

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a hat and coat, possibly a saint or scholar, holding a book. Above him is a crown with a cross on top. To the left and right are castles. Below the central figure is a landscape with mountains and a figure on a horse. The Latin text 'CAROLINA ACADEMIA COACTEMALTENSIS INTER CAETERAS ORBIS CONSPICUA' is inscribed around the border of the seal.

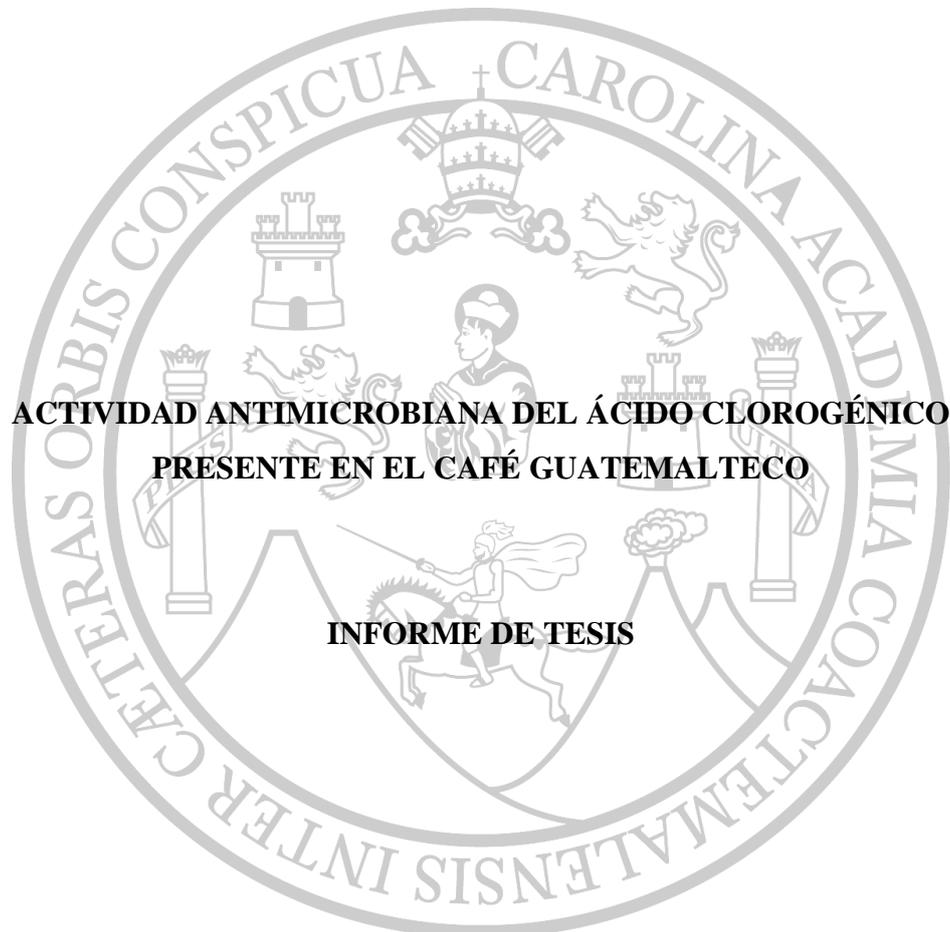
**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO
PRESENTE EN EL CAFÉ GUATEMALTECO**

ANGEL JOSUÉ TEJADA POITAN

QUÍMICO BIÓLOGO

GUATEMALA, MARZO 2022

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO
PRESENTE EN EL CAFÉ GUATEMALTECO**

INFORME DE TESIS

**PRESENTADO POR
ANGEL JOSUÉ TEJADA POITAN**

**PARA OPTAR POR EL TITULO DE
QUÍMICO BIÓLOGO**

GUATEMALA, MARZO 2022

JUNTA DIRECTIVA

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Giovani Rafael Funes Tovar	Vocal IV
Br. Carlos Merarí Caceros Castañeda	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme su infinita gracia para poder culminar esta etapa de la vida y por proporcionarme la fortaleza para seguir adelante en cada momento.

A mis padres, por el apoyo incondicional, el esfuerzo, dedicación, comprensión y amor en todo momento.

A mi familia, por siempre brindar los ánimos cuando fueron necesarios y el abundante cariño.

A mis amigos, con quienes he compartido muy buenas experiencias durante este tiempo, pero también por su apoyo incondicional.

A mi asesora, M. A. Isabel Gaitán, por el tiempo, conocimiento y orientación durante el la realización de nuestro trabajo de graduación, por las mejoras y sugerencias proporcionadas, así mismo por el cariño y apoyo brindado a lo largo de la carrera universitaria.

A mi revisor, M. Sc. Jorge Pérez Folgar, por el tiempo, orientación y revisión de nuestro trabajo de graduación.

A la Finca Agroindustrial San Carlos y don Jorge Sosa, por su apoyo en la realización de esta investigación.

A la Universidad San Carlos de Guatemala y la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por los conocimientos y valores transmitidos durante mi formación profesional.

ÍNDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	4
A. IMPORTANCIA DE LAS PLANTAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL	4
B. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN GUATEMALA.	6
C. USO DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO	9
D. ETNOBOTÁNICA DE <i>Coffea arabica</i> L.	10
IV. JUSTIFICACIÓN	13
V. OBJETIVOS	15
A. GENERALES	15
B. ESPECIFICOS	15
VI. HIPOTESIS	16
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	17
A. UNIVERSO	17
B. MUESTRA	17
C. RECURSOS	17
D. MATERIALES	17
E. METODOLOGÍA	19
F. DISEÑO ESTADÍSTICO	22
VIII. RESULTADOS	24
IX. DISCUSIÓN	28
X. CONCLUSIONES	30
XI. RECOMENDACIONES	31
XII. REFERENCIAS	32
XIII. ANEXOS	37

I. RESUMEN

Las bacterias y los hongos son microorganismos que se pueden encontrar en cualquier área del cuerpo, como la piel, mucosas, tracto respiratorio superior, tracto genitourinario y tracto gastrointestinal. Algunos causan patologías al ser humano estos pueden ser patógenos verdaderos u oportunistas que han llevado a la búsqueda de agentes antimicrobianos, los cuales han contribuido a reducir considerablemente de número de casos y la mortalidad por enfermedades infecciosas. Sin embargo, los antibióticos han sido utilizados de forma indiscriminada que muchos microorganismos se han vuelto resistentes, favoreciendo las infecciones persistentes que pueden ser de alto riesgo o incluso producir la muerte.

La resistencia antimicrobiana es cosmopolita y nuevos mecanismos de resistencia están surgiendo, incrementando el riesgo de la propagación de cepas resistentes y multirresistentes, por tanto, este uno de los problemas de salud pública más urgentes a nivel mundial.

Desde hace varios años la comunidad científica se ha visto interesada por compuestos naturales con capacidad antimicrobiana, ya que se ha demostrado que los compuestos fitoquímicos como el ácido clorogénico ha demostrado dicha actividad, por medio de diferentes mecanismos de acción como el daño a la pared celular, la inhibición de la actividad enzimática y producción de toxinas.

En el presente estudio se evaluó la actividad antimicrobiana del ácido clorogénico presentes en el café guatemalteco, ya que a lo largo del proceso de manufactura del café se genera una variedad productos derivados como la pulpa, que en la mayoría de las ocasiones son subutilizados o desechados.

Este estudio evaluó la actividad antimicrobiana del ácido clorogénico extraído de pulpa de café de la variedad Borbón, frente bacterias Gram positivo (*Bacillus cereus* ATCC33019 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), frente a los cuales no presento actividad, Gram negativo (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella Typhi*, *Salmonella arizonae* ATCC 12325, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), en las cuales no presentó actividad y frente a *Candida* sp en donde no se presentó actividad antilevadura; así mismo se determinó la actividad antimicótica frente a dermatofitos (*Microsporum gypseum*, *Trichopyton mentagrophytes*, *Trichopyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*) en donde se obtuvo inhibición a una Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de 0.56 mg/mL.

Con los resultados anteriores se prueba la hipótesis planteada que el ácido clorogénico tiene actividad antimicrobiana y/o antimicótica por lo menos contra uno de los microorganismos de estudio.

Se recomienda realizar más investigaciones con otras variedades de café a lo largo del país y realizar la actividad antimicrobiana y la actividad antilevadura a concentraciones mucho más altas de las realizadas en el presente bioensayo.

II. INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país que tradicionalmente utiliza plantas de forma medicinal y estos conocimientos se han transmitido de generación a generación, especialmente en el interior del país, esto debido a la confianza y el bajo costo que presentan, sin embargo estas no han sido investigadas sistemáticamente, hasta inicios de los años 90 (Cáceres, Samayoa, y Ligia, 1991).

Recientemente se han hecho varios descubrimientos sobre los beneficios del café, demostrando que posee actividad antioxidante, antiinflamatoria, antibacteriana, efecto reductor de las células cancerosas, regula la diabetes, mejora el cuadro clínico de enfermedades hepáticas y confiere cierta protección en el desarrollo de la enfermedad del Parkinson; esto debido a distintos componentes y metabolitos secundarios que posee, siendo uno de ellos es el ácido clorogénico, el cual se encuentra presente en el fruto y sus derivados (Caceres, Pinales, Ramos, Marroquín, & Cruz, 2020).

En el 2019 Guatemala fue el noveno país más exportador de café del mundo según la Internatinal Coffee Organization, alcanzando 4.63 millones de quintales de café oro (Palacios, 2019), de los cuales se ha desaprovechado los desechos del fruto del café, como lo es la pulpa.

En el presente trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de la pulpa de café frente a distintos microorganismos, con el fin de validarla como un posible producto medicinal. Se realizó un tamizaje de la actividad antibacteriana y antilevadura, por el método de difusión en agar y se determinará en los extractos positivos su concentración mínima inhibitoria (CIM). La actividad antimicótica se evaluó utilizando el método descrito por Brancato y Golding modificado por McRae.

III. ANTECEDENTES

A. IMPORTANCIA DE LAS PLANTAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL

Desde la antigüedad varias culturas alrededor del mundo crearon numerosas divinidades para justificar la causa sobrenatural y religiosa de la enfermedad, pero al mismo tiempo adquirieron conocimiento sobre el valor curativo de las plantas, siendo estas el principal o el único recurso que tenían para ejercer la medicina (Murillo, 2019). La cultura maya no eran la excepción y su conocimiento fue transmitido de generación en generación, de tal forma que actualmente aún se tiene conocimiento de parte de esta información, principalmente en el interior del país (Comerford, 1996).

Se han realizado diversos estudios sobre los beneficios de las plantas alrededor del mundo, pero ante la reciente necesidad de encontrar nuevos antimicrobianos se han realizado diversos estudios, por ejemplo en el año 1989 en Panamá, se investigó la actividad antifúngica de isoflavonoides extraídos de *Erythrina berteroana* (Palo de pito), mostrando la inhibición en el crecimiento de *Cladosporium cucumerinum* (Maillard, Hamburger, Gupta, & Hostettmann, 1989).

En Argentina, la investigación de Anesini y colaboradores en el año 1993 demostraron el uso de 122 especies de plantas las cuales se utilizan como tratamientos populares. Se documentó que, entre los compuestos extraídos de estas plantas, 12 inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, 10 el de *Escherichia coli* y cuatro inhibieron a *Aspergillus niger*. El compuesto con mejor actividad fue el extraído de *Tabebuia impetiginosa* (Lapacho rosado).

González y colaboradores en el año 1994 realizaron un cribado de la actividad antimicrobiana y la actividad citotóxica de 9 plantas medicinales, de las cuales 4 pertenecían a la familia de *Celatraceae* y 5 a la familia de *Lamiaceae*, realizando 34 extractos de distintos sitios de la planta, obteniendo como resultado que 18 (53%) de los extractos mostraban actividad antimicrobiana contra dos o más microorganismos, de los cuales el 64.7% mostraron actividad frente a bacterias Gram positivas, siendo principalmente efectivo frente *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* y *Micrococcus luteus*; y 8 (23.5%) presentó actividad

frente a bacterias Gram negativo, siendo principalmente efectivo frente *Proteus mirabilis* y una presentó actividad frente a las levaduras *Sacharomyces cereviceae* y *Candida albicans*.

Nascimento y colaboradores en el año 2000 evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de plantas y compuestos fitoquímicos contra microorganismos resistentes, dentro de los cuales se encontraban *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* var Choleraesuis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Proteus* spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* spp, *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*. Se utilizaron extractos de distintas plantas en donde se observaron los mayores potenciales antimicrobianos para los extractos de *Caryophyllus aromaticus* y *Syzygium joabolanum*, con una mayor actividad contra las bacterias resistentes a los antibióticos (83,3%).

En un estudio realizado en 2010 por Escalona-Arranz y colaboradores evaluaron la actividad antimicrobiana de la planta de *Tamarindus indica* (tamarindo), frente *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*, mostrando actividad únicamente frente *B. subtilis*.

Ese mismo año Vila y colaboradores evaluaron la actividad antimicrobiana, antifúngica y su actividad frente a larvas de *Aedes aegypti* del α -bisabolol, que es un aceite esencial el cual se extrajo de hojas de *Plinia cerrocampensis*, el cual demostró tener alta actividad frente *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* con una concentración inhibitoria mínima (CIM) entre 32 a 125 $\mu\text{g/mL}$ y presentó una inhibición potente y bactericida frente *Helicobacter pylori* con una CIM y concentración bactericida mínima (MBC) de 63.5 $\mu\text{g/mL}$ y presentó 100% de efectividad frente a larvas de *A. aegypti* (Vila et al., 2010).

En el estudio del 2016 de Lima y colaboradores se evaluaron distintos compuestos fenólicos como: ácido gálico, ácido cafeico y pirogalol, como resultado se encontró que el ácido cafeico posee un efecto antibacteriano potenciador sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

B. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN GUATEMALA.

A pesar que en el interior del país las plantas medicinales son utilizadas de manera recurrente, aun no se han investigado sistemáticamente las distintas especies medicinales y sus usos, pero varios investigadores nacionales han incrementado las investigaciones cercano a los años 90 y han realizado un gran avance en las investigaciones dentro de los cuales se destacan los hallazgos de Girón y colaboradores en el año 1988 quienes detectaron 71 plantas usadas para el tratamiento de vaginitis por curanderos y comadronas, de las cuales 8 de ellas mostraron inhibición frente a *Candida albicans*.

Así mismo se realizó un estudio sobre plantas 84 plantas más utilizadas para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales, testeando con cinco enterobacterias patógenas al humano, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Shigella flexneri*, encontrando que 34 (40.48%) de las plantas inhibían a una o más de las bacterias testeadas y la más inhibida fue *Salmonella typhi* (33.73%) y la más resistente fue *Escherichia coli* (7.35%) (Cáceres, Cano, Samayoa, & Aguilar, 1990).

Cáceres y colaboradores en el año 1991 realizaron tamizaje de actividad antimicrobiana de 154 plantas, demostrando que 67 de ellas presentaban actividad contra bacterias de importancia médica, tal es el caso de *Acalypha guatemalensis* Hierba del cáncer, corrimiento o gusanillo), contra *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*, *Guazuma ulmifolia* (Árbol de caulote), contra *Shigella flexneri* y *S. typhi*, *Sambucus mexicana* que inhibió *S. flexneri* y *S. typhi* y *Tagetes filifolia* (Anís serrano o Anís de monte) contra a *S. flexneri* y *S. typhi*.

Una tesis realizada en el año 1995 evaluó la actividad antimicrobiana de *Brosium alicastrum* (El Ramón), *Cassia alata* (Guacamaya francesa), *Quercus skinneri* (Encino) y *Tabebuia rosea* (Matilisguate), cuatro arboles nativos de Guatemala, en el cual *Quercus skinneri* fue quien presentó mayor inhibición bacteriana, pero con actividad antimicótica pobre; *Streptococcus pyogenes* fue la bacteria más inhibida en el estudio, siendo *Quercus skinneri* y *Cassia alata* que presentaron dicha actividad, cabe recalcar

que la mayor actividad antimicótica se obtuvo frente *Microsporium gypseum*, *Trichopyton rubrum* y *Candida albicans* (Hernández, 1995).

Ese mismo año se realizó otra tesis en la que se evaluó la actividad antimicrobiana de siete plantas nativas de la flora nativa de Guatemala, siendo estas: *Piper auritum* (Hoja de Jute), *Euphorbia pulceherrima* (Pascua), *Manihot esculenta* (Yuca), *Sechium edule* (Guisquil), *Sansevieria kyachithoides* (Oreja de burro), *Mimosa albida* var. *Floribunda* (Zarza viva), *Heliantemun* sp. (Hierba de loro) de las cuales *Heliantemun* sp, demostró actividad frente a *Staphylococcus aureus*, con una CIM de hasta 5 mg/mL y también presento actividad frente *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum* y *Trichopyton rubrum* (Beherens, 1995).

Una tesis realizada en el 1997 demostró la actividad antimicrobiana y antimicótica de diez extractos de cinco plantas medicinales de la familia *Compositae*, de los cuales dos mostraron actividad antimicrobiana y cinco actividad antimicótica, el CIM para la actividad antimicrobiana frente a *Candida albicans* fue de 5 mg/mL para el extracto de flor de *Pluchea odorata* (Santa María) y de 2.5 mg/mL del extracto de hoja de *Pluchea odorata* (Santa María). De los cinco extractos que tienen actividad antimicótica la hoja de *Eupatorium odolatum* (Siguapate), tallo de *Vernonia deppeana* (Suquinay) y hoja de Suquinay mostraron un CIM de 5 mg/mL y la flor de Siguapate un CIM de 10 mg/mL contra *Microsporium gypseum* y la CIM del extracto de la raíz de *Tridax procumbens* (hierva de toro) fue de 5mg/mL contra *Trichopyton rubrum* (Rico, 1997).

Una tesis realizada en 1998 se realizó una investigación sobre la actividad antimicrobiana de extractos de raíz, rizoma, tallo y hojas de diferentes especies del género *Smilax*, de las cuales la raíz de *Smilax regelii* (Zarzaparrilla)mostró actividad frente *Staphylococcus aureus*, el rizoma de *Smilax lundellii* mostró actividad frente *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri* y el rizoma de *Smilax spinosa* demostró actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que frente a *Candida albicans* únicamente el rizoma de *Smilax lundellii* demostró tener actividad; los extractos que presentaron actividad antimicótica, fue la raíz de *Smilax regelii* que demostró actividad frente a *Microsporium gypseum*, *Trichopyton rubrum*, *Aspergillus flavus* y *Epidermophyton floccosum* y el extracto de raíz y rizoma de *S. lundellii* mostró actividad frente *Microsporium gypseum*, *Trichopyton rubrum*,

Epidermophyton floccosum y el extracto de raíz de *Smilax spinosa* mostro actividad frente a *Trichopyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum* (Pineda, 1998).

En el año 2000 se realizó una tesis sobre la inhibición de bacterias nosocomiales multiresistentes por extractos vegetales mesoamericanos con actividad antimicrobiana, para lo cual se aislaron *Pseudomonas aeruginosa* con susceptibilidad intermedia a Imipenem, *Klebsiella ozanae* multirresistente y *Staphylococcus aureus* susceptible a vancomicina, de las cuales *Byrsonima crassifolia* (Árbol de Nance), *Psidium guajava* (Árbol de guayaba), *Simarouba glauca* (Aceituno) y *Lippia graveolens* (Orégano) mostraron actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *B. crassifolia*, *S. gauca* y *L. graveolens* mostraron actividad frente a *Staphylococcus aureus* y únicamente *L. graveolens* mostro actividad frente a *Klebsiella azanae*, todas estas a un CIM de 1000 ppm y únicamente *L. graveolens* mostro actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *B. crassifolia* frente a *Staphylococcus aureus* a un CIM de 500 ppm (Aguilar, 2000).

En el año 2003 se realizó un estudio sobre cinco plantas utilizadas en Izabal en distintas enfermedades infecciosas, las cuales eran: *Acalypha guatemalensis*, *Ocimum micranthum* (Albahaca), *Smilax spinosa*, *Guazuma ulmifolia* (Guásimo) y *Piper auritum* de las cuales *A. guatemalensis* mostro actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*; *S. spinosa* mostro actividad frente a *Salmonella typhi* y *A. guatemalensis* y *Smilax spinosa* mostraron actividad frente a *Tripanosoma cruzi* (Navarro et al., 2003).

En la tesis realizada por Gaitán, en el año 2005 se evaluó la actividad de doce plantas nativas guatemaltecas frente a *Sporotrix schenckii* de las cuales solo *Valeriana prionophylla* y *Lippia graveolens* mostraron actividad frente a la fase miceliar con un CIM de 0.025 y 0.1 mg/ mL respectivamente.

En el año 2010 se realizó una tesis en la cual se evaluó la actividad antimicrobiana de seis plantas de uso medicinal “*Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum* (Conrdoncillo), *Psidium guajava*, *Acalypha guatemalensis*, *Smilax domingensis* (Zarzaparrilla) y *Solanum americanum* (Macuy)” contra las principales cepas de bacterias “*Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus sp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*” y hongos “*Microsporium canis*, *Microsporium gypseum* y *Trichophyton mentagrophytes*” que afectan piel y oído en perros, de la cual *Piper*

jacquemontianum presentó actividad contra todos los microorganismos antes mencionados (Chávez, 2010).

En el año 2011 se evaluó la actividad inhibitoria de quince “*Acalypha pseudoalopercuroides* (Hierba del cáncer), *Bourreria huanita* (Oreja de León), *Byrsonima crassifolia* (Nance), *Cassia grandis* (Cañandonga), *Cornutia pyramidata* (Hoja de zope Cucaracha), *Lippia graveolens* (Orégano), *Phlebodium pseudoaureum* (Calahuala), *Piper aduncum* (Cordoncillo blanco), *Piper jacquemontianum* (Caracas peper), *Rhizophora mangle* (Mangle rojo), *Smilax domingensis*, *Solanum nigrescens* Macuy), *Ternstroemia tepezapote* (Trompillo), *Valeriana prionophylla* (Valeriana) y *Wigandia urens var. caracasana* (Mala mujer)” extractos de plantas con actividad antimicrobiana contra *Neocardia brasiliensis*, de los cuales los extractos que mostraron mayor actividad fueron el etanólico de corteza de *C. grandis*, etanólico de hoja de *C. pyramidata*, metanólico de hoja de *P. jacqueontianu* y metanólico de raíz de *V. prionophylla*, y quien tuvo mejor actividad significativa fue *C. grandis* con un CIM de 0.25mg/mL (Morales, 2011).

En el año 2012 se evaluó la actividad antimicrobiana y antimicótica de los extractos de cinco especies de plantas del género *Vernonia* “*Vernonia deppeana* Less, *Vernonia patens* Kunth, *Vernonia scorpioides* Pers, *Vernonia tortuosa* Blake, *Vernonia triflosculosa* Kunth” nativas del sur-occidente de Guatemala, de las cuales se demostró que *V. deppeana* y *V. scorpioides* inhibieron el crecimiento de *Microsporium gypseum*, siendo *V. deppeana* quien presento mejor actividad con un CIM de 0.25 mg/dL (Canel, 2012).

Una tesis realizada en el año 2013 evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de la infusión de hoja de guayaba (*Psidium guajava*, L.) sobre las principales bacterias que causan enteritis en lechones, teniendo actividad frente a *Salmonella typhimurium* y *Clostridium perfringens* tipo A, para los cuales se necesitó una concentración del extracto de 20% y 2.5% respectivamente (Suruy, 2013).

C. USO DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO

El ácido clorogénico (Figura 1) pertenece a uno de los grupos de compuestos fenólicos que está clasificado dentro de los fitoquímicos los cuales son metabolitos secundarios que son producidos por las plantas e incluyen a los ácidos fenólicos y tiólicos, terpenos, lignanos y flavonoides, estos son responsables de proveer colores y sabores a frutas y verduras, así como proteger a las plantas frente a distintos tipos de estrés, como depredadores o infecciones (Gasaly, Riveros, & Gotteland, 2020).

El ácido clorogénico está formado por conjugados de ácido quínico con ácido cafeico, ferúlico o p-cumárico, este ha sido objeto de múltiples investigaciones, ya que se ha observado que es beneficioso para el ser humano debido a sus características como hipoglicemiante, antiviral, hepatoprotector, nutraceutico, antioxidante y con capacidad antimicrobiana(Chaves y Esquivel, 2019).

D. ETNOBOTÁNICA DE *Coffea arabica* L.

1. Nombre de la Planta

Coffea arabica L.

2. Familia

Rubiaceae

3. Nombres comunes

Café, Coffee (Rodriguez, 2008)

4. Descripción botánica

Arbusto no más de 5.5 a 7 metros de altura en cultivos, sus hojas son medianas, opuestas y simples, ovales, de color verde oscuro, con borde ondulado, de base obtusa y ápice acuminado, 8-13 cm de largo y 4.5 cm de ancho (Figura 2). Sus inflorescencias son en cimas paucifloras axilares (Figura 3) y sus frutos son carnosos, ovoides de color rojo brillante con dos semillas cuando maduran (Figura 2) (Wagner, 2001).

Esta planta crece en regiones tropicales y subtropicales particularmente en regiones Ecuatoriales entre 200-1600 metros sobre el nivel del mar y a una temperatura entre 18-22 °C (Caceres et al., 2020)

5. Origen y Distribución geográfica

Nativa de África, posiblemente Etiopía. Naturalizada y cultivada por: Colombia, África, América, Brasil, Vietnam, Guatemala, Costa Rica y Honduras, los cuales son los principales productores. En Guatemala es cultivado en todos los departamentos excepto en Totonicapán (Rodríguez, 2008).

6. Información de la planta de Café en Guatemala

En Guatemala las primeras plantas de café fueron traídas durante la conquista española por sacerdotes jesuitas y los primeros cultivos se encontraban en jardines de conventos en Santiago de los caballeros, ya que eran utilizadas como plantas ornamentales para los jardines de sus monasterios (Wagner, 2001).

Alrededor de los años 1850 y 1860 se comenzó a desarrollar la industria con un inicio lento debido a la falta de mano de obra y la tecnología. Posterior a ello las plantaciones fueron creciendo debido a la erupción del volcán Santa María en el año 1902, que afectó a las plantaciones de la región de occidente, pero favoreció a las condiciones climáticas por el incremento de minerales, posterior a ello las fincas en Antigua Guatemala, rompen récord en sus cosechas por los próximos cinco años, lo que lo llevó a convirtiéndose uno de los principales productos de la economía guatemalteca (Wagner, 2001).

Actualmente la Asociación Nacional del Café (ANACAFÉ), reporta aproximadamente 60,000 personas inscritas las cuales producen café, entre ellos, fincas, cooperativas, y pequeños productores evidenciando que el café sigue siendo un producto de alta producción en Guatemala (Wagner, 2001).

7. Usos medicinales

El café como alimento ha demostrado tener propiedades antioxidantes, reduce el cáncer, diabetes y la incidencia de enfermedades hepáticas, así como la protección contra la enfermedad del Parkinson. Los extractos de los granos de café han demostrado tener un efecto hipertensivo en ratas hipertensas, y el ácido clorogénico presente ha demostrado tener propiedades antiinflamatorias, antibacteriana y anticancerígenas ya que protege el ADN por su actividad antioxidante(Cáceres et al., 2020).

Diversas investigaciones realizadas han demostrado que la capacidad inhibitoria del café o sus componentes y en algunos casos, se ha podido demostrar que el ácido clorogénico presente en el café esta involucrado en la actividad antibacteriana contra enterobacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* (Almeida, Farah, Silva, Nunan, & Glória, 2006), en un estudio para comprobar la actividad antibacteriana del ácido clorogénico frente a bacterias Gram positivo y Gram negativo se observó que la concentración mínima inhibitoria contra *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, y *Salmonella Typhimurium* y siendo más efectivo contra Gram positivo *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, y *Bacillus subtilis* (Lou, Wang, Zhu, Ma, & Wang, 2011).

Suárez y colaboradores (2013) utilizaron el método de difusión en agar para evaluar la actividad antimicrobiana y antifúngica del ácido clorogénico frente a *Bacillus cereus*, *Clostridium sporogenes*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus ochraceus*.

Si bien se sabe que en proceso de cultivo y manufactura del café se generan una serie de productos como la broza, mucílago, pergamino y la pulpa, que en muchas ocasiones son subutilizados, a pesar de que poseen cantidades importantes de ácido clorogénico (Chaves y Esquivel, 2019) y los anteriores estudios demuestran que los subproductos del café pueden ser de gran importancia para la salud pública ya que pueden ser utilizados como antimicrobianos y antifúngicos en distintas patologías o como posibles fuentes de compuestos para la elaboración de medicamentos.

IV. JUSTIFICACIÓN

Las bacterias y los hongos son microorganismos que se pueden encontrar en cualquier área del cuerpo, como la piel, mucosas, tracto respiratorio superior, tracto genitourinario y tracto gastrointestinal.

Algunos causan patología al humano, como es el caso de *Staphylococcus aureus* (agente etiológico más común en infecciones supurativas), *Pseudomonas aeruginosa* (responsable de una gran variedad de infecciones de la piel, tracto urinario y otros) y *Candida* spp. patógeno oportunista que forma parte de la microbiota normal mixta y que bajo condiciones de inmunosupresión puede proliferar e invadir cualquier parte del cuerpo, por lo que es la micosis oportunista más común.

La gama tan amplia de infecciones por patógenos verdaderos u oportunistas han llevado a la búsqueda de agentes antimicrobianos, los cuales han contribuido a reducir considerablemente de número de casos y la mortalidad por enfermedades infecciosas. Sin embargo, los antibióticos han sido utilizados de forma indiscriminada que muchos microorganismos se han vuelto resistentes, favoreciendo las infecciones persistentes que pueden ser de alto riesgo o incluso producir la muerte.

Desde hace varios años la comunidad científica se ha visto interesada por compuestos naturales con capacidad antimicrobiana, ya que se ha demostrado que los compuestos fitoquímicos son los responsables de esta actividad, las cuales incluyen diferentes mecanismos de acción como el daño a la pared celular, la inhibición de la actividad enzimática, producción de toxinas o la formación de biopelículas.

Los fenoles son un grupo de compuestos fitoquímicos, donde se incluye a los compuestos conjugados de ácido quínico y un derivado cinámico, conocido como ácido clorogénico, el cual se forma por la esterificación de ácido quínico con ácido cafeico, ferúlico o p-cumárico, que son compuestos presentes en diferentes partes del fruto del café, incluidos los productos derivados que en la mayoría de las ocasiones son subutilizados o desechados. Estos productos poseen cantidades importantes de ácido clorogénico, lo que los hace productos de interés para la industria farmacéutica, ya que se han reportado su actividad antioxidante y antiinflamatoria.

Actualmente en Guatemala se han realizado varios estudios de la actividad antimicrobiana de distintos tipos de plantas como nuevos modelos de medicamentos, sin embargo, no existe un estudio que evalúe la actividad antimicrobiana y antifúngica de la pulpa del café.

V. OBJETIVOS

A. GENERALES

Evaluar la actividad antimicrobiana del ácido clorogénico presente en el café guatemalteco.

B. ESPECIFICOS

Determinar la actividad inhibitoria del ácido clorogénico de la pulpa de café contra bacterias Gram positivo, Gram negativo, dermatofitos y levaduras.

Buscar la concentración mínima inhibitoria del ácido clorogénico contra bacterias y hongos que presentaran actividad.

VI. HIPOTESIS

El ácido clorogénico tiene actividad antimicrobiana y/o antimicótica por lo menos contra uno de los microorganismos de estudio.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO

Ácido clorogénico proveniente de pulpa de café guatemalteco.

B. MUESTRA

Ácido clorogénico de la pulpa de café arábigo (*Coffea arabica*) proveniente de la finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A. ubicada en Santa Cruz Verapaz, Alta Verapaz (Figura 4).

C. RECURSOS

1. Humanos

Tesista: Br. Angel Josué Tejada Poitan.

Asesora: M.A. Isabel Cristina Gaitán Fernández

2. Institucionales

- Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala (USAC)
- Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC
- Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos -LAFYM-, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala, USAC
- Finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A.

D. MATERIALES

1. Reactivos

- Agar Mueller-Hinton
- Agar Sabouraud
- Agua desmineralizada
- Etanol al 100 %
- Ácido 5-cafeoilquinico

2. Equipo

- Autoclave
- Balanza Analítica
- Cabina de bioseguridad Nivel II
- Computadora personal con: Office® , Microsoft TM Corporation Ltd
- Espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS
- Estufa
- Incubadora a 27°C
- Incubadora a 37°C
- Incinerador para microbiología
- Microscopio
- Refrigeradora
- Refrigeradora a 5°C

3. Materiales

- Asa de Nicromo en argolla
- Asa de nicromo en L
- Asas en espátula
- Agitador de imán
- Beakers de 250 y 500 mL
- Boeco de 100, 250 y 500 mL
- Cajas de Petri cuadriplate
- Cajas de Petri simples
- Cámara de Neubauer

- Cinta testigo
- Embudo
- Frascos color ámbar de 50 y 100 mL
- Gradillas
- Guantes de latex
- Jeringas descartables
- Material vegetal (1 kilogramo, de material seco o en proceso de fermentación)
- Papel filtro Whatman 1
- Pipetas automáticas de 100-1000 μ L
- Pipetas automáticas de 10-100 μ L
- Pipetas de vidrio de 100 mL
- Pipeteador
- Pobrete de 100 mL
- Tips amarillos de 200 μ L
- Tips azules de 1000 μ L
- Tubos de vidrio con tapadera de rosca de 15 mL

E. METODOLOGÍA

1. Lugar de estudio

Finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A.

2. Procedimiento

- a. Técnica de muestreo.

Posterior al proceso de despulpado se tomó una muestra de aproximadamente un kilogramo de pulpa de café por conveniencia, de la familia de café Borbón.

La muestra se tomó en cinco puntos diferentes para obtener una mezcla significativa de la pulpa del café.

3. Obtención de muestra

La muestra se recolectó por los trabajadores de la finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A.

Para la recolección de la muestra se siguieron los siguientes pasos:

- Recolección de las cerezas de diferentes áreas de la finca.
- La cosecha se llevó al área de despulpado.
- Las cerezas se despulparon antes de cumplir 6 horas de su cosecha para evitar el fermento.
- Para el despulpado se utilizó una “despulpadora o descerezadora” (Figura 4 B).
- La pulpa se recolectó en sacos.
- La pulpa se secó al aire después del proceso de fermento.

La muestra fue transportada desde Alta Verapaz a la ciudad capital para su procesamiento.

4. Determinación de ácido clorogénico

El ácido clorogénico se extrajo a partir de 1 g de pulpa seca con el solvente etanol:agua (10:90) a 78°C durante 60 minutos en el cual se tuvo una relación pulpa:solvente de 1:100 (Solís & Herrera, 2005).

Posterior a ello se realizó una curva de calibración (Grafica 1) con el ácido 5-cafeoilquinico como estándar para el Ácido clorogénico, posterior a ello se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV a 320 nm y se determinó la concentración (Peña-Aguilar et al., 2017).

5. Estandarización de la metodología para hongos filamentosos.

Se utilizó la estandarización para hongos filamentosos descrito por Brancato y Golding modificado por MacRae para evaluar la actividad antifúngica de la fase miceliar, con el objetivo de determinar el crecimiento óptimo de las colonias (Brancato & Golding,

1953; MacRae, Hudson, & Towers, 1988), previamente se realizó el manejo y cultivo de los aislamientos de los hongos, mediante la curva de crecimiento.

6. Tamizaje de actividad antimicrobiana *in vitro*

En cajas de Petri con agar Mueller-Hinton que contenían el extracto de pulpa (a una concentración de 0.56 mg/mL) se inoculó una azada de cada una de las bacterias (*Bacillus cereus* ATCC33019, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella Typhi*, *Salmonella arizonae* ATCC 12325, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), para las cuales se realizaron cinco repeticiones por microorganismo e incubado a 37°C durante 24 h (Mostafa et al., 2018).

Interpretación: un crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo demostró actividad negativa, la ausencia de crecimiento a lo largo del inóculo indicó actividad positiva. El crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación demostró contaminación (Balouiri, Sadiki, & Ibnsouda, 2016).

7. Tamizaje de actividad antimicótica *in vitro*

En cajas de Petri con agar Sabouraud que contenía el extracto de pulpa con una concentración de 0.56 mg/ml, se le añadió 30 µl de la suspensión de esporas del hongo a estudiar (*Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*) de manera equidistante con una concentración 100 esporas/µl, estos se incubaron a 27°C por 14 días, realizando cinco repeticiones (Balouiri et al., 2016).

La lectura e interpretación de resultados se realizó midiendo el diámetro de la colonia del hongo en mm, calculando el porcentaje de inhibición al comparar el diámetro con las colonias de la caja control. El resultado positivo se tomó al reducir el diámetro de la colonia en un 75% (Balouiri et al., 2016).

8. Tamizaje de actividad antilevadura *in vitro*

En cajas de Petri con agar Mueller-Hinton que contenía el extracto de pulpa con una concentración de 0.56 mg/mL, se inoculó de la suspensión de levaduras (*Candida* sp) para las cuales se realizaron cinco repeticiones por microorganismo e incubado a 36°C durante 48 h (Balouiri et al., 2016; Mostafa et al., 2018).

Un crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo demostraba actividad negativa, la ausencia de crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo demostraba actividad positiva y un crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación demostraba contaminación (Balouiri et al., 2016).

9. Concentración mínima inhibitoria

En una caja de Petri cuadrilata con agar Mueller-Hinton se agregó la solución de extracto disuelto de manera que la concentración sea: 0.56 mg/mL, 0.28 mg/mL, 0.14 mg/mL, 0.07 mg/mL por cuadrante, luego se inoculó tres estrías en cada uno de los cuadrantes de la caja y se incubó a 36°C por 24 horas en caso de bacterias y levaduras; y se le añadió 30 µl de la suspensión de esporas del hongo de manera equidistante con una concentración 100 esporas/µl, estos se incubaron a 27°C por 14 días (Mostafa et al., 2018).

En caso de bacterias y levaduras un crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo demostraba actividad negativa, la ausencia de crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo demostraba actividad positiva y un crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación demostraba contaminación (Mostafa et al., 2018).

En caso de hongos la lectura e interpretación de resultados se realizó midiendo el diámetro de la colonia del hongo en mm, calculando el porcentaje de inhibición al comparar el diámetro con las colonias de la caja control. El resultado positivo se tomó al reducir el diámetro de la colonia en un 75% (Balouiri et al., 2016)

F. DISEÑO ESTADÍSTICO

1. Tipo de estudio

Experimental, muestreo no probabilístico, por conveniencia con un total de cinco repeticiones para un nivel de $\alpha=0.05$.

2. Análisis estadístico

El análisis se realizó utilizando estadística descriptiva. Se calculó el promedio y la desviación estándar del ácido clorogénico presentes en la pulpa de café.

En la actividad antimicrobiana y antimicótica se realizó una prueba de hipótesis binomial y se obtuvieron promedios de la concentración inhibitoria mínima y se realizó una tabla de cruce de variables para establecer posibles relaciones entre concentración e inhibición.

Se realizó una prueba de hipótesis binomial donde:

Ho. $P \leq 0.05$ (El extracto no tiene efecto)

Ha. $P \geq 0.05$ (El extracto si tiene efecto)

VIII. RESULTADOS

A. DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO

En la tabla 1 se observa la concentración de ácido clorogénico que se extrajo a partir de la pulpa de café para dicho fin se realizaron cinco repeticiones, en donde la mayor concentración obtenida fue de 1.138 mg/mL, seguido de 1.132 mg/mL y la menor concentración obtenida fue de 1.106 mg/mL, obteniendo una media de 1.128 mg/mL y una desviación estándar de 0.015.

Tabla 1

Concentración de ácido clorogénico extraído a partir de la pulpa de café

Repetición	Peso	Concentración (mg/mL)
1	0.98 g	1.119
2	1.02 g	1.138
3	1.01 g	1.132
4	0.97 g	1.106
5	1.03 g	1.144

Fuente: Datos experimentales

Media: 1.128 mg/mL

Desviación estándar: 0.015

Posterior a la extracción del ácido clorogénico se procedió a realizar la actividad antimicrobiana, antilevadura y antifúngica; para la actividad antimicrobiana descrita en la tabla 2 se utilizaron siete microorganismos, de los cuales seis eran cepas ATCC, obteniendo inhibición por parte del ácido clorogénico en *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* de un 25% y en los demás microorganismos de un 0%.

B. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Tabla 2

Tamizaje de la actividad antimicrobiana in vitro contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Microorganismo	Inhibición con extracto vegetal 0.56 mg/mL
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 33019	Negativo
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Negativo
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Negativo
<i>S. typhi</i>	Negativo
<i>S. arizonae</i> ATCC 12325	Negativo
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	Negativo
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	Negativo

Fuente: Datos experimentales

Nivel de confianza: 0%

Para la actividad antilevadura presente en la tabla 3 se obtuvo una inhibición del 25% para *Candida* sp, pero para dicha inhibición por parte del ácido clorogénico fue considerada negativa ya que no superaba el 75% de inhibición.

C. ACTIVIDAD ANTILEVADURA

Tabla 3

Tamizaje de la actividad antilevadura in vitro contra la fase levaduriforme de *Candida* sp.

Microorganismo	Inhibición con extracto vegetal 0.56 mg/mL
<i>Candida</i> sp	Negativo

Fuente: Datos experimentales

Nivel de confianza: 0%

En la Tabla 4 se demuestra el ensayo de actividad antifúngica el cual se realizó frente a cinco dermatofitos, en el cual se demostró que el extracto del Ácido clorogénico presentó una actividad del 100% frente a *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum*.

D. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

Tabla 4

Tamizaje de la actividad antifúngica in vitro contra la fase miceliar de Microsporum gypseum, Trichopyton mentagrophytes, Trichopyton rubrum, Microsporum canis, Epidermophyton floccosum.

Microorganismo	Inhibición con extracto vegetal 0.56mg/mL
<i>M. gypseum</i>	Positivo
<i>M. canis</i>	Positivo
<i>T. mentagrophytes</i>	Positivo
<i>T. rubrum</i>	Positivo
<i>E. floccosum</i>	Positivo

Fuente: Datos experimentales

Nivel de confianza: 99%

Posterior a obtener la actividad antifúngica se procedió a realizar la concentración mínima inhibitoria (CIM) frente a los cinco dermatofitos antes estudiados, en donde se demostró que el extracto era activo en un 100% a una concentración de 0.56 mg/mL frente a *Microsporum gypseum*, *Trichopyton mentagrophytes*, *Trichopyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, posterior a eso a las concentraciones de 0.28 mg/mL, 0.14 mg/mL y 0.07 mg/mL no presento actividad inhibitoria mayor al 75%.

Tabla 5

Concentración mínima inhibitoria del extracto que mostro actividad a una concentración menor a 0.56 mg/mL contra la fase miceliar de *Microsporum gypseum*, *Trichopyton mentagrophytes*, *Trichopyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton flocosum*.

Muestra	Concentració n 0.56 mg/mL		Concentració n 0.28 mg/mL		Concentració n 0.14 mg/mL		Concentració n 0.07 mg/mL	
	Porcentaje de inhibición	Interpretación						
<i>M. gypseum</i>	100 %	+	66 %	-	55 %	-	30%	-
<i>M. canis</i>	100 %	+	64 %	-	25 %	-	0 %	-
<i>T. mentagrophyte</i>	100 %	+	63 %	-	38 %	-	25%	-
<i>T. rubrum</i>	100%	+	55 %	-	25%	-	0%	-
<i>E. flocosum</i>	100%	+	72 %	-	45%	-	36%	-

Fuente: Datos experimentales

+: Positivo

- : Negativo

IX. DISCUSIÓN

El objetivo general del estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del ácido clorogénico presente en el café guatemalteco, debido a la alta demanda de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana por el gran avance que ha tenido la resistencia tanto en bacterias como hongos.

Para el bioensayo se obtuvo un extracto etanólico de ácido clorogénico, obteniendo una media de 1.128 mg/mL (Tabla 1), esto se compara con lo obtenido por Cruz y colaboradores en el año 2018, en donde se evaluaron extractos de pulpa y granos de café de siete regiones de Guatemala, demostrando que la pulpa de café proveniente de San Marcos contenía la mayor cantidad de ácido clorogénico, 1.045 mg/mL.

En las tablas 2 a la 4 se muestran los resultados de la actividad antimicrobiana, antilevadura y antifúngica, en donde únicamente se obtuvo actividad frente *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *M. canis*, *E. floccosum*, y aunque no presentó la suficiente actividad antimicrobiana y antilevadura para ser considerado activo, si presentó una pequeña inhibición en el crecimiento de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Candida* sp. Esto puede deberse a que en otros bioensayos la concentración de ácido clorogénico utilizada fue de 3 a 15 mg/mL en comparación al presente estudio (Barbieri et al., 2017; Daglia, Cuzzoni, & Dacarro, 1994); pero si es importante recalcar el pequeño porcentaje de inhibición observado en *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Candida* sp, que se compara a lo observado por Chaves y Esquivel, en el 2019 ya que varios estudios demostraron inhibición principalmente contra gram positivos, *E. coli* y *P. aeruginosa*, estas características de inhibición pueden presentarse debido a que la naturaleza hidrofóbica de los compuestos fenólicos presentan dificultad para atravesar la membrana de los microorganismos gram negativo (Duangjai et al., 2016).

Los dermatofitos testados en el presente bioensayo fueron susceptibles a los extractos, esto puede deberse a que el ácido clorogénico perturbe la membrana lipídica causando fuga de iones y otros compuestos importantes como glucosa y trehalosa que están relacionadas con las diferentes fases de crecimiento de los hongos, además formando poros que disminuyen el potencial de membrana causando la muerte celular (Sung & Lee, 2010). Así mismo se demostró la presencia de compuestos fenólicos pueden

inhibir entre el 85 al 100% a la germinación de esporas, aunque aún se desconoce el mecanismo de acción (Rahman, Al-Reza, Siddiqui, Chang, & Kang, 2014)

A los extractos con actividad antifúngica se les determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM), obteniéndose una inhibición en una concentración 0.56 mg/mL, para *Microsporum gypseum*, *Trichopyton mentagrophytes*, *Trichopyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*. Se observó una inhibición mayor al 50% a una concentración de 0.28 mg/mL, con variación en la inhibición de todos los dermatofitos, pero el que obtuvo una inhibición cercana al 75% fue *E. floccosum*; la razón por la cual el extracto puede inhibir en mayor proporción entre los distintos dermatofitos se desconoce, pero se puede atribuir al mecanismo de acción de él ácido clorogénico y la susceptibilidad de la célula fúngica por su composición celular.

En distintos estudios se ha observado esta diferencia entre la MIC de los dermatofitos, Giordani y sus colaboradores, en el 2020 testearon extractos de distintas plantas en donde las cromatografías mostraban alta presencia de ácido clorogénico, obteniendo una MIC₅₀ frente a *Candida* sp, dermatofitos y *Malassezia furfur* de 32 µg/mL, 64 µg/mL, de las plantas testeadas, así mismo Rahman y colaboradores en el 2014 testearon extractos de *Lonicera japonica* obteniendo un MIC en *M. canis* de 62.5 µg/mL, *T. rubrum* 125 µg/mL y *T. mentagrophytes* de 500 µg/mL, para ello Rahman y colaboradores atribuyen esta diferencia por una actividad sinérgica entre el ácido clorogénico y los distintos compuestos fenólicos de los extractos.

X. CONCLUSIONES

- A. El extracto de ácido clorogénico presentó actividad antifúngica frente a *Microsporium gypseum*, *Trichopyton mentagrophytes*, *Trichopyton rubrum*, *Microsporium canis* y *Epidermophyton flocosum*, a una concentración de 0.56 mg/mL.

- B. El extracto de ácido clorogénico no presentó actividad antimicrobiana ni antilevadura.

- C. El extracto de ácido clorogénico presentó mejor actividad antifúngica contra *E. flocosum* esto debido a que presentó una inhibición cercana al 75% a una concentración de 0.28 mg/mL en comparación de los otros dermatofitos que fue menor al 70%

XI. RECOMENDACIONES

- A.** Realizar el presente estudio con café de distintas áreas de Guatemala y distintas variantes de cómo puede ser Caturra, Catuai, Centroamericano H1, Pache común, Pacamara, Maracaturra, entre otros.

- B.** Realizar la actividad antimicrobiana y la actividad antilevadura a concentraciones mucho más altas de las realizadas en el presente bioensayo.

- C.** Nascimento y colaboradores en el año 2000 realizaron bioensayos en los que evaluaban la sinergia entre el ácido clorogénico y distintos antimicrobianos como tetraciclina, ampicilina y cloranfenicol, obteniendo buenos resultados, por lo cual se recomienda realizar estudios similares con los extractos del café guatemalteco.

XII. REFERENCIAS

- Aguilar, O. (2000). *Inhibición de bacterias nosocomiales multiresistentes por extractos vegetales mesoamericanos con actividad antimicrobiana*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Almeida, A., Farah, A., Silva, D., Nunan, E., & Glória, B. (2006). Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8738–8743. DOI: 10.1021/jf0617317
- Anesini, C., & Perez, C. (1993). Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(2), 119–128. DOI:10.1016/0378-8741(93)90027-3
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. DOI:10.1016/j.jpha.2015.11.005
- Barbieri, R., Coppo, E., Marchese, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological Research*, 196, 44–68. DOI: 10.1016/j.micres.2016.12.003
- Beherens, E. (1995). *Actividad antimicrobiana de siete plantas de flora nativa de Guatemala*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Brancato, F., & Golding, N. (1953). The Diameter of the Mold Colony as a Reliable Measure of Growth. *Mycologia*, 45(6), 848–864. DOI: 10.1080/00275514.1953.12024321
- Cáceres, A., Cano, O., Samayoa, B., & Aguilar, L. (1990). Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 30(1), 55–73. DOI:10.1016/0378-8741(90)90017-N
- Caceres, A., Pinales, S., Ramos, M., Marroquín, M., & Cruz, S. (2020). Alternative use of coffee beans and leaves from seven regions of Guatemala for their antioxidant activity and chemical composition. *International Journal of Phytocosmetics and*

Natural Ingredients, 7(5), 1–7. DOI: 10.15171/ijpni.2020.05

- Cáceres, A., Samayoa, B., & Ligia, F. (1991). *Actividad antibacteriana de plantas usadas en guatemala para el tratamineto de infecciones*. Guatemala: Dirección General de Investigación.
- Canel, Y. (2012). *Actividad antimicrobiana y antimicótica de los extractos de cinco especies de plantas del género Vernonia nativas del sur-occidente de Guatemala*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Chaves, E., & Esquivel, P. (2019). Ácidos Clorogénicos presentes en el Café: Capacidad Antimicrobiana Y Antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 299–311. DOI: 10.15517/am.v30i1.32974
- Chávez, J. (2010). *Actividad antimicrobiana de seis plantas de uso medicinal contra las principales cepas de bacterias y hongos que afectan piel y oído en perros*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Comerford, S. (1996). Medicinal plants of two Mayan healers from San Andrés, Petén, Guatemala. *Economic Botany*, 50(3), 327–336. DOI: 10.1007/BF02907342
- Daglia, M., Cuzzoni, M., & Dacarro, C. (1994). Antibacterial Activity of Coffee: Relationship between Biological Activity and Chemical Markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(10), 2273–2277. DOI: 10.1021/jf00046a036
- Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamnong, N., & Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 324–331. DOI: 10.1016/j.imr.2016.09.001
- Escalona-Arranz, J., Péres-Roses, R., Urdaneta-Laffita, I., Camacho-Pozo, M., Rodríguez-Amado, J., & Licea-Jiménez, I. (2010). Antimicrobial activity of extracts from *Tamarindus indica* L. leaves. *Pharmacognosy Magazine*, 6(23), 242–247. DOI: 10.4103/0973-1296.66944
- Gaitán, I. (2005). *Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra Sporothrix schenckii*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Gasaly, N., Riveros, K., & Gotteland, M. (2020). Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista Chilena de Nutrición*, 47(2), 317–327. DOI: 10.4067/s0717-75182020000200317

- Giordani, C., Simonetti, G., Natsagdorj, D., Choijamts, G., Ghirga, F., Calcaterra, A., ... Pasqua, G. (2020). Antifungal activity of Mongolian medicinal plant extracts. *Natural Product Research*, 34(4), 449–455. DOI: 10.1080/14786419.2019.1610960
- Girón, L. M., Aguilar, G. A., Cáceres, A., & Arroyo, G. L. (1988). Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(3), 307–313. DOI: 10.1016/0378-8741(88)90241-3
- González, A. G., Moujir, L., Bazzocchi, I. L., Correa, M. D., & Gupta, M. P. (1994). Screening of antimicrobial and cytotoxic activities of Panamanian plants. *Phytomedicine*, 1(2), 149–153. DOI:10.1016/S0944-7113(11)80034-6
- Hernández, A. (1995). *Actividad antimicrobiana de cuatro arboles nativos de Guatemala*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Lima, V., Oliveira-Tintino, C., Santos, E., Morais, L., Tintino, S., Freitas, T., ... Coutinho, H. (2016). Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microbial Pathogenesis*, 99, 56–61. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.08.004
- Lou, Z., Wang, H., Zhu, S., Ma, C., & Wang, Z. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of Food Science*, 76(6). DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02213.x
- MacRae, W., Hudson, J., & Towers, G. (1988). Studies on the pharmacological activity of amazonian Euphorbiaceae. *Journal of Et*, 22, 143–172.
- Maillard, M., Hamburger, M., Gupta, M. P., & Hostettmann, K. (1989). An antifungal isoflavanone and a structure revision of a flavanone from *Erythrina berteroana*. *Planta Medica*, 55(3), 281–282. DOI: 10.1055/s-2006-962004
- Morales, J. (2011). *Detección de la actividad inhibitoria de quince extractos de plantas con actividad antimicrobiana contra Nocardia brasiliensis* (Universidad San Carlos de Guatemala). Retrieved from <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
- Mostafa, A., Al-Askar, A., Almaary, K., Dawoud, T., Sholkamy, E., & Bakri, M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains

- causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361–366. DOI: 10.1016/j.sjbs.2017.02.004
- Murillo, G. (2019). Los dioses mitológicos de la medicina The mythological gods of medicine. *Medicina Interna de Mexico*, 35(2), 273–283. Retrieved from <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2019/mim192j.pdf>
- Nascimento, G., Locatelli, J., Freitas, P., & Silva, G. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistan bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4), 247–256. DOI: 10.1590/S1517-83822000000400003
- Navarro, M. C., Montilla, M. P., Cabo, M. M., Galisteo, M., Cáceres, A., Morales, C., & Berger, I. (2003). Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in izabal for infectious diseases. *Phytotherapy Research*, 17(4), 325–329. DOI:10.1002/ptr.1134
- Palacios, B. (2019, December 5). Guatemala Mejora posición en ‘Top 10’ de países exportadores de Café. *República*. Retrieved from <https://republica.gt/2019/12/05/guatemala-posicion-exportadores-cafe/>
- Peña-Aguilar, J., Murúa-Pagola, B., Santos-Basurto, M., Reynoso-Camacho, R., Romero-Gomez, S., Vázquez-Barrios, M., & Amaya-Llano, S. (2017). Extracción y purificación de Cafeína y Ácido Clorogénico de pulpa de beneficio húmedo de café. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2, 563–569.
- Pineda, A. (1998). *Actividad antimicrobiana de extractos de raiz, rizoma, tallo y hojas de diferentes especies del genero Smilax*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Rahman, A., Al-Reza, S., Siddiqui, S. A., Chang, T., & Kang, S. C. (2014). Antifungal potential of essential oil and ethanol extracts of *Lonicera japonica* thunb. Against dermatophytes. *EXCLI Journal*, Vol. 13, pp. 427–436. DOI: 10.17877/DE290R-15589
- Rico, A. (1997). *Actividad antimicrobiana de cinco plantas de la familia Compositae nativas de Guatemala*. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Rodriguez, R. (2008). *Estudio de las plantas medicinales conocidas por la población de la comunidad de primavera, del municipio de Ixcán, Quiché, utilizando*

técnicas etnobotánicas. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Solís, D., & Herrera, C. (2005). Desarrollo de un método de análisis para la cuantificación de ácidos clorogénicos en café. *Agronomía Costarricense*, 29(2).

Suárez-Quiroz, M. L., Taillefer, W., López Méndez, E., González-Ríos, O., Villeneuve, P., & Figueroa-Espinoza, M. (2013). Antibacterial activity and antifungal and anti-mycotoxigenic activities against *Aspergillus flavus* and *A. ochraceus* of green coffee chlorogenic acids and dodecyl chlorogenates. *Journal of Food Safety*, 33(3), 360–368. DOI: 10.1111/jfs.12060

Sung, W. S., & Lee, D. G. (2010). Antifungal action of chlorogenic acid against pathogenic fungi, mediated by membrane disruption. *Pure and Applied Chemistry*, 82(1), 219–226. DOI: 10.1351/PAC-CON-09-01-08

Suruy, G. (2013). *Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de la infusión de hoja de guayaba (Psidium guayaba, L.) sobre las principales bacterias que causan enteritis en lechones*. Universidad San Carlos de Guatemala.

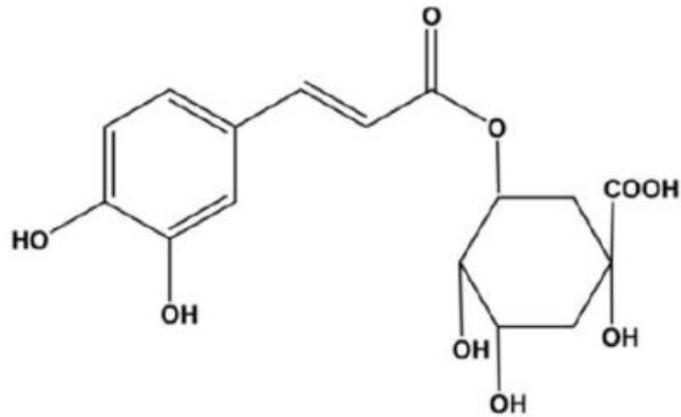
Vila, R., Santana, A. I., Pérez-Rosés, R., Valderrama, A., Castelli, M. V., Mendonca, S., ... Cañigüeral, S. (2010). Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampanensis*, a new source of α -bisabolol. *Bioresource Technology*, 101(7), 2510–2514. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.11.021

Wagner, R.(2001). *Historia del café de Guatemala*, Bogota, Colombia: Villegas Asociados

XIII. ANEXOS

Figura 1

Estructura del ácido 5-O-Cafeoil-ácido quínico (ácido clorogénico)



Fuente: Chaves, E., y Esquivel, P. (2019). Ácidos Clorogénicos presentes en el Café: Capacidad Antimicrobiana Y Antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 299–311. DOI: 10.15517/am.v30i1.32974

Figura 2

Planta de Coffea arabica L



A. Planta de café con frutos inmaduros, B. planta de café con frutos maduros, en ambas la planta presenta hojas elípticas, acabadas en punta y aparecen por pares, las hojas presentan distintos colores: verde lima, verde oscuro, bronce o con matices purpúreos.

Fuente: Fotografías obtenidas en la finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A. ubicada en Santa Cruz Verapaz, Alta Verapaz.

Figura 3.

Inflorescencias de Coffea arabica L.



A. Inflorescencias en rama de la planta de café en las cuales se observan de tres a cinco flores por axila foliar. B. Inflorescencia que esta siendo polinizada por una abeja.

Fuente: Fotografías obtenidas en la finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A. ubicada en Santa Cruz Verapaz, Alta Verapaz.

Figura 4.

Finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A.

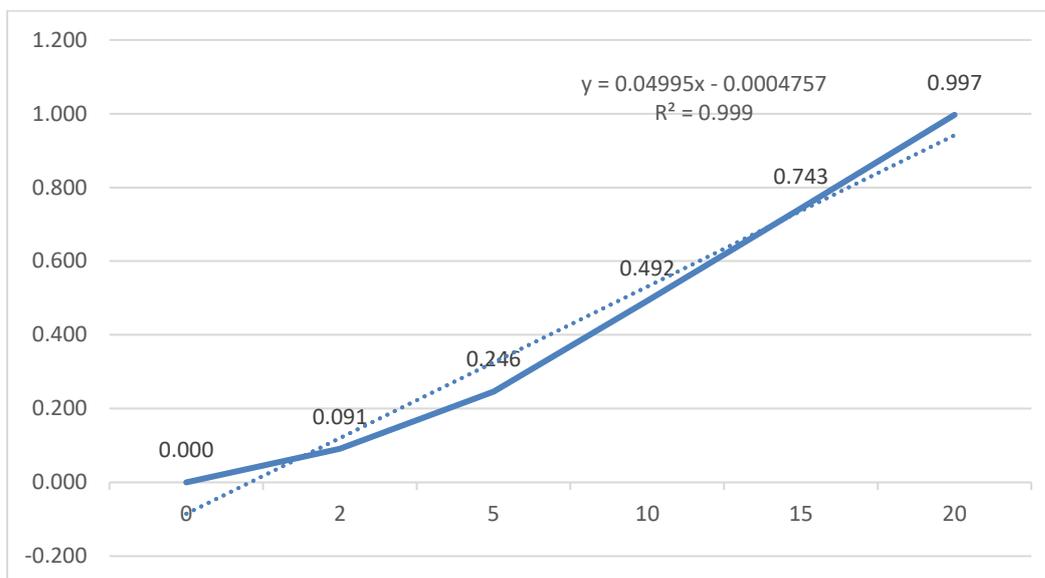


A. Plantas de café fuera de tiempo de cosecha y área de despulpado. B. Área de despulpado C. Plantas jóvenes en proceso de crecimiento. D. Área de secado y fermentación.

Fuente: Fotografías obtenidas en la finca del Grupo Agroindustrial San Carlos S.A. ubicada en Santa Cruz Verapaz, Alta Verapaz.

Grafica 1

Curva de la recta del Ácido 5- cafeoilquinico



Fuente: Datos experimentales.



Angel Josué Tejada Poitan

Autor



M. A. Isabel Cristina Gaitán Fernández

Asesora



M. Sc. Jorge Rodolfo Pérez Folgar

Revisor



M. Sc. Osbertin Isaac Morales Esquivel

Director

Escuela de Química Biológica



M. A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia