

# OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE NUEZ MOSCADA

Tamayo Valdés Luzsaraí (1), Natividad Ramírez Ramírez (2)

1 [Escuela de Nivel Medio Superior de Salvatierra, Universidad de Guanajuato. Sarai\_lu@hotmail.com]

2 [Departamento de Geomática e Hidráulica, División de Ingenierías, Campu Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | nramirez@ugto.mx

## Resumen

A la nuez moscada se atribuyen múltiples propiedades como bactericida, fungicida y regulador de síntomas de alteración nerviosa. En este trabajo la semilla de nuez moscada (*Myristica fragrans*) seca, fue sometida a proceso de extracción por arrastre de vapor de agua y por reflujo en soluciones acuosas y agua:etanol 1:3, 1.1 y 3:1 V/V. Se obtuvieron las fracciones solubles y en cada caso una ligera capa de grasa, se probó su capacidad bactericida sobre *Streptococcus* cultivada medio base de agar-sangre suplementado con las fracciones solubles de los extractos de nuez moscada o con la grasa extraída en cada condición. Se probó el crecimiento bacteriano desde las 16 horas hasta los cinco días en el medio solo o suplementado con el extracto obtenido por arrastre de vapor y no presento capacidad bactericida; en las pruebas que contienen la grasa resultante de las extracciones con agua se inhibió el crecimiento de la bacteria; en cuanto a los extractos alcohólicos y la grasa obtenida en su proceso presentaron inhibición del crecimiento en todas las diluciones usadas y persistió el resultado aún hasta los 5 días de prueba de incubación..

## Abstract

The nutmeg is attributed multiple properties such as bactericide, fungicide and regulator of symptoms of nervous alteration. In this work the dried nutmeg seed (*Myristica Fragrans*) was subjected to a process of extraction by means of water vapour and by reflux in aqueous solutions and water: ethanol 1:3, 1.1 and 3:1 V/v. Soluble fractions were obtained and in each case a light layer of fat, it was tested its bactericidal capacity on *Streptococcus* cultivated medium agar-blood base supplemented with the soluble fractions of the nutmeg extracts or with the fat extracted in Each condition. Bacterial growth was tested from 16 hours to five days in the middle alone or supplemented with the extract obtained by steam trawl and did not present bactericidal capacity; In the tests containing the fat resulting from the extractions with water, the growth of the bacterium was inhibited; As for the alcoholic extracts and the fat obtained in their process showed inhibition of growth in all dilutions used and the result persists even to 5 days of incubation test.

## Palabras Clave

*Myristica fragrans*; bactericida; semilla seca; *Streptococcus*; reflujo.

## INTRODUCCIÓN

Nuez moscada (*Myristica fragans*) es una de las especias más populares, que pertenece a la familia Myristicaceae (Periasamy et al. 2016). La semilla de nuez moscada es ovoide con un pericarpio grueso de masa muy consistente, es conocida por sus propiedades aromáticas (Tajuddin et al. 2003). Es un árbol tropical y comúnmente disponible en Malasia, India, Indonesia y sureste de Asia (Al-Rawi et al. 2011). El sabor de la nuez moscada varía dependiendo de su origen. Su sabor puede variar de un dulce picante a un gusto más pesado (Charles 2013).



**IMAGEN 1: Nuez moscada recién cortada con todos sus componentes.**

Se han reportado múltiples y diversos componentes de la nuez moscada, incluyendo aceites esenciales (terpenos y fenilpropanoides) y compuestos fenólicos como los principales constituyentes. Recientemente existen estudios *in vitro* que demuestran su actividad antibacteriana contra *Salmonella*, inhibidor de candidiasis oral y otras infecciones. El uso tradicional de nuez moscada ha sido en el tratamiento de tumores y enfermedades infecciosas. Molida se utiliza para tratar infecciones de la piel, el reumatismo y la parálisis (Abourashed 2016). Su aceite se considera no tóxico en pequeñas cantidades (Hallström H1, Thuvander A. 2017). E inhibidor de proceso inflamatorio, a partir de extractos alcohólicos (Morikawa T. and col, 2018). Gutpa y col. evaluaron los extractos de las semillas con acetona, etanol, metanol, Butanol y agua, independientemente. Todos los extractos mostraron importantes actividades antioxidantes y antimicrobianas contra las pruebas. Entre todos los extractos, el extracto de la acetona demostró la actividad antioxidante más alta y actividad antimicrobiana contra todas las bacterias y hongos probados. El extracto de la acetona ha demostrado la actividad antibacteriana y fungicida más fuerte con *Staphylococcus aureus* ( $13.8 \pm 0.42$  mm) and *Aspergillus niger* ( $14.4 \pm 0.37$  mm), respectivamente.

Park y col. en 2017 reportan que los componentes de la nuez moscada remueven el ácido siálico unido a las glicanas de la superficie de las bacterias, evitando la adherencia del huésped evitando así la infección por *Streptococcus pneumoniae*. A su vez Sharai T y col, reportan la identificación y la caracterización del agonista de la síntesis de glicana, el erythro-y threo- $\Delta^8$ -7-etoxi-4-hydroxy-3, 3',5'-silano-8-O'-neolignan con un EC<sub>50</sub> de 0,332  $\mu$ m, que fue aislado de una especie bien conocida, *Myristica fragantes* Hout. Al igual reporta que el mentol y el aceite de nuez moscada también pueden interactuar con receptores humanos para combatir la inflamación y el dolor. Balakrishnan y col. sintetizaron nanopartículas de plata en extracto acuso de semillas de *Myristica fragans*, que redujeron el crecimiento bacteriano significativamente en una forma dependiente de la dosis. Fue probado en ratas. Por lo que se sugiere puede ser utilizada con eficacia.

Iyer M y col. describen la actividad antifúngica *in vitro*, y el análisis fitoquímico del extracto de nuez moscada (*Myristica fragantes*) evaluado contra *C. albicans* (colección de cultivo de tipo americano 10231) a través del método de difusión del pozo de agar. SFE de semillas de nuez moscada puede ser utilizado como un complemento de la terapia convencional para la candidiasis oral.

Con la posibilidad de obtener extractos de nuez moscada comercial en agua o en combinación con etanol grado alimenticio, que resulta más saludable que los extractos con solventes y poderlo probar como inhibidores de crecimiento microbiano en infecciones locales se realizó el presente estudio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La semilla seca se muele y se tamiza por una malla del no 40. Se utiliza en peso seco con una proporción de 10 gr por cada 100ml p/V para someterla a reflujo de agua a 89°C o de agua-alcohol 3:1, 1:1 y 1:3 durante

tres horas, a 76°C. Se separa la fracción líquida que presenta unas gotas aceitosas en la superficie y se deja enfriar por una noche, donde la grasa flotante se solidifica y separa de una solución de color ámbar a rojiza.



**IMAGEN 2:** Tamizado de la nuez molida.

**IMAGEN 3:** Muestras de la nuez seca en vasos de precipitado.

La extracción con arrastre de vapor se realizó en un percolador con un tiempo de arrastre de 15 minutos y de igual manera se dejó enfriar presentando una solución ámbar y una capa de grasa,

Las fracciones solubles y la capa grasa se reservan para suplementar el medio de cultivo nutritivo base del de agar sangre y probar crecimiento bacteriano.

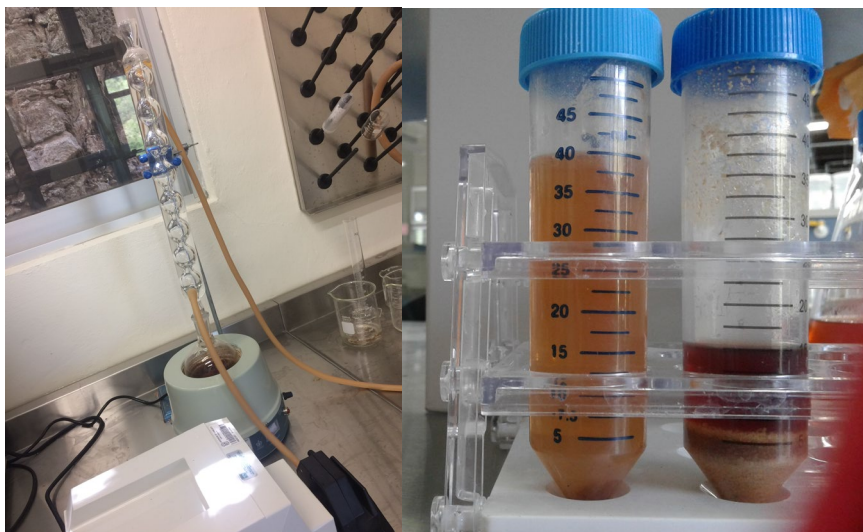
Se obtuvo muestra nosocomial fresca de *Estreptococos*, extraída de amígdalas y se sembró en medio base con sangre, a partir de ella se obtuvieron los inóculos para crecerlas en medio base sin sangre a pH 7.3 a temperatura ambiente. El Medio de cultivo es suplementado con volúmenes del 1, 2, 3, 4 y 5 ml de las fracciones soluble base agua o alcohol agua, para un volumen total de 20ml. En el caso de las grasas su concentración por mililitro de medio fue de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mg. Se creció durante la noche a temperatura ambiente (25-30°C) y se checo el crecimiento desde el las 16 h hasta a quinto día, para observar resultados consistentes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se sometieron 10 gr de nuez moscada molida en 100 ml de agua destilada y se llevaron a reflujo por 3h

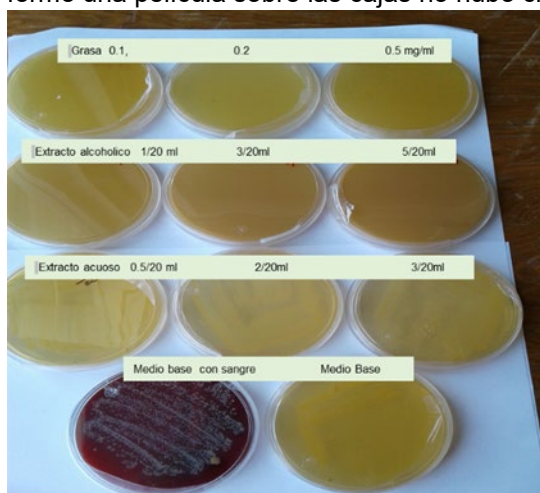
Se recuperó el sobrenadante del reflujo acuoso y que es una solución color ambar. De igual manera se procesaron a reflujo por 3 horas para soluciones alcohólicas y se recupero el alcohol por destilación, dando una solución más rojiza y con leve olor alcohol, en la que probablemente se hayan extraído compuestos tipo fenólicos, como pasa en las técnicas de Hamerman (1999), sobre todo en la que tiene una concentración 1:1 de alcohol-agua.

La grasa recuperada de las extracciones, fue separada para adicionarla al medio estéril atemperado poco antes de gelificar logrando una distribución homogénea a concentraciones de 0.1 a 0.5 mg/ml de medio de cultivo. Las fracciones solubles se adicionaron de igual manera mezclando con el medio aún líquido en volúmenes de 1 a 5 ml en el volumen total de 20 ml del medio de cultivo. Se gelificaron los medios en cajas de Petri e inocularon con bacteria fresca crecida en medio agar-sangre. Las cajas se dejaron crecer por 16 horas y se checo su crecimiento y así sucesivamente hasta el quinto día para ver algún crecimiento.



**IMAGEN 4:** Nuez moscada molida con agua destilada sometida a reflujo durante 3h.  
**IMAGEN 5:** A la izquierda sobrenadante del reflujo acuoso a la derecha el extracto alcohólico

Los resultados hasta los 5 días fueron los siguientes: en todas las cajas suplementadas con extracto de nuez en agua a diferentes concentraciones creció la bacteria; aquellas que tuvieron se suplemento con extracto alcohólico se inhibió el crecimiento en todas las diluciones; y las que fueron suplementadas con la grasa que formo una película sobre las cajas no hubo crecimiento.



**IMAGEN 6:** Crecimiento de bacterias en las cajas de petri.

**Tabla 1:** Crecimiento de bacterias en Medio Base Agar Sangre suplementado con extractos y grasas de Nuez Moscada

Mg/ml de grasa	Creci-miento	MI/ 20 ml extracto acuos	Creci-miento	MI/20 ml extracto alcohólico	Creci-miento
0.5	NC	1	SI	1	NC
0.3	NC	2	SI	2	NC
0.2	NC	3	SI	3	NC
0.1	NC	4	SI	4	NC
		5	SI	5	NC

El crecimiento de la bacteria se ve inhibido por la grasa de nuez moscada y por los extractos alcohólicos, mientras que los extractos acuosos no tienen ningún efecto sobre su crecimiento, como se muestra en la figura tres, si se compara con los medios agar base o agar base con sangre que no fueron suplementados. En este estudio no se obtuvo aceite esencial como lo mencionan Hallström H, 2017; Morikawa T. 2018 en extractos alcohólicos o Gutpa en extracciones con diversos solventes, en el 2013. Lo que sí resulta consistente es la capacidad de inhibición de crecimiento bacteriano de estos extractos, y la novedad es que otros autores no mencionan la producción de grasas en sus procesos y con esta semilla siempre se

obtuvieron. Además de que éstas presentan capacidad bactericida. Sobre la ausencia del aceite en este trabajo, podría deberse que se obtenga del pericarpio como lo menciona Tajuddin en 2003, o bien el método de secado de la semilla por el método baja temperatura (40°C) preserva el aceite, y este último factor se desconoce para la semilla seca comercial utilizada en este trabajo as conclusiones deben ser breves, precisas y congruentes al trabajo.

## CONCLUSIONES

Se inhibió el crecimiento bacteriano en condiciones de cultivo suplementados con grasa de nuez moscada y en extractos de origen alcohólico.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer ampliamente a la doctora Natividad Ramírez Ramírez, la cual, en esta ocasión me asesoró y más allá de eso me motivo a seguir en pie con el proyecto a pesar de que no salió como inicialmente se esperaba, sin contar que gracias a ella ahora tengo mucho más conocimiento de este y otros temas de los cuales yo no conocía. También quiero agradecer a mis padres por apoyarme en este y otros ámbitos académicos de mi agrado, también así como de mi formación personal para la vida y el futuro.

Por ultimo pero no menos importante, agradezco a la Universidad de Guanajuato y el comité de los Veranos de Investigación por permitirme participar una vez mas y adentrarme en este mundo de la comunidad científica.

Sin más por el momento, de verdad, muchísimas gracias.

## REFERENCIAS

1. Ashish Deep Gupta, Vipin Kumar Bansal, Vikash Babu, Nishi Maithi (2013). Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnolog.* 11,25–31.
2. Al-Rawi SS, Ibrahim AH, Rahman NNNA, Nama MMB, Abdul Majid AMS, Kadir MOA. The effect of supercritical fluid extraction parameters on the nutmeg oil extraction and its cytotoxic and antiangiogenic properties. *Procedia Food Sci.* 2011;1:1946–1952. doi: 10.1016/j.profoo.2011.09.286
3. Balakrishnan S1,2, Sivaji I3, Kandasamy S3,4, Duraisamy S5, Kumar NS6, Gurusubramanian G7. (2017). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Myristica fragrans* seed (nutmeg) extract and its antibacterial activity against multidrug-resistant (MDR) *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates. *Environ Sci Pollut Res Int.*
4. Charles DJ. (2013). *Antioxidant Properties of Spices.* Frontier Natural Products Co-op Norway, IA, USA: Herbs and Other Sources.
5. Ehab A. Abourashed\* and Abir T. El-Alfy (2016) Chemical diversity and pharmacological significance of the secondary metabolites of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) *Phytochem Rev.* 2016 Dec; 15(6): 1035–1056.
6. Iyer M1, Gujjari AK2, Gowda V3, Angadi S4. (2017). Antifungal response of oral-associated candidal reference strains (American Type Culture Collection) by supercritical fluid extract of nutmeg seeds for geriatric denture wearers: An in vitro screening study. *J Indian Prosthodont Soc.* Jul-Sep;17(3):267-272.
7. Morikawa , Hachiman I, Ninomiya K., Hata H, Suwagara H, Muraoka O. Mutsada H (2018) Degranulation inhibitors from the arils of *Myristica fragrans* in antigen-stimulated rat basophilic leukemia cells. *Journal of Natural Medicines* [15 Jan 2018, 72(2):464-473] 18)
8. Park JY1, Hwan Lim S2, Ram Kim B1, Jae Jeong H1, Kwon HJ1, Song GY3, Bae Ryu Y4, Song Lee W5.. (2018) Sialidase inhibitory activity of diarylnonanoide and neolignan compounds extracted from the seeds of *Myristica fragrans*. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017 Jul 15;27(14):3060-3064.
9. Periasamy G, Karim A, Gibrelibanos M, Gebremedhin G, Gilani AUH (2016) Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) oils. In: Preedy VR (ed) *Essential oils in food preservation, flavor and safety.* Academic Press, Elsevier, London, pp 607–615