

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE GUANABANA
(*ANNONA MURICATA*) Y MADREDO (*GLIRICIDIA SEPIUM*) SOBRE
MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA ALIMENTARIA.**

POR:

BILLY JOEL CASTILLO FLORES

ANTEPROYECTO DE TESIS



CATACAMAS

OLANCHO

OCTUBRE, 2023

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE GUANABANA
(*ANNONA MURICATA*) Y MADREDO (*GLIRICIDIA SEPIUM*) SOBRE
MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA ALIMENTARIA.

POR:

BILLY JOEL CASTILLO FLORES

M. Sc. ZOILA ESPERANZA FLORES HERNANDEZ

Asesor Principal

ANTEPROYECTO DE TESIS

PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA REALIZACIÓN
DEL TRABAJO PROFESIONAL SUPERVISADO

CATACAMAS

OLANCHO

JUNIO, 2024

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS	2
III. OBJETIVOS.....	3
3.1. Objetivo General:	3
3.2. Objetivo Específicos:	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1. <i>Annona muricata</i>	4
4.1.1. Composición química y propiedades de <i>Annona muricata</i>	5
4.1.2. Flavonoides	5
4.1.3. Acetogeninas	6
4.2. <i>Gliricidia sepium</i>	7
4.2.1. Composición química y propiedades de <i>Gliricidia sepium</i>	8
4.3. Microorganismos de importancia alimentaria	8
4.4. <i>Escherichia coli</i>	9
4.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
4.6. Compuestos antibacterianos.....	10
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
5.1. Lugar de investigación	11
5.2. Materia prima	11
5.3. Preparación del extracto de las hojas de <i>A.muricata</i> y <i>G. sepium</i>	11
5.3.1. Limpieza y desinfección del material vegetal	11
5.3.2. Deshidratado del material vegetal	11
5.3.3. Macerado del material seco.....	12
5.3.4. Extracción del solvente	12
5.3.5. Preparación del inóculo.....	12
5.3.6. Preparación de los discos con el extracto.....	13
5.4. Escala de McFarland	13
5.5. Diseño experimental.....	14
VI. CRONOGRAMA	16
VII. PRESUPUESTO	17
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	18

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de guanábana	4
Figura 2. Estructura básica de flavonoides y sistema de numeración	6
Figura 3. Estructura química de las acetogeninas.	7
Figura 4. Árbol de madread	8

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la <i>Anona muricata</i>	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica del madreño.....	8
Tabla 3. Escala de Mcfarland	14
Tabla 4. Tratamientos.....	15

I. INTRODUCCIÓN

La búsqueda de alternativas naturales a los conservantes y antimicrobianos sintéticos ha adquirido una relevancia creciente en la industria alimentaria, debido a la preocupación por la resistencia a los antibióticos y la demanda de productos más seguros y naturales por parte de los consumidores.

En este contexto, los extractos de plantas se han destacado como una fuente rica de compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas potenciales. La guanábana (*Annona muricata*), originaria de las regiones tropicales de América, ha sido tradicionalmente utilizada en la medicina popular por sus múltiples beneficios para la salud. Sus hojas, semillas y pulpa contienen acetogeninas, alcaloides y flavonoides, que han demostrado tener actividad antibacteriana, antifúngica y antiparasitaria en diversos estudios (Liu et al. 2016).

Por otra parte, el madreño (*Gliricidia sepium*) es una planta leguminosa que crece en América Central y el Caribe, conocida por sus usos en la agricultura y la medicina tradicional. Contiene compuestos como taninos, saponinas y alcaloides que le confieren propiedades antibacterianas y antioxidantes.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto antibacteriano de los extractos de *Annona muricata* y *Gliricidia sepium* sobre dos microorganismos de importancia alimentaria: *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Estos patógenos son de gran relevancia debido a su prevalencia en infecciones alimentarias y su capacidad para desarrollar resistencia a los antibióticos convencionales. La incorporación de extractos de *Annona muricata* y *Gliricidia sepium* podría ofrecer una solución sostenible y saludable frente a los desafíos actuales que enfrenta la industria en el control de patógenos alimentarios como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

II. HIPÓTESIS

Ho: Los extractos etanolicos de *Annona muricata* y *Gliricidia sepium* no inhibirán el crecimiento de las bacterias *E. Coli* y *staphylococcus aureus*

Ha: Los extractos etanolicos de *Annona muricata* y *Gliricidia sepium* inhibirán el crecimiento de las bacterias *E. Coli* y *staphylococcus aureus*

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General:

- Estudiar el efecto antibacteriano del extracto etanolico de guanana (*Anona murica*) y madreao (*Gliricida sepium*) sobre microorganismos de importancia alimentaria.

3.2. Objetivo Específicos:

- Comparar la efectividad antibacteriana de los extractos de *Annona muricata* y *Gliricidia sepium* para determinar cuál es más eficaz contra cada microorganismo.
- Evaluar el efecto de la concentración de los extractos de *Annona muricata* y *Gliricidia sepium* sobre la inhibición del crecimiento bacteriano.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. *Annona muricata*

Annona muricata conocida comúnmente en Honduras como guanábana, es un árbol de hoja perenne que se ve en zonas tropicales y subtropicales (Liu et al. 2016). Es originaria de América y África tropical, y debido a la llegada de los españoles a América fue distribuida en los trópicos y hoy en día es posible encontrarla en el oeste de la India, en norte y Suramérica, islas del pacífico y en el sureste de Asia (Gordillo et al. 2012). La guanaba, pertenece a la familia Annonaceae, es un árbol pequeño y ramificado, con hojas gruesas y siempre verdes, brillantes en la parte inferior, de amplia distribución, como se muestra en la Figura 1 (Arroyo et al. 2005).



Figura 1. Árbol de guanábana (Maneiral 2018).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la *Anona muricata*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magniolopsida
Orden	Magnoliales
Familia	Annonaceae
Genero	Anona
Especie	<i>A muricata</i>

(Arroyo et al.2005)

4.1.1. Composición química y propiedades de *Anona muricata*

Este árbol ha sido ampliamente cultivado en muchos países tropicales y tradicionalmente es utilizado para diferentes enfermedades y dolencias, tales como en tratamientos contra infecciones por parásitos, bacterias y virus, calmante, insecticida, en el combate a convulsiones, altos niveles de azúcar en la sangre y otros usos según la parte de la planta que se utilice. En diferentes partes de la planta podemos encontrar compuestos fenólicos y acetogeninas que a estas se le atribuyen propiedades antioxidantes y en el ámbito de este trabajo, propiedades antibacterianas.

4.1.2. Flavonoides

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo (Carballo et al. 2019). Dentro de los fenoles encontramos los flavonoides que son

la subclase de polifenoles más grande y abundante del mundo vegetal. Se distribuyen en las plantas vasculares de manera ubicua y la variedad de sus propiedades biológicas ha llamado poderosamente la atención de los investigadores, de modo que, hoy día, es el grupo de polifenoles más estudiado. (Ezequiel and Francisco 2003) En las plantas, los flavonoides se encuentran en estado libre o en forma de heterósidos, que es lo más frecuente. Estos heterósidos son generalmente solubles en agua, mientras que sus geninas o agliconas (parte no azucarada del heterósido) son sólo ligeramente. Los flavonoides presentan actividad, antioxidante, antiinflamatoria y antibacteriana. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenil-piranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se enumeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 1' al 6', como se aprecia en la Figura 2 (Herrera Calderón 2014)

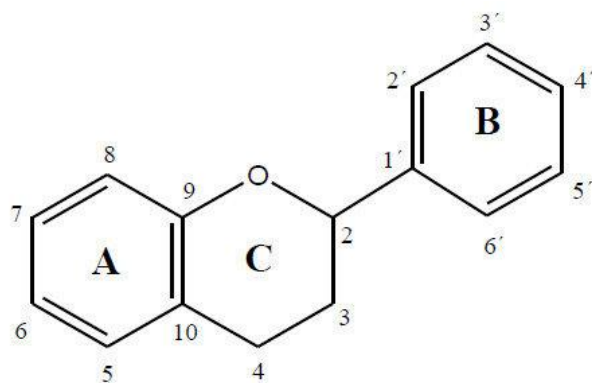


Figura 2. Estructura básica de flavonoides y sistema de numeración (Benítez 2006).

4.1.3. Acetogeninas

Muchos compuestos químicos y sustancias activas han sido encontrados en la guanábana, en su mayoría acetogeninas (ACG's) anonáceas. En la Figura 2 estas sustancias son fitoquímicos producidos tanto en tallos, como en las hojas del árbol. Se producen en corteza, raíces y semillas de los frutos (Sosa Crespo et al. 2022). A las ACG's también se les atribuye

importantes propiedades antimicrobianas, estas ejercen su efecto a nivel del complejo NADH - ubiquinona oxidoreductasa, afectando el tránsito de iones cargados negativamente a través de la cadena respiratoria. Dichos compuestos modulan la producción de ATP, gracias a los anillos tetrahydrofurano (THF) y γ -lactona que presentan. Además, bloquean las cascadas de protones y con ello la respiración celular, afectando la viabilidad de las células (Hernández et al. 2021).

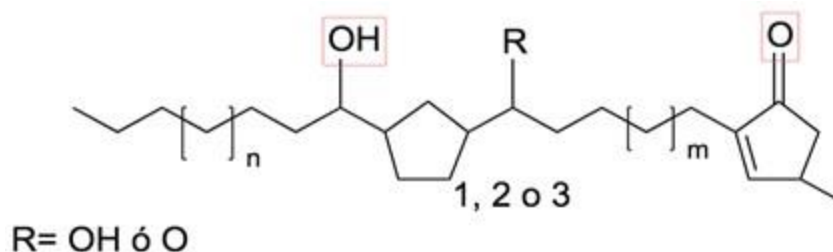


Figura 3. Estructura química de las acetogeninas (Sosa Crespo et al. 2022).

4.2. *Gliricidia sepium*

Gliricidia sepium, conocido comúnmente como madreño es un árbol caducifolio, perteneciente a la familia de las leguminosas, nativo de Meso América, Centroamérica y del norte de Sudamérica, que logra alcanzar alturas de hasta 12 metros como se muestra en la figura 3 (González-Cuello et al. 2021). La palabra *Gliricidia* puede traducirse como veneno para ratas y describe el conocido uso de sus hojas o corteza molida mezcladas con maíz cocido como rodenticida (Juanico et al. 2023). A nivel local, los ganaderos lo utilizan para alimentación, cercas vivas, en ámbito medicinal los extractos de hojas se utilizan como remedio para el picor, las erupciones cutáneas, las infecciones de la piel, mientras que las decocciones y los extractos de brotes se utilizan para tratar heridas, irritaciones de la piel e incluso la tiña.



Figura 4. Árbol de madreá (Flickr)

Tabla 2. Clasificación taxonómica del madreá

Reino	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Genero	Gliricidia
Especie	<i>Gliricidia sepium</i>

(Carballo et al. 2019)

4.2.1. Composición química y propiedades de *Gliricidia sepium*

Carballo et al. 2019, encontraron que el madreá cuenta con un alto contenido de fenoles, entre estos un alto contenido de flavonoides, lo que le dan propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

4.3. Microorganismos de importancia alimentaria

La principal causa de deterioro de los alimentos es el ataque por diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). El problema del deterioro microbiano de los alimentos tiene implicaciones económicas evidentes, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados antes de su comercialización, pérdida de la imagen de marca, etc.) como para distribuidores y consumidores (deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo) (Nereyda y Saucedo 2011). Dentro de los microorganismos patógenos podemos encontrar, la *salmonella*, *E. coli*, *staphylococcus aureus*, *clostridium*, de los cuales en la investigación se experimentara con *E. coli* y *staphylococcus aureus*.

4.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) es el microorganismo predominante en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente, siendo un patógeno común transmitido por los alimentos en humanos en todo el mundo. La mayoría de las cepas de *E. coli* son comensales; sin embargo, algunas cepas causan infecciones gastrointestinales, mientras que otras causan infecciones urinarias, nerviosas y sistémicas (Lencina et al. 2024).

E. coli es un bastoncillo gramnegativo que no forma esporas y comprende un grupo grande y diverso de bacterias. *E. coli* puede, sobrevivir largos períodos en el medio ambiente y proliferar en la mayoría de los productos alimenticios. Su transmisión se produce cuando se consumen alimentos o agua que están contaminados (Ekonomou et al. 2024).

4.5. *Staphylococcus aureus*

El nombre de estafilococos fue designado por Sir Alexander Ogston después de utilizar la expresión griega staphyle (racimo de uvas) para describir las características de crecimiento en grupos semejantes a uvas. Los estafilococos son cocos Gram positivos que miden cerca de 1 μm de diámetro, no móviles, aerobios facultativos y fermentadores de glucosa. El género *Staphylococcus* contiene más de 30 especies diferentes (Velázquez Meza 2005). Este es un

tipo de bacteria patógena que puede causar diversas infecciones en humanos, desde infecciones leves de la piel y tejidos blandos hasta enfermedades graves y potencialmente mortales como endocarditis y neumonía (Tao et al. 2024).

4.6. Compuestos antibacterianos

Según, (Andrés et al. 2014) la actividad antimicrobiana está estrechamente ligada a los compuestos bioactivos presentes en las partes herbales de las plantas. Muchos alimentos contienen compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana. En estado natural, estos compuestos pueden desempeñar el papel de prolongadores de la vida útil de los alimentos.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Lugar de investigación

La investigación se realizará en el laboratorio de microbiología, laboratorio de biotecnología laboratorio de suelos y la planta hortofrutícola de la Universidad Nacional de Agricultura. Ubicada en la Carretera a Dulce Nombre de Culmi, Kilómetro 215, Barrio El Espino Catacamas, Olancho, Honduras.

5.2. Materia prima

Se seleccionarán nueve kilogramos de hojas de *A.muricata* y *G. sepium* que no estén dañadas por insectos, contaminadas por hongos o bacteria y que las hojas no estén secas, estas se colectaran de la sección de frutales en la Universidad Nacional de Agricultura.

5.3. Preparación del extracto de las hojas de *A.muricata* y *G. sepium*

5.3.1. Limpieza y desinfección del material vegetal

Se desinfectarán las hojas con hipoclorito de sodio al 2%, en una relación de cuatro ml de hipoclorito de sodio por un litro de agua destilada. El material vegetal se dejará con la solución por un tiempo de cinco minutos.

5.3.2. Deshidratado del material vegetal

Se deshidratarán los nueve kilogramos del material vegetal de las dos plantas ya desinfectadas, las cuales se llevarán a deshidratar en un deshidratador manteniéndose a una temperatura de 60°C durante 48 horas.

5.3.3. Macerado del material seco

El material vegetal seco será triturado utilizando un mortero. Las hojas pulverizadas y pesadas se colocarán dentro de un vaso de precipitación estéril conteniendo etanol al 96% (1:2 m/v). El preparado se dejará reposar realizando continuamente movimientos rotacionales a temperatura ambiente y sin mantener contacto directo con la luz solar. Pasado 7 días el tiempo de maceración, se filtrará tres veces el producto, con papel para filtrar (Hernández et al. 2021).

5.3.4. Extracción del solvente

El extracto total pasará a un extractor Soxhlet en dicho proceso separa las muestras de un sólido mediante un proceso de evaporación y condensación de un solvente, para obtener el extracto seco. Se realizan dos concentraciones del extracto seco con etanol al 40% en una relación (1:1 m/v) y (0.5:1 m/v).

5.3.5. Preparación del inóculo

Las bacterias ya aisladas serán proporcionadas por el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Agricultura. Posteriormente se emplearán cajas Petri conteniendo agar Müller-Hinton con previo control de esterilidad. Los inóculos bacterianos se sembrarán por separado utilizando hisopos estériles (dispersión en la superficie de las placas).

5.3.6. Preparación de los discos con el extracto

Se utilizarán discos estériles, de un tamaño de 6mm, de papel filtro. Los discos estériles se embeberán con el extracto etanólico a las diferentes relaciones (1:1 m/v) y (0.5:1 m/v) y la solución salina fisiológica estéril (control negativo). Luego los discos impregnados se colocarán en una superficie estéril dentro de la cabina de bioseguridad Nivel II, donde se mantendrán por cuatro horas hasta que no quede liquido en los discos, este proceso garantiza que la actividad antibacteriana se deba al extracto del material vegetal y no al etanol.

Posteriormente, cada disco se colocará sobre el agar a una distancia promedio de 20 mm entre sí y se dejarán reposar por 20 minutos, para luego incubarse a 37°C por 24 horas. Transcurridas 24 horas, se medirán la longitud de las zonas de inhibición observadas incluyéndose el diámetro del disco (mm) (Hernández et al. 2021).

5.4. Escala de McFarland

Los estándares de McFarland son patrones de turbidez basados en suspensiones de sulfato de bario. Cada patrón se prepara mezclando Ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 1% y Cloruro de bario ($BaCl_2$) al 1,175%. Esta escala se utiliza para estimar la densidad bacteriana de una suspensión, donde se compara visualmente la turbidez con la de los patrones de McFarland.

Primeramente, necesitamos preparar las disoluciones de H_2SO_4 y $BaCl_2$. Para ello, utilizaremos un matraz de 500ml y otro de 50ml. El H_2SO_4 lo necesitaremos al 1%, por tanto, tenemos que poner 5ml de H_2SO_4 y 495ml de agua destilada. Para el $BaCl_2$, que lo queremos al 1,175%, utilizaremos un matraz de 50ml, teniendo que pesar 0,5875 gramos de $BaCl_2$, y enrasar el matraz con agua destilada.

Una vez tengamos preparados los matraces con las distintas disoluciones, rotulamos cada tubo, correspondiendo a su turbidez determinada. Calcularemos la cantidad de cloruro de bario y ácido sulfúrico necesario para alcanzar la turbidez deseada en cada tubo, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Escala de Mcfarland

Nº	BaCl ₂ 0,048M ml	H ₂ SO ₄ 0,36M ml	Vf ml	Nº Células
0,5	0,05	9,95	10	1,5 · 10 ⁸
1	0,1	9,9	10	3 · 10 ⁸
2	0,2	9,8	10	6 · 10 ⁸
3	0,3	9,7	10	9 · 10 ⁸
4	0,4	9,6	10	12 · 10 ⁸
5	0,5	9,5	10	15 · 10 ⁸
6	0,6	9,4	10	18 · 10 ⁸
7	0,7	9,3	10	21 · 10 ⁸
8	0,8	9,2	10	24 · 10 ⁸
9	0,9	9,1	10	27 · 10 ⁸
10	1	9	10	30 · 10 ⁸

Luego de tener todas las disoluciones en los tubos de ensayo, estos se homogenizarán, para pasar a ser analizados en un espectrofotómetro de UV- visible marca ThermoScientific, para observar los distintos grados de turbidez.

5.5. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizara es un diseño factorial de 2x2, donde los factores a estudiar son: extractos de material vegetal (extractos de hoja de (guanabana *A.muricata* y *madreado G.sepium*); y la concentración del extracto etanoico (1:1 m/v) y (0.5:1 m/v). La prueba de Tukey se utilizará para comparar las medias y determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Para el análisis de los datos se utilizará el software Infostat 2020.

Tabla 4.Tratamientos

Tratamiento	Material vegetal	Extracto seco/etanol
T1	Extracto de guanabana (<i>A.muricata</i>)	1:1 m/v
T2	Extracto de guanabana (<i>A.muricata</i>)	0.5 m/v
T3	Extracto de madreao (<i>G. sepium</i>)	1:1 m/v
T4	Extracto de madreao (<i>G. sepium</i>)	0.5 -m/v
T5	Solución fisiológica	

VI. CRONOGRAMA

ACTIVIDAD	JUNIO				JULIO				AGOSTO			
Defensa de anteproyecto												
Recolección de muestras												
Elaboración de extractos												
Preparación de inóculos												
Evaluación de los extractos con los inóculos												
Elaboración de informe final												

VII. PRESUPUESTO

Insumo	Cantidad	Precio
Etanol 70%	1 galón	213
Hipoclorito de sodio 3%	1 litro	31
Tubos Eppendorf	10 tubos	200
Papel filtro	1 paquete	2112
Agar Muller-Hinton	1 bote	4542
Capsulas petri	20 capsulas	500
Isopos estériles	20 isopos	200
Agua destilada	1 galón	140
Agua pectonada	500 gramos	1200
Total		9138

VIII. BIBLIOGRAFIA

Andrés, N; Angélica, S; Longas, FF. 2014. Potencial antioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcohólicos de granadilla (*Passiflora ligularis*) Antioxidant and antimicrobial potential of aqueous and hidroalcoholic extracts of granadilla (*Passiflora ligularis*). s.l., s.e.

Arroyo, J; Prashad, M; Vásquez B, Y; Li, E; Tomás, G. 2005. actividad citotóxica in vitro de la mezcla de *annona muricata* y *krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. 22. s.l., s.e.

Carballo, LF; Aparecida, TJ; Díaz Solares, M; Sande Santos, D; Durán Osorio, NP; Blandón Osorio, AM; Castro Cabrera, I; Morales Lugo, Y; Altugana Pérez, N. 2019. Actividad antioxidante de extractos etanólicos, aceites esenciales de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. y propóleos de *Melipona beecheii* Bennett.

Ekonomou, SI; Kageler, S; Ch Stratakos, A. 2024. The effect of 3D printing speed and temperature on transferability of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* during 3D food printing (en línea). Food Microbiology 122:104561. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104561>.

González-Cuello, R; Guardo-Palomino, F; Quintana-Martínez, S. 2021. Active biofilms of aqueous extract of *Gliricidia sepium* and its influence on the microbiological shelf life of coastal cheese. Revista U.D.C.A Actualidad and Divulgacion Cientifica 24(1). DOI: <https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n1.2021.1467>.

Gordillo, J; Ortiz, D; Larahondo, J; Mirian, S; Panchón, H. 2012. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica (en línea). 11(2):111-126. Disponible en www.blacpma.usach.cl.

Hernández, CLC; Senmache, JGA; Cruz-López, CYS; Carrasco-Solano, FA; Moreno-Mantilla, M. 2021. Antibacterial effects of *Annona muricata* ethanolic extract on clinically Important microorganisms. *Gaceta Medica Boliviana* 44(1):29-33. DOI: <https://doi.org/10.47993/GMB.V44I1.219>

Herrera Calderón, O. 2014. Efecto antioxidante y antitumoral in vitro del extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. «lucraco» en línea celular de cáncer de próstata DU-145.

Juanico, MP; Purnamasari, L; Hwang, SG; De la Cruz, JF. 2023. The Potential of *Gliricidia sepium* Plant Extract as Antibacterial and Antifungal: A Review. *European Journal of Veterinary Medicine* 3(3):1-6. DOI: <https://doi.org/10.24018/ejvetmed.2023.3.3.95>.

Lencina, FA; Bertona, M; Stegmayer, MA; Olivero, CR; Frizzo, LS; Zimmermann, JA; Signorini, ML; Soto, LP; Zbrun, MV. 2024. Prevalence of colistin-resistant *Escherichia coli* in foods and food-producing animals through the food chain: A worldwide systematic review and meta-analysis. *Heliyon* 10(5). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26579>.

Liu, N; Yang, HL; Wang, P; Lu, YC; Yang, YJ; Wang, L; Lee, SC. 2016. Functional proteomic analysis reveals that the ethanol extract of *Annona muricata* L. induces liver cancer cell apoptosis through endoplasmic reticulum stress pathway. *Journal of Ethnopharmacology* 189:210-217. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.045>.

Nereyda, E; Saucedo, R. 2011.

Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas natural antimicrobial agent use in the preservation of fruits and vegetables. 7. Mexico, s.e.

Sosa Crespo, I; Pareja Aguiñaga, JA; Mugarte Moguel, AJ; Chel Guerrero, LA; Betancur Ancona, DA. 2022. Propiedades, beneficios y efectos de la guanábana (*Annona muricata* L.) sobre la glucemia y el cáncer. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales* 9(2):86-101. DOI: <https://doi.org/10.23850/24220582.4976>.

Velázquez Meza, ME. 2005. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente.

