



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA Y TECNOLOGIA**  
**Maestría en Agroindustria con Mención en Gestión de Calidad y Seguridad**  
**Alimentaria Cohorte II - Resolución del CES: RCP-SO-03N° 058-2020**

Artículo profesional de alto nivel previo a la obtención de Máster En Agroindustria, con Mención Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria.

**Título:**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE EXTRACTOS DE CÁSCARA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) EN *Escherichia coli* P50, *Trichoderma spp* y *Saccharomyces cerevisiae*”**

**Autora:**

Ing. María Laura Carrillo Pisco

**Tutor:**

Ing. Maria Isabel Mantuano Cusme Mg.

**MANTA - MANABÍ - ECUADOR**

**2021 - 2022**

## **Evaluación del efecto antimicrobiano de extractos de cáscara de café (*Coffea arabica*) en *Escherichia coli* P50, *Trichoderma spp* y *Saccharomyces cerevisiae*.**

Evaluation of the antimicrobial effect of coffee husk (*Coffea arabica*) extracts on *Escherichia coli* P50, *Trichoderma spp* and *Saccharomyces cerevisiae*.

### **RESUMEN.**

El café genera cantidades significativas de desechos según el procesamiento. La cáscara del grano de café seco corresponde al 45% de su peso, con un pH de 3.775 y 6.86% de humedad, su compleja mezcla de sustancias presentes, de forma natural (ácido clorogénico) o del proceso de tostado (melanoidina), le otorgan propiedades de inhibición del crecimiento microbiano por sus compuestos polifenólicos presentes y antioxidantes. Por este motivo, el presente trabajo de investigación tiene como objeto evaluar el efecto antimicrobiano del extracto acuoso de la cáscara de café arábigo (*Coffea arabica*) sobre *Escherichia coli*, *Trichoderma spp* y *Saccharomyces cerevisiae*. Se realizaron cuatro (4) extractos al 10% de cáscara de café arábigo, utilizando como solventes agua, cetona, hexano y etanol, se pretrataron en un baño ultrasónico durante una hora a 40 Herz de frecuencia, luego se eliminó el solvente en un rotavapor al vacío hasta eliminar por completo el solvente y se añadió 40 ml de agua destilada. La siembra se realizó en placas Petri films 3M en las cuales se añadió 1 ml de inóculos de los tres microorganismos estudiados y 0.5 ml de los diferentes extractos, se dejó incubara 37 °C por tres días, luego se realizó el conteo de las UFC, la lectura y finalmente para el análisis de datos se realizó un diseño bifactorial y ; así, se demostró el efecto antimicrobiano al 100 % del extracto acuoso en Cetona sobre *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*, y en Hexano en *Trichoderma spp*.

**Palabras claves:** Cáscara de café, inhibición, solventes, microorganismos, antimicrobiano.

### **ABSTRACT**

Coffee generates significant amounts of waste depending on the processing. The husk of the dried coffee bean corresponds to 45% of its weight, with a pH of 3.77 and 6.86% moisture, its complex mixture of substances present, naturally (chlorogenic acid) or from the roasting process (melanoidin), give it properties of inhibition of microbial growth due to its polyphenolic compounds and antioxidants. For this reason, the present research work aims to evaluate the antimicrobial effect of the aqueous extract of arabica coffee husk (*Coffea arabica*) on *Escherichia coli*, *Trichoderma spp* and *Saccharomyces cerevisiae*. Four (4) 10% extracts of arabica coffee husk were made, using water, ketone, hexane and ethanol as solvents, pretreated in an ultrasonic bath for one hour at 40 Hz frequency, then the solvent was eliminated in a vacuum rotary evaporator until the solvent was completely eliminated and 40 ml of distilled water was added. The sowing was carried out in Petri plates 3M films in which 1 ml of inoculums of the three studied microorganisms and 0.5 ml of the different extracts were added, incubated at 37 °C for three days, then the CFU count and reading were performed and finally, for data analysis, a bifactorial design was carried out; thus, the 100% antimicrobial effect of the aqueous extract in ketone on *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*, and in hexane on *Trichoderma spp*. was demonstrated.

**Key words:** Coffee husk, inhibition, solvents, microorganisms, antimicrobial.

## INTRODUCCIÓN.

El café, genera cantidades significativas de desechos agrícolas, que oscilan entre el 30 % al 50 % del peso total (Jiménez & Massa, 2015). Estos se obtienen después del descascarillado de las cerezas durante la molienda en seco o en húmedo, respectivamente (Oliveira & Franca, 2015). Cabe mencionar que la compleja mezcla de sustancias químicas presentes ya sea de forma natural (ácido clorogénico) o producidas principalmente a partir del proceso de tostado (melanoidina) son polifenoles que brindan beneficios para la salud, así como también, la inhibición del crecimiento microbiano (Mills *et al.*, 2013; Martínez *et al.*, 2019).

Distintos autores han abordado el tema sobre la caracterización y aprovechamiento de estos residuos, enfocados en el estudio de su pulpa y sugiriendo diversas aplicaciones para la misma, entre ellos: la producción de combustible, extracción de ingredientes activos, sustratos fermentables para uso de cultivos procesos de compostaje (Londoño *et al.*, 2016), la extracción de minerales, aminoácidos, polifenoles y cafeína (Torres *et al.*, 2011). Además, los extractos del café pueden aumentar la vida útil de plantas y alimentos (Duangjai *et al.*, 2016), poniendo en evidencia que se puede utilizar el extracto acuoso de la cáscara de café para controlar el crecimiento y desarrollo de agentes microbianos en alimentos (Martínez *et al.*, 2019).

Respecto a esto, a Rodríguez (2018) afirma que la contaminación microbiana es un grave problema para la industria alimentaria por las grandes pérdidas económicas que conlleva. Orberá (2004) señala que la participación de microorganismos como bacterias, hongos y levaduras en la elaboración de alimentos, causan afectaciones en los

parámetros organolépticos de buena calidad en los productos frescos, semielaborados y elaborados. Microorganismos como *E. coli*, *Trichoderma spp* y *S. cerevisiae*, también ofrecen un gran potencial para la exploración de moléculas y procesos celulares dentro del campo biotecnológico (Ostos *et al.* 2019).

En ese sentido, en el campo alimentario, los microorganismos mencionados, se pueden emplear como iniciadores en las fermentaciones en los que no se utilizan organismos genéticamente modificados (OGM), y en la elaboración de insumos utilizando OGM que participan en procesos de fermentación mediante la aplicación de metabolitos o aditivos (Vitorino & Bessa, 2017).

Por esta razón, la presente investigación tuvo como propósito evaluar el efecto antimicrobiano de extractos de cáscara de café (*Coffea arabica*) en *Escherichia coli* P50, *Trichoderma spp* y *Saccharomyces cerevisiae*, usando agua, etanol, cetona y hexano como solventes, determinando el comportamiento de crecimiento de UFC las propiedades físico-químicas y antioxidante de la cáscara.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

### Material

El grano de café arábigo seco se obtuvo en el cantón Quinsaloma, de la provincia de Los Ríos. El proceso de descascarillado se realizó manualmente para sus respectivos análisis.

### Obtención del extracto acuoso

Se pulverizó la cáscara de café utilizando un procesador de alimentos, el cual se pasó por un Tamiz 8" x 2" Malla N°120 (125 micras), se preparó cuatro (4) extractos al 10% (m/v) pesando 10 g de muestra pulverizada y adicionando los solventes (agua, etanol, cetona y hexano).

Se pretrataron en un baño ultrasónico durante una hora a 40 Herz de frecuencia mediante la Fisher Scientific Ultrasonic Batch, finalmente se empleó el RotaVapor al vacío RII Buchi hasta eliminar por completo el solvente y se añadió 40 ml de agua destilada.

### Preparación del inóculo

Se preparó una disolución al 0.1%: *Trichoderma spp*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Escherichia coli* P50, para la obtención.

### Estudio estadístico de la investigación

Para evaluar el efecto antimicrobiano de la cáscara de café se utilizó el análisis estadístico ANOVA con arreglo factorial A\*B, donde Factor A= Tipo de microorganismo y Factor B= Tipo de solvente con 3 repeticiones con un total de 36 unidades experimentales, tal como se muestra en la tabla 1. Para determinar diferencias significativas se aplicó una prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ) mediante el software estadístico InfoStat.

**Tabla 1.** Diseño experimental

<i>Factores</i>	<i>Niveles</i>
Factor A: Tipo de microorganismo	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Trichoderma spp</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Factor B: Tipo de solvente	Agua
	Etanol
	Cetona
	Hexano

**Tabla 2.** Interacción de los factores

<i>Tratamientos</i>	<i>Interacción</i>
T <sub>1</sub>	<i>Escherichia coli</i> + Agua
T <sub>2</sub>	<i>Escherichia coli</i> + Etanol
T <sub>3</sub>	<i>Escherichia coli</i> + Cetona
T <sub>4</sub>	<i>Escherichia coli</i> + Hexano
T <sub>5</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Agua
T <sub>6</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Etanol
T <sub>7</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Cetona
T <sub>8</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Hexano
T <sub>9</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Agua
T <sub>10</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Etanol
T <sub>11</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Cetona
T <sub>12</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Hexano

### Caracterización fisicoquímica de la cáscara de café

#### Determinación del pH

En un matraz se colocaron 10 g de muestra con 100 mL de agua destilada, luego se sometió a ebullición por un periodo de 3 h, una vez transcurrido este tiempo, se dejó enfriar por 25 min, finalmente se midió el pH a la solución mediante el potenciómetro Started5000 durante 3 minutos.

### Determinación de humedad

Se realizó por lectura directa, mediante el equipo Mb90 en la cual se utilizó 2 g de cáscara pulverizada.

### Determinación de polifenoles totales

Para la determinación de polifenoles y la obtención del extracto acuoso se realizó según la metodología propuesta por Vega *et al.* (2017), mezclando 5 g de la muestra pulverizada de cáscara de café con 100 mL de agua destilada, calentándola a 90°C y se mantuvo durante 5 minutos. Posteriormente, se filtró y aforó a 100 mL con agua. Se mezcló 50 µL del extracto con 3 mL de agua y 250 µL de reactivo 1N de Folin-Ciocaltu. Se mantuvo en reposo 8 minutos. Se agregó 750 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% y 950 µL de agua. Se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se tomó lectura mediante un espectrofotómetro a 765 nm. Se estableció una curva de calibración de ácido gálico con concentraciones de 50, 100, 200, 300, 400, 500 y 1000 ppm disueltas en agua. Los resultados se expresan en mg de Equivalentes de Ácido Gálico por g de cáscara pulverizada de café (mg de EAG/g).

### Determinación del efecto microbiano

#### Inoculación a las placas

Para los tratamientos en estudio se empleó en un tubo de ensayo 1 mL de la dilución del microorganismo correspondiente y 0.5 mL de extracto acuoso para asegurar una distribución uniforme, luego se colocó en la placa Petrifilms 3M para incubar durante 72 horas a 37 °C, por último, se realizó la lectura de las UFC.

El porcentaje de inhibición se calculó en función al control que ejerzan los extractos sobre el crecimiento microbiano (100 % de control – crecimiento microbiano)

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### Caracterización fisicoquímica de la cáscara de café

**Tabla 3.** pH, humedad y contenido de polifenoles totales en cáscara de cacao.

Cáscara	pH	Humedad (%)	Polifenoles totales (mg EAG/g)
	3.78	6.86	15,85

En la **Tabla 3** se observa que la cáscara de café seco presentó un valor de 3.78 de pH, siendo similar a lo reportado por López y Ramírez (2013) quienes obtuvieron valores de pH desde 3.71 a 7.25, utilizando café de las variedades caturras y criollo. En cuanto al contenido de humedad, presentó un valor de 6.86 %, el cual es inferior a lo reportado por Manals *et al.* (2018), quienes, en cascarilla de café, determinaron una humedad de 11.60% en base seca. Por otro lado, Arias y Meneses (2016) establecieron un valor de humedad entre 10 a 12 % después del secado al sol, Guevara *et al.* (2019) obtuvieron valores de 11.1 a 14.2% de humedad utilizando secado mecánico y tradicional.

La variación del contenido de humedad en esta investigación, se debe principalmente al tipo de café, zona de cultivo y método de secado.

En relación al contenido de polifenoles totales, presentó un valor de 15,85mg EAG/g, inferiores a los resultados reportados por Vega *et al.* (2017) quienes obtuvieron valores entre 28.91 y 46.82mg EAG/g, en cafés puros comerciales de Panamá, y Hečimović *et al.* (2011), cuyos resultados oscilaron entre 25 a 40 mg EAG/g, debido a que se empleó solamente la cáscara.

Cruzalegui *et al.* (2021) señala que otros componentes como la pulpa del café arábigo, llegan a obtener valores de 23,04, 26,4395mg EAG/g extrayéndose con 95% de etanol; y 47,95mg EAG/g, extrayéndose con 95% de metanol. Geremu (2016), obtuvo en la variedad Ababuna extraída con 80% de metanol, un valor de 1809.9 mg GAE/g.

Los resultados evidencia que la cantidad de polifenoles totales puede depender de diversos aspectos como la temperatura y tipo de tostado (Vega *et al.*, 2017), la concentración de solvente utilizado y su relación m/v ejercen un efecto significativo en la extracción de fenoles, ya que se obtienen diferentes rendimientos, cantidad de fenoles y capacidad antioxidante (Soto & Rosales, 2016).

#### Efecto antimicrobiano del extracto de la cáscara de café arábigo

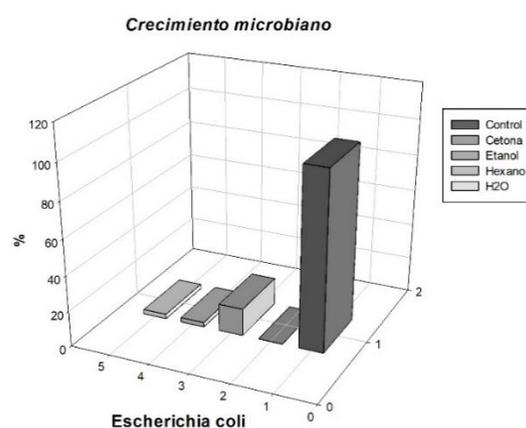
En la **Tabla 4.** se puede observar que el crecimiento microbiano del extracto obtenido de diferentes bacterias y solución acuosa de la cáscara de café, presentó diferencias estadísticas significativas, denotando que el mayor crecimiento microbiano se obtuvo en el T<sub>5</sub> = *Trichoderma spp* + Agua, mientras que en los tratamientos T<sub>3</sub> = *Escherichia coli* + Cetona; T<sub>8</sub> = *Trichoderma spp* + Hexano y T<sub>11</sub> = *Saccharomyces cerevisiae* + Cetona, existió Ausencia de UFC.

**Tabla 4.** Crecimiento microbiano de los tratamientos

Tratamientos	Crecimiento
T <sub>1</sub> <i>Escherichia coli</i> + Agua	2.56 UFC <sup>B</sup>
T <sub>2</sub> <i>Escherichia coli</i> + Etanol	15.38 UFC <sup>F</sup>
T <sub>3</sub> <i>Escherichia coli</i> + Cetona	Ausencia
T <sub>4</sub> <i>Escherichia coli</i> + Hexano	2.56 UFC <sup>B</sup>

T <sub>5</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Agua	96.89 UFC <sup>I</sup>
T <sub>6</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Etanol	6.24 UFC <sup>D</sup>
T <sub>7</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Cetona	3.14 UFC <sup>C</sup>
T <sub>8</sub>	<i>Trichoderma spp</i> + Hexano	Ausencia
T <sub>9</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Agua	39.83 UFC <sup>G</sup>
T <sub>10</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Etanol	80.11 UFC <sup>H</sup>
T <sub>11</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Cetona	Ausencia
T <sub>12</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + Hexano	9.95 UFC <sup>E</sup>

**Figura 1.** Porcentaje de crecimiento microbiano de *Escherichia coli*

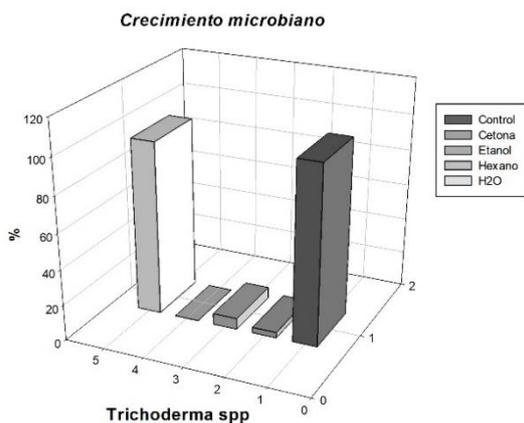


En la **Figura 1.** se observa el comportamiento del crecimiento bacteriano de *E. coli* inoculada en extractos de cáscara de café con diferentes solventes, evidenciándose que, en el extracto con Etanol como solvente existió un crecimiento bacteriano de 15.38UFC, correspondiente a un 74.62% de inhibición bacteriana, resultado que difiere de lo expuesto por Montero *et al.* (2017) quienes en el extracto oleoso crudo de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre *E. coli* reportaron la Ausencia de microorganismos.

Contrario a esto, el extracto con Cetona como solvente existió ausencia de UFC, lo cual corresponde a que el extracto de cáscara de café con este solvente tiene un efecto inhibitor del 100 %. Esto puede deberse a que compuestos orgánicos como la cetona, poseen ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, los cuales ayudan a disminuir el crecimiento microbiano (Nayeem & Karvekar, 2010).

Cuervo *et al.* (2019) determinaron la actividad de inhibición de un extracto vegetal en cetona sobre *E. coli.*, utilizando como agente antimicrobiano *Drimys granadensis*.

**Figura 2.** Porcentaje de crecimiento microbiano de *Trichoderma spp*

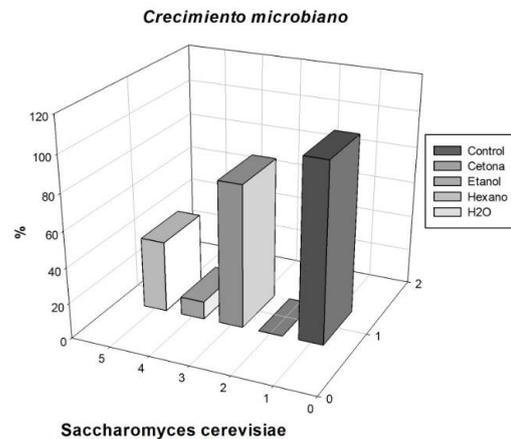


En la **Figura 2.** se observa que la cepa *Trichoderma spp.* Inoculada con extracto en hexano, evidenció ausencia de crecimiento microbiano, lo cual indica una inhibición del 100% del extracto utilizado; mientras que al inocularse la cepa en extracto con Agua, presentó el mayor crecimiento microbiano con 96.89 UFC, lo que corresponde a un 3.21% de inhibición.

Muñoz *et al.* (2020) en su estudio también reportaron la ausencia de actividad microbiana en extractos acuosos hexánico y etanólico de macroalgas marinas.

Por otro lado, Ruiz *et al.* (2018) mencionan que las especies de *Trichoderma* empleadas en plantas de jitomate para mejorar las variables de altura tuvieron efectos positivos, cabe destacar que puede ser utilizada como promotores de crecimiento vegetal y mejoradores de los atributos de calidad. Además, Martínez *et al.* (2011) se refiere a que las características antibacterianas de la cáscara de café le otorgan propiedades como ingrediente alimentario natural para extender el tiempo de vida útil de alimentos, concordando con Illa *et al.* (2020) quienes indican que el uso de *Trichoderma* está relacionado con los efectos de descomposición de las paredes de los hongos donde ellos emplearon hongos patógenos bajo condiciones controladas.

**Figura 3.** Porcentaje de crecimiento microbiano de *Saccharomyces cerevisiae*



En la **Figura 3.** se detalla el crecimiento microbiano de *Saccharomyces cerevisiae*. Demostrando que en Etanol presentó el mayor crecimiento con 80 %, mientras tanto en Cetona no presentó crecimiento del microorganismo, resultando el 100 % de inhibición, sin embargo, el extracto en H<sub>2</sub>O situó un 60 % de inhibición, y en Hexano el 90 %.

Según Orberá (2004), las levaduras presentes en alimentos repercuten en las características organolépticas y la calidad del producto. Por otra parte, según Martínez *et al.* (2019) mencionan que la actividad fúngica del extracto acuoso de la pulpa de café obtenida por maceración tiene mayor efecto inhibitorio en las bacterias gram positivas, cabe destacar que su estudio fue en bacterias gram positivas (*S. aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes*) y gram negativas (*E. coli* y *Bacillus subtilis*).

Jaisan *et al.* (2015) los cuales estipulan que el efecto de inhibición está relacionado con la estructura de la pared celular de las bacterias, dado que las bacterias gram negativas presentan en su pared una membrana externa que impide la absorción de los compuestos hidrofóbicos.

Cabe destacar que, si bien la literatura no evidencia estudios relevantes correspondientes a la inhibición microbiana de cáscara de café sobre *Trichoderma spp.* y *S. cerevisiae*, los resultados obtenidos en este estudio, sirven para establecer bases informativas para el desarrollo de futuras investigaciones, dado que la inhibición del crecimiento de microorganismos en alimentos frescos como frutas y hortalizas, permitirá aumentar su vida útil.

## CONCLUSIONES

Los extractos en diferentes solventes son capaces de inhibir el crecimiento de los microorganismos estudiados, cabe mencionar que Cetona inhibió el crecimiento microbiano en un 100 % en *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*, de igual manera Hexano en *Trichoderma spp.* Esto se debe a que estos compuestos poseen componentes antioxidantes dentro de su estructura.

## BIBLIOGRAFÍA

- Arias, R., & Meneses, J. (2016). *Caracterización físico-química de residuos agroindustriales (cascarilla de arroz y cascarilla de café), como materia prima potencial para la obtención de bioetanol*. Managua : Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Blandón, C. G., Dávila, M. T., & Rodríguez, V. N. (1999). Caracterización microbiológica y físico-química de la pulpa de café sola y con mucílago, en proceso de lombri-compostaje. *Cenicafé*, 50, 5-23.
- Casas Rodríguez, S. (2018). *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus oryzae*: estimuladores y modificadores de la fermentación y crecimiento microbiano ruminal. *Revista producción animal*, 30(2), 1-9.
- Cruzalegui, R., Güivin, O., Fernández, A., & Cruz, R. (2021). Caracterización de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de pulpa de café (*Coffea arabica* L.) deshidratada de tres fincas cafeteras de la región Amazonas (Perú). *Revista Información Tecnológica*, 32(5), 157-166. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642021000500157>
- Cuervo, D., Vanegas, J., Corzo, D., & Correa, F. (2019). Evaluación de la capacidad bactericida de extractos vegetales de distinta polaridad de *Drimys granadensis*. *Revista Peruana de Biología*, 26(1), 135-142. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15917>.
- Duangjai, A. S., Ontawong, A., Nuengchamnong, N., &

- Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integr. Med. Res.*, 5, 324-331.
- Fariñas, M. C., Fernández-Sampedro, M., & Armiñanzas, C. (2012). Formas clínicas y tratamiento de las infecciones causadas por otros hongos filamentosos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(7), 414-419. doi:10.1016/j.eimc.2012.02.001
- Geremu, M., Tola, Y. B., & Sualeh, A. (2016). Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3(25), 1-6. doi:10.1186/s40538-016-0077-1
- Guevara, M., Bernales, C. I., Saavedra, J., & Owaki, J. J. (2019). Efecto de la altitud en la calidad del café (*Coffea arabica* L.): Comparación entre secado mecánico y tradicional. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 505-510. doi:http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.07
- Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry*, 129(3), 991-1000. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.059.
- Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). Trichoderma: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chil. j. agric. anim. sci. [online]*, 35(1), 98-112. doi:http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205.
- Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). Trichoderma: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(1), 98-112. doi:https://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205
- Herrera Parra, E., Cristóbal-Alejo, J., & Ramos-Zapata, J. A. (2017). Trichoderma strains as growth promoters in *Capsicum annum* and as biocontrol agents in *Meloidogyne incognita*. *Chil. j. agric. res. [online]*, 77(4), 318-324. doi:http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000400318
- Illa, C., Torassa, M., Pérez, M. A., & Pérez, A. A. (2020). Efecto de biocontrol y promoción del crecimiento en maní por *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en condiciones controladas y campo. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(1), 119-131. doi:https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1910-6
- Jaisan, C., Chase, S., & Punbusayakul, N. (2015). Antioxidant and antimicrobial activities of various solvents extracts of Arabica coffee pulp. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 19(5), 224-227.
- Jiménez, A., & Massa, P. (2015). Producción de café y variables climáticas: El caso de Espíndola. *Economía*, 117-137.

- Londoño, L., Ramírez-Toro, C., Ruiz, H. A., Ascacio, J. A., & Rodríguez, R. A. (2016). Caracterización del sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) y pulpa de café (*Coffea arabica* L.) como sustrato en fermentación en estado sólido. *Revista Agronómica Colombiana*, 34, 1156-1158.
- López, E., & Ramírez, H. (2013). *Evaluación de la cáscara de café (coffea arabica) como agente regulador en la elaboración de panela granulada*. Pimentel : Universidad Señor de Sipan.
- Manals, E., Salas, D., & Penedo, M. (2018). Caracterización de la biomasa vegetal cascarilla de café. *Tecnología Química*, 38(1). Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v38n1/rtq13118.pdf>
- Martínez, M., Jiménez, A., García, L., Almela, L., García, L., Mariscal, M., & Murcia, M. A. (2011). Assessment of antimicrobial activity of coffee brewed in three different ways from different origins. *Eur Food Res Technol*, 233, 497. doi:<https://doi.org/10.1007/s00217-011-1539-0>
- Martínez, S. R., Hernández, F. D., Aguilar, C. N., & Rodríguez, R. (2019). Extractos de pulpa de café: Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana. *Investigación y Ciencia*, 27(77), 73-79.
- Mills, C., Oruna-Concha, M., Mottram, D., Gibson, G., & Spencer, J. (2013). The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee. *Food chemistry*, 141(4), 3335-3340. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.014>
- Montero-Recalde, M. A., Martínez-Jiménez, J. A., Avilés-Esquivel, D. F., Valle-Velástegui, E. J., & Pazmiño-Miranda, N. P. (2017). Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus Officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli*. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 5(2), 168-175.
- Muñoz A., R., Santone, S., & León Q., J. (2020). Actividad antibacteriana de extractos hexánico y etanólico de macroalgas marinas de la Bahía de Ancón. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(2). doi:<https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17829>
- Nayeem, N., & Karvekar, M. (2010). Isolation of phenolic compounds from the methanolic extract of *Tectona grandis* Naira. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2(1), 221-225. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3979231/pdf/JBCP-2-163.pdf>
- Oliveira, L. S., & Franca, A. S. (2015). An Overview of the Potential Uses for Coffee Husks. (U. F. Gerais, Ed.) *Coffee in Health and Disease Prevention*, 283-291. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00031-0>
- Orberá, T. (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Revista Cubana de Salud Pública*, 3(3). Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=21430316>
- Ostos, O. L., Rosas, S. M., & González, J. L. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *Revista Nova*, 17(31), 129-163. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/no>

- va/v17n31/1794-2470-nova-17-31-129.pdf
- Paz-Zorrilla, S. V., & Ojeda-Pereda, M. C. (2021). Efecto antimicrobiano in vitro del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* "papa fermentada" sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. *UCV-Scientia Biomédica*, 4(3), 9-22.  
doi:<https://doi.org/10.18050/ucvscientiabiomedica.v4i3.01>
- Rodríguez, E. (2018). Uso de agentes antimicrobianos en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*, 7(1), 153-170. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46116742014>
- Ruiz, M. F., Ornelas, J. d., Olivas, G. I., Acosta, C. H., Sepúlveda, D. R., Pérez, D. A., . . . Fernández, S. P. (2018). Efecto de *Trichoderma* spp. y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(3), 444-456.  
doi:<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1804-5>
- Soto, M., & Rosales, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 18(4), 701-714.  
doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>
- Souza Goebe, C., Oliveirac, F. d., & Severoc, L. C. (2013). Infección por *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(3), 205-208.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.03.001>
- Tequida-Meneses, M., Cortez-Rocha, M., Rosas-Burgos, E., López-Sandoval, S., & Corrales-Maldonado, C. (2002). Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*". *Rev Iberoam Micol*, 19, 84-88.
- Torres, M., Cordova, J., Rodríguez, G., Roussos, S., Ramírez, M., & E., F.-T. (2011). Enzymatic extraction of hydroxycinnamic acids from coffee pulp. *Food Technol. Biotechnol.*, 49, 363-373.
- Vega, A., De León, J. A., & Reyes, S. M. (2017). Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá. *Información Tecnológica*, 28(4), 29-38. doi:[10.4067/S0718-07642017000400005](https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000400005)
- Vitorino, L. C., & Bessa, L. A. (2017). Technological microbiology: development and applications. *Frontiers in Microbiology*, 8(827), 1-23.  
doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00827>