temperatura de 70° C durante 30 minutos. Posteriormente, se procedió a filtrar utilizando papel filtro Whatman No. 4 y se recolectó el extracto en un Erlenmeyer de 250 mL.

##### ***4.3.1.2.1 Presencia de polifenoles por método de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como patrón.***

###### ***4.3.1.2.1.1 Preparación de curva de calibración.***

Para preparar la solución patrón de la curva de calibración se procedió a pesar 2 mg de ácido gálico y se disolvieron en agua bidestilada llevando a aforo en un balón volumétrico de 10 mL. Posteriormente, a partir de la solución de ácido gálico se procedió a preparar los diferentes patrones de concentraciones: 75, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 ppm. Una vez realizadas las soluciones patrón se prepararon las diluciones en celda descartables para UV-Vis con 80  $\mu$ L patrón, 40  $\mu$ L reactivo Folin Ciocalteu, 400  $\mu$ L de agua bidestilada y 480  $\mu$ L de Carbonato de Sodio a 10.75%, protegiendo cada cubeta de la luz con envoltura de papel aluminio y dejando reposar por 30 minutos (Pérez et al. 2023)

#### **4.3.1.2.1.2 Preparación del blanco.**

Se agregó 480 µL de agua bidestilada, 40 µL de solución Folin-Ciocalteu a una cubeta descartable para UV-vis, preservando la cubeta para finalmente agregarle 480 solución de Carbonato de Sodio 10.75%.

#### **4.3.1.2.1.3 Cuantificación de polifenoles en la muestra.**

Una vez preparada la solución de la muestra de extracción de polifenoles se tomó una alícuota de 120 µL y se aforó a 20 mL en un balón volumétrico, para la preparación de las muestras se agregaron: 80 µL de muestra, 400 µL de agua bidestilada, agregando 40 µL de solución Folin-Ciocalteu y luego 480 µL de una solución de carbonato de sodio al 10.75% m/v y finalmente se dejó en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Una vez preparadas las soluciones, los estándares y el blanco se procedió primero a la calibración del espectrofotómetro UV-vis con los estándares a una longitud de onda de 760 nm; para luego establecer la concentración de las muestras. Se utilizó el espectrofotómetro UV-VIS modelo UV-1800 marca Shimadzu, este equipo genera la curva de calibración especificando el coeficiente de correlación al graficar los puntos obtenidos.

Para la obtención de la concentración de polifenoles el espectrofotómetro utilizado en la muestra se procedió a utilizar las siguientes ecuaciones:

$$F_d = V_t/V_a$$

Donde:

F<sub>d</sub>: factor de dilución

Vt: volumen total de balón

Va: volumen de alícuota

Por lo que la concentración total obtenida de la extracción fue:

$$C_t = C_l/F_d$$

Donde:

Ct: concentración total

Cl: concentración leída

Fd: factor de dilución

Y finalmente se midió el pH con un pHmetro de laboratorio a la solución extraída.

#### **4.3.1.3 Melanoidinas.**

##### ***4.3.1.3.1 Extracción de melanoidinas.***

El método que se utilizó para extraer las melanoidinas y su cuantificación fue a partir de los estudios realizados por Pérez et al. (2012) y Bartel et al. (2015). Dado que la estructura molecular de las melanoidinas aún no se ha determinado por completo, no existe un estándar comercialmente disponible. Por esta razón, se utilizaron las curvas de absorción y calibración elaboradas a partir de un extracto de café molido sin usar como solución madre de melanoidinas. Se cuantificó espectrofotométricamente a una longitud de onda de máxima absorción (405 nm) mediante un barrido espectral en las regiones del UV-VIS determinando la absorbancia de cada dilución, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis que su fundamenta es la fórmula de Lambert-Beer.

#### ***4.3.1.3.2 Preparación de solución madre.***

La solución madre de melanoidinas se preparó utilizando 30 g de café molido sin usar que se tamizó con un tamiz mesh 25 y se le añadieron 100 mL de agua bidestilada, se procedió a calentar a una temperatura de 70° C durante 30 minutos. Se filtró con bomba de vacío y un micro poro de 0.45 µm.

#### ***4.3.1.3.3 Preparación de curva de calibración.***

Con la solución obtenida de la solución madre de melanoidinas se prepararon los patrones a las concentraciones de 500, 400, 300, 200 y 100 ppm para trabajar la curva de calibración y se elaboró graficando los valores de absorbancia obtenidos por cada dilución seriada contra la concentración de melanoidinas en las muestras. Se utilizó el espectrofotómetro UV-VIS modelo UV-1800 marca Shimadzu, este equipo genera la curva de calibración especificando el porcentaje de reproducibilidad que se ha obtenido al graficar los puntos obtenidos.

#### ***4.3.1.3.4 Preparación del blanco.***

Para este caso el blanco consistió en agua bidestilada y una vez preparadas las disoluciones de patrones se procedió a calibrar el espectrofotómetro UV-Vis.

#### ***4.3.1.3.5 Cuantificación de melanoidinas en la muestra.***

Para la cuantificación de las melanoidinas se preparó una solución con los SCG de la misma manera que lo indicado en el apartado 4.3.1.2. Posteriormente de la solución se tomó una alícuota de 187 µL aforando a 20 mL, se colocó en la celda una alícuota

para leer la concentración de melanoidinas obtenidas en la muestra a una longitud de onda de 405 nm y se le midió el pH con un pHmetro de laboratorio

### **4.3.2 Análisis *in vitro* de polifenoles y melanoidinas extraídas de SCG en bacterias patógenas**

Para realizar el análisis *in vitro* de los polifenoles y melanoidinas extraídos de los SCG se utilizaron las bacterias: *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium y *Staphylococcus aureus* y se utilizó el Método para determinar la actividad bactericida de los agentes antimicrobianos; directrices aprobadas de NCCLS (1999), con algunas modificaciones.

#### **4.3.2.1 Estandarización del inóculo.**

Se inculó la bacteria en 3 tubos de ensayo conteniendo 10 mL de agar nutritivo inclinado, luego se incubaron a 37° C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, se agregó solución salina estéril a cada uno de los tubos con crecimiento agitando vigorosamente por 2 minutos para arrastrar el cultivo bacteriano obtenido en la superficie del agar. Obtenida la suspensión de cada bacteria se transfirió a un tubo estéril y se procedió a la lectura de la transmitancia utilizando un espectrofotómetro a 580 nm de longitud de onda y haciendo las diluciones necesarias hasta obtener una transmitancia entre 25 – 35% T con una concentración de bacteria de  $10^8$  UFC/ mL. De la suspensión bacteriana se procedió a realizar diluciones seriadas de 1/1000 UFC/mL hasta llegar a concentración  $10^2$  UFC/mL.

Para confirmar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de la suspensión bacteriana se procedió a colocar 0.1 mL y 1 mL de la concentración  $10^2$  en placas Petri y se agregó agar Plate Count mediante la técnica de placa vertida, finalmente se incubó a 37 °C por 24 horas. Posteriormente se contaban las colonias y se realizaban los cálculos para verificar si la concentración utilizada era de  $10^8$  UFC/mL y dependiendo del resultado o se procedía a utilizar la muestra o a realizar más diluciones para ajustar la muestra

#### **4.3.2.2 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por microdilución para melanoidinas y polifenoles.**

Para contar con un parámetro de las concentraciones a utilizar, se tomó como base las concentraciones de la investigación de Niño et al. (2020), siendo para polifenoles (ácido gálico) una CIM de 62.5  $\mu\text{g/mL}$  y para melanoidinas 2000  $\mu\text{g/mL}$  (Rufián-Henares y Morales, 2007).

Las concentraciones utilizadas para determinar la CIM de melanoidinas fueron: 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000, 5000 y 8000  $\mu\text{g/mL}$  y para polifenoles: 62.5, 125, 250, 500, 700, 900, 1000 y 1100  $\mu\text{g/mL}$  de ácido gálico.

Para la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de polifenoles extraídos y melanoidinas de SCG, se utilizó el método de microdilución en caldo, conforme a las recomendaciones establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023). Este método permite evaluar de manera cuantitativa la inhibición del crecimiento bacteriano frente a concentraciones crecientes de un agente antimicrobiano.

Como controles positivos se incluyeron los antibióticos tetraciclina y trimetoprim sulfametoxazol, ambos de uso clínico frecuente y con actividad conocida sobre las bacterias evaluadas (*Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* y *Staphylococcus aureus*). Las concentraciones de estos antibióticos se prepararon siguiendo el principio de diluciones seriadas en base dos, en concordancia con el protocolo M07-A11 de la CLSI, lo que permitió establecer un punto de comparación válido frente a los compuestos bioactivos naturales evaluados.

Para realizar el experimento, se utilizaron placas estériles de 96 pocillos. En cada uno de los pocillos se agregó 90  $\mu\text{L}$  de caldo Muller Hinton, 10  $\mu\text{L}$  de la bacteria en estudio y 100  $\mu\text{L}$  de uno de los componentes o antibióticos (polifenoles, melanoidinas, tetraciclina o trimetoprim sulfametoxazol).

Se inició colocando 90  $\mu\text{L}$  de caldo Muller Hinton en todos los pocillos de 3 placas. Posteriormente en las columnas 1, 2 y 3 de las tres placas se colocó 10  $\mu\text{L}$  de una bacteria y 100  $\mu\text{L}$  de melanoidinas, y así en las columnas 4, 5 y 6 contenían medio-bacteria-polifenol; en las columnas 7, 8 y 9 medio-bacteria-tetraciclina y finalmente las columnas 10, 11 y 12 medio-bacteria-trimetoprim sulfametoxazol, haciendo por triplicado cada concentración.

En la placa 4 únicamente se agregó medio- *E. coli* en las columnas 1, 2 y 3; medio- *S. Typhimurium* en columnas 4, 5 y 6; medio- *S. aureus* en las columnas 7, 8 y 9 y como control negativo las columnas 10, 11 y 12 únicamente medio. En la placa 5 se colocaron en las columnas 1, 2 y 3 medio-melanoidina; en las columnas 4, 5 y 6 medio-polifenol; en las columnas 7, 8, y 9 medio-tetraciclina y en las columnas 10, 11 y 12 medio-

trimetoprim sulfametoxazol. Este proceso se utilizó para las 3 repeticiones del experimento (Ver anexo 1).

En cada una de las filas de las placas se colocaron las 8 diferentes concentraciones de los componentes o antibióticos. Una vez se completó se procedía a tapar la placa para posteriormente tomar la lectura de absorbancia a las 0 horas e incubar hasta 24 horas. Las lecturas de absorbancia se realizaron utilizando un espectrofotómetro de ELISA y fueron tomadas en diferentes tiempos de incubación a las 0, 2, 6 y 24 horas, tomando en consideración la jornada de trabajo.

#### **4.3.2.3 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por método modificado en pozos en agar Muller Hinton.**

En la determinación de la CIM también se utilizó el método modificado en pozos en placa de agar Muller Hinton por triplicado, para ello se utilizaron placas Petri con medio de cultivo, se sembró la bacteria por la técnica masiva y posteriormente se realizaron perforaciones en el medio de cultivo utilizando horadores estériles. En cada uno de las perforaciones se agregó 25  $\mu$ L de cada una de las concentraciones de uno de los componentes y las placas se incubaron de manera invertida a 37° C por 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a medir el halo de inhibición en cada una de las bacterias.

#### **4.4 Análisis y tratamiento estadístico de los datos.**

Para el tratamiento de datos se realizó un análisis de varianza de tres factores (ANOVA) utilizando el programa estadístico R de acceso libre; las variables en estudio fueron los tratamientos, las concentraciones y las bacterias.

Se analizaron los datos de absorbancia a 0, 2, 6 y 24 horas, se graficaron los promedios de los tiempos de crecimientos, el efecto antimicrobiano de los componentes activos y antibióticos y la Concentración Inhibitoria Mínima para cada microorganismo.

**CAPÍTULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN RESULTADOS**

## 5.0. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la presencia y cuantificación de polifenoles y melanoidinas extraídos de SCG de *Coffea arabica*, así como también los del análisis in vitro del efecto antimicrobiano de los polifenoles y melanoidinas en las tres bacterias patógenas. Durante el estudio se determinó el porcentaje de residuos de café gastados, pH y la humedad de la los SCG. Los datos de presencia y cuantificación de polifenoles y melanoidinas se presentan para los tres análisis y el promedio correspondiente.

De los resultados de la determinación de la actividad antimicrobiana de polifenoles y melanoidinas se presentan los datos de estandarización de microorganismos, el comportamiento del crecimiento de las tres bacterias a las 24 h ante el efecto de polifenoles y melanoidinas y los antibióticos, los porcentajes del efecto antimicrobiano en las bacterias y la Concentración Inhibitoria Mínima y el análisis de varianza de tres factores de las concentraciones de los tratamientos.

### 5.1 Extracción de compuestos bioactivos de los SCG

#### 5.1.1 SCG utilizados como muestra

El porcentaje de residuos de café gastados de una muestra utilizados en el estudio fue de 79 % utilizando 360 g de base seca del residuo generados a partir de 454 g de café molido sin usar, el cual se calculó de la siguiente manera:

$$\% = \frac{\text{Cantidad de residuos de peso seco del café}}{\text{Café molido sin usar}} \times 100$$

$$\% = \frac{360 \text{ g base seca de residuo de café}}{454 \text{ g}} \times 100$$

$$\% = 79$$

### 5.1.2 pH de los compuestos bioactivos

Se midió para una muestra el pH y se obtuvo que el pH de los componentes activos en solución fue de 5.33 para melanoidinas y 5.51 para polifenoles, presentando similares condiciones de acides ambos componentes.

### 5.1.3 Humedad de la muestra

En la tabla 1 se presentan los valores de porcentaje de humedad de las muestras utilizadas, obteniendo un valor promedio de 8.62 %, en total se utilizaron 3 muestras.

**Tabla 1**

*Valor promedio de humedad de la muestra seca de SCG*

No. de muestra	Valor de Humedad (%)
1	9.26
2	8.24
3	8.36
Promedio	8.62

Los resultados muestran que el porcentaje de SCG que se generó a partir de 454 g de café puro sin gastar es alto, tomando en cuenta que estos pasan a ser desechados al medio ambiente y sin ningún tratamiento. Por tanto, el uso de los residuos de café gastados es de vital importancia, comparando con volúmenes a nivel mundial de la producción promedio anual, según Urrego y Godoy (2021) se tienen alrededor de 7 millones de toneladas de granos de café y en la agroindustria del café se generan residuos o subproductos los cuales pueden sumar entre el 30%-50% de la producción

total, desechos que contribuye en gran escala a la contaminación y problemas ambientales.

Diversos estudios han evidenciado un significativo porcentaje de desperdicio en la producción de café. Jiménez-Zamora et al. (2015) expresan que las empresas cafeteras producen anualmente más de 2 millones de toneladas de subproducto como los SCG. Adicionalmente, De Otálora, et al. (2020) establecen que, por cada kilogramo de café utilizado, se generan 50% de desperdicio. El estudio realizado por Morales y Pérez (2020) sobre valorización de desperdicios de café gastados generados en la Universidad de EL Salvador se obtuvo el 70.91%. En investigaciones realizadas sobre la revalorización de desperdicios generados por los productos de café, el 95% son residuos orgánicos en los que están presentes los componentes de polifenoles y melanoidinas (Arya et al. 2021).

En relación a la humedad relativa de la muestra del estudio, este dato coincide con el estudio realizado por Mondragón et al. (2018), en el que la humedad relativa es de 8.3%, en la que se destaca que todos los subproductos rondan por el porcentaje de humedad de aproximadamente un 10%, y Diaz et al. (2017) en el que el material de residuos de café se secó a 37 °C hasta un 10% de contenido de humedad, teniendo como fundamento el favorecimiento de la extracción de los componentes bioactivos y la disminución de contaminación bacteriológica de la muestra.

Según García-García et al. (2019), el pH del café molido es otro factor importante que se relaciona estrechamente con la acidez del producto este debe encontrarse en valores de 4.9 y 5.2. Brewer (2023) establece que después de la infusión, el pH del

residuo es casi neutro, entre 6.5 y 6.8. Para este estudio los residuos de café gastados presentaron un pH de 5.33 para melanoidinas y 5.51 la muestra de polifenoles.

#### **5.1.4 Presencia de polifenoles**

En la tabla 2 se presentan las concentraciones utilizadas, los datos de absorbancia de cada una y los diferentes análisis que se realizaron para llegar a establecer la presencia de polifenoles como se muestra en la figura 4.

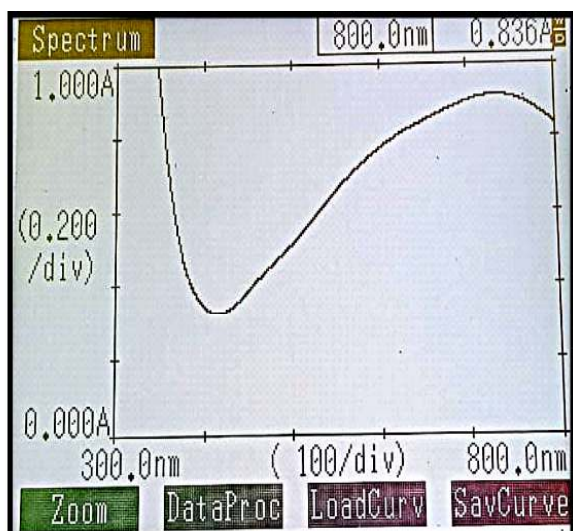
**Tabla 2**

*Curva de calibración de polifenoles en los SCG a partir de estandarización con ácido gálico.*

Concentración (ppm)	Análisis 1 Absorbancia (nm)	Análisis 2 Absorbancia (nm)	Análisis 3 Absorbancia (nm)
75	0.731	1.008	0.399
50	0.458	0.674	0.261
25	0.221	0.338	0.123
12	0.114	0.197	0.054
6.25	0.045	0.100	0.019
3.12	0.014	0.071	0.002
Valor de R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> 0.9987	R <sup>2</sup> 0.9995	R <sup>2</sup> 0.9965

**Figura 4**

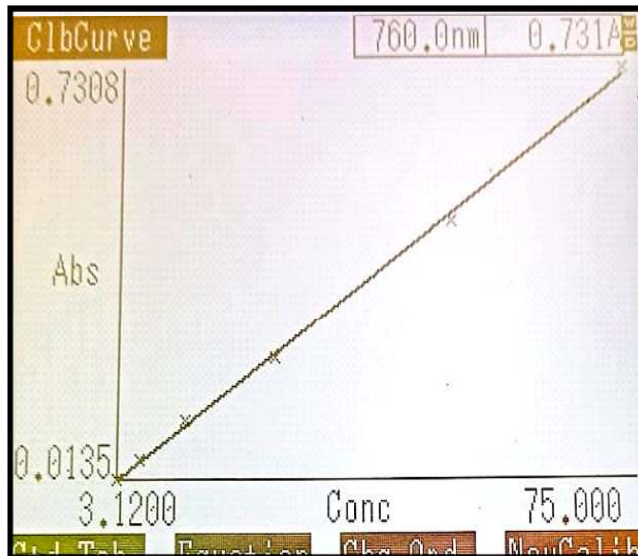
*Espectro de presencia de polifenoles en los SCG. a) curva de calibración a una longitud de onda de 760 nm b) Estandarización del ácido gálico c) Curva de calibración de ácido gálico y d) Ecuación y coeficiente de correlación.*



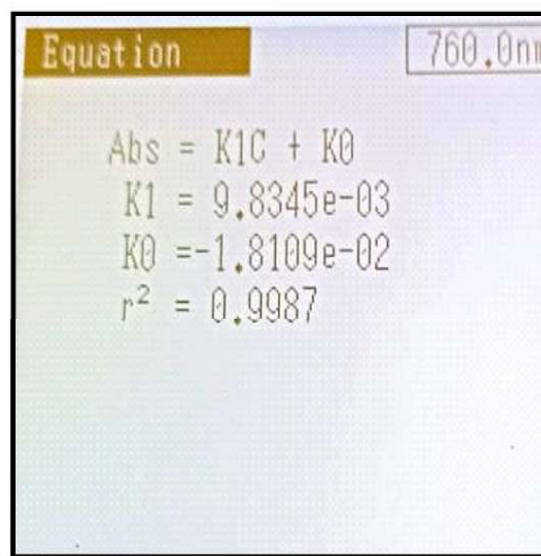
a)

No.	Conc.	Abs	No.
1	3.1200	0.014	1
2	6.2500	0.045	
3	12.5000	0.114	
4	25.0000	0.221	
5	50.0000	0.458	
6	75.0000	0.731	

b)



c)



d)

### 5.1.5. Presencia de melanoidinas

La tabla 3 y figura 5 presentan las concentraciones utilizadas y absorbancia de cada una. La concentración inicial de la solución madre de extracto puro de café sin gastar fue de 157,400 ppm como patrón. Se trabajaron cuatro concentraciones y cada análisis presentó diferencias en los datos de absorbancia teniendo muy poca diferencia del valor de  $R^2$  entre los análisis.

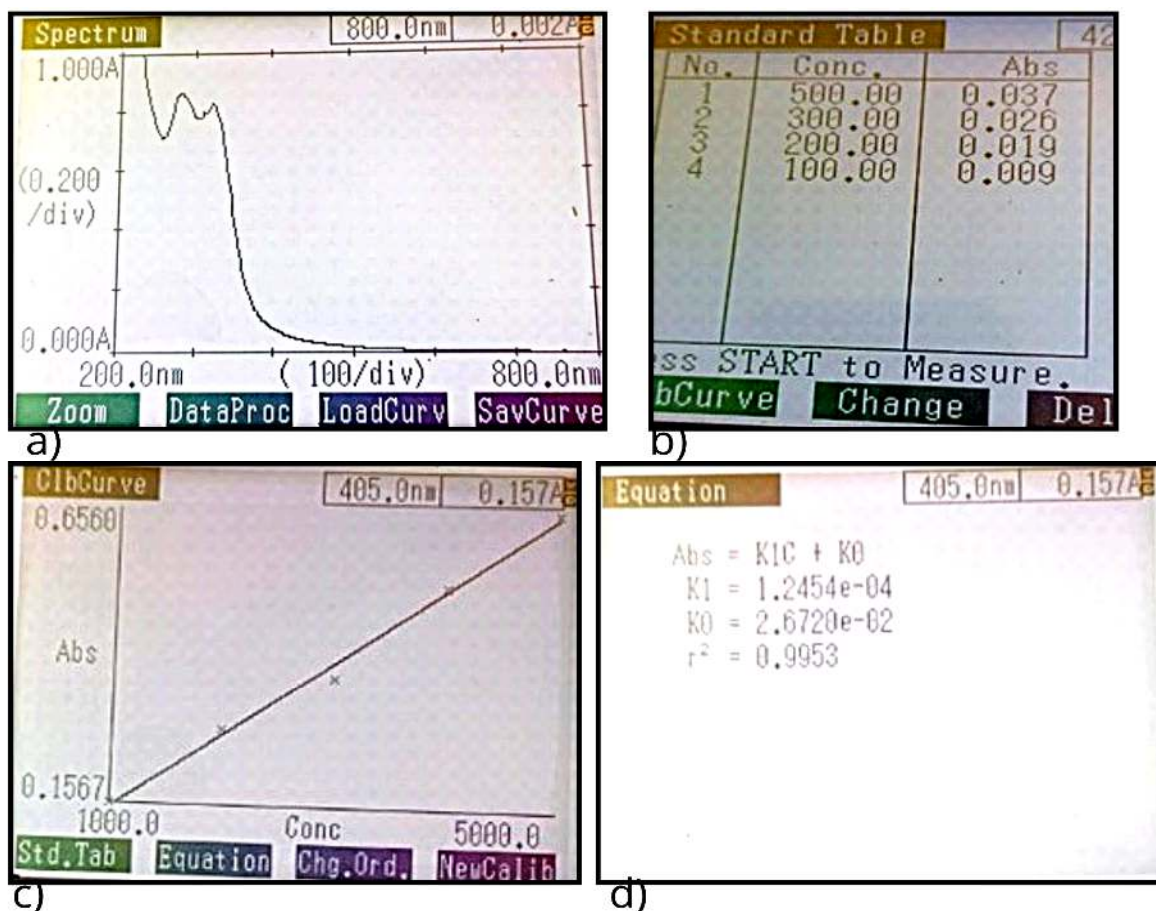
**Tabla 3**

*Curva de calibración de melanoidinas en los SCG a partir solución madre de café molido sin usar.*

Concentración (ppm)	Análisis 1	Análisis 2	Análisis 3
	Absorbancia (nm)	Absorbancia (nm)	Absorbancia (nm)
500	0.037	0.041	0.035
300	0.026	0.030	0.028
200	0.019	0.02	0.015
100	0.009	0.007	0.010
Valor de $R^2$	$R^2$ 0.9953	$R^2$ 0.9996	$R^2$ 0.9737

**Figura 5**

*Espectro de presencia de melanoidinas en los SCG: a) Curva de calibración a una longitud de onda de 405 nm b) Estandarización de melanoidinas c) Curva de calibración de melanoidinas d) Ecuación y coeficiente de correlación.*



Con relación al aislamiento y presencia de polifenoles como se muestra en la tabla 2, se estimó un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de 0.9995, siendo comparable con los datos del estudio de Chacua y Rodríguez (2018) sobre evaluación de los polifenoles extraídos a partir de residuos de *Coffea arabica* para la producción de un coagulante natural el valor estimado de del coeficiente de correlación ( $R^2$ ) fue de 0.9975.

Los resultados de la presencia de melanoidinas son comparables con los estudios realizados por Pérez et al. (2012) y Bekedam et al. (2006) en los cuales establecieron

que la presencia de melanoidinas se determinaba midiendo la absorción a una longitud de onda entre 400-420 nm y que la longitud de 405 nm es básicamente un parámetro que describe la obtención de las melanoidinas.

Los resultados obtenidos en esta investigación, son similares a los obtenidos por Bekedam (2008), a pesar de la diferencia en los solventes utilizados, lo cual es atribuible a la solubilidad de las melanoidinas tanto en agua como en etanol.

## **5.2 Cuantificación de polifenoles y melanoidinas obtenidos del residuo de *Coffea arabica* con método de espectrofotometría UV-Vis.**

### **5.2.1 Cuantificación de polifenoles**

La tabla 4 se presentan los datos de polifenoles de cada una de los análisis a diferentes concentraciones, registrándose un promedio de 199.04 mg/L en polifenoles.

**Tabla 4**

*Cuantificación de polifenoles extraídos de SCG.*

	<b>Polifenoles</b>		
	Cl (ppm)	Fd	Ct (mg/100 mL)
Análisis 1	23.045	106.7	<b>245.89</b>
Análisis 2	28.43	50	<b>142.15</b>
Análisis 3	13.38	156.2	<b>209.08</b>
Promedio			<b>199.04</b>
mg/100mL			

Cl: Concentración leída en el espectrómetro Fd: Factor de dilución Ct: Concentración total

### 5.2.2 Cuantificación de melanoidinas

En la tabla 5 se presentan los datos de las concentraciones de melanoidinas de cada una de los análisis, registrándose un promedio de 2316.11 mg/100mL en melanoidinas.

**Tabla 5**

*Cuantificación de melanoidinas extraídas de SCG.*

	<b>Melanoidinas</b>		
	Cl (ppm)	Fd	Ct (mg/100 mL)
Análisis 1	1870.43	66.6	<b>3,737.12</b>
Análisis 2	712.54	50	<b>1,068.81</b>
Análisis 3	457.19	156.2	<b>2,142.39</b>
Promedio mg/100mL			<b>2316.11</b>

Cl: Concentración leída en el espectrómetro Fd: Factor de dilución Ct: Concentración total

El promedio de polifenoles para este estudio fue de 199.04 mg/100mL, siendo menor que lo reportado por Chacua y Rodríguez (2018) en su trabajo sobre evaluación de los polifenoles extraídos de residuos de *Coffea arabica* determinaron que el contenido total de estuvo en el intervalo de 17.79- 66.95 mg/g y similar condición con lo reportado por Panusa et al (2013) un valor de 35.52 mg/g de polifenoles.

El promedio de melanoidinas de este estudio fue de 2316.11 mg/ 100mL, obteniéndose un valor mayor comparado con lo reportado por Montemurro et al. (2024) un valor de 11.92 mg/g. así también por Jiménez-Zamora et al. (2015) 1500 mg/100 g de materia seca en su estudio sobre revalorización de subproductos del café: prebiótico,

antimicrobiano y propiedades antioxidantes. Contrario a lo reportado por Castaldo et al. (2021) con un mayor valor promedio de 10,80 g/100 g en CSG.

### 5.3 Determinación de la actividad antimicrobiana de los polifenoles y melanoidinas extraídos del residuo de *Coffea arabica*.

#### 5.3.1 Estandarización de bacterias

La tabla 6 contiene los datos de las concentraciones de bacterias luego de la estandarización en el espectrofotómetro a una transmitancia entre 25-35% y el recuento de UFC/mL para cada bacteria.

**Tabla 6**

*Estandarización de bacterias.*

Microorganismo	Estandarización del inóculo promedio					
	Análisis 1		Análisis 2		Análisis 3	
	%T	UFC/mL	%T	UFC/mL	%T	UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	35.9	4.3 x 10 <sup>8</sup>	34.6	5.2 x 10 <sup>8</sup>	35.1	5.5 x 10 <sup>8</sup>
<i>Salmonella Typhimurium</i>	34.7	4.1x 10 <sup>8</sup>	35.1	2.3 x 10 <sup>8</sup>	34.5	2.2 x 10 <sup>8</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	34.9	6.6 x 10 <sup>8</sup>	34.6	2.5 x 10 <sup>8</sup>	34.1	2.6 x 10 <sup>8</sup>

#### 5.3.2 Comportamiento del crecimiento microbiano

Durante el estudio se tomaron cuatro lecturas (0, 2,6 y 24 horas) de la absorbancia en el periodo de incubación de las bacterias para conocer el efecto antimicrobiano de los componentes de melanoidinas y polifenoles extraídos de los SCG. Durante las primeras 3 lecturas no se identificaron diferencias significativas de absorbancia tomando en cuenta

las etapas del crecimiento microbiano, la etapa de latencia relacionada con la adaptación de la bacteria con el medio (ver anexos del 2 al 24).

La tabla 7 presenta los valores de absorbancia obtenidos para los componentes activos extraídos de SCG y para los antibióticos utilizados como controles positivos. Los valores de absorbancia del control (sin tratamiento) para cada bacteria fueron los siguientes: *E. coli* (0.984), *S. Typhimurium* (1.344) y *Staphylococcus aureus* (1.003). En las muestras tratadas con polifenoles, se observó que la concentración de 125 µg/mL exhibió una actividad similar contra las tres bacterias. En contraste, para las muestras tratadas con melanoidinas, el menor crecimiento de *E. coli* se evidenció a la concentración de 4000 µg/mL. Y para *S. Typhimurium* y *S. aureus*, fue a una concentración de 3000 µg/mL.

**Tabla 7**

*Comportamiento del crecimiento microbiano en 24 h.*

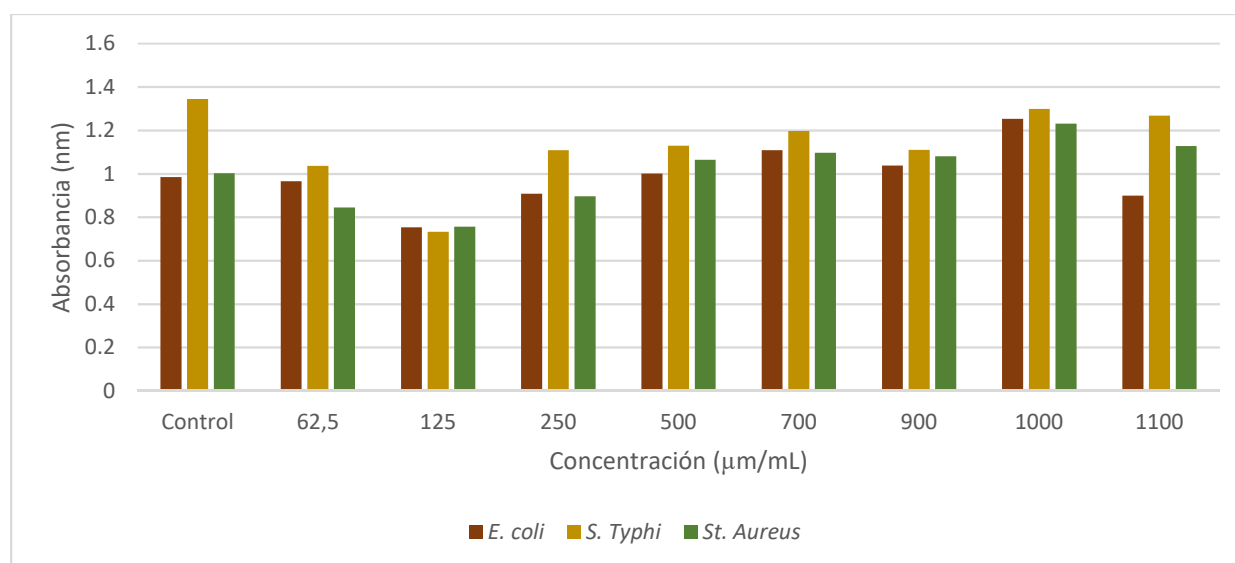
Conc (µg/mL) (24h)	Polifenoles			Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Melanoidinas			Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tetraciclina			Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Trimetoprim sulfametoxazol		
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>
<b>Control</b>	0.984	1.344	1.003	<b>Control</b>	0.984	1.344	1.003	<b>Control</b>	0.984	1.344	1.003	<b>Control</b>	0.984	1.344	1.003
C1 <b>62.5</b>	0.966	1.036	0.844	<b>1000</b>	0.820	0.891	0.579	<b>1000</b>	<b>0.081</b>	<b>0.071</b>	<b>0.078</b>	<b>360</b>	<b>0.067</b>	0.199	<b>0.079</b>
C2 <b>125</b>	<b>0.753</b>	<b>0.732</b>	<b>0.756</b>	<b>1500</b>	0.994	0.965	0.883	<b>2000</b>	0.089	0.094	0.095	<b>600</b>	0.077	<b>0.055</b>	0.084
C3 <b>250</b>	0.908	1.109	0.896	<b>2000</b>	0.736	0.611	0.680	<b>3000</b>	0.084	0.101	0.115	<b>1200</b>	0.106	0.112	0.274
C4 <b>500</b>	1.001	1.129	1.064	<b>2500</b>	0.801	0.892	0.703	<b>4000</b>	0.079	0.099	0.125	<b>1800</b>	0.236	0.066	0.369
C5 <b>700</b>	1.108	1.197	1.097	<b>3000</b>	0.778	<b>0.505</b>	<b>0.373</b>	<b>5000</b>	0.109	0.152	0.129	<b>2400</b>	0.403	0.356	0.334
C6 <b>900</b>	1.038	1.110	1.080	<b>4000</b>	<b>0.384</b>	<b>0.638</b>	<b>0.533</b>	<b>6000</b>	0.116	0.176	0.131	<b>3000</b>	0.482	0.110	0.566
C7 <b>1000</b>	1.253	1.298	1.231	<b>5000</b>	<b>0.409</b>	<b>0.660</b>	<b>0.435</b>	<b>8000</b>	0.166	0.274	0.231	<b>3600</b>	0.425	0.422	0.605
C8 <b>1100</b>	0.899	1.268	1.127	<b>8000</b>	<b>0.608</b>	<b>0.697</b>	<b>0.478</b>	<b>10000</b>	0.265	0.314	0.308	<b>3840</b>	0.241	0.265	0.413

### 5.3.2.1 Comportamiento del crecimiento microbiano en 24 h ante el efecto de polifenoles.

En la figura 6 se ilustra el crecimiento de las bacterias sin tratamiento en comparación con su crecimiento en presencia de diferentes concentraciones de polifenoles. El efecto de las diversas concentraciones de polifenoles fue similar en las tres especies bacterianas evaluadas.

**Figura 6**

*Crecimiento de bacterias a las 24 horas ante el efecto de polifenoles.*



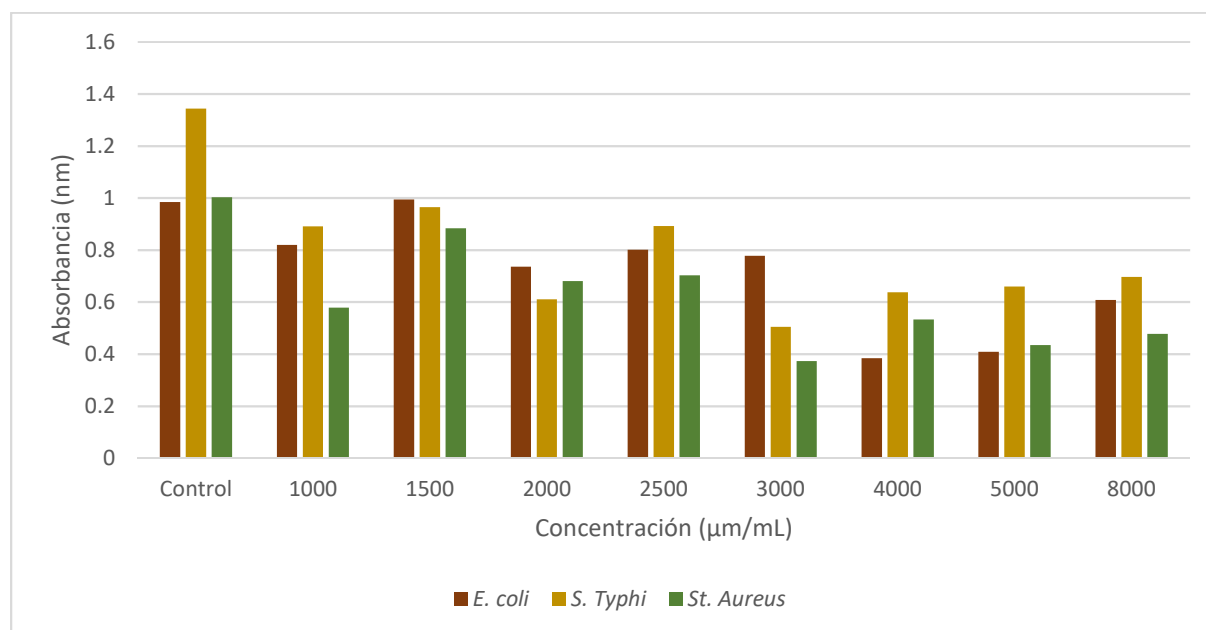
### 5.3.2.2 Comportamiento del crecimiento de bacterias a las 24 horas ante el efecto de melanoidinas.

En la figura 7 se muestra la actividad de las melanoidinas a diferentes concentraciones sobre cada una de las bacterias. A diferencia de los polifenoles, la actividad de las melanoidinas varió tanto con la concentración como con la especie bacteriana. Se evidencia una inhibición del crecimiento para las tres bacterias incluso a

la concentración más baja, siendo esta inhibición mayor a medida que la concentración de melanoidinas aumenta.

### Figura 7

*Crecimiento de bacterias a las 24 horas ante el efecto de melanoidinas.*



#### 5.4 Porcentaje del efecto inhibitorio de compuestos bioactivos y antibióticos en las bacterias

En la tabla 8 se presenta el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano generado por los compuestos bioactivos extraídos y por los antibióticos utilizados como control positivo. En general, los componentes activos demostraron un efecto inhibitorio sobre las bacterias evaluadas. En el caso de los polifenoles, solo tres concentraciones lograron inhibir el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*, mientras que para *S. Typhimurium* todas las concentraciones presentaron un porcentaje de inhibición. La inhibición mayor se observó en la concentración C2 (125 μg/mL), donde *E. coli* registró un 23.48%, *S. Typhimurium* un 45.54% y *St. aureus* un 24.63%.

Adicionalmente, se enfatiza que *S. Typhimurium* fue susceptible en todas las concentraciones de polifenoles utilizadas. Por otro lado, todas las concentraciones de melanoidinas causaron inhibición de crecimiento de *S. Typhimurium* y *S. aureus*, y para *E. coli* no se observó efecto inhibitorio únicamente en la concentración C2, (1500 µg/mL). El mayor porcentaje de inhibición se registró en la concentración C6 (4000 µg/mL) para *E. coli*, mientras que en *S. Typhimurium* y *S. aureus* se registró en la concentración C5 (3000 µg/mL).

**Tabla 8**

*Porcentaje del efecto antimicrobiano de los compuestos bioactivos en las bacterias.*

Conc (µg/mL ) /24 (h)	Polifenoles			Melanoidinas			Tetraciclina			Trimetoprim sulfametoxazol		
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. aureus</i>
Control	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
C1	<b>98.17</b>	<b>77.08</b>	<b>84.15</b>	83.33	66.29	57.73	<b>8.23</b>	<b>5.28</b>	<b>7.78</b>	<b>6.81</b>	<b>14.81</b>	<b>7.88</b>
C2	<b>76.52</b>	<b>54.46</b>	<b>75.37</b>	101.02	71.80	88.04	9.04	6.99	9.47	7.83	4.09	8.37
C3	<b>92.28</b>	<b>82.51</b>	<b>89.33</b>	74.80	<b>45.46</b>	67.80	8.54	7.51	11.47	10.77	8.33	27.32
C4	101.73	84.00	106.08	81.40	66.37	70.09	8.03	<b>7.37</b>	12.46	23.98	4.91	36.79
C5	112.60	89.06	109.37	79.07	<b>37.57</b>	<b>37.19</b>	11.08	11.31	12.86	40.96	26.49	33.30
C6	105.49	82.59	107.68	<b>39.02</b>	<b>47.47</b>	<b>53.14</b>	11.79	13.10	13.06	48.98	8.18	56.43
C7	127.34	96.58	122.73	<b>41.57</b>	<b>49.11</b>	<b>43.37</b>	16.87	20.39	23.03	43.19	31.40	60.32
C8	91.36	94.35	112.36	<b>61.79</b>	<b>51.86</b>	<b>47.66</b>	26.93	23.36	30.71	24.49	19.72	41.18

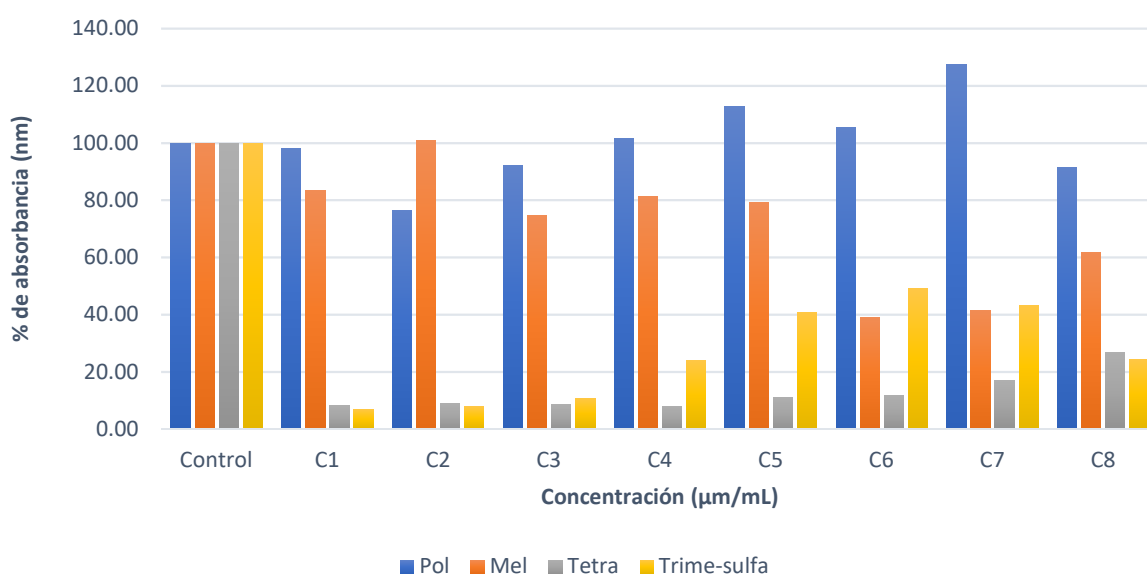
#### **5.4.1 Porcentaje de efecto de inhibición de los compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en *Escherichia coli***

La Figura 8 presenta una comparación del efecto de inhibición del crecimiento de la bacteria *E. coli* entre los componentes activos extraídos (melanoidinas y polifenoles) y los antibióticos utilizados como control. Se observó que la concentración C2 (125 µg/mL) de polifenoles registró el mayor porcentaje de inhibición, mientras que para melanoidinas fue la concentración que no presentó efecto inhibitorio. No obstante, las concentraciones

más elevadas de polifenoles no mostraron un efecto inhibitorio, y se evidenció un aumento en el crecimiento bacteriano, llegando a ser superior al observado en la muestra control. En contraste, las melanoidinas exhibieron un efecto inhibitorio en todas las concentraciones probadas, con una tendencia a una mayor inhibición a concentraciones más altas. Al comparar con los antibióticos control, se observó que las concentraciones mayores disminuyeron el efecto inhibitorio.

### Figura 8

*Efecto antimicrobiano de compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en Escherichia coli.*



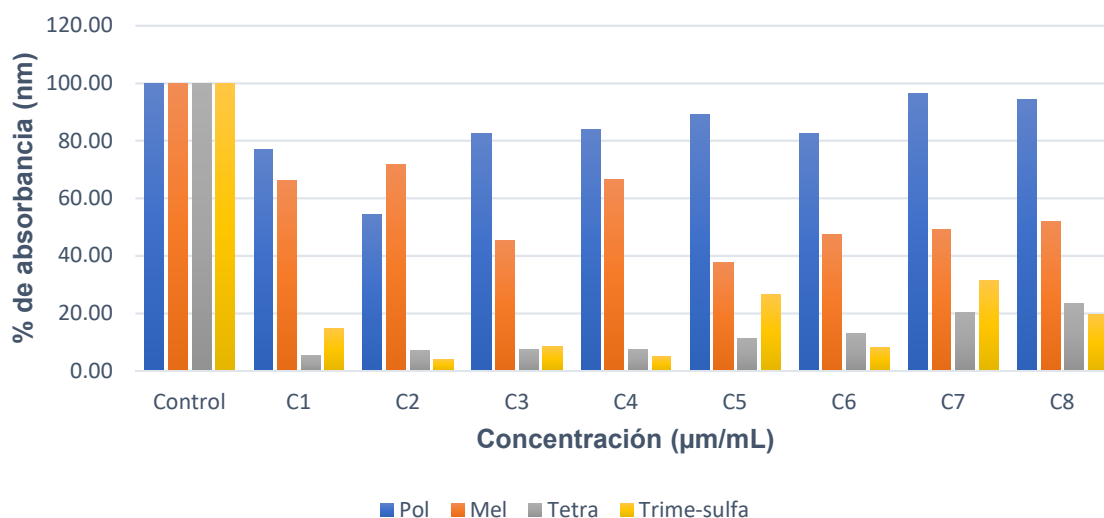
#### **5.4.2 Porcentaje de efecto de inhibición de los compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en Salmonella Typhimurium**

La Figura 9 muestra una comparación de los porcentajes de inhibición del crecimiento de la bacteria *S. Typhimurium* entre los componentes activos extraídos (melanoidinas y polifenoles) y los antibióticos utilizados como control. Se observó que la concentración C2 (125 µg/mL) de polifenoles registró el mayor porcentaje de inhibición

mientras que para melanoidinas fue la concentración que presentó menor efecto inhibitorio. No obstante, las concentraciones más elevadas de polifenoles mostraron un efecto inhibitorio menor conforme la concentración aumentaba; pero todas las concentraciones tienen un porcentaje de inhibición. En contraste, las melanoidinas se evidenció efecto inhibitorio desde la concentración C1 (1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), el mayor efecto de inhibición se observó en la concentración C5 (3000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), mientras que las concentraciones C6, C7 y C8 (4000, 5000 y 8000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) presentaron similares datos de efecto inhibitorio.

### Figura 9

*Efecto antimicrobiano de compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en Salmonella Typhimurium.*



#### 5.4.3 Porcentaje de efecto de inhibición de los compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en Staphylococcus aureus

La Figura 10 presenta una comparación del efecto de inhibición del crecimiento de la bacteria *S. aureus* entre los compuestos bioactivos (melanoidinas y polifenoles) y los antibióticos utilizados como control. Se observó que la concentración C2 (125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

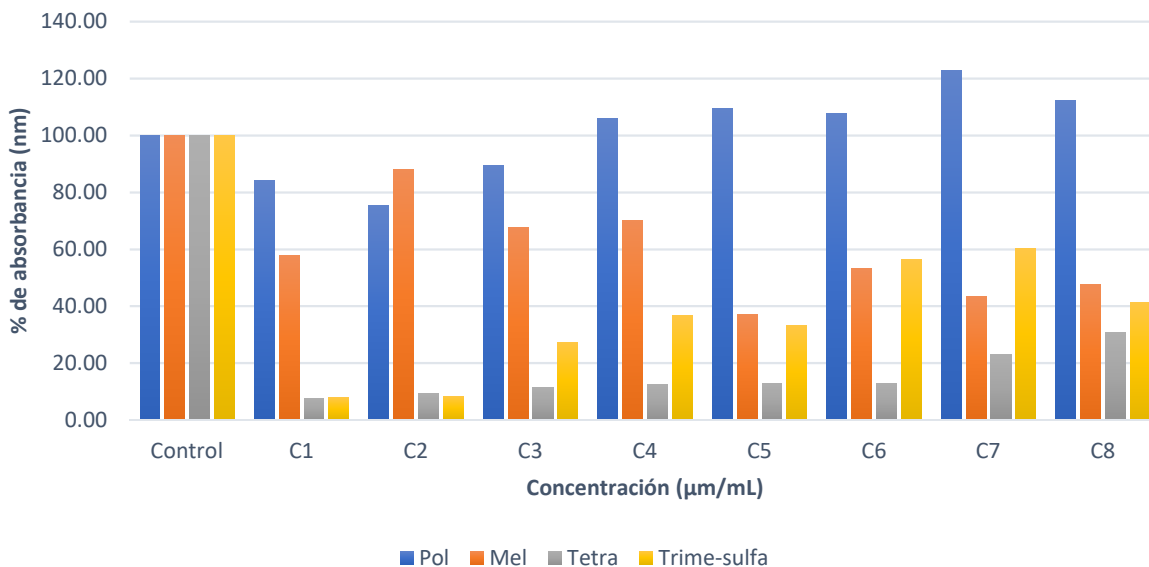
de polifenoles registró el mayor porcentaje de inhibición, mientras que para melanoidinas fue la concentración que presentó el menor efecto inhibitorio.

En polifenoles únicamente las 3 concentraciones menores tuvieron un efecto inhibitorio. En el caso de melanoidinas exhibieron un efecto inhibitorio en todas las concentraciones, con una tendencia a mayor inhibición a concentraciones más altas. Registrándose el mayor efecto en la concentración C5 (3000  $\mu\text{g/mL}$ ), mientras que las concentraciones C6, C7 y C8 (4000, 5000 y 8000  $\mu\text{g/mL}$ ) presentaron similares datos de efecto inhibitorio.

Al comparar con los antibióticos control, se observaron resultados similares entre melanoidinas y trimetoprim sulfametoxazol en la concentración C6 (4000  $\mu\text{g/mL}$ ) y aun mayor en C7 (5000  $\mu\text{g/mL}$ ).

### Figura 10

*Efecto antimicrobiano de compuestos bioactivos de SCG y antibióticos en Staphylococcus aureus.*



## 5.5 Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

### 5.5.1 Concentración Inhibitoria Mínima por la técnica de placas multipozos

En la tabla 9 muestra los rangos de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del efecto inhibitorio de las melanoidinas y los polifenoles frente a cada una de las bacterias estudiadas. Se determinó que el rango de CIM de los polifenoles fue de 62.5 a 125  $\mu\text{g/mL}$  para las tres bacterias (*E. coli*, *S. Typhimurium* y *S. aureus*). En cuanto a las melanoidinas, *S. Typhimurium* y *S. aureus* presentaron el mismo rango de CIM que fue de 2500 a 3000  $\mu\text{g/mL}$ , mientras que para *E. coli* en melanoidinas se encontró en un rango ligeramente superior, de 3000 a 4000  $\mu\text{g/mL}$ .

**Tabla 9**

#### *Concentración Inhibitoria Mínima*

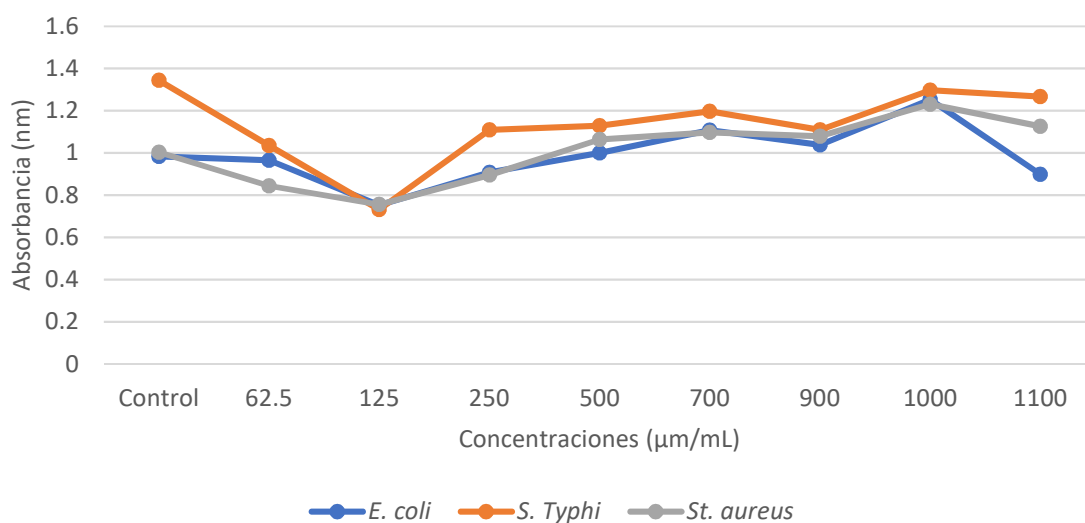
Componente Microorganismo	Polifenol CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )	Melanoidina CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>E. coli</i>	62.5-125	3000 a 4000
<i>S. Typhimurium</i>	62.5-125	2500 a 3000
<i>S. aureus</i>	62.5-125	2500 a 3000

La figura 11 ilustra los rangos de CIM de los polifenoles para cada una de las bacterias estudiadas. Se identifica que las tres bacterias presentaron el mismo rango de CIM. Mientras que, la Figura 12 muestra el comportamiento de la CIM de las melanoidinas en cada una de las bacterias. Se observa que *S. Typhimurium* y *S. aureus* exhibieron una CIM en concentraciones más bajas en comparación con *E. coli*. Sin

embargo, en las tres bacterias se evidencia una tendencia general de mayor inhibición a medida que la concentración de melanoidinas aumenta.

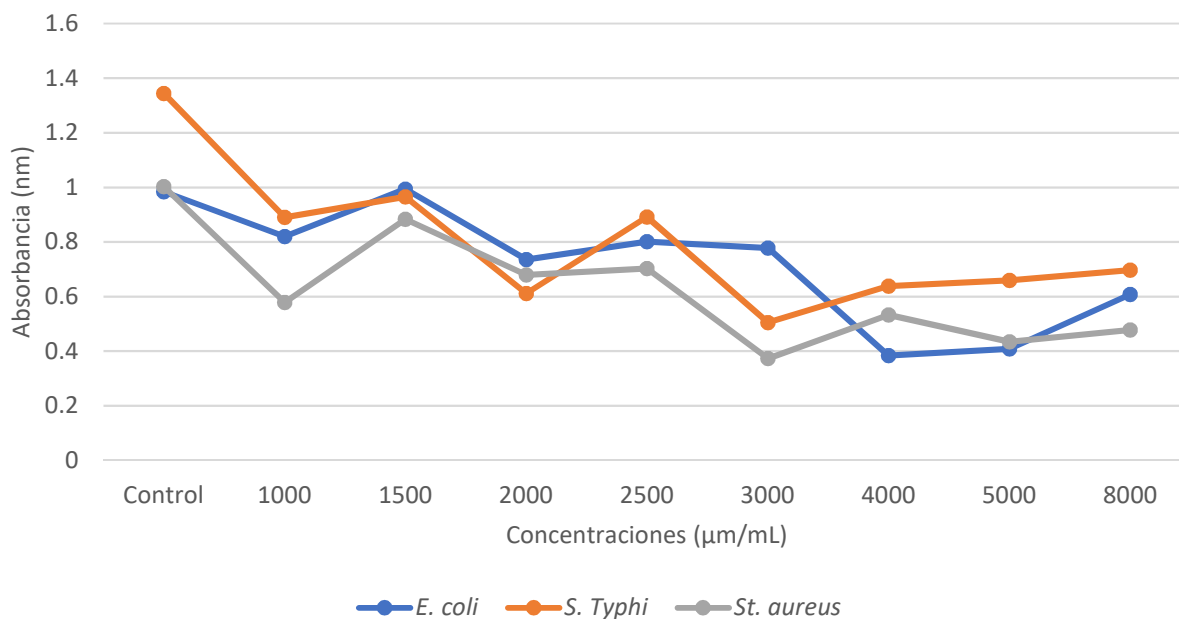
**Figura 11**

*Concentración Inhibitoria Mínima del efecto de polifenoles en las bacterias.*



**Figura 12**

*Concentración Inhibitoria Mínima del efecto de melanoidinas en las bacterias.*



### 5.5.2. Concentración Inhibitoria Mínima por el método modificado de pozos en agar Muller Hinton

En la tabla 10 se muestran los resultados de los halos de inhibición del efecto de polifenoles y melanoidinas en las bacterias. En polifenoles para *E. coli* las concentraciones C6 y C7 registraron halos de inhibición. Para *S. Typhimurium* las concentraciones C3, C4 y C5, C6 y C8, registrándose en C8 el halo de mayor tamaño, y para *S. aureus* las concentraciones C4, C5, C6 y C7, siendo en C4 el halo de mayor tamaño. En melanoidinas para *E. coli* las concentraciones C1 y C2 registraron halos de inhibición, siendo mayor en C1. Para *S. Typhimurium* únicamente las concentraciones C6, y para *S. aureus* las concentraciones C1, C6, C7 y C8, siendo en C6 el halo de mayor tamaño.

**Tabla 10**

*Datos de halos de inhibición utilizando el método modificado de pozos de agar M-H*

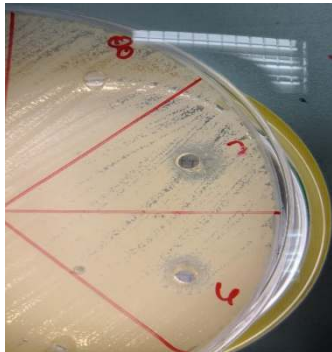
Conc ( $\mu\text{g/mL}$ ) /mM)	Polifenoles (mM)			Conc ( $\mu\text{g/mL}$ ) /mM)	Melanoidinas (mM)		
	<i>E. coli</i>	<i>S.</i> Typhimurium	<i>S.</i> <i>aureus</i>		<i>E coli</i>	<i>S.</i> Typhimurium	<i>S.</i> <i>aureus</i>
62.5	0	0	0	1000	11.3	0	17.3
125	0	0	0	1500	5	0	15
250	0	10.5	0	2000	0	0	0
500	0	12.5	9.5	2500	0	0	0
700	0	6.5	8	3000	0	0	0
900	1.8	8	3	4000	0	5.5	24.8
1000	2.8	0	2.8	5000	0	0	26.7
1100	0	13.5	0	8000	0	0	10.7

En la figura 13 se muestran los halos de inhibición del efecto de polifenoles en la que se mayor sensibilidad se observó desde la concentración C3 en *S. Typhimurium*.

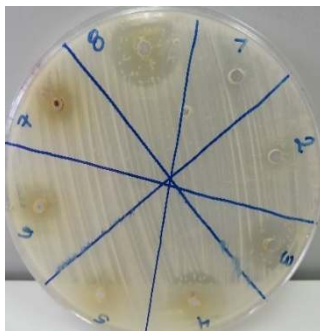
### Figura 13

*Halos de inhibición del efecto antimicrobiano de polifenoles en las bacterias.*

Polifenoles /*E. coli*



Polifenoles /*S. Typhi*



Polifenoles /*St. aureus*

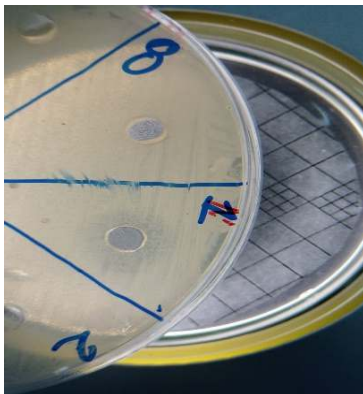


En la figura 14 se muestran los halos de inhibición del efecto de melanoidinas, se observó mayor sensibilidad desde la concentración C6 en *S. aureus*.

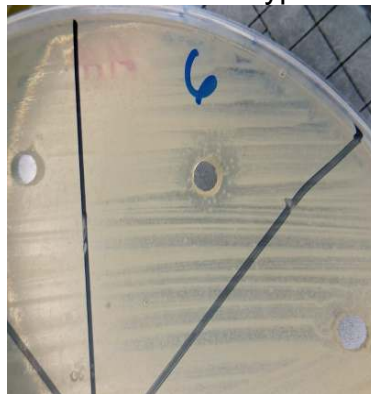
### Figura 14

*Halos de inhibición del efecto antimicrobiano de melanoidinas en las bacterias*

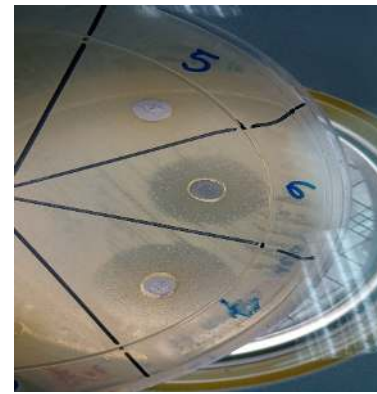
Melanoidinas /*E. coli*



Melanoidinas /*S. Typhi*



Melanoidinas /*S. aureus*



## 5.6 Análisis estadístico

El análisis de varianza de tres factores que se muestra en la tabla 11, evaluó el efecto de la concentración, tratamientos y la bacteria, así como sus interacciones, sobre

una variable de respuesta. Registrándose que la concentración tiene un efecto significativo ( $F = 8.792$ ,  $p < 0.001$ ), el tratamiento tiene un efecto significativo ( $F = 87.626$ ,  $p < 0.001$ ), mientras que la bacteria no tiene un efecto significativo ( $F = 0.047$ ,  $p = 0.954$ ); por tanto se pudo observar que, las interacciones entre Concentración y Tratamiento es significativa ( $F = 3.728$ ,  $p < 0.001$ ), las interacciones entre Concentración y Bacteria ( $F = 0.14$ ,  $p = 1$ ), Tratamiento y Bacteria ( $F = 0.249$ ,  $p = 0.959$ ), y Concentración, Tratamiento y Bacteria ( $F = 0.069$ ,  $p = 1$ ) no son significativas.

**Tabla 11**

*Análisis de varianza de tres factores de las concentraciones de los tratamientos en las diferentes bacterias en estudio.*

Variables	Df	Sum sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Concentración	8	4.394	0.549	8.792	6.85e-11 ***
Tratamiento	3	16.424	5.475	87.626	< 2e-16 ***
Bacteria	2	0.006	0.003	0.047	0.954
Concentracion:Tratamiento	24	5.59	0.233	3.728	3.35e-08 ***
Concentracion:Bacteria	16	0.14	0.009	0.14	1
Tratamientos:Bacteria	6	0.093	0.016	0.249	0.959
Concentracion:Tratamiento:Bacteria	48	0.206	0.004	0.069	1
Residuals	324	20.243	0.062		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Los resultados de este estudio muestran que los compuestos bioactivos extraídos de SCG tienen actividad antimicrobiana en las bacterias utilizadas. Según investigaciones realizados por Chai et al. (2019) y Aguilar-Villalva et al. (2021) establecen que la actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos aislados de fuentes naturales como los SCG está asociada con proteínas específicas de membrana y la

interacción con la membrana externa de los microorganismos provocando varios cambios en la permeabilidad celular, la cual es dependiente de la célula bacteriana y composición de la pared. Así mismo Pérez y Tuberquia (2023) describen que el café tiene actividad antimicrobiana contra una variedad de microorganismos, incluidos los patógenos transmitidos por los alimentos.

Los polifenoles extraídos de SCG presentaron efecto inhibitorio en *E. coli* a una concentración de 125 ug/mL. Estos datos no concuerdan con lo reportado en el estudio por Diaz, (2012) sobre la aplicación de polifenoles con características antimicrobianas en *Escherichia coli*, en el que encontraron una mayor concentración de 2.5 mg/mL.

Todas las concentraciones de polifenoles extraídos de SCG presentaron efecto inhibitorio en *S. Typhimurium*, siendo mayor en la concentración de 125 ug/mL, con esta bacteria no fue posible comparar con otros estudios de SCG. Sin embargo, Mendoza et al. (2017) en el estudio evaluación in vitro de la actividad antibacteriana de los extractos acuosos de las semillas de *Coffea arabica* reportaron un valor mayor de 20 mg/mL.

Los polifenoles extraídos de SCG presentaron efecto inhibitorio en *S. aureus* a una concentración de 125 ug/mL, este dato difiere de lo reportado por Sousa et al. (2015) en el que establecieron la concentración de 1 mg/mL.

Las melanoidinas extraídas de SCG presentaron actividad antimicrobiana para las 3 bacterias, registrándose el mayor efecto en las concentraciones más altas, en las que a la concentración 3000 ug/mL se registró el mayor efecto en *S. Typhimurium* y *S. aureus*, y para *E. coli* a una concentración de 4000 ug/mL. Estos datos fueron muy similares con lo reportado por Rufián-Henares y de la Cueva (2009) donde para *E. coli* fue de 5 mg/mL, *S. Typhimurium* de 4.5 mg/mL, y *S. aureus* de 2 mg/mL,

El efecto antimicrobiano que se evidenció en las tres bacterias con características de grosor de pared celular en las que se especifica como Gram (-) y/o (+), según el comportamiento obtenido tienen efecto sobre ellos estableciendo características bacteriostáticas y bactericidas (Rufián-Henares y De la Cueva 2009), en su artículo destacan propiedades quelantes, en la que se establece que las propiedades sideróforos puede eliminar el crecimiento bacteriano utilizando elementos esenciales como el hierro y el magnesio que elementos fundamentales para el desarrollo y crecimiento bacteriano que los componentes los captan para inhibir o eliminar a estos.

Resultados obtenidos en la investigación en la que se compararon con los antibióticos tetraciclina (Calvo y Martínez-Martínez, 2008) posee características bacteriostáticas que inhiben la síntesis de proteínas bacterianas y trimetoprim sulfametoxazol que es la combinación de trimetoprima con características bacteriostáticas y sulfametoxazol que posee una acción intermedia (ANMAT, 2012) combinadas origina un déficit metabólico en la bacteria, facilitando su muerte e impidiendo su reproducción, por lo que es considerado como un antibiótico bacteriostático.

Al utilizarlos como antibióticos comparativos se establece el comportamiento en el que señalan la actividad que poseen tanto los polifenoles como las melanoidinas, encontrándose diferencias significativas en la actividad inhibitoria que tienen cada componente sobre las bacterias en estudio, pero no así, entre el comportamiento de inhibición de las bacterias analizadas por componente, se establece dicha diferencia aplicando análisis ANOVA de tres variables, tipo de bacteria, concentración y tratamiento; del cual se obtienen los resultados en cuanto a concentración si hay

diferencia significativas entre la utilizadas con un valor de F de 8.792; en cuanto a tipo de bacteria se tiene que no hay diferencia significativa obteniendo un valor de F de 0.047, considerando el tratamiento, si existe diferencia significativa ya que se obtiene un valor de F de 87.662.

Con estos resultados se puede establecer que el tratamiento se considera muy determinante a la hora de utilizar estos componentes como una posible alternativa para disminuir de manera significativa el desarrollo de los microorganismos tratados.

Tomando en cuenta los resultados de los antibióticos de referencia para las 3 bacterias la inhibición se evidenció para tetraciclina a una concentración de 1 mg/mL y para trimetoprim sulfametoxazol de 0.3 mg/mL.

Tomando en cuenta lo que menciona Pérez (1998) que todos los componentes con efecto antimicrobiano tienen mecanismos de acción de los antibióticos son diversos y a veces múltiples, pero todos operan en alguno de los siguientes puntos: impidiendo la síntesis de ácidos nucleicos, de proteínas o de la pared celular o bien alterando la membrana celular de la bacteria sobre la que actúan.

**CAPÍTULO VI  
CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. Se identificó polifenoles y melanoidinas presentes en los residuos de café gastados de la especie *Coffea arabica* a pesar de que estos residuos fueron sometidos a altas temperaturas durante la elaboración del café.
2. El método utilizado para la cuantificación de polifenoles y melanoidinas en los residuos de café gastados permitió la obtención de los resultados esperados.
3. Los polifenoles mostraron una baja actividad antimicrobiana únicamente en las concentraciones bajas en todas las bacterias estudiadas con respecto a los antibióticos de referencia.
4. Las melanoidinas presentaron una moderada actividad antimicrobiana en todas las concentraciones y las bacterias estudiadas, con respecto a los antibióticos de referencia, siendo más efectivas a concentraciones más elevadas.
5. La Concentración Inhibitoria Mínima establecida para polifenoles mostró ser similar en las tres bacterias evaluadas y para melanoidinas registró leves diferencias dependiendo de la bacteria.
6. El análisis de varianza permitió identificar que tanto la concentración como el tratamiento tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta (inhibición); sin embargo, la bacteria no tiene un efecto significativo.
7. Bajo las condiciones de este estudio, la actividad antimicrobiana presentada por los polifenoles y melanoidinas, con respecto a la presentada por los antibióticos

de referencia, fue baja y/o moderada respectivamente, por lo que se considera que no podría utilizarse como agente terapéutico contra las bacterias estudiadas.

8. Las melanoidinas, obtenidos bajo las condiciones de este estudio, tienen potencial antimicrobiano para el desarrollo de un producto que pueda ser evaluado para fines no terapéuticos (aditivos alimentarios, desinfectantes naturales, entre otros).

**CAPÍTULO VII  
RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

- 6.1 Realizar estudios del grado de efectividad antimicrobiana que poseen los polifenoles y melanoidinas con diferentes tiempos de almacenamiento.
- 6.2 Evaluar el efecto antimicrobiano de las polifenoles y melanoidinas presentes en el café no utilizado versus los residuos de café gastados.
- 6.3 Evaluar otros residuos alimenticios como fuentes de polifenoles y melanoidinas y su posible actividad antimicrobiana.
- 6.4 Estudiar la efectividad de la actividad antimicrobiana de polifenoles y melanoidinas extraídas de los SCG como aditivos alimentarios, desinfectantes naturales o en la prevención de resistencia a antibióticos.
- 6.5 Desarrollar investigaciones para usos complementarios en los que su efectividad moderada pueda ser beneficiosa sin la necesidad de una potente acción antimicrobiana primaria.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 8.0. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Villalva R, Molina GA, España-Sánchez BL, Díaz-Peña LF, Elizalde-Mata A, Valerio E, et al. (2021) Antioxidant capacity and antibacterial activity from *Annona cherimola* phytochemicals by ultrasound-assisted extraction and its comparison to conventional methods. *Arab J Chem*. 2021 Jul 1;14(7):103239
- Arya, S. S., Venkatram, R., More, P. R., & Vijayan, P. (2022). The wastes of coffee bean processing for utilization in food: a review. *Journal of food science and technology*, 59(2), 429–444. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05032-5>
- ANMAT, (2012). Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT – Argentina. <https://iqb.es/cbasicas/farma/farma04/t074.htm>
- Bartel, C., Mesías, M. y Morales, FJ (2015). Investigación sobre la extractabilidad de melanoidinas en café espresso en porciones. *Food Research International*, 67, 356–365. doi:10.1016/j.foodres.2014.11.053
- Bekedam, E., K, Schols, HA., van Boekel, M. y Smit, G. (2006). Melanoidinas de alto peso molecular de la infusión de café. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 54(20), 7658–7666. doi:10.1021/jf0615449
- Bekedam, E., K. (2008). Coffee brew melanoidins Structural and functional Properties of Brown-Colored Coffee Compounds. ISBN: 978–90–8504–951–7.
- Belguidoum, K., Amira-Guebailia, H., Boulmokh, Y., & Houache, O. (2014). HPLC coupled to UV–vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. *Journal of the*

*Taiwán Institute of Chemical Engineers*, 45, 1314-1320.  
doi:10.1016/j.jtice.2014.03.014.

Brewer L. (2023) Usados apropiadamente, los pozos de café mejoran el suelo y matan babosas. Oregon State University. <https://news.oregonstate.edu/news/used-appropriately-coffee-grounds-improve-soil-and-kill-slugs>

Calvo J. y Martínez-Martínez (2008). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Elsevier España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(1):44–52  
doi:10.1016/j.eimc.2008.11.001.

Castaldo, L., Lombardi, S., Gaspari, A., Rubino, M., Izzo, L., Narváez, A., Ritieni, A. y Grosso, M. (2021). Bioaccesibilidad in vitro y actividad antioxidante de compuestos polifenólicos de galletas enriquecidas con posos de café. *Foods*, 10 (8), 1837. <https://doi.org/10.3390/foods10081837>.

Castillo, U. G., Joachin, E. A., Martínez, M. L., Velásquez, E., Pacas, L., & Núñez, M. J. (2021). Capacidad antioxidante y contenido de cafeína en Cafés especiales de El Salvador. *Revista Minerva: Revista Científica Multidisciplinaria De La Universidad De El Salvador*, 4(2), 75–84. <https://doi.org/10.5377/revminerva.v4i2.12397>

Castro M. (2019) Polifenoles: Compuestos bioactivos con efectos benéficos en la prevención de diabetes tipo 2. Unidad Académica de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, México Revista digital RED CieN. Vol. I, numero 3, enero – junio 2019.  
[https://cmnutriologos.org/recursos/revista00\\_3.pdf](https://cmnutriologos.org/recursos/revista00_3.pdf).

Castro-Díaz, R., Silva-Beltrán, N. P., Gámez-Meza, N., & Calderón, K. (2025). The Antimicrobial Effects of Coffee and By-Products and Their Potential Applications in Healthcare and Agricultural Sectors: A State-of-Art Review. *Microorganisms*, 13(2),215.<https://doi.org/10.3390/microorganisms13020215>

CECMED (2016). Tetraciclina. <https://www.cecmecmed.cu/file/3048/download?token=epgvzB3k#:~:text=500%20mg%20de%20Tetraciclina%20por,horas%20de%20la%20administraci%C3%B3n%20oral.>

Chacua M., D. y Rodríguez M., M. A. (2018) Evaluación de los polifenoles extraídos a partir de residuos de *Coffea Arabica*, para la producción de un coagulante natural (Trabajo de grado). Fundación Universidad de América. Retrieved from <http://hdl.handle.net/20.500.11839/670>.

Chai B, Jiang WJ, Hu M, Wu Y, Si H. (2019) In vitro synergistic interactions of Protocatechuic acid and Chlorogenic acid in combination with antibiotics against animal pathogens. *Synergy* [Internet]. 2019;9:100055. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.synres.2019.100055> 10.

Chaves-Ulate, E. C, y Esquivel-Rodríguez, P. (2019). Ácidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 299-311. <https://dx.doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>.

Contreras V., Mena, A. y Ruvera, E. (2024). VASTY'S COFFEE. [Proyecto de Grado de Licenciatura En Modalidad De Especialización: Modelos De Negocios Digitales. Facultad De Ciencias Económicas. Universidad de El Salvador].

<https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/39745af2-b30a-461f-89f2-0bd2f7a25d64/content>

De Otálora, X. D., Ruiz, R., Goiri, I., Rey, J., Atxaerandio, R., San Martín, D., García-Rodríguez, A. (2020). valorisation of spent coffee grounds as functional feed ingredient improves productive performance of Latxa dairy ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 264, 114461. doi:10.1016/j.anifeedsci.2020.114.

De Rossi, L., Rocchetti, G., Lucini, L., & Rebecchi, A. (2025). Antimicrobial Potential of Polyphenols: Mechanisms of Action and Microbial Responses-A Narrative Review. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 14(2), 200. <https://doi.org/10.3390/antiox14020200>

Díaz, R. O. (2012). Efecto antimicrobiano del ácido gálico y la catequina sobre *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*. [Trabajo de graduación para optar a Ingeniero Agrónomo. Escuela de Pregrado. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile] [https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112192/diaz\\_r.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112192/diaz_r.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

Díaz, M. R., Luján-Gonzales, V., Ramírez, L., Olano, M., Vargas, A., Rojas, M. & Linares, G. (2017). Fenólicos a partir de residuos de café: Optimización del proceso de extracción. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(4), 405-410. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2017.315>

Esquivel, P., y Jiménez, V. (2012). Propiedades funcionales del café y sus derivados. *Food Research International*, 46(2), 488–495. doi:10.1016/j.foodres.2011.05.028

Franca, AS, y Oliveira, LS (2022). Usos potenciales de los posos de café en la industria alimentaria. *Foods* , 11 (14), 2064. <https://doi.org/10.3390/foods11142064>.

Gallardo-Ignacio, J., Santibáñez, A., Oropeza-Mariano, O., Salazar, R., Montiel-Ruiz, RM, Cabrera-Hilerio, S., Gonzáles-Cortazar, M., Cruz-Sosa, F., & Nicasio-Torres, P. (2023). Caracterización química y biológica de granos de café verdes y procesados de las variedades Coffea arabica . *Moléculas*, 28 (12), 4685. <https://doi.org/10.3390/molecules28124685>.

García-García, J.F., Elizarraraz-Guerra, M., Sosa-Morales, M.E., Gómez-Salazar, J.A., Cerón-García, A, (2019) Caracterización colorimétrica y propiedades fisicoquímicas en bebidas a base de café soluble. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Vol.4 (2019) <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/10/129.pdf>

Grundhöfer, P., Niemetz, R., Schilling, G. y Gross, G. (2001). Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry*.9152757. DOI10.1016/S0031-9422(01)00099-1.

Huerta, M., Aguilar, M. y Vásquez B. (2022) Polifenoles: propiedades y papel en desarrollos biomédicos. Revista plásticos modernos. Ciencia y Tecnología de Polímeros. Número 775. Febrero 2022. [https://digital.csic.es/bitstream/10261/308865/1/107\\_924959.pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/308865/1/107_924959.pdf)

- Jiménez-Zamora, A., Pastoriza, S., y Rufián-Henares, J. A. (2015). Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 12–18. doi: 10.1016/j.lwt.2014.11.031
- Kouame F., Gamze G., Hasim K. y Serkan S. (2023) Valorization of cocoa, tea and coffee processing by-products-wastes, *Advances in Food and Nutrition Research, Academic Press*, ISSN 1043-4526. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2023.03.003>.
- Kourmentza, C., Economou, Ch.N., Tsafrakidou, P. y Kornaros, M. (2018). Spent coffee grounds make much more than waste: Exploring recent advances and future exploitation strategies for the valorization of an emerging food waste stream, *Journal of Cleaner Production*, Volume 172, Pages 980-992, ISSN 0959-6526, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.088>.
- Kukuminato, S., Koyama, K., & Koseki, S. (2021). Antibacterial Properties of Melanoidins Produced from Various Combinations of Maillard Reaction against Pathogenic Bacteria. *Microbiology spectrum*, 9(3), e0114221. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01142-21>
- Langner, E., y Rzeski, W. (2013). Propiedades biológicas de las melanoidinas: Una revisión. *Revista Internacional de Propiedades de los Alimentos*, 17 (2), 344–353. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.631253>
- Londoño, J., Naranjo, M. y Quinteros M. (2013). Estudio de los cambios de la actividad antioxidante en bebidas de café durante su periodo de vida útil usando métodos in vitro y ex vitro. *Vitae*, 20 (2), 95-104

- Magalhães, L., Machado, S., Segundo, M., Lopes, J. y Páscoa, R. (2016). Evaluación rápida de fenoles bioactivos y metilxantinas en posos de café usados mediante espectroscopia FT-NIR. *Talanta*, 147, 460–467. doi:10.1016/j.talanta.2015.10.022
- Martin-Gordo. D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos: Un acercamiento a su Biosíntesis, Síntesis y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, Vol. 9, Núm. 1 (2018) DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>.
- García M., EM.; Fernández S., I. y Fuentes L., A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. <https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>
- Mendoza Y., Sanchez C, Oblitas G., Huaman C. (2024). Resultados de la evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos de las semillas de *Coffea arabica* L. y *Persea americana* Mill, sobre *Salmonella typhi* aislada de los manipuladores de alimentos en la ciudad universitaria de PERAYOC – UNSAAC 2017. Explorando la vida. Una jornada por las ciencias biológicas 3, capítulo 8. <https://surl.li/jsfsfm>.
- Meng, X., Li, Y., Li, S., Gan, R.-Y, & Li, H-B. (2018). Natural Products for Prevention and Treatment of Chemical-Induced Liver Injuries. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 472-495. doi:10.1111/1541-4337.12335.
- Mesías M. y Delgado C. (2017). Melanoidins as a potential functional food ingredient. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC), Madrid, Spain, Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC), Granada, Spain. *Revista Food Science*. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2017.01.007>.

- Montemurro, M., Casertano, M., Vilas-Franquesa, A., Giuseppe, C., y Fogliano, V. (2024). Exploitation of spent coffee ground (SCG) as a source of functional compounds and growth substrate for probiotic lactic acid bacteria, *LWT*, Volume 198, 115974, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115974>.
- Morales R, L. y Pérez H, D. (2020). Valorización de los residuos de café tostado y molido (borra de café), generados en el Campus Central de la Universidad de El Salvador. [Tesis de para optar al grado de Ingeniero Químico, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de El Salvador] <https://hdl.handle.net/20.500.14492/17764>.
- Niño, S., Iliná. A.,Chávez, M., Martínez, J., Aguilar, C., Rodríguez, R., Flores, M., y Govea, M. (2020). Efecto del ácido gálico y resveratrol sobre el crecimiento de microorganismos probióticos y bacterias patógenas. *CienciAcierta* No. 63. ISSN: 2683-1848. <http://www.cienciacierta.uadec.mx/2020/07/03/efecto-del-acido-galico-y-resveratrol-sobre-el-crecimiento-de-microorganismos-probioticos-y-bacterias-patogenas/>.
- NCCLS (1999) Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline. NCCLS document M26-A [ISBN 1-56238-384-1]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA)
- Olmos-Padilla, M., Ozuna, C., Rodríguez-Hernández, G. y Cerón-García, A. (2019). Estimación de compuestos bioactivos en bebidas a base de café soluble y té. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos/Vol.4 México*. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/9/110.pdf>

Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., & Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17), 4162-4168. doi:10.1021/jf4005719.

Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J, y Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31 (2), 68-81.

Pérez R.M (1998) Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud* 1998; 22: 57-67. <https://vsfiwsoldpreportal.sanidad.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>

Pérez, L., Chávez, K., Medina, L. y Gámez, N. (2012). Phenolic characterization, melanoidins, and antioxidant activity of some commercial coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 56(4), 430-435.

Pérez M. y Tuberquia A. 2023 Determinación del Potencial antimicrobiano de extractos derivados de la cáscara y el mucílago del café por tres métodos. Trabajo de grado presentado para optar al título de Microbiólogo Industrial y Ambiental. Medellín, Antioquia, Colombia. Universidad de Antioquia. <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/server/api/core/bitstreams/3ce35d17-adf1-410f-bbfa-da21950551d8/content>

Pérez, M., Dominguez-López, I., y Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in

Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of agricultural and food chemistry*, 71(46), 17543–17553.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>.

Puerta G. 2011. Calidad y Manejo Ambiental Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé Chinchiná, Caldas, Colombia. Programa de Investigación Científica Fondo Nacional del Café. ISSN - 0120 – 0178.

Quiñones M., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.  
[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es).

Roa, G., Oliveros, C., Álvarez, G., Ramírez, C., Sanz, J., Dávila, M., Álvarez, J., Zambrano, D., Puerta, G., y Rodríguez, N. (1999). Beneficio ecológico del café. Chinchiná, *Cenicafé*,. 273 p <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/882>

Rufián-Henares, J. Á., y Morales, F. J. (2006). A new application of a commercial microtiter plate-based assay for assessing the antimicrobial activity of Maillard reaction products. *Food Research International*, 39(1), 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.06.002>

Rufián-Henares, J. Á., y Morales, F. J. (2007). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of coffee melanoidins. *J. Agríc. Food Chem.* 55, 1480–1485

Rufián-Henares , J.A. y Morales , F.J. 2008 . Antimicrobial activity of melanoidins against *Escherichia coli* is mediated by a membrane damage mechanism . *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 56 : 2357 – 2362

Rufián-Henares, J. y De la Cueva, S. (2009). Actividad antimicrobiana de las melanoidinas del café: un estudio de sus propiedades quelantes de metales. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 57 (2) 432-438. <http://doi.org/10.1021/jf8027842>

Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., Haddad, M. A., & Al-Hiary, M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1397–1400. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0133>.

Sousa, C., Gabriel, C., Cerqueira, F., Manso, M.C. y Vinha, A.F. (2015) Coffee industrial waste as a natural source of bioactive compounds with antibacterial and antifungal activities. 131 In book: *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (pp.131-136) Edition: 1 Publisher:FormatexResearch.[https://www.researchgate.net/publication/286417460\\_Coffee\\_industrial\\_waste\\_as\\_a\\_natural\\_source\\_of\\_bioactive\\_compounds\\_with\\_antibacterial\\_and\\_antifungal\\_activities](https://www.researchgate.net/publication/286417460_Coffee_industrial_waste_as_a_natural_source_of_bioactive_compounds_with_antibacterial_and_antifungal_activities)

Urrego-Yepes W. y Godoy Pernalete M. (2021) “Revisión - Aprovechamiento de los residuos de la agroindustria del café en la elaboración de materiales compuestos de matriz polimérica”, *Prospectiva*, Vol 19, N° 2, 2021. <https://doi.org/10.15665/rp.v19i2.2590>.

Valencia, E., Ignacio, I., Sosa, E., Bartolomé M., Martínez, H. y García, M. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*. ISSN: 1390-1869. N° 16. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1583/1238>

Vega, A., De León, J. y Reyes, S. (2017). Determinación del contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá. *Inf. tecnol.* vol.28 no.4. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000400005> .

Yuxi L., Ningxuan G., Zhihuan Z., Xianjun M., Yang L., Shufang Y., Yiyun Y., Zhufeng J. y Bin L. (2024) Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review, *Journal of Future Foods*, Volume 4, Issue 3, Pages 193-204, ISSN 2772-5669, <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772566923000605>)

## **GLOSARIO**

## GLOSARIO

**Ácido gálico ( $C_6H_2(OH)_3COOH$ ):** Compuesto fenólico presente en el café y otras plantas, con actividad antimicrobiana y antioxidante.

**Antioxidante:** Compuesto que previene la oxidación de otras moléculas, reduciendo el daño celular.

**Bactericida:** Sustancia que destruye las bacterias.

**Bacteriostático:** Sustancia que inhibe el crecimiento de bacterias sin matarlas.

**Extracto:** Sustancia obtenida a partir de un material sólido mediante la disolución de sus componentes activos en un solvente.

**Fenoles:** Compuestos químicos derivados del benceno con propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

**Halo de Inhibición:** Zona circular sin crecimiento bacteriano alrededor de un agente antimicrobiano en un medio de cultivo, indicando su efectividad.

***In vitro*:** Experimento realizado fuera de un organismo vivo, generalmente en un laboratorio.

**Longitud de Onda ( $\lambda$ ):** Distancia entre dos picos consecutivos de una onda, utilizada en espectrofotometría para identificar sustancias.

**Melanoidinas:** Polímeros de alto peso molecular formados en la reacción de Maillard, con propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

**Polifenoles (PF):** Compuestos bioactivos con actividad antioxidante y antimicrobiana, presentes en el café y otras plantas.

**Quelar:** Proceso químico en el que un compuesto (como los polifenoles o melanoidinas) se une a un metal, impidiendo su disponibilidad biológica.

**Sideróforo:** Molécula producida por microorganismos para captar hierro del ambiente, esencial para su crecimiento y metabolismo.

**Solución Madre:** Solución de concentración conocida a partir de la cual se preparan diluciones.

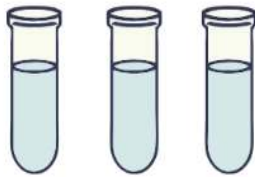
## **ANEXOS**

# Anexo 1

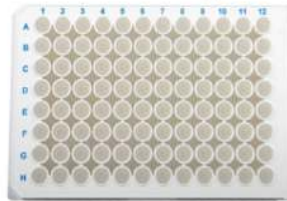
## Diseño de siembra de los microorganismos en las placas multipozos (Elaboración propia)

90 µL de medio M-H  
10 µL de bacteria  
100 µL componente o antibiótico

Bacterias

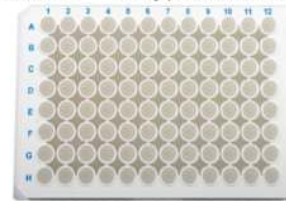


Placa 1 *E. coli*



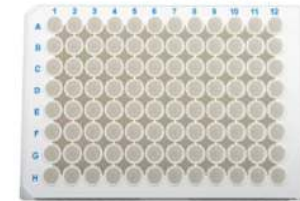
Columnas 1, 2 y 3: M-H-*E. coli*-melanoidinas  
Columnas 4, 5 y 6 medio M-H-*E. coli*-polifenol  
Columnas 7, 8 y 9 medio M-H-*E. coli*-tetraciclina  
Columnas 10, 11 y 12 medio-*E. coli*-trime-sulfa

Placa 2 *S. Typhimurium*



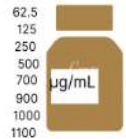
Columnas 1, 2 y 3: M-H-*S. Typhi*-melanoidinas  
Columnas 4, 5 y 6 medio M-H-*S. Typhi*-polifenol  
Columnas 7, 8 y 9 medio M-H-*S. Typhi*-tetraciclina  
Columnas 10, 11 y 12 medio-*S. Typhi*-trime-sulfa

Placa 3 *St. aureus*



Columnas 1, 2 y 3: M-H-*St. aureus*-melanoidinas  
Columnas 4, 5 y 6 medio M-H-*St. aureus*-polifenol  
Columnas 7, 8 y 9 medio M-H-*St. aureus*-tetraciclina  
Columnas 10, 11 y 12 medio-*St. aureus*-trime-sulfa

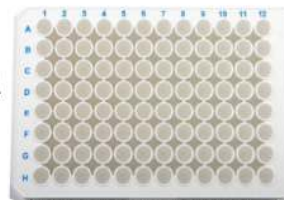
Polifenoles



Melanoidinas

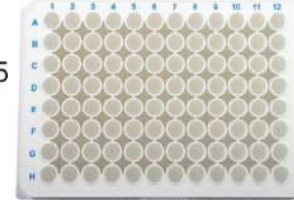


Placa 4



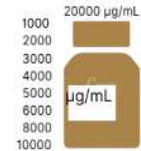
Columnas 1, 2 y 3: medio M-H- *E. coli*  
Columnas 4, 5 y 6: medio M-H- *S. Typhi*  
Columnas 7, 8 y 9: medio M-H- *St. aureus*  
Columnas 10, 11 y 12: medio M-H

Placa 5

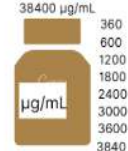


Columnas 1, 2 y 3: medio M-H-melanoidinas  
Columnas 4, 5 y 6: medio M-H- polifenoles  
Columnas 7, 8 y 9: medio M-H- tetraciclina  
Columnas 10, 11 y 12: medio M-H- trime-sulfa

Tetraciclina



Trime-sulfa



Incubar hasta 24 h



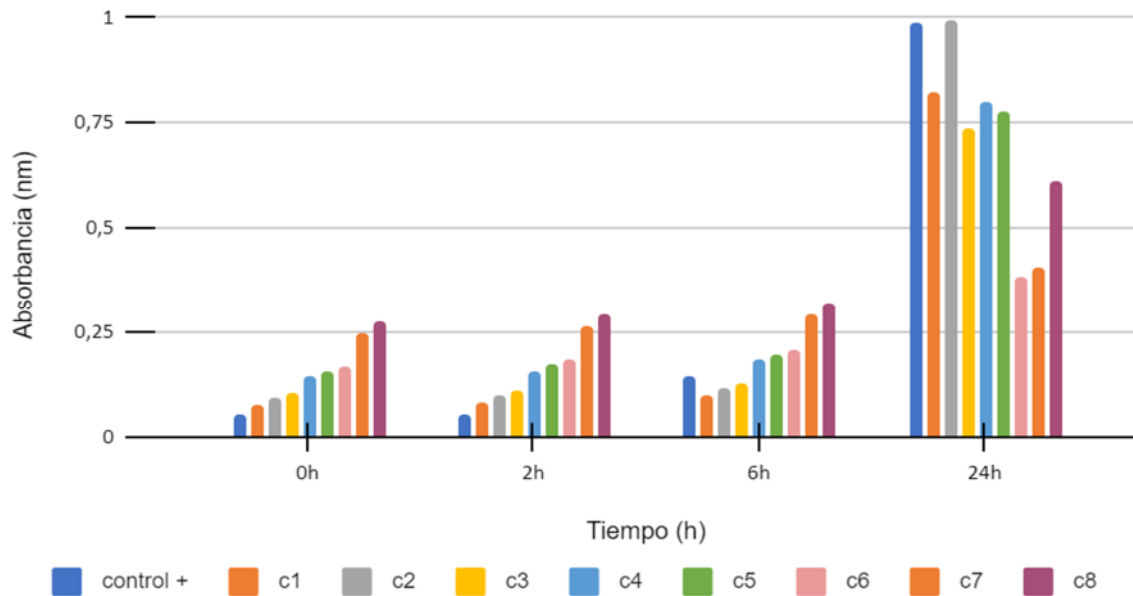
Lecturas a 0, 2, 6 y 24 horas

## Anexo 2

Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de melanoidinas en *E. coli*.

Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.
Control	0.053	0.051	0.053	<b>0.052</b>	0.056	0.052	0.053	<b>0.054</b>	0.193	0.086	0.153	0.144	0.897	1.168	0.887	<b>0.984</b>
1000	0.082	0.078	0.072	<b>0.077</b>	0.089	0.081	0.076	<b>0.082</b>	0.127	0.088	0.081	<b>0.099</b>	<b>0.621</b>	1.403	<b>0.436</b>	0.820
1500	0.118	0.082	0.076	<b>0.092</b>	0.128	0.087	0.079	<b>0.098</b>	0.144	0.093	0.108	<b>0.115</b>	<b>0.536</b>	1.453	0.992	0.994
2000	0.102	0.104	0.100	<b>0.102</b>	0.112	0.111	0.101	<b>0.108</b>	0.121	0.122	0.139	<b>0.127</b>	<b>0.122</b>	<b>1.124</b>	0.961	0.736
2500	0.204	0.129	0.104	<b>0.146</b>	0.222	0.141	0.111	<b>0.158</b>	0.257	0.155	0.144	<b>0.185</b>	<b>0.385</b>	1.425	<b>0.594</b>	0.801
3000	0.146	0.183	0.144	<b>0.158</b>	0.169	0.197	0.151	<b>0.172</b>	0.188	0.216	0.183	<b>0.196</b>	<b>0.235</b>	<b>1.043</b>	1.056	0.778
4000	0.134	0.207	0.166	<b>0.169</b>	0.150	0.221	0.182	<b>0.184</b>	0.165	0.245	0.205	<b>0.205</b>	<b>0.159</b>	<b>0.754</b>	<b>0.239</b>	<b>*0.384</b>
5000	0.295	0.245	0.200	<b>0.247</b>	0.316	0.260	0.209	<b>0.262</b>	0.343	0.299	0.235	<b>0.292</b>	<b>0.470</b>	<b>0.453</b>	<b>0.303</b>	<b>*0.409</b>
8000	0.330	0.211	0.283	<b>0.275</b>	0.349	0.224	0.303	<b>0.292</b>	0.381	0.248	0.332	<b>0.320</b>	<b>0.429</b>	<b>0.528</b>	<b>0.868</b>	0.608

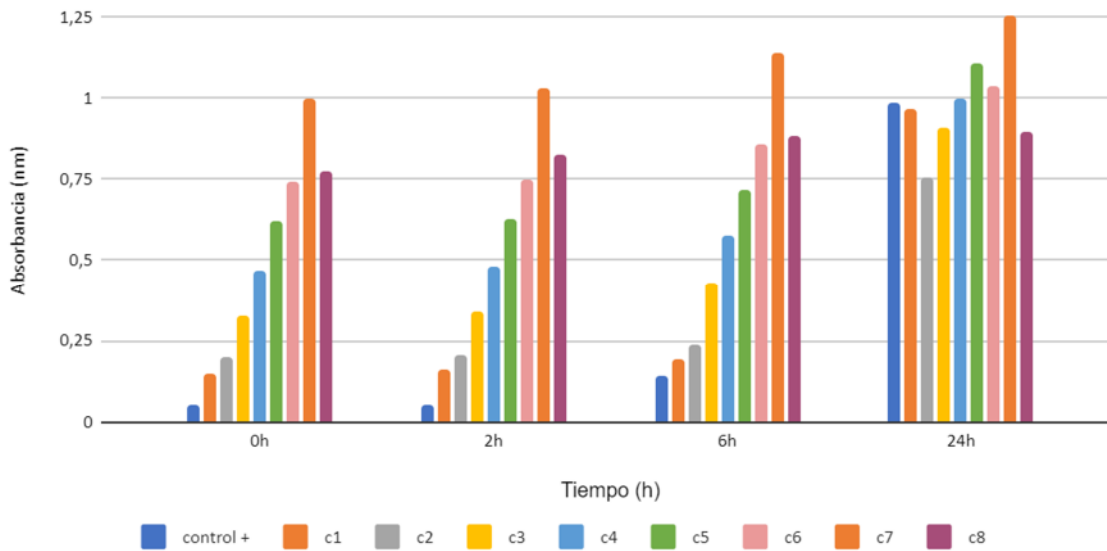
\*Valores de menor absorbancia



### Anexo 3

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de polifenoles en E. coli.*

Conc (µg/mL)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.
Control	0.053	0.051	0.053	0.052	0.056	0.051	0.053	0.053	0.193	0.086	0.153	0.144	0.897	1.169	0.887	0.984
62,5	0.201	0.073	0.175	0.150	0.224	0.076	0.18	0.160	0.29	0.078	0.21	0.193	<b>0.630</b>	1.288	0.979	0.966
125	0.227	0.095	0.267	0.196	0.238	0.099	0.274	0.204	0.293	0.104	0.309	0.235	<b>0.190</b>	1.219	<b>0.851</b>	<b>0.753</b>
250	0.389	0.129	0.461	0.326	0.412	0.138	0.475	0.342	0.577	0.143	0.576	0.432	<b>0.635</b>	1.409	<b>0.681</b>	0.908
500	0.603	0.158	0.637	0.466	0.626	0.165	0.643	0.478	0.787	0.171	0.767	0.575	<b>0.683</b>	1.429	<b>0.89</b>	1.001
700	<b>0.921</b>	0.207	0.727	0.618	0.937	0.219	0.729	0.628	1.058	0.228	0.858	0.715	<b>0.603</b>	<b>1.116</b>	<b>1.605</b>	1.108
900	<b>1.056</b>	0.177	0.99	0.741	1.077	0.187	0.989	0.751	1.202	0.192	1.175	0.856	<b>0.719</b>	<b>0.577</b>	1.818	1.038
1000	<b>1.291</b>	0.224	1.483	0.999	1.327	0.238	1.522	1.029	1.503	0.251	1.669	1.141	<b>0.988</b>	<b>0.811</b>	1.959	<b>1.253</b>
1100	<b>1.601</b>	0.316	0.415	0.777	1.735	0.327	0.423	0.828	1.877	0.342	0.439	0.886	<b>1.046</b>	<b>1.015</b>	<b>0.636</b>	<b>0.899</b>

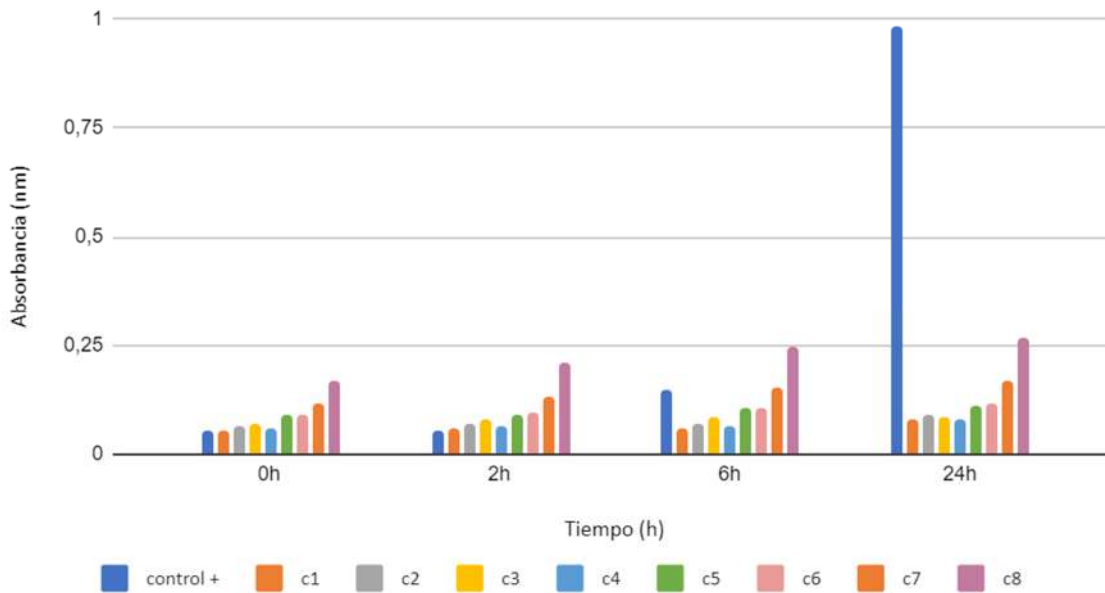


## Anexo 4

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de tetraciclina en E. coli.*

Conc ( $\mu\text{g/mL}$ ) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom
Control	0.053	0.051	0.053	0.052	0.056	0.051	0.053	0.053	0.193	0.086	0.153	0.144	0.897	1.169	0.887	0.984
1000	0.054	0.056	0.056	0.055	0.056	0.056	0.056	0.056	0.057	0.058	0.058	0.058	<b>0.078</b>	<b>0.084</b>	<b>0.08</b>	<b>0.081</b>
2000	0.057	0.066	0.071	0.065	0.058	0.067	0.074	0.066	0.059	0.07	0.078	0.069	<b>0.075</b>	<b>0.097</b>	<b>0.096</b>	<b>0.089</b>
3000	0.087	0.058	0.066	0.070	0.099	0.060	0.070	0.076	0.110	0.062	0.075	0.082	<b>0.083</b>	<b>0.081</b>	<b>0.089</b>	<b>0.084</b>
4000	0.062	0.058	0.059	0.060	0.066	0.060	0.061	0.062	0.069	0.062	0.066	0.066	<b>0.074</b>	<b>0.081</b>	<b>0.081</b>	<b>0.079</b>
5000	0.132	0.064	0.068	0.088	0.136	0.068	0.071	0.092	0.160	0.075	0.081	0.105	<b>*0.124</b>	<b>0.106</b>	<b>0.111</b>	<b>0.109</b>
6000	0.143	0.065	0.064	0.091	0.148	0.068	0.068	0.095	0.159	0.073	0.088	0.107	<b>**0.091</b>	<b>0.103</b>	<b>0.129</b>	<b>0.116</b>
8000	0.148	0.066	0.132	0.115	0.160	0.068	0.157	0.128	0.176	0.074	0.199	0.150	<b>*0.103</b>	<b>0.098</b>	<b>0.234</b>	<b>0.166</b>
10000	0.245	0.136	0.119	0.167	0.254	0.176	0.190	0.207	0.280	0.21	0.245	0.245	<b>*0.160</b>	<b>0.254</b>	<b>0.275</b>	<b>0.265</b>

\*Valores de menor absorbancia

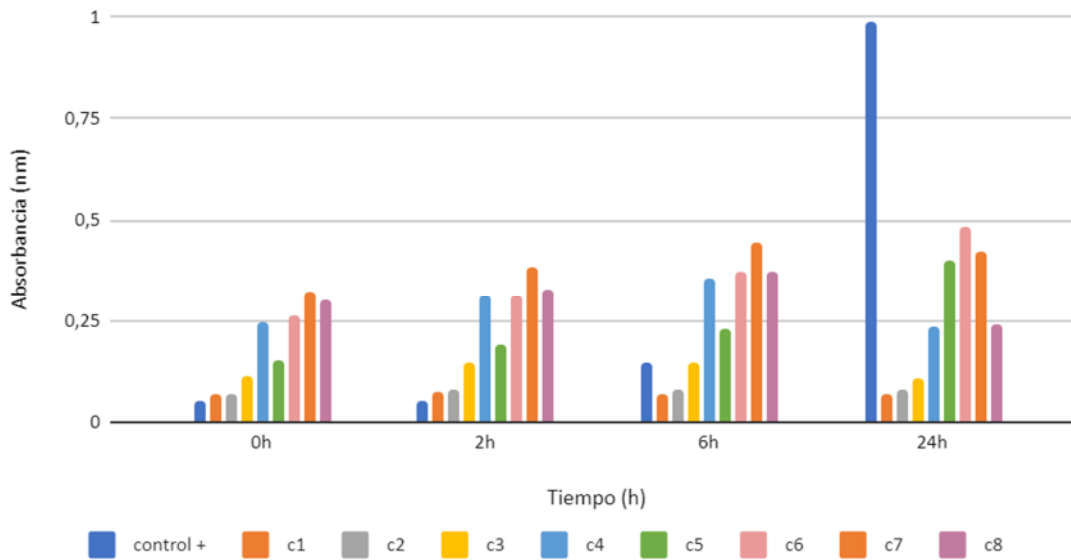


## Anexo 5

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de trimetoprim sulfametoxazol en E. coli.*

Conc (µg/mL)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.
Control	0.053	0.051	0.053	0.052	0.056	0.051	0.053	0.053	0.193	0.086	0.153	0.144	0.897	1.169	0.887	0.984
300	0.055	0.053	0.092	0.067	0.063	0.054	0.098	0.072	0.064	0.054	0.089	0.069	<b>0.069</b>	<b>0.065</b>	<b>*0.090</b>	<b>0.067</b>
500	0.066	0.064	0.075	0.068	0.075	0.065	0.092	0.077	0.076	0.066	0.091	0.078	<b>0.076</b>	<b>0.066</b>	<b>0.089</b>	<b>0.077</b>
1000	0.162	0.078	0.100	0.113	0.173	0.081	0.175	0.143	0.142	0.080	0.221	0.148	<b>*0.106</b>	<b>0.082</b>	<b>0.129</b>	<b>0.106</b>
1500	0.556	0.105	0.079	0.247	0.698	0.132	0.107	0.312	0.759	0.186	0.119	0.355	<b>*0.472</b>	<b>0.376</b>	<b>0.096</b>	<b>0.236</b>
2000	0.172	0.125	0.157	0.151	0.209	0.158	0.203	0.190	0.231	0.171	0.282	0.228	<b>*0.113</b>	<b>*0.112</b>	<b>0.403</b>	<b>0.403</b>
2500	0.244	0.313	0.230	0.262	0.296	0.352	0.287	0.312	0.424	0.370	0.331	0.375	<b>*0.161</b>	<b>0.427</b>	<b>0.537</b>	<b>0.482</b>
3000	0.490	0.181	0.300	0.324	0.520	0.216	0.408	0.381	0.529	0.353	0.457	0.446	<b>*0.368</b>	<b>0.328</b>	<b>0.521</b>	<b>0.425</b>
3200	0.526	0.145	0.230	0.300	0.567	0.161	0.255	0.328	0.559	0.297	0.266	0.374	<b>*0.317</b>	<b>0.192</b>	<b>0.289</b>	<b>0.241</b>

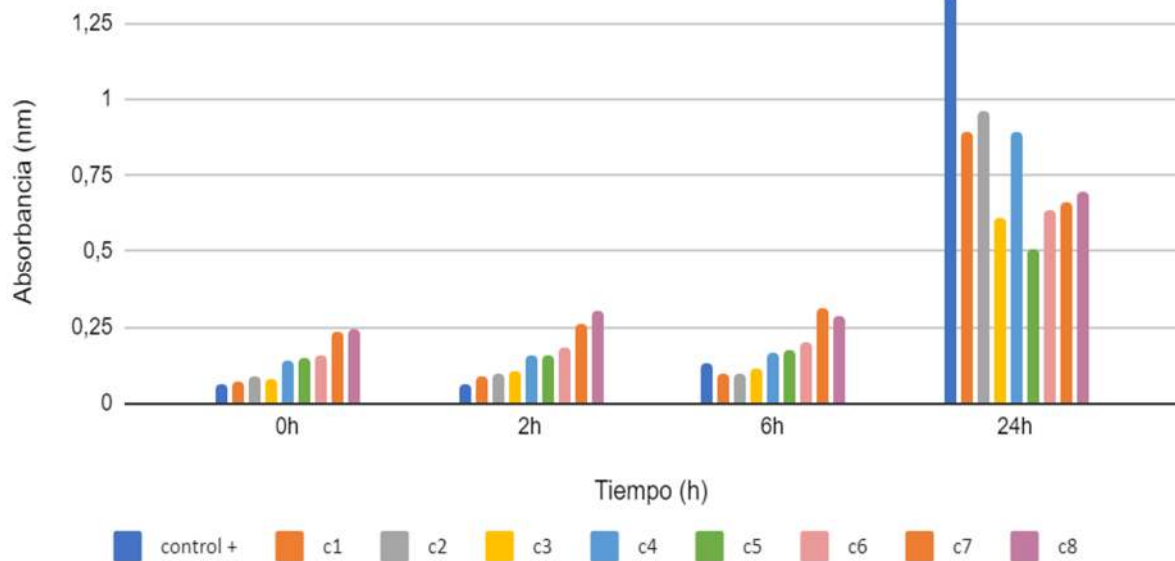
\*Valores de menor absorbancia



## Anexo 6

Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de melanoidinas en *S. Typhimurium*.

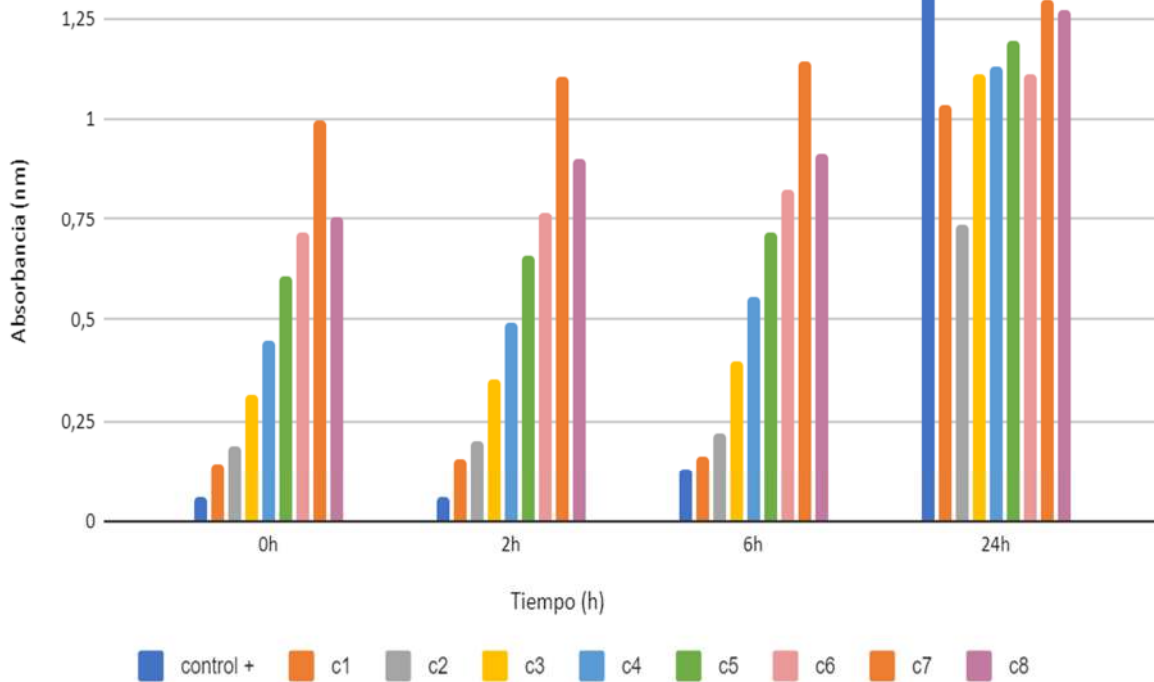
Conc ( $\mu\text{g/mL}$ ) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.
Control	0.062	0.052	0.075	0.063	0.072	0.053	0.057	0.061	0.156	0.163	0.070	0.130	1.385	1.379	1.269	1.344
1000	0.072	0.077	0.057	0.069	0.090	0.080	0.088	0.086	0.095	0.132	0.065	0.097	<b>1.095</b>	1.407	<b>0.170</b>	0.891
1500	0.118	0.079	0.061	0.086	0.128	0.086	0.075	0.096	0.136	0.093	0.071	0.100	<b>0.878</b>	1.599	<b>0.417</b>	0.965
2000	0.076	0.101	0.076	0.084	0.111	0.109	0.095	0.105	0.115	0.148	0.091	0.118	<b>0.150</b>	1.374	<b>0.308</b>	0.611
2500	0.204	0.124	0.089	0.139	0.233	0.137	0.106	0.159	0.244	0.159	0.107	0.170	<b>0.927</b>	1.323	<b>0.425</b>	0.892
3000	0.146	0.178	0.120	0.148	0.143	0.192	0.149	0.161	0.150	0.219	0.145	0.171	<b>0.272</b>	<b>0.863</b>	<b>0.381</b>	0.505
4000	0.134	0.206	0.140	0.160	0.150	0.224	0.172	0.182	0.157	0.263	0.170	0.197	<b>0.226</b>	<b>1.039</b>	<b>0.237</b>	0.638
5000	0.295	0.246	0.172	0.238	0.322	0.263	0.206	0.264	0.333	0.401	0.201	0.312	<b>0.934</b>	<b>0.732</b>	<b>0.314</b>	0.660
8000	0.330	0.212	0.187	0.243	0.378	0.228	0.306	0.304	0.391	0.249	0.215	0.285	<b>1.093</b>	<b>0.632</b>	<b>0.366</b>	0.697



## Anexo 7

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de polifenoles en S. Typhimurium.*

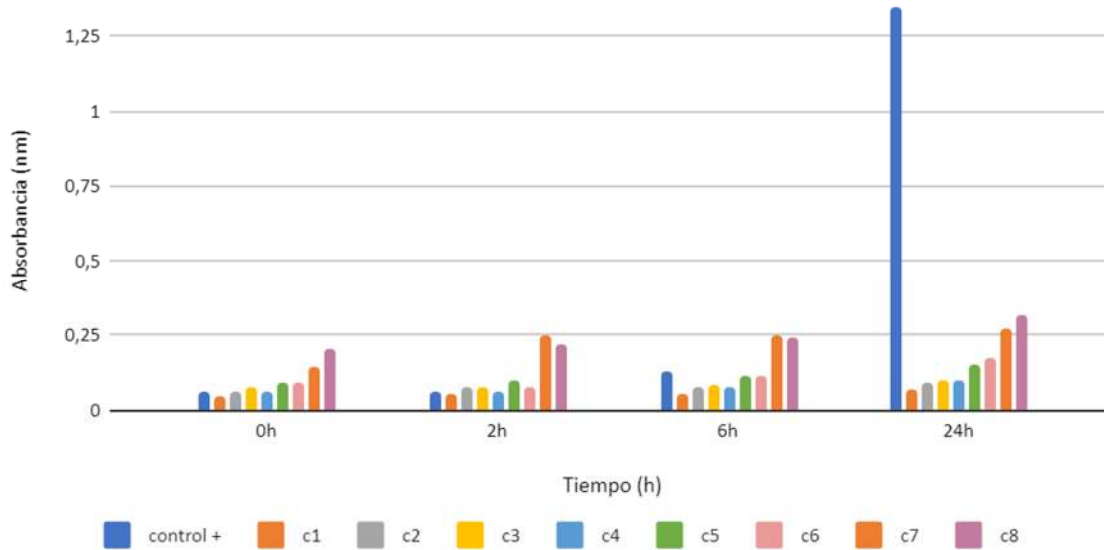
Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.
Control	0.062	0.051	0.075	0.063	0.072	0.053	0.057	0.061	0.156	0.163	0.07	0.130	1.385	1.379	1.269	1.344
62,5	0.201	0.069	0.157	0.142	0.213	0.071	0.175	0.153	0.212	0.103	0.179	0.165	<b>1.025</b>	1.467	<b>0.617</b>	1.036
125	0.227	0.092	0.241	0.187	0.241	0.097	0.271	0.203	0.247	0.132	0.281	0.220	<b>0.293</b>	1.451	<b>0.452</b>	0.732
250	0.389	0.118	0.436	0.314	0.434	0.124	0.502	0.353	0.555	0.146	0.495	0.399	<b>1.276</b>	<b>1.353</b>	<b>0.699</b>	1.109
500	0.603	0.155	0.589	0.449	0.675	0.166	0.638	0.493	0.779	0.236	0.656	0.557	<b>1.380</b>	<b>1.263</b>	<b>0.744</b>	1.129
700	0.921	0.211	0.684	0.605	0.992	0.226	0.763	0.660	1.111	0.273	0.757	0.714	1.577	<b>1.041</b>	<b>0.972</b>	1.197
900	1.056	0.166	0.933	0.718	1.121	0.175	0.998	0.765	1.264	0.181	1.019	0.821	1.706	<b>0.529</b>	<b>1.096</b>	1.110
1000	1.291	0.229	1.468	0.996	1.486	0.246	1.588	1.107	1.606	0.256	1.560	1.141	1.970	<b>0.320</b>	1.603	1.298
1100	1.601	0.289	0.366	0.752	1.966	0.304	0.438	0.903	1.984	0.333	0.414	0.910	2.131	<b>1.005</b>	<b>0.669</b>	1.268



## Anexo 8

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de tetraciclina en S. Typhimurium.*

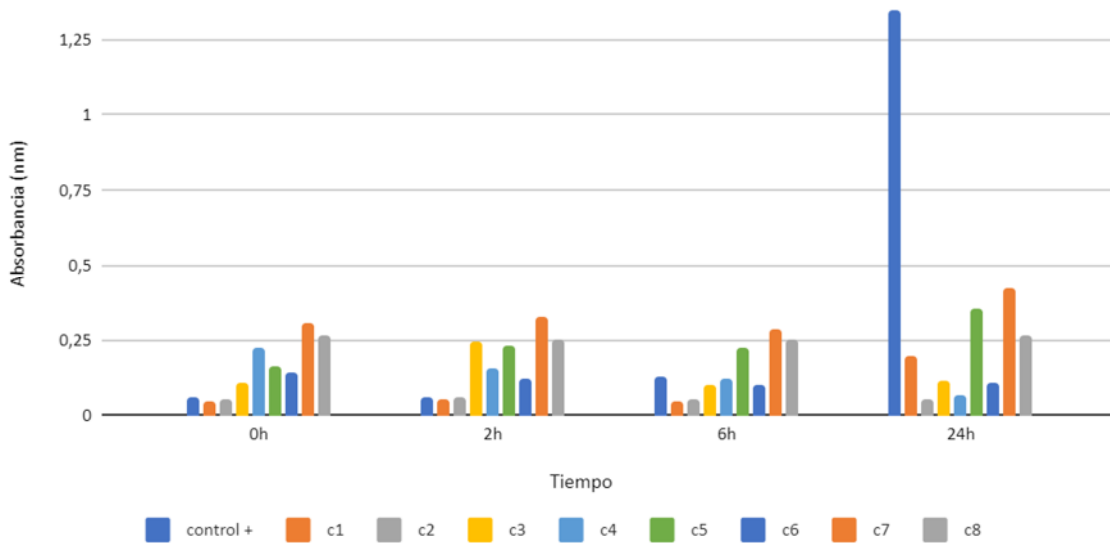
Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom
Control	0.062	0.051	0.075	0.063	0.072	0.053	0.057	0.061	0.156	0.163	0.070	0.130	1.385	1.379	1.269	1.344
1000	0.054	0.047	0.047	0.049	0.065	0.048	0.056	0.056	0.068	0.050	0.048	0.055	<b>0.084</b>	<b>0.064</b>	<b>0.065</b>	<b>0.071</b>
2000	0.057	0.066	0.057	0.060	0.085	0.068	0.073	0.075	0.088	0.071	0.063	0.074	<b>0.103</b>	<b>0.098</b>	<b>0.082</b>	<b>0.094</b>
3000	0.087	0.083	0.060	0.077	0.080	0.087	0.067	0.078	0.086	0.093	0.066	0.082	<b>0.102</b>	<b>0.122</b>	<b>0.08</b>	<b>0.101</b>
4000	0.062	0.060	0.056	0.059	0.062	0.064	0.060	0.062	0.067	0.073	0.078	0.073	<b>0.081</b>	<b>0.102</b>	<b>0.113</b>	<b>0.099</b>
5000	0.132	0.100	0.052	0.095	0.127	0.108	0.063	0.099	0.133	0.128	0.088	0.116	<b>0.159</b>	<b>0.165</b>	<b>0.131</b>	<b>0.152</b>
6000	0.143	0.075	0.055	0.091	0.064	0.090	0.071	0.075	0.071	0.119	0.146	0.112	<b>*0.103</b>	<b>0.153</b>	<b>0.198</b>	<b>0.176</b>
8000	0.148	0.148	0.137	0.144	0.293	0.143	0.309	0.248	0.315	0.162	0.260	0.246	<b>0.353</b>	<b>0.181</b>	<b>0.287</b>	<b>0.274</b>
10000	0.245	0.286	0.084	0.205	0.136	0.315	0.215	0.222	0.161	0.335	0.233	0.243	<b>*0.205</b>	<b>0.368</b>	<b>0.259</b>	<b>0.314</b>



## Anexo 9

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de trimetoprim sulfametoxazol en S. Typhimurium.*

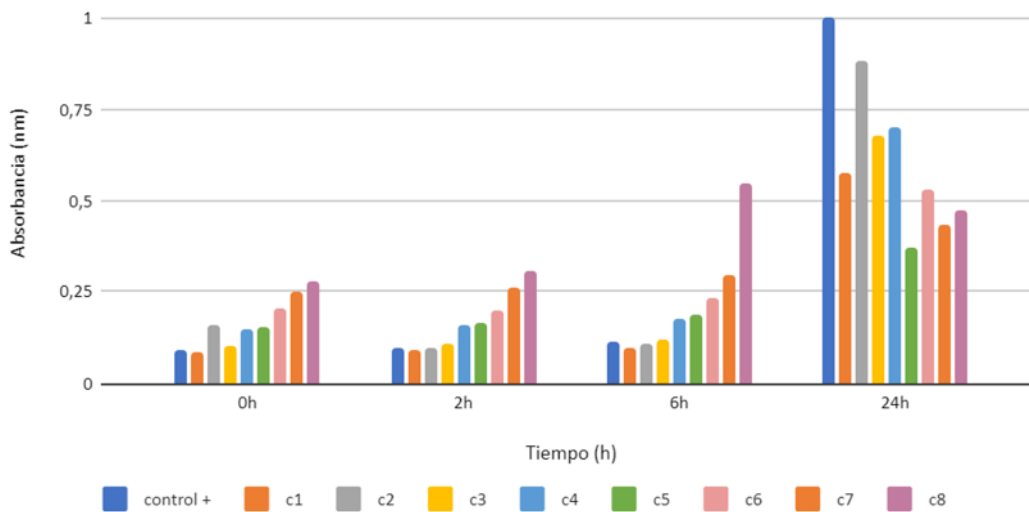
Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	prom	1	2	3	prom	1	2	3	prom	1	2	3	Prom
Control	0.062	0.051	0.075	0.063	0.072	0.053	0.057	0.061	0.156	0.163	0.070	0.130	1.385	1.379	1.269	1.344
300	0.055	0.047	0.040	0.047	0.058	0.051	0.056	0.055	0.054	0.052	0.041	0.049	<b>0.056</b>	<b>0.213</b>	<b>0.327</b>	<b>0.199</b>
500	0.066	0.052	0.049	0.056	0.054	0.054	0.067	0.058	0.056	0.054	0.052	0.054	<b>0.057</b>	<b>0.056</b>	<b>0.053</b>	<b>0.055</b>
1000	0.162	<b>0.093</b>	<b>0.063</b>	0.106	0.171	0.092	0.465	0.243	0.152	0.084	0.062	0.099	<b>0.189</b>	<b>0.085</b>	<b>0.061</b>	<b>0.112</b>
1500	<b>0.556</b>	0.063	0.053	0.224	0.179	0.067	0.218	0.155	0.232	0.067	0.058	0.119	<b>*0.391</b>	<b>0.073</b>	<b>0.058</b>	<b>0.066</b>
2000	<b>0.172</b>	0.233	0.079	0.161	0.069	0.367	0.265	0.234	0.071	0.524	0.084	0.226	<b>*0.077</b>	<b>0.427</b>	<b>0.284</b>	<b>0.356</b>
2500	<b>0.244</b>	0.081	0.105	0.143	0.089	0.081	0.196	0.122	0.086	0.087	0.120	0.098	<b>*0.091</b>	<b>0.100</b>	<b>0.119</b>	<b>0.110</b>
3000	0.490	0.264	0.157	0.304	0.199	0.310	0.464	0.324	0.290	0.405	0.157	0.284	<b>0.618</b>	<b>0.488</b>	<b>0.160</b>	<b>0.422</b>
3200	0.526	0.135	0.134	0.265	0.278	0.168	0.313	0.253	0.320	0.306	0.135	0.254	<b>0.460</b>	<b>0.184</b>	<b>0.150</b>	<b>0.265</b>



## Anexo 10

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de melanoidinas en S. aureus.*

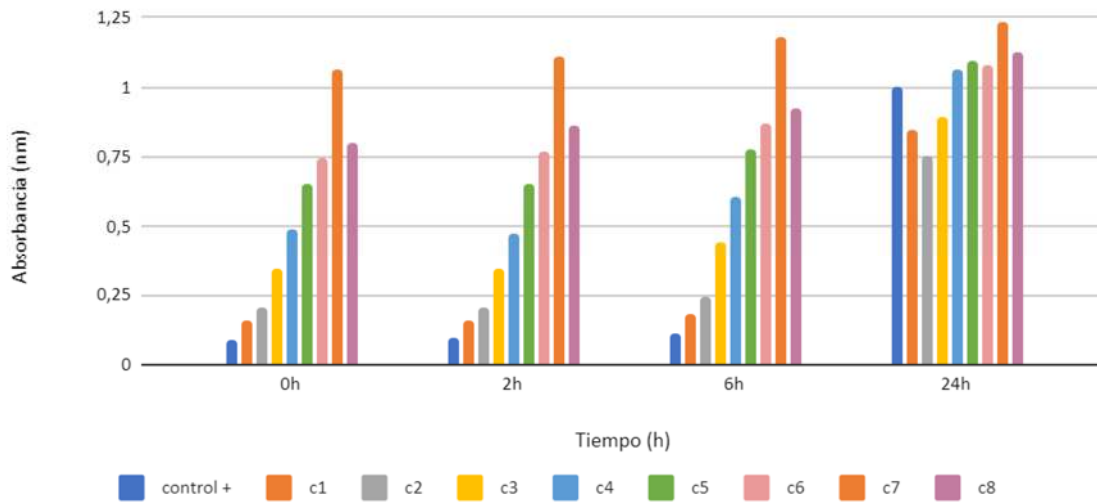
Conc (µg/mL)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom	1	2	3	prom	1	2	3	prom	1	2	3	Prom
Control	0.051	0.045	0.176	0.091	0.052	0.056	0.181	0.096	0.056	0.091	0.193	0.113	0.710	1.323	0.977	1.003
1000	0.090	0.078	0.088	0.085	0.096	0.083	0.088	0.089	0.103	0.099	0.085	0.096	<b>0.237</b>	1.408	<b>0.093</b>	0.579
1500	0.120	0.284	0.073	0.159	0.129	0.089	0.075	0.098	0.137	0.098	0.081	0.105	<b>0.541</b>	1.603	<b>0.506</b>	0.883
2000	0.104	0.103	0.094	0.100	0.113	0.113	0.095	0.107	0.123	0.133	0.104	0.120	<b>0.152</b>	1.614	<b>0.275</b>	0.680
2500	0.211	0.129	0.106	0.149	0.226	0.143	0.109	0.159	0.245	0.163	0.123	0.177	<b>0.288</b>	1.485	<b>0.336</b>	0.703
3000	0.140	0.182	0.143	0.155	0.152	0.198	0.149	0.166	0.164	0.224	0.169	0.186	<b>0.289</b>	<b>0.626</b>	<b>0.204</b>	0.373
4000	0.245	0.201	0.163	0.203	0.199	0.218	0.172	0.196	0.222	0.253	0.228	0.234	<b>0.396</b>	<b>0.984</b>	<b>0.219</b>	0.533
5000	0.301	0.249	0.199	0.250	0.320	0.265	0.206	0.264	0.344	0.311	0.229	0.295	<b>0.394</b>	<b>0.612</b>	<b>0.298</b>	0.435
8000	0.352	0.210	0.278	0.280	0.375	0.230	0.306	0.304	1.070	0.250	0.335	0.552	<b>0.472</b>	<b>0.592</b>	<b>0.370</b>	0.478



## Anexo 11

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de polifenoles en S. aureus.*

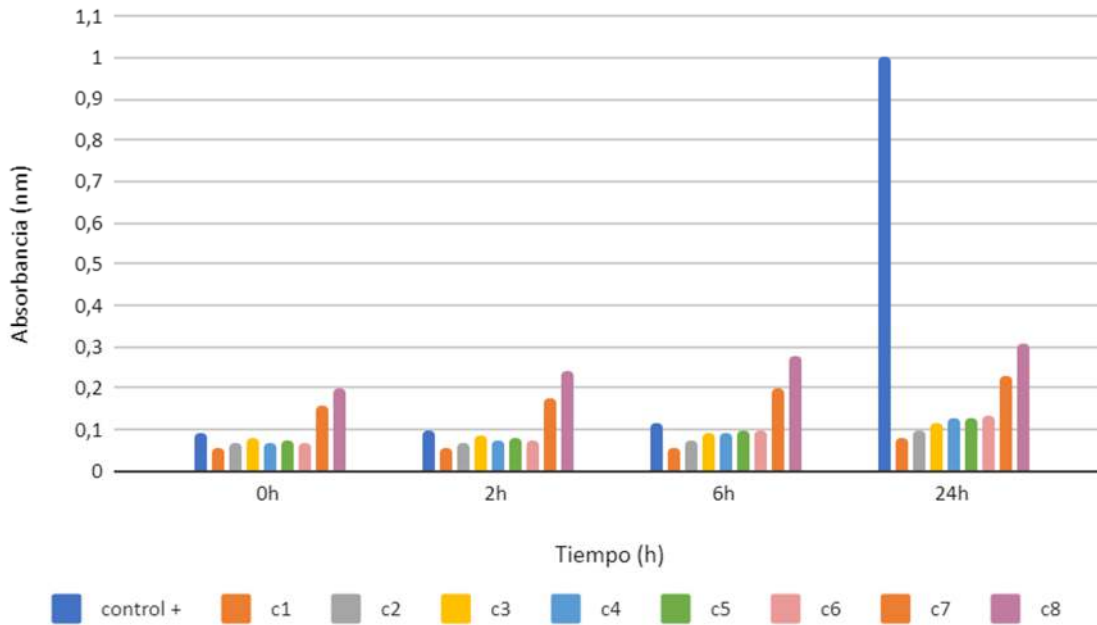
Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom
Control	0.051	0.045	0.176	0.091	0.052	0.056	0.181	0.096	0.056	0.091	0.193	0.113	0.710	1.323	0.977	1.003
62.5	0.213	0.082	0.170	0.155	0.220	0.083	0.175	0.159	0.248	0.094	0.190	0.177	<b>0.477</b>	1.457	<b>0.599</b>	<b>0.844</b>
125	0.240	0.104	0.264	0.203	0.249	0.089	0.271	0.203	0.298	0.117	0.305	0.240	<b>0.321</b>	1.426	<b>0.521</b>	<b>0.756</b>
250	0.410	0.117	0.492	0.340	0.421	0.113	0.502	0.345	0.582	0.139	0.621	0.447	<b>0.591</b>	1.415	<b>0.681</b>	<b>0.896</b>
500	0.649	0.182	0.636	0.489	0.654	0.143	0.638	0.478	0.802	0.218	0.798	0.606	0.968	1.410	<b>0.813</b>	<b>1.064</b>
700	0.986	0.214	0.754	0.651	0.997	0.198	0.763	0.653	1.140	0.253	0.939	0.777	1.151	<b>1.098</b>	1.043	1.097
900	1.090	0.170	0.982	0.747	1.094	0.218	0.998	0.770	1.255	0.190	1.167	0.871	1.266	<b>0.784</b>	1.189	1.080
1000	1.435	0.227	1.531	1.064	1.469	0.265	1.588	1.107	1.611	0.249	1.686	1.182	1.698	<b>0.296</b>	1.699	1.231
1100	1.693	0.276	0.421	0.797	1.917	0.230	0.438	0.862	1.984	0.305	0.472	0.920	2.011	<b>0.740</b>	0.630	1.127



## Anexo 12

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de tetraciclina en S. aureus.*

Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom	1	2	3	Prom	1	2	3	Prom	1	2	3	Prom
Control	0.051	0.045	0.176	0.091	0.052	0.056	0.181	0.096	0.056	0.091	0.193	0.113	0.710	1.323	0.977	1.003
1000	0.067	0.050	0.056	0.058	0.067	0.050	0.056	0.058	0.068	0.052	0.058	0.059	<b>0.093</b>	<b>0.074</b>	<b>0.068</b>	<b>0.078</b>
2000	0.072	0.059	0.065	0.065	0.077	0.061	0.073	0.070	0.086	0.064	0.079	0.076	<b>0.105</b>	<b>0.087</b>	<b>0.094</b>	<b>0.095</b>
3000	0.113	0.068	0.063	0.081	0.122	0.073	0.067	0.087	0.136	0.079	0.070	0.095	<b>0.159</b>	<b>0.098</b>	<b>0.088</b>	<b>0.115</b>
4000	0.074	0.083	0.053	0.070	0.077	0.091	0.060	0.076	0.082	0.101	0.085	0.089	<b>0.121</b>	<b>0.134</b>	<b>0.121</b>	<b>0.125</b>
5000	0.089	0.079	0.059	0.076	0.092	0.091	0.063	0.082	0.099	0.115	0.081	0.098	<b>0.119</b>	<b>0.157</b>	<b>0.111</b>	<b>0.129</b>
6000	0.061	0.079	0.062	0.067	0.063	0.096	0.071	0.077	0.068	0.127	0.102	0.099	<b>0.095</b>	<b>0.168</b>	<b>0.131</b>	<b>0.131</b>
8000	0.133	0.073	0.264	0.157	0.134	0.078	0.309	0.174	0.147	0.089	0.363	0.200	<b>0.182</b>	<b>0.125</b>	<b>0.387</b>	<b>0.231</b>
10000	0.312	0.147	0.149	0.203	0.330	0.176	0.215	0.240	0.362	0.205	0.259	0.275	<b>0.395</b>	<b>0.251</b>	<b>0.278</b>	<b>0.308</b>



## Anexo 13

*Promedios de absorbancia del efecto antimicrobiano de trimetoprim sulfametoxazol en S. aureus.*

Conc (µg/mL) /Tiem (h)	Tiempo 0 h				Tiempo 2 h				Tiempo 6 h				Tiempo 24 h			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.
Control	0.051	0.045	0.176	0.091	0.052	0.056	0.181	0.096	0.056	0.091	0.193	0.113	0.710	1.323	0.977	1.003
300	0.054	0.054	0.055	0.054	0.056	0.057	0.056	0.056	0.058	0.060	0.061	0.060	<b>0.097</b>	<b>0.079</b>	<b>0.062</b>	<b>0.079</b>
500	0.073	0.059	0.059	0.064	0.080	0.063	0.067	0.070	0.077	0.064	0.069	0.070	<b>0.111</b>	<b>0.071</b>	<b>0.071</b>	<b>0.084</b>
1000	0.113	0.064	0.343	0.173	0.121	0.066	0.465	0.217	0.115	0.069	0.539	0.241	<b>0.122</b>	<b>0.077</b>	<b>0.624</b>	<b>0.274</b>
1500	0.175	0.176	0.159	0.170	0.202	0.215	0.218	0.212	0.301	0.291	0.285	0.292	<b>0.603</b>	<b>0.159</b>	<b>0.346</b>	<b>0.369</b>
2000	0.084	0.152	0.160	0.132	0.098	0.183	0.265	0.182	0.106	0.341	0.317	0.255	<b>0.108</b>	<b>0.343</b>	<b>0.550</b>	<b>0.334</b>
2500	<b>0.152</b>	0.414	0.130	0.232	0.175	0.449	0.196	0.273	0.219	0.557	0.296	0.357	<b>*0.119</b>	<b>0.670</b>	<b>0.461</b>	<b>0.566</b>
3000	0.208	0.186	0.312	0.235	0.258	0.215	0.464	0.312	0.334	0.278	0.540	0.384	<b>0.503</b>	<b>0.726</b>	<b>0.586</b>	<b>0.605</b>
3200	0.200	0.167	0.232	0.200	0.213	0.181	0.313	0.236	0.256	0.275	0.356	0.296	<b>0.416</b>	<b>0.433</b>	<b>0.389</b>	<b>0.413</b>

