

Síntesis verde de nanopartículas de plata a partir de extracto de la raíz de *Croton draco* para inhibir el crecimiento de microorganismos transmisores de ETAs.

Green synthesis of silver nanoparticles from Croton draco root extract to inhibit the growth of ETAs transmitting microorganisms.

Paulina Elisabeth Aranda Montejano*
Universidad Politécnica de Pénjamo
Guanajuato, México.
218030022@uppenjamo.edu.mx

Dr. Ahuizolt de Jesús Joaquín Ramos
Instituto tecnológico de Roque
Celaya, Gto, México.
elctroniahjoaquin@itroque.edu.mx

Dr. Miguel Ángel Guzmán Altamirano
Tecnológico superior de Irapuato
Irapuato, Guanajuato, México.
miguel.ga@irapuato.tecnm.mx

Dra. María Guadalupe Gómez Espinoza
Universidad Politécnica de Pénjamo
Guanajuato, México.
g.gomez@uppenjamo.edu.mx

Recibido 04, noviembre, 2021

Aceptado 16, febrero, 2022

Resumen

La producción de alimentos y su inocuidad en la industria alimentaria son un problema de índole mundial, debido al aumento de la población, existen distintas técnicas para asegurar la inocuidad de los alimentos, pero suelen ser poco eficaces o costosas, actualmente, se ha prestado atención al uso potencial de las plantas en la producción de nanopartículas (NPs), las cuales permiten la inhibición de microorganismos que provocan enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). En esta investigación se trabajó con la raíz de *Croton draco* como mediador para la síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs). La cual se comprobó por el viraje de color y la formación del pico característico de absorción de las NPs en el análisis UV-Vis, comprobando la reducción de los iones de plata a AgNPs. Se observó la polidispersión de tamaños de las NP mediante una micrografía de análisis MEB, se observaron índices de difracción de la plata de (1 1 1), (2 0 0) y (2 2 0) en el difractograma XRD. Para comprobar la actividad antibacteriana de las AgNP se empleó el método de difusión en disco contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, llegando a la conclusión que las AgNPs permiten la eliminación de dichas bacterias.

Palabras clave: Nanopartículas, actividad antimicrobiana, síntesis verde, ETA (Enfermedades transmitidas por alimentos).

Abstract

Food production and food safety in the food industry are a global problem, due to the increase in population, there are different techniques to ensure food safety, but they are usually not very effective or expensive, currently, attention has been paid to the potential use of plants in the production of nanoparticles, which allow the inhibition of microorganisms that transmit

ETAs. In this research, Croton draco root was used as a mediator for the synthesis of AgNPs. This was verified by the color change and the formation of the characteristic absorption peak of the NPs in UV-Vis analysis, verifying the reduction of silver ions to AgNP. Size polydispersion of the NPs was observed by SEM analysis micrograph, silver diffraction indices of (1 1 1), (2 0 0) and (2 2 2 0) were observed in XRD diffractogram. To test the potential Vs antibacterial activity of AgNPs, the disk diffusion method was employed against Staphylococcus aureus and Escherichia coli, reaching the conclusion that AgNPs allow the elimination of these bacteria.

Keywords: Nanoparticles, antimicrobial activity, green synthesis, Foodborne diseases (FBI).

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población en las últimas décadas ha aumentado de manera exponencial generando una demanda mayor en la producción de alimentos, a la par la resistencia de los microorganismos ante los antibióticos ha ido incrementando, por lo cual generar alimentos que no pongan en riesgo la salud de los consumidores por contraer alguna ETA (enfermedad transmitida por los alimentos) como la salmonelosis, la listeriosis, el botulismo etc., se ha convertido en un reto para las grandes industrias dedicadas a la alimentación. De esta manera, crean así distintos métodos que permiten la eliminación de los microorganismos responsables de provocar enfermedades dentro de la población, como la irradiación, radiación ionizante, rayos UV, beta o gamma, pero estos métodos suelen ser demasiado costosos, tardados o generan contaminación al ambiente, es por esto que se han buscado nuevas opciones, actualmente se han introducido las nanopartículas de distintos óxidos, como la plata, el oro, cobre o zinc, dicho método promete ser eficaz para la inhibición de microorganismos.

Problemática

Los alimentos son una de las principales fuentes de transmisión de enfermedades para las personas, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que solo al año 1 de cada 10 personas enferman debido a la ingesta de alimentos contaminados y mueren 420,000 por causa de enfermedades, como la brucelosis, listeriosis, salmonelosis, etc. Aunado a esto, La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), por sus siglas en inglés estima que la demanda de alimentos para 2050 aumentará entre un 60 a 70%. Es por ello, que la industria alimentaria tiene un doble reto, producir más alimentos y garantizar su inocuidad, salvaguardando así la salud de las personas. Por lo general las técnicas que se emplean para detectar y eliminar microorganismos son tardadas, complicadas o costosas, es por ello que han introducido el uso de AgNPs, para su síntesis existen métodos químicos, físicos y biológicos, sin embargo, este último, es amigable con el medio ambiente, debido a que como biorreductores se emplean plantas, algas, levaduras hongos etc.

Objetivo

Realizar la síntesis verde de AgNPs empleando extractos de la raíz de *Croton draco* para inhibir microorganismos transmisores de ETAs.

Marco teórico

Producción e inocuidad de alimentos

Proporcionar alimentos a más de siete mil millones de personas que viven en el planeta es uno de los desafíos clave para el mundo actual y uno de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM) (Baer-

Nawrocka & Sadowski, 2019). La FAO ha calculado que, para poder satisfacer la demanda de alimentos en 2050, la producción agrícola y ganadera mundial anual debería ser un 60 % mayor que en 2006 (Makkar, 2017). Aunado a este problema las enfermedades transmitidas por alimentos se presentan con más frecuencia en la población, OMS estimó que en 2010 se produjeron 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos, con 420.000 muertes en todo el mundo (Lai et al., 2020). Los virus, bacterias, protozoos y toxinas pueden transmitirse a través de las cadenas de suministro de alimentos y transferirse a los consumidores. En algunos casos, pueden causar varios síntomas y síndromes como fiebre, diarrea, sepsis, y enfermedades como infecciones del sistema nervioso central e intoxicaciones entéricas, o también conducir a la muerte (Santeramo et al., 2021). Algunas enfermedades transmitidas por los alimentos están asociadas con prácticas deficientes de manipulación en el paso de preparación final, como almacenamiento inadecuado, cocción inadecuada o contaminación cruzada (Augustin et al., 2020).

Las principales medidas para controlar los patógenos, como la limpieza y desinfección de las instalaciones, el equipo y las manos, o la temperatura adecuada de almacenamiento y cocción, son bien conocidas (Augustin et al., 2020). Se han desarrollado distintas técnicas para asegurar la inocuidad de los alimentos, una de estas es el tratamiento con ozono para la eliminación de microorganismos (Brodowska et al., 2018), el uso de gas amoníaco para el control de Salmonella (Mendonça et al., 2021) y el uso de nanopartículas (NPs) representadas en sistemas de entrega de nanopartículas, envasado y seguridad alimentaria (Salem & Fouda, 2020).

Nanopartículas de plata para la inhibición de microorganismos.

El efecto antimicrobiano de la plata frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas se conoce desde la antigüedad (García-Ruiz et al., 2018). Su acción de antibiótico proviene del hecho de que es tóxico no-selectivo, con capacidad biosida, matando alrededor de 650 diferentes organismos que causan enfermedades (Naranjo, 2011). Recientemente, se ha prestado mucha atención al estado de alerta sobre la resistencia a los antimicrobianos (Fernandes et al, 2018), como alternativa se propone el uso de nanopartículas de plata (AgNPs) para incrementar su efecto antimicrobiano de este elemento. En este sentido se ha reportado que las AgNPs presentan un amplio rango de toxicidad frente a microorganismos como *S. aureus*, *E. coli* y otros (Fernandes et al., 2018). Existen tres métodos para la síntesis de NP, los métodos químicos y físicos, sin embargo, presentan inconvenientes, incluido el uso de disolventes tóxicos, la generación de subproductos peligrosos y un alto consumo de energía (Hanan et al., 2018), mientras que el método verde la síntesis es mediado por plantas, hongos, virus, levaduras, etc., (Ronavari et al., 2021).

Síntesis verde a partir de plantas

En la última década, se ha informado que cientos de extractos de plantas son agentes reductores efectivos en la síntesis de Ag-NP (Escárcega-González et al., 2018), algunos ejemplos es el uso de extracto de hoja de *Perilla frutescens* mediador en la síntesis de las NP, la cual exhibe una actividad antibacteriana efectiva contra *E. coli*, *Bacillus subtilis* y *S. aureus* (Reddy et al., 2021), *Clinacanthus nutans* esta otra planta que se utiliza como biorreductor de las NP contra la inhibición de bacterias trasmisoras de enfermedades por vía alimentaria (Chiu et al., 2021).

Resultados

Síntesis verde de AgNPs

La síntesis de AgNPs se observó mediante la resonancia de plasmones, la cual se refiere a la excitación de los plasmones superficiales de nanoestructuras metálicas mediante la luz, y se interpreta a simple vista con el viraje de coloración de transparente a café-rojizo, con ello pudimos elucidar que el extracto actuó como bioreductor y se llevó a cabo la síntesis de AgNPs mediada por el extracto de la raíz *Croton draco* (Figura 1a).

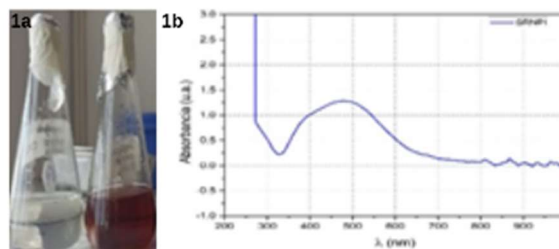


Figura 1. Síntesis Verde Mediada por la raíz de *Croton Draco* (1a) análisis de plasmones 1b) análisis UV-Vis muestra el pico característico de absorción de las AgNPs

Caracterización de las AgNPs

La caracterización de las AgNPs se llevó a cabo de manera inicial con un análisis UV-Vis, el cual mostro el pico característico de absorción de las AgNPs (figura 1b), con este indicio las AgNPs se analizaron mediante el microscopio electrónico de barrido (MEB), en el cual se comprobó la existencia de NPs y se observó la polidispersión de tamaños de las AgNPs (figura 2a). Posteriormente se realizó una difracción de rayos X y se observaron los índices de difracción de la plata (1 1 1) (2 0 0) (2 2 0), con ello se comprobó que las NPs s que se observaron en el MEB son de plata (figura 2b).

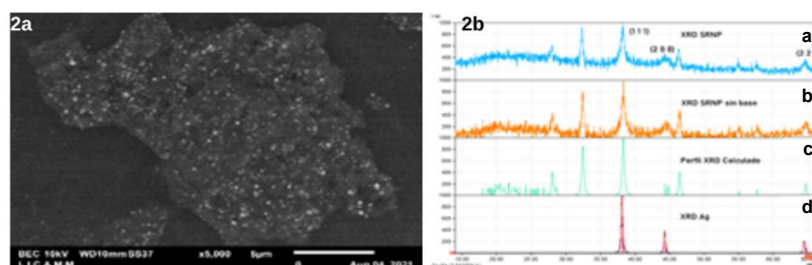


Figura 2. Caracterización de tamaño y composición de las NPs a) Micrografía De Análisis MEB (Microscopio Electrónico De Barrido) b) Difractograma XRD (Difracción De Rayos X), a) Difracción de la muestra original eliminando el ruido b) Difracción de la muestra original eliminando el ruido c) Cálculo de los posibles picos de difracción del difactograma d) Difactograma correspondiente a la Ag

Actividad antimicrobiana de las AgNPs

Para analizar la actividad antimicrobiana de las AgNPs, se empleó una bacteria Gram (+) *Staphylococcus aureus* y otra Gram (-) *Escherichia coli*, se utilizaron por ser de las principales bacterias trasmisoras de ETAs, los análisis se evaluaron 24 h post inoculación y se pudo observar que en ambos casos las AgNPs presentan un efecto antimicrobiano, debido a la presencia del halo de inhibición que se observa (Figura 3), el cual difirió en tamaño respecto de una bacteria a otra, para *E. coli* se presentaron halos con un diámetro entre 13.5 mm y 14.1 mm, en el caso de *S. aureus* los halos alcanzaron halos

de entre 9.1 y 9.5 mm, dando por hecho que las AgNPs presentan una mayor actividad antimicrobiana frente a *E. coli*. Todos los experimentos se realizaron por triplicado

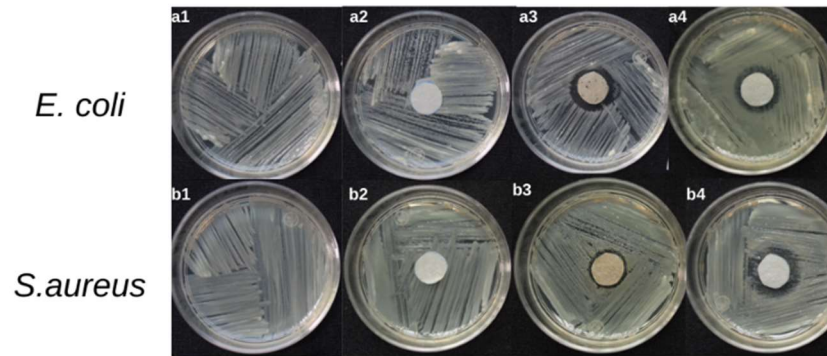


Figura 3. Actividad antimicrobiana de las AgNPs Vs *S. aureus* (gram -) y *E. coli* (gram +), a1, b1) *E. coli* y *S. aureus* a2, b2) *E. coli* y *S. aureus* inoculados con extracto de la raíz de *Croton Draco* a3, b3) AgNPs Vs *E. coli* y *S. aureus* a4, b4) Ampicilina Vs *E. coli* y *S. aureus*

Discusión de resultados

De acuerdo a los resultados de la síntesis y UV-VIS fue evidente la formación de AgNPs, por el cambio de coloración en las soluciones, el cual viro a un color café-rojizo, esto concuerda con lo reportado por Masooleh et al., (2018) ellos indican que las nanopartículas de plata exhiben diferentes colores, dependiendo del pH y el tamaño de las NPs, estos colores surgen debido a la excitación de la resonancia de plasmón superficial (SPR) en las NP de Ag. Con el análisis UV-Vis se comprobó la presencia de las NP, se observó la formación del pico hiperbólico de entre 480 y 500 nm. Reddy et al., (2021) obtuvieron datos muy similares utilizando extracto de hoja de *Perilla frutescens*, los cuales obtuvieron un pico de absorción de entre 400 y 480 nm. Lo anterior concuerda con la teoría de Mie, que enuncia que el resultado de la interacción de la luz con electrones metálicos finos genera una barra de absorción (Chýlek & Zhan, 1990). En nuestro caso este pico se engrosa debido a la polidispersión de las AgNPs, esto concuerda con lo visto en la microfotografía del MEB, mientras que el patrón XRD muestra picos de difracción mayores a 37, 44 y 64° indexados a (111), (200), (220) planos de difracción, respectivamente, Reddy et al., (2021) obtuvieron resultados similares con el extracto de *Perrilla frutaescens*, obteniendo **picos de difracción de 38.11, 44.29, 64.39 y 77.32°**, indexados a **(111), (200), (220) y (311) planos de difracción**, además mencionan que dichos resultados fueron consistentes usando *Tithonia diversifolia*, *Artemisia turcomanica*, y *Ziziphus Jujuba*.

Respecto a la actividad antimicrobiana se observa la formación del halo de inhibición con ambos microorganismos *S. aureus* y *E. coli*, comparando con el halo inhibición formado por ampicilina, se deja ver claramente que las AgNPs mediadas por la raíz de *Croton draco* tiene efectos sobre dos de los principales microorganismos transmisores de ETAs. Chiu et al., (2021) realizaron una investigación de síntesis de AgNPs mediadas por *Clinacanthus nutans*, en su investigación utilizaron *S. aureus*, y *E. coli*, en sus resultados mencionan que las actividades más altas fueron contra *S. aureus* con 11,35 mm y 11,52 mm, respectivamente, pero más bajas contra la *E. coli*, con zonas de inhibición a 9.22 mm y 9 mm. Reddy et al., (2021) obtuvieron tuvo zonas de inhibición de 14,4, y 10,3 mm contra *E. coli*, y *S. aureus*, respectivamente, comparando ambos resultados se observa una diferencia en la actividad antimicrobiana, esto se puede deber al tamaño de las NP o la actividad antimicrobiana de la plata. Aun así en los tres casos es evidente que la AgNPs mediada por distintos materiales biológicos son eficaces para la inhibición de microorganismos como *el S. aureus que* tiene la capacidad para producir la toxina

estafilocócica, siendo así uno de los microorganismos patógenos causantes de enfermedades de origen alimentario (Zendejas-Manzo et al, 2014), y *E. coli*, bacteria causante de enfermedades intestinales en la población, debido a esto la importancia de eliminarlos representa una gran ventaja para la industria alimentaria (CDC, 2021), puesto que garantiza alimentos inocuos y seguros para las personas.

Conclusiones

En el presente estudio, se informó sobre la biorreducción de iones de plata en nanopartículas de plata utilizando extracto de la raíz de *Croton draco*, de la cual se llevó a cabo una síntesis correcta indicada por el viraje en la coloración, así como el pico de absorción obtenido en el análisis UV-vis, así mismo se logró observar la polidispersión de tamaños, se comprobó que la concentración empleada del extracto con AgNPs fue suficiente para la formación del halo de inhibición, contra dos de los principales microorganismos transmisores de ETAs (*E. coli*, y *S. aureus*), cabe mencionar que la concentración mínima inhibitoria es distinta para cada microorganismos y varía dependiendo el tipo de antibiótico empleado. Esta actividad antimicrobiana se debe a los mecanismos a nivel molecular que ocurren por la acción de las AgNPs, iniciando cuando estas atraviesan la membrana y comienzan a afectar procesos como; el transporte de electrones, la interrupción de la cadena respiratoria, procesos de transcripción y traducción en el ADN, valga la redundancia se tiene perspectivas para la eliminación de más microorganismos transmisores de ETAs, como *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Infantis*, *Salmonella enterica subsp. enterica serovar agona*, *B. subtilis* etc., presentes en productos como los cárnicos, lácteos y enlatados. Por lo anterior se concluye que se logró cumplir con el objetivo de la presente investigación, el cual fue: Realizar la síntesis verde de AgNPs empleando extractos de la raíz de *Croton draco* para inhibir microorganismos transmisores de ETAs.

Apéndices

Método

Preparación de bioextractos y síntesis verde de AgNPs

Material biológico deshidratado de *Croton draco*, se empleó para preparar un extracto etanólico. Posteriormente para la síntesis de NPs se empleó el método de reducción verde (Masooleh et al., 2018), para ello se colocaron 89 mL de H₂O destilada, 10 ml del extracto y 1 ml de AgNO₃ 0.05 M en un matraz, se dejó en agitación suave durante 20 h protegiendo de la luz, posterior a ello se analizó la resonancia de plasmones como indicio de la síntesis.

Caracterización de las nanopartículas

La caracterización de las nanopartículas se realizó utilizando el UV-Vis JEMWAY 3050, y al observar la curva característica se realizó una micrografía de análisis MEB (Microscopio electrónico de barrido), en la cual se muestran los tamaños de las NPs y, por último, se realizó un difractograma XRD (Difracción de rayos X) para observar los índices de difracción de la plata.

Actividad antimicrobiana de las AgNPs mediadas por la raíz de *Croton draco*

La actividad antibacteriana de las AgNPs se realizó utilizando el método de difusión en disco contra *Staphylococcus aureus* (Gram +) y *Escherichia coli* (Gram-). Los cultivos bacterianos frescos, se plaquearon durante la noche y se empleó el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), para analizar el efecto de las AgNPs, las placas se mantuvieron en incubación a 37 ° C durante 24 h. Para el desarrollo del experimento se colocaron como controles cepas de *S. aureus* y *E. coli*, las cepas inoculadas con el disco adicionado del extracto de raíz de *Croton draco* y las placas adicionadas con ampicilina a 25 mg/L y además las placas adicionadas con el disco con AgNPs. Después de 24 h post inoculación, se observó el halo de inhibición, para ello todas las pruebas se realizaron por triplicado.

Referencias

- Augustin, J.-C., Kooh, P., Bayeux, T., 2ORCID, L. G., Meyer, T., Silva, N. J.-D., . . . Cerf, O. (2020). Contribución de los alimentos y las malas prácticas de manipulación de alimentos a la carga de enfermedades infecciosas transmitidas por los alimentos en Francia. *Alimentos*, 9(11), 1644, doi:10.3390/foods9111644.
- Baer-Nawrocka, A., & Sadowski, A. (2019). Seguridad alimentaria y autosuficiencia alimentaria en el mundo: una tipología de países. *PLOS ONE*, 14(3), 15, doi:10.1371/journal.pone.0213448.
- Brodowska, A. J., Nowak, A., & Śmigielski, K. (2018). El ozono en la industria alimentaria: principios del tratamiento con ozono, mecanismos de acción y aplicaciones: una descripción general. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58(13), 2176-2201, doi: 10.1080 / 10408398.2017.1308313.
- CDC. (2021). La E. coli y la seguridad de los alimentos. Obtenido de <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html>
- Chiu, H. I., Mood, C. N., Zain, N. N., Ramachandran, M. R., Yahaya, N., Kamal, N. N., . . . Lim, V. (2021). Nanopartículas de plata biogénicas de *Clinacanthus nutans* como antioxidante con efectos antimicrobianos y citotóxicos. *Química bioinorgánica y aplicaciones*, 2021, 11, doi:10.1155/2021/9920890.
- Chýlek, P., & Zhan, J. (1990). Absorption and scattering of light by small particles: the interference structure. *Appl Op*; 29(28), 3984, doi: 10.1364/AO.29.003984.
- Escárcega-González, JA, G.-C., A, V.-R., LZ, M.-P., MT, T.-G., E., D. B.-C., . . . Villal. (2018). Actividad antimicrobiana in vivo de nanopartículas de plata producidas a través de una síntesis química verde utilizando *Acacia rigidula* como agente reductor y taponador. *International Journal of Nanomedicine*; 13, 2349-2363, doi:10.2147/ijn.s160605 .
- Fernandes, R. A., Berretta, A. A., Torres, E. C., Buszinski, A. F., Fernandes, G. L., Mendes-Gouvêa, C. C., . . . Bar, D. (2018). Potencial antimicrobiano y citotoxicidad de nanopartículas de plata fitosintetizadas por extracto de cáscara de granada. *Antibiotics*; 7(3), 51, doi:10.3390/antibiotics7030051.
- García-Ruiz, A., J. Crespo, J. L.-d.-L., Olmos, M., Monge, M., Rodríguez-Alfaro, M., Martín-Álvarez, P., . . . Moreno-Arriba, M. (2018). M22 - SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE NUEVAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOCOMPATIBLES PARA EL CONTROL DE CRECIMIENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS Y ACÉTICAS EN VINOS. Obtenido de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/127113/1/nanopart%C3%ADculas%20de%20plata.pdf>
- Hanan, N. A., Chiu, H. I., M. R., Tung, W. H., Zain, N. N., Yahaya, N., & Lim, V. (2018). Cytotoxicity of Plant-Mediated Synthesis of Metallic Nanoparticles: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1725, doi:10.3390/ijms19061725.
- Lai, Y.-H., Chung, Y.-A., Wu, Y.-C., Fang, C.-T., & Chen, P.-J. (2020). Carga de morbilidad por enfermedades transmitidas por los alimentos en Taiwán. *Revista de la Asociación Médica de Formosa*, 119(9), 1371-1381, doi:/10.1016/j.jfma.2020.03.013.
- Makkar, H. P. (2017). Review: Feed demand landscape and implications of food-not. *Animal* 12(08), 1744-1754, doi:10.1017 / S175173111700324X. Obtenido de *Animal*, 12(08).
- Masooleh, A. K., Ahmadikeh, A., & Saidi, A. (2018). Síntesis verde de nanopartículas de plata estables por el principal componente reductor del té verde (*Camellia sinensis* L.). *IET Nanobiotechnology*, 13(2), 183-188, doi:10.1049/iet-nbt.2018.5141.

- Mendonça, B. S., Oliveira, W. R., Pereira, R. S., Santos, L. R., Rodrigues, L. B., Dickel, E. L., . . . Pilotto, F. (2021). Nota de investigación: El uso de gas amoníaco para el control de *Salmonella* en las capas de aves de corral. *Poultry Science*; 100(1), 314-318, doi:/10.1016/j.psj.2020.10.008.
- Naranjo, M. A. (2011). "Propiedades antimicrobianas y cito-toxicidad de las nanopartículas de plata depositadas en placas de titanio -In vitro". Obtenido de <http://eprints.uanl.mx/4223/1/1080253879.pdf>
- Reddy, N., Huizhen Li, T. H., Bethu, M., Ren, Z., & Zhang, Z. (2021). Fitosíntesis de nanopartículas de plata usando extracto de hoja de *Perilla frutescens*: caracterización y evaluación de actividades antibacterianas, antioxidantes y anticancerígenas. *Int J Nanomedicine*; 16:, 15-29, doi:10.2147/IJN.S265003.
- Ronavari., Igaz, N., D, A., Szerencses.B, K, C. M., I, P., & M, K. (2021). Nanopartículas de plata verde y oro: enfoques de síntesis biológica y potenciales para aplicaciones biomédicas. *Moleculas*, 26(4), 39,doi:10.3390/moleculas26040844.
- Salem, S. S., & Fouda, A. (2020). *Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their ProspectiveBiotechnological Applications: an Overview*. Springer, 27, doi:10.1007/s12011-020-02138-3.
- Santeramo, F. G., Bevilacqua, A., Caroprese, M., Speranza, B., Ciliberti, M. G., & Lamonaca, M. T. (2021). Riesgos evaluados versus riesgos percibidos: comunicaciones innovadoras en las cadenas de suministro agroalimentario. *Alimentos*, 10(5), 1001, doi:10.3390/foods10051001.
- Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H., & Soto-Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades,. *Rev Biomed*; 25, 129-143.