

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Jatropha dioica* SOBRE MICROORGANISMOS CAUSALES DE INFECCIONES ENDODÓNTICAS

Pérez-Rodríguez G.A.^a, Méndez-González V^b, Vitales-Noyola M^b, Ávila Rodríguez R.^a

^a Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, a276206@alumnos.uasp.mx, raquel.avila@uaslp.mx

^b Facultad de Estomatología, Maestría en Endodoncia, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, marlen.vitales@uaslp.mx, veronica.mendez@uaslp.mx

RESUMEN

La *Jatropha dioica*, es una planta con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas, utilizada para tratar heridas, gingivitis y periodontitis. Actualmente existe alta resistencia a antibióticos, promoviendo el uso de técnicas terapéuticas complementarias, como los extractos de plantas. La espectroscopia Raman reveló frecuencias de mayor intensidad 1003 cm^{-1} en el tallo y 1400 cm^{-1} en la raíz (relacionadas a los compuestos catequina, epicatequina, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido siríngico, quercetina, kaempferol, rutina, β -sitosterol y secoisolariciresinol). Las pruebas de inhibición mostraron que el E. tallo fue más efectivo que el E. raíz con halos de inhibición superiores en *S. constellatus*, *S. viridans*, *S. salivarius*, *C. albicans* y *E. faecalis*, superando incluso a la clorhexidina. Proponiendo a la *J. dioica* como alternativa terapéutica para uso oral.

Palabras Clave: *Jatropha dioica*, antimicrobianos, microorganismo

ABSTRACT

Jatropha dioica is a plant with antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties, used to treat wounds, gingivitis, and periodontitis. Currently, there is high antibiotic resistance, promoting the use of complementary therapeutic techniques like plant extracts. Raman spectroscopy revealed higher intensity frequencies of 1003 cm^{-1} in the stem and 1400 cm^{-1} in the root (related to compounds such as catechin, epicatechin, gallic acid, chlorogenic acid, syringic acid, quercetin, kaempferol, rutin, β -sitosterol, and secoisolariciresinol). Inhibition tests showed that the stem extract was more effective than the root extract, with larger inhibition zones against *S. constellatus*, *S. viridans*, *S. salivarius*, *C. albicans*, and *E. faecalis*, even surpassing chlorhexidine. This proposes *Jatropha dioica* as a therapeutic alternative for oral use.

Key words: *Jatropha dioica*, antimicrobials, microorganism

1. INTRODUCCIÓN

La planta *Jatropha dioica*, conocida como sangre de grado, habita en climas áridos o semiáridos, es una planta utilizada tradicionalmente para tratar heridas, gingivitis y periodontitis, por sus propiedades antioxidantes, cicatrizantes, antiinflamatorias y antimicrobianas [1].

Recientemente, se ha investigado el estudio de las propiedades y componentes químicos de la planta *Jatropha dioica* mediante técnicas de análisis, y entre los compuestos más importantes se encuentran catequina, epicatequina, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido siríngico, quercetina, kaempferol, rutina, β -sitosterol y secoisolariciresinol [2], algunos son antioxidantes, antiinflamatorios y antiproliferativos, como es el caso del β -sitosterol el cual se ha reportado que presenta actividad quimioprotectora y estrogénica, además presenta un destacado efecto antiproliferativo y proapoptótico [3].

La comprensión de las propiedades antimicrobianas de la *Jatropha dioica* puede tener un alcance significativo en el desarrollo de tratamientos para abordar diversas infecciones orales, como las endodónticas, infecciones causadas por bacterias que colonizan el conducto radicular [4]. Es interesante investigar los microorganismos asociados a estas enfermedades, como bacterias y levaduras, así como mecanismos de patogenicidad y resistencia a los antibióticos. Dada la creciente resistencia de estos microorganismos por su capacidad de adaptación a los tratamientos antimicrobianos convencionales [5], por lo tanto, el objetivo del proyecto es evaluar la capacidad antimicrobiana de la *Jatropha dioica* sobre microorganismos causales de infecciones endodónticas.

2. TEORÍA

Los aceites esenciales se obtienen a partir de diferentes partes de las plantas, son extractos utilizados en la fitoterapia por sus propiedades terapéuticas y aromáticas. Se pueden extraer mediante diversos métodos como destilación por arrastre de vapor, la cual es un método de separación de sustancias para la extracción de aceites esenciales de alta calidad, de plantas, frutas y resinas. La técnica consiste en vaporizar dos líquidos inmiscibles a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor agua. El vapor ejerce la doble función de calentar la mezcla hasta su punto de ebullición y disminuir la temperatura de ebullición al adicionar la presión del vapor, que se inyecta, a la de los componentes volátiles de los aceites esenciales. Los vapores que salen se enfrían hasta condensar y los dos líquidos inmiscibles: agua y aceite esencial, finalmente se separan por gravedad [6].

Existen distintas técnicas de análisis para identificar los compuestos activos de los aceites esenciales, como la espectroscopia Raman, herramienta analítica que se basa en el análisis de la interacción luz-materia, analiza la luz dispersada por el material, al incidir sobre él un haz de luz monocromático, proporcionando información química y estructural de la sustancia [7].

La técnica de Kirby-Bauer, o ensayo de difusión en disco, es un método estándar para evaluar la susceptibilidad bacteriana a antibióticos. Consiste en inocular una suspensión bacteriana en agar Mueller-Hinton y aplicar discos de papel impregnados con antibióticos. Tras la incubación, se mide el diámetro de los halos de inhibición alrededor de los discos para determinar si la bacteria es sensible, intermedia o resistente a los antibióticos probados. Este método es fundamental en microbiología clínica por su simplicidad y estandarización, facilitando la selección de tratamientos antimicrobianos efectivos [8].

3. PARTE EXPERIMENTAL

La planta *Jatropha dioica* se recolectó en Cedral, San Luis Potosí, México, según el Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, UASLP. Posteriormente, se lavó con agua estéril (PiSA, Guadalajara, México), se cortó en trozos de 2 cm separando el tallo de la raíz. Para la eliminación de humedad se sometieron a 50°C a un horno de secado (RIOS-ROCHA, Estado de México, México) por 8h, posteriormente se realizó una extracción por arrastre por vapor con un equipo de destilación sencilla, por separado el tallo y la raíz por 3h. Cada extracto se vertió en celdas de cuarzo para la caracterizaron por espectroscopia Raman, en un equipo Ocean Optics, espectrómetro con cámara CCD, con haz de luz láser roja, longitud de onda de 785 nm, potencia de 499 mW. El láser de 499 mW se centró en las muestras a una distancia de 3mm y los espectros se captaron con el software Spectra suite, se procesaron con software Origin v 2023 por triplicado, en un rango de 2000 a 200 cm^{-1} .

Los microorganismos se obtuvieron del cepario, los cuales fueron aislados de pacientes con infecciones endodónticas, de conductos radiculares. Se utilizaron dos cepas de *Streptococcus constellatus*, dos de *Streptococcus viridans* I, dos *Streptococcus mutans*, dos *Streptococcus salivarius*, catorce *Candida albicans* y diecinueve *Enterococcus faecalis*, estas se reactivaron en medios de cultivo en caldo Infusión de Cerebro Corazón (BHI), caldo Dextrosa Sabouraud (BD Bioxon, Autopista México-Querétaro km 37.5, México) y se incubaron por 24h a 37°C. Posteriormente se realizó una escala de McFarland 0.5, según la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), por el método de Kirby Bauer modificado, para evaluar la actividad antimicrobiana de los microorganismos en placas de agar sangre y agar Dextrosa Sabouraud (BD Bioxon, Autopista México-Querétaro km 37.5, México), se realizó una siembra con hisopo para determinar la zona mínima inhibitoria de los discos previamente sumergidos en los extractos acuosos, como control positivo se utilizó hipoclorito de sodio al 2.25% y clorhexidina al 0.12% (LIMONT, Querétaro, México), y control negativo agua destilada estéril, y se incubaron a 37°C durante 48 horas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 3.1 Caracterización química de la planta *Jatropha dioica*

La caracterización química de la planta *Jatropha dioica* confirmó la presencia de los compuestos catequina, epicatequina, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido siríngico, quercetina, kaempferol, rutina, β -sitosterol y secoisolariciresinol. El espectro del extracto acuoso del tallo (E. tallo) (figura 1) en color negro, destaca una frecuencia prominente en 1003 cm^{-1} asociada al enlace C-O, se observan bandas vibracionales en las frecuencias en

488.93, 621.83, y 902 cm^{-1} pertenecientes al grupo alcohol, bandas en 1003.31 y 1034.94 cm^{-1} (enlaces C-OH), 1182.67 y 1333.68 cm^{-1} (grupo metilo $\text{CH}_2;\text{CH}_3$), 1603.19 y 1717.49 cm^{-1} (doble enlace C=C), correspondientes a vibraciones e interacciones dentro del anillo fenilo, propias del ciclohexano y del grupo etileno.

En comparación, al espectro obtenido del extracto de la raíz (E raíz) de color rojo (figura 1), mostró una frecuencia destacada en 1400 cm^{-1} asociada al grupo metilo CH_3 , relevante para β -sitosterol, ácido siríngico, ácido clorogénico y secoisolariciresinol. Se identificaron frecuencias en 841.8 cm^{-1} (grupo alcohol), 1147.57 y 1230.16 cm^{-1} (enlaces C-OH), 1280.43 y 1399.43 cm^{-1} (grupos alcanos $\text{CH}_2;\text{CH}_3$), 1550.46 y 1665.69 cm^{-1} (grupo alqueno C=C), y 1794.97 y 1881.66 cm^{-1} (grupo carbonilo C=O).

Estos hallazgos coinciden con estudios previos que utilizaron técnicas similares, Soler G. *et al.* (2013) investigaron los granos de café colombiano mediante espectroscopia Raman y FTIR encontraron bandas vibracionales en 1608 y 1630 cm^{-1} (anillo fenilo y etilenos C=C), y en 1119 y 1166 cm^{-1} (ciclohexano y anillo fenilo), similares a las observadas en *Jatropha dioica*. Carnicero, P. (2024), al analizar la acrilamida y α -terpineol en alimentos procesados, reportó bandas en 1610 cm^{-1} (enlace C=C) y 1450 cm^{-1} (enlace C-H), comparables a las bandas en los extractos de *Jatropha dioica*. Chacón J. (2010) también observó picos en el intervalo de 1375 a 1620 cm^{-1} asociados a anillos bencénicos en uvas viníferas, alineándose con los compuestos encontrados en los extractos de *Jatropha dioica*. Paredes, A. (2024) en la caracterización de vinos con espectroscopia Raman detectó bandas alrededor de 1700 cm^{-1} (grupos carbonilos) y de 1000 a 1600 cm^{-1} (fenoles y polifenoles), similares a las encontradas en *Jatropha dioica*, confirmando la presencia de compuestos catequina, epicatequina, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido siríngico, quercetina, kaempferol, rutina, β -sitosterol y secoisolariciresinol, que tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos.

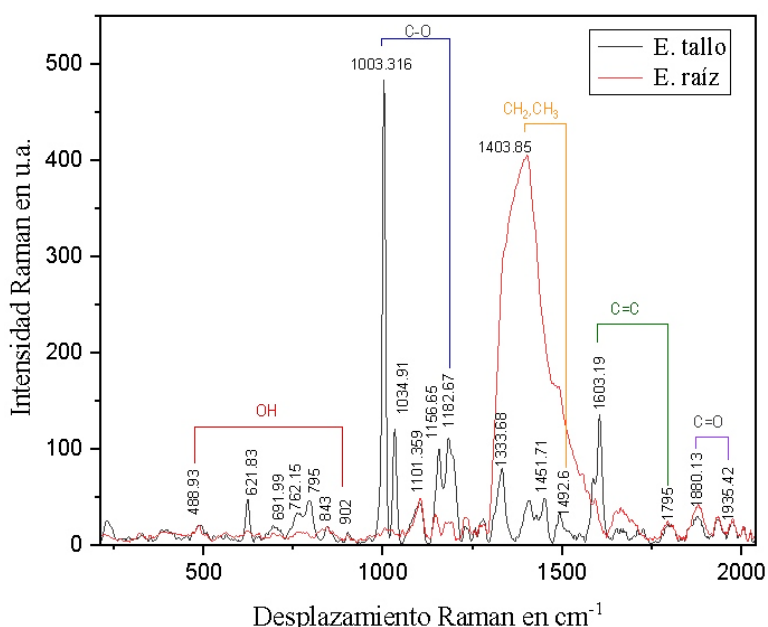


Figura 1. Espectros solapados del extracto acuoso del tallo (color negro) y la raíz (rojo) de la *Jatropha dioica*

4.2 Controles positivos Hipoclorito de sodio 2.25% y clorhexidina 0.12%

El hipoclorito de sodio es un desinfectante utilizado en odontología, especialmente en endodoncia. Su uso en la cavidad bucal presenta desafíos debido a su alta irritabilidad y potencial para causar daño tisular, por lo que se han empleado otras sustancias como extractos naturales. La clorhexidina 0.12%, es un antiséptico oral de amplio espectro, efectivo contra una variedad de bacterias grampositivas, gramnegativas y hongos como *C. albicans*. Cecco, A. (2018) subraya la importancia del hipoclorito como control positivo en estudios de sensibilidad antimicrobiana, lo que permite evaluar y comparar la eficacia de otros agentes, y Bustamante O. *et al.* (2020) explican que la clorhexidina actúa adhiriéndose a la membrana celular y causando lisis celular. Funcionando en estudios de sensibilidad antimicrobiana, como referencia para medir la eficacia de otros agentes, tal como se hizo en el estudio comparativo con los extractos acuosos de *Jatropha dioica* contra microorganismos causales de infecciones endodónticas.

4.3 Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Los extractos acuosos (E. tallo y E. raíz) demostraron una considerable efectividad antimicrobiana contra *S. mutans*, *S. constellatus*, *S. viridans* 1, *S. salivarius*, *C. albicans* y *E. faecalis*. Utilizando la técnica modificada de Kirby-Bauer, se observó que estos extractos reducen significativamente la actividad microbiana. Para el caso de *S. mutans*, los halos de inhibición (figura 2 (a)) (8.375 mm para tallo y 8.125 mm para raíz) son comparables a los de la clorhexidina 0.12%. El análisis de varianza (ANOVA) (tabla 1) revela diferencias significativas entre los extractos y los controles positivos, sugiriendo que E. tallo tiene una actividad inhibitoria similar a la clorhexidina. Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Terrazas J. *et al.* (2018), que también encontraron alta actividad antimicrobiana en extractos de las plantas *Jatropha dioica* (sangre de grado) y *Opuntia oligacantha* var (xoconostle) contra *S. mutans*. Por otro lado, para *S. constellatus* (figura 2 (b)) E. tallo (10.28 mm) y E. raíz (9.525 mm) superaron la eficacia de la clorhexidina 0.12% (8.32 mm), por lo que, estos extractos tienen una actividad inhibitoria notablemente similar al control hipoclorito 2.25% y superior a la clorhexidina. Esto se alinea con los resultados de Rojas S. (2022), que encontró que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 75% y 100% fueron más eficaz que la clorhexidina contra el grupo *Streptococcus milleri* al cual pertenecen los microorganismos *S. anginosus* y *S. constellatus*.

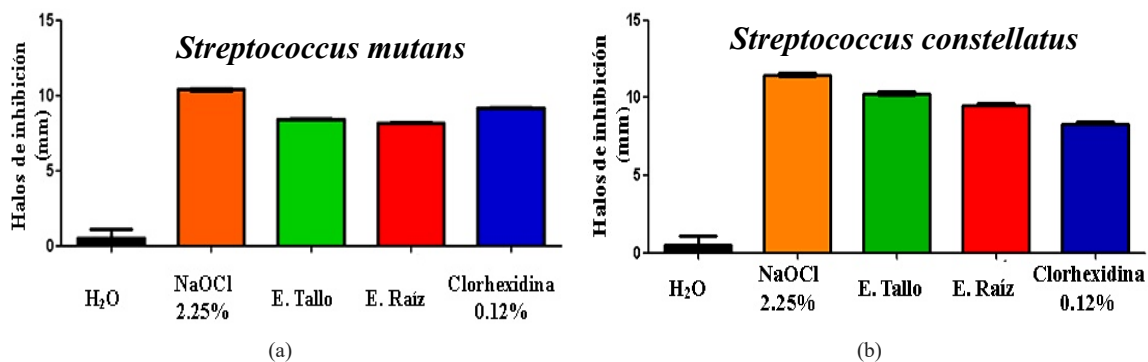


Figura 2. Grafica de diámetros de inhibición (mm) de los extractos y controles en: (a). *S. mutans*. (b). *S. constellatus*

Para el caso del *S. viridans 1*, los extractos mostraron halos de inhibición (figura 3 (a)) de 9.375 mm para tallo y 9.075 mm para raíz, superando a la clorhexidina 0.12% (8.5 mm). La ANOVA (tabla 1) indicó que E. tallo y E. raíz tienen una eficacia inhibitoria similar a la clorhexidina. Salazar J. *et al.* (2018) encontraron resultados comparables con extractos acuosos de *Vitis vinifera* contra *S. mutans*. Concluyendo que los extractos de uva (*Vitis vinifera*) y de la *Jatropha dioica* son una alternativa prometedora a la clorhexidina 0.12%, para inhibir el crecimiento de microorganismos pertenecientes al grupo *S. viridans*, como lo es *S. mutans* y *S. viridans 1*. Por otro lado, para *S. salivarius*, los extractos también mostraron halos de inhibición efectivos (figura 3 (b)), con E. tallo (9.4 mm) superando ligeramente a la clorhexidina 0.12% (8.75 mm). La ANOVA (tabla 1) sugiere que ambos extractos tienen una eficacia inhibitoria comparable a los controles positivos. Andrade B. *et al.* (2014) reportaron que extractos de diversas plantas tienen una efectividad significativa contra microorganismos orales, apoyando el uso de aceites esenciales como alternativa a la clorhexidina.

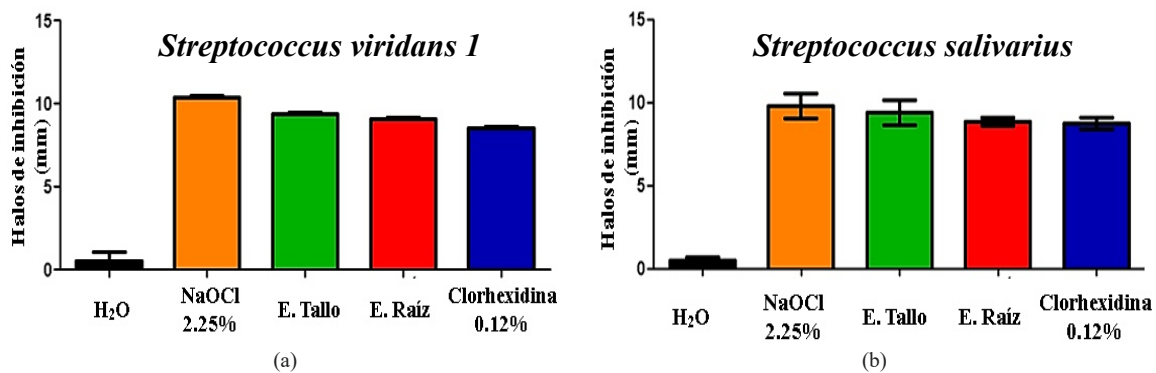


Figura 3. Grafica de diámetros de inhibición (mm) de los extractos y controles en: (a). *S. viridans 1*. (b). *S. salivarius*

Para *C. albicans*, los extractos de E. tallo (9.4 mm) y E. raíz (8.85 mm) mostraron una inhibición ligeramente superior a la clorhexidina 0.12% (8.75 mm), como se ilustra en la Figura 4 (a). La ANOVA (tabla 1) indica que estos extractos tienen una actividad inhibitoria comparable a la clorhexidina. Por otro lado, para *E. faecalis*, los extractos de E. tallo (10.53 mm) y E. raíz (8.85 mm) mostraron una inhibición similar a la clorhexidina 0.12% (11.6 mm) (Figura 4 (b)). La ANOVA (tabla 1) indica que estos extractos tienen una actividad inhibitoria sin diferencia significativa a la clorhexidina. Estudios como el de Pérez O., *et al.* (2019) sobre *Rosmarinus officinalis* también respaldan la eficacia de los extractos de plantas contra *C. albicans* y *E. faecalis*.

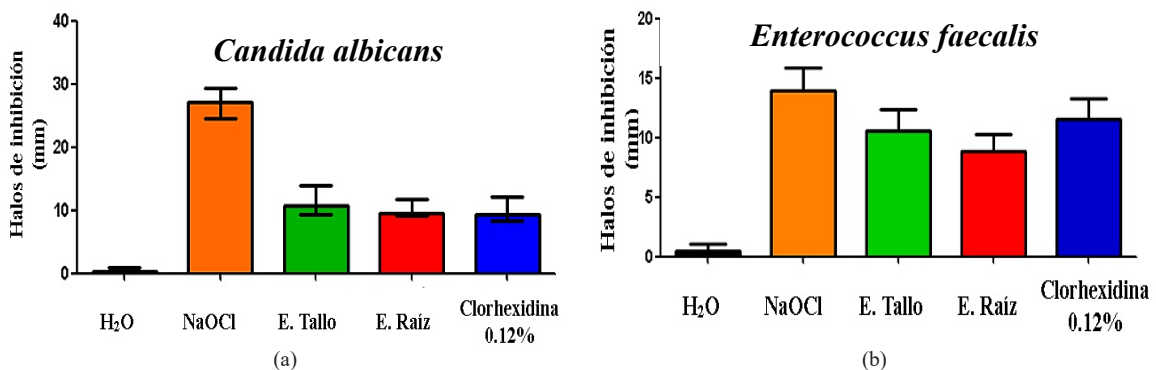


Figura 4. Grafica de diámetros de inhibición (mm) de los extractos y controles en: (a). *C. albicans*. (b). *E. faecalis*
 Tabla 1. Pruebas de comparación múltiple, su significancia estadística de las soluciones y los halos de inhibición para los microorganismos *S. mutans*, *S. constellatus*, *S. viridans 1*, *S. salivarius*, *C. albicans* y *E. faecalis*

Prueba de comparación múltiple	Significancia estadística					
	<i>S. mutans</i>	<i>S. constellatus</i>	<i>S. viridans 1</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecalis</i>
H2O vs NaOCl 2.25%	***	***	***	***	***	***
H2O vs E. Tallo	***	***	***	***	***	***
H2O vs E. Raíz	***	***	***	***	***	***
H2O vs CLORHEXIDINA 0.12%	***	***	***	***	***	***
NaOCl 2.25% vs E. Tallo	***	***	***	ns	***	**
NaOCl 2.25% vs E. Raíz	***	***	***	ns	***	***
NaOCl 2.25% vs Clorhexidina 0.12%	***	***	***	ns	***	ns
E. Tallo vs E. Raíz	ns	*	ns	ns	ns	ns
E. Tallo vs Clorhexidina 0.12%	*	***	**	ns	ns	ns
E. Raíz vs Clorhexidina 0.12%	***	***	ns	ns	ns	*

5. CONCLUSIONES

Los extractos acuosos del tallo y la raíz de *J. dioica* demostraron actividad antimicrobiana sobre los microorganismos *S. constellatus*, *S. viridans 1*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *C. albicans* y *E. faecalis*. Donde el extracto acuoso del tallo mostro una mayor intensidad en los espectros y en las pruebas de sensibilidad superando e igualando a los controles positivos hipoclorito de sodio al 2.25% y clorhexidina al 0.12%. El extracto acuoso del tallo presento un halo inhibitorio de 10.28 mm, 9.375 mm, 9.4 mm, 9.4 mm y 10.53 mm respectivamente, con respecto a *S. constellatus*, *S. viridans*, *S. salivarius*, *C. albicans* y *E. faecalis* superando a los halos de la clorhexidina, y la raíz tuvo un halo de inhibición 8.125 mm para *S. mutans*, similar al de E. tallo con 8.375 mm y al control clorhexidina con 9.125 mm, indicando que ambos extractos inhiben igual al control positivo. Teniendo como alternativa terapéutica y complementaria a los antimicrobianos comerciales, los extractos acuosos del tallo y la raíz de la planta *Jatropha dioica* obtenidos por la técnica de arrastre por vapor.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Ramírez A, Delgadillo D, Bautista V, Mazalek J, Keita H, Kourouma A, Ramirez S, Rodriguez J and Tavares J. *Jatropha dioica*, an Aztec plant with promising pharmacological properties: A systematic review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 14(6), 169-178. DOI:10.5897/AJPP2020.5147. (2020).
- [2]. Quezada Cárdenas, K. Caracterización biodirigida de compuestos antioxidantes y antimicrobianos de *Jatropha dioica* originaria de Durango [tesis de maestría, Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Medicina y Nutrición] Repositorio Institucional. (2020). <http://repositorio.ujed.mx/jspui/bitstream/123456789/83/1/TESIS%20Caracterizaci%C3%B3n%20biodirigida%20de%20compuestos%20antioxidantes.pdf>.

- [3]. Eun JB, Kim MJ, Han SS y col. Potencial antioxidante del β -sitosterol en cáncer de colon: modulación del estrés oxidativo en carcinogénesis. *Fronteras en Oncología*, 10:1-12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.926975>. (2022).
- [4]. Andreu, A., Cacho, J., Coira, A., & Lepe, J. *Procedimientos en microbiología clínica*. Madrid: SEIMC. (2010).
- [5]. Rodríguez, M. J. Resistencia antibiótica y cavidad oral. *Odontología Vital*, (37), 3-7. DOI: <https://doi.org/10.59334/ROV.v1i37.527>. (2022).
- [6]. Armijo, J., Vicuña, E., Romero, P., Condorhuamán, C., & Hilario, B. Modelamiento y simulación del proceso de extracción de aceites esenciales mediante la destilación por arrastre con vapor. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 15(2), 19-27. (2012).
- [7]. Kumar, S., Nagy, Z., Reklaitis, G. V. y Gonzalez, M. Considerations in Raman Spectroscopy for Real-Time API Concentration Measurement at Tablet Press Feed Frame. *Journal of Spectroscopy*, 2023. (2023).
- [8]. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. CLSI Supplement M100. (2022).
- [9]. Cecco, A. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Mínima Bactericida (CMB) de Aceites Esenciales de *Thymus Vulgaris* en Microorganismos Provenientes de Infecciones Endodónticas. Estudio in vitro [tesis de maestría, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Estomatología]. (2018).
- [10]. Bustamante, O. C., Troncos, L. G. P., de Zebrauskas, A. P. P., Leandro, K. C. R., & Sime, C. L. D. C. H. Antisépticos Orales: Clorhexidina, flúor y triclosán. *Revista: Salud & Vida Sipanense*, 7(1), 4-16. (2020).
- [11]. Terrazas-Hernández, J. A., Jiménez-Alvarado, R., Santos-López, E. M., Cariño-Cortés, R., Campos-Montiel, R. G., & Hernández-Fuentes, A. Extractos del fruto *Opuntia oligacantha* C. F. Först y la raíz de la planta *Jatropha dioica* Cerv. con actividad antioxidante y beneficios contra enfermedades dentales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 114-119. <https://doi.org/10.35429/JFDA.2018.3.3.114-119>. (2018).
- [12]. Rojas S. Efecto inhibitorio del aceite esencial del *Eucalyptus Globulus* (Eucalipto) a diferentes tiempos y concentraciones sobre cepas de *Streptococcus Anginosus*. Estudio in vitro [tesis de licenciatura, Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Odontología] Repositorio institucional: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/26417>. (2022).
- [13]. Salazar, J. C., Solórzano, F. M., Tatés, V. M., Garcés, M. S., & del Carmen Armas, A. Efecto antimicrobiano de extractos acuosos de la cáscara, pulpa y semilla de uva (*Vitis vinifera*) sobre *Streptococcus mutans*, estudio in vitro. *Revista KIRU*, 15(2). DOI:10.24265/kiru.2018.v15n2.03. (2018).
- [14]. Andrade, B. F. M. T., Barbosa, L. N., Probst, I. S., & Júnior, A. F. Uso de plantas medicinales recomendadas por el Sistema Único de Salud de Brasil en el combate de bacterias bucales. *Journal of Oral and Maxillofacial Research*, 5(3), e3. <https://doi.org/10.5037/jomr.2014.5303>. (2014).

- [15]. Pérez-Delgado, O., & Vallejos-Campos, E. C. (2019). Actividad antifúngica in vitro del extracto crudo acuoso de *Rosmarinus officinalis* contra *Candida albicans*. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 10(1), 45-50. <https://doi.org/10.36610/j.jsars.2019.100100045>. (2019).