

EFFECTO DE LA NUEZ MOSCADA (*Myristica fragrans*) SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Listeria monocytogenes*

Varillas-Torres J.M., Dávila-Márquez R.M.*, Navarro-Cruz A.R., Avila-Sosa R., Vera-López O., Lazcano-Hernández M.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Bioquímica-Alimentos, Edificio 105-E, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Puebla, Puebla, México.

* rosamadavila@yahoo.com.mx

RESUMEN

A pesar de que se han producido avances significativos en la salud y en la seguridad de procesamiento de los alimentos y sus técnicas de producción, la seguridad alimentaria sigue siendo una de las cuestiones más importantes en salud pública. Por lo tanto, es necesario desarrollar nuevos métodos para eliminar o disminuir los patógenos de los alimentos mediante la combinación de los nuevos enfoques con los métodos actuales. Se probó la actividad antimicrobiana de extractos de nuez moscada (*Myristica fragrans*) obtenidos por métodos discontinuos (Tintura) y continuos (Soxhlet), empleando la prueba de difusión en agar sobre *Listeria monocytogenes*. La prueba de difusión en agar se realizó siguiendo el método de Kirby- Bauer en agar Müeller-Hinton, empleando penicilindros en lugar de discos de papel; usando un asa bacteriológica se esparcieron 0,5 ml del cultivo estandarizado en la superficie del agar, en cada penicilindro se colocaron 100 ml del extracto respectivo (10%); en la misma placa se corrió un control con el disolvente empleado en las extracciones (alcohol, éter y cloroformo). Los resultados de la prueba de difusión en agar mostraron actividad antimicrobiana en todos los extractos, presentando la mayor actividad en el extracto en forma de tintura. Se concluye que el extracto de tintura de la nuez moscada representa un antimicrobiano natural eficaz in vitro.

ABSTRACT

Although, significant advances have occurred in health and safety of food processing and food production techniques, food safety is still one of the most important issues in public health. Therefore, we need to develop new methods for removing or decreasing food pathogens by combining new approaches with the present methods. The antimicrobial activity of extracts of nutmeg (*Myristica fragrans*) obtained by continuous and discontinuous methods (Dye) and (Soxhlet) were tested using the agar diffusion test for *Listeria monocytogenes*. The agar diffusion test was performed following the method of Kirby-Bauer on Mueller-Hinton agar using penicylinders instead of paper discs; using a bacteriological loop 0.5 ml of the standardized culture agar surface, in each spread penicilindro respective 100 ml extract (10%) were placed; In the same plate one control with the solvent used in the extraction (alcohol, ether and chloroform) was run. The results of the agar diffusion test showed antimicrobial activity in all extracts, showing increased activity in the extract in tincture form. It is concluded that the extract of nutmeg tincture is an effective natural antimicrobial in vitro.

Palabras clave: Nuez moscada, Listeria, Antimicrobiano

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

Las especias y hierbas además de impartir sabor, pueden ser utilizadas como una alternativa de conservación y un método de control de patógenos en productos alimenticios. La aplicación de antimicrobianos de origen vegetal podría emplearse como alternativa, a los conservantes químicos. En este sentido, las especias consideradas con actividad antimicrobiana en orden decreciente son: orégano, cilantro, canela, tomillo, romero, cilantro, mostaza y salvia (Zhang et al., 2010; Bajpai et al., 2008). Existen diferencias entre resultados de estudios in vitro y en matrices alimenticias, cuando son evaluados antimicrobianos de origen vegetal, principalmente porque sólo un pequeño porcentaje de especias son tolerables en ciertas formulaciones.

Encontrar las especias y las hierbas más adecuadas depende de una serie de factores como el tipo, efecto sobre las propiedades organolépticas, composición, concentración, propiedades biológicas de los antimicrobianos, procesamiento y condiciones de almacenamiento (Tajkarimi et al., 2010; Gutiérrez et al., 2008).

La nuez moscada (*Myristica fragrans*) es un árbol frondoso de 5 a 15 metros, de forma cónica o esférica, su follaje es de color verde claro; hojas lanceoladas de color verde oscuro. El fruto es una capsula con impresiones en su cáscara, redondeada de color pardo o rojo naranja cubierta por una membrana vidriosa. Un estudio publicado en el Journal of Bioscience and Bioengineering encontró que el extracto de nuez moscada tiene actividad antibacterial que puede reducir significativamente ciertas cepas de *E.coli*, aunque hasta ahora no se han reportado estudios del efecto de los extractos de la nuez moscada sobre bacterias como *Listeria monocytogenes*, que es uno de los patógenos causante de infecciones alimentarias más virulentos, con una tasa de mortalidad entre un 20 a 30%, más alta que casi todas las restantes toxicoinfecciones alimentarias.. La nuez moscada también es benéfica para el dolor articular y la gota, el aceite de nuez moscada ha sido utilizado tradicionalmente en los dolores de dientes. Sin embargo, es necesario en cuenta que la nuez moscada contiene aceites volátiles formados por los derivados de alquil benceno, terpenos y ácido mirístico. La especia tiene una larga historia de abuso; consumirla en exceso (una a tres nueces, en algunos casos menos) puede causar efectos secundarios como náusea, alucinaciones, inflamación y shock.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: Nuez moscada (*Myristica Fragrans*) envasada obtenida en un centro comercial

Reactivos de grado analítico: Eter etílico, cloroformo y alcohol etílico para la obtención de los extractos; medios de cultivo (agar Mueller-Hinton, Caldo soya tripticaseína).

Equipo: Rotavapor (Yamato RE200, Santa Clara, CA. USA), equipo soxhlet, equipo para arrastre de vapor, espectrofotómetro (TermoScientific Genesys 10S UV-Vis a 520 nm).

La nuez moscada se obtuvo en la central de abastos de la ciudad de Puebla, posteriormente fue limpiada y molida. Por lo general, se utilizan agua, metanol, etanol, acetato de etilo, hexano, o un disolvente a base de etanol acuoso para preparar extractos de plantas o derivados de las plantas. El etanol fue seleccionado como disolvente polar en lugar de metanol debido a la baja toxicidad. El extracto etanólico (tintura) se obtuvo por maceración de la nuez moscada molida en etanol 96% en una relación 0.5:1 p/v; la maceración se realizó a temperatura ambiente durante dos semanas en un frasco ámbar; al término se filtró la muestra con papel filtro Whatman número 1. El extracto oleoso se realizó empleando 250 ml de éter etílico y 10 g de nuez moscada molida, en el equipo Soxhlet⁶ hasta completar 12 reflujos, el extracto se evaporó en un rotavapor a sequedad; el extracto así obtenido se disolvió en 10 ml de cloroformo. Por último se destiló por arrastre de vapor 200 ml y en un embudo de separación con 50 ml de éter etílico se obtuvieron las fases acuosa y oleosa.

Para obtener un cultivo sincrónico y tratar de asegurar que las bacterias se encontraran en la misma fase de crecimiento, se tomó una colonia de la placa y se sembró en un tubo con caldo soya tripticaseína por dos días consecutivos, luego se inoculó un matraz nefelométrico con caldo y se midió la absorbancia y se ajustó al nefelómetro de Mc Farland 0.5. Para la prueba por difusión en agar se tomaron 0.5 ml del cultivo sincronizado y se sembró por extensión en agar Muller-Hinton, se colocaron los penicilindros sin enterrar y se agregaron 100 µl de extracto y de control. Finalmente se leyó la presencia o ausencia de inhibición a las 48 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prueba por difusión en agar demostró que en todas las fases se encontraban principios activos antimicrobianos en mayor o menor grado, siendo consistente el resultado de presentar una mayor actividad microbiana en la tintura, tal como se puede observar en la figura 1.

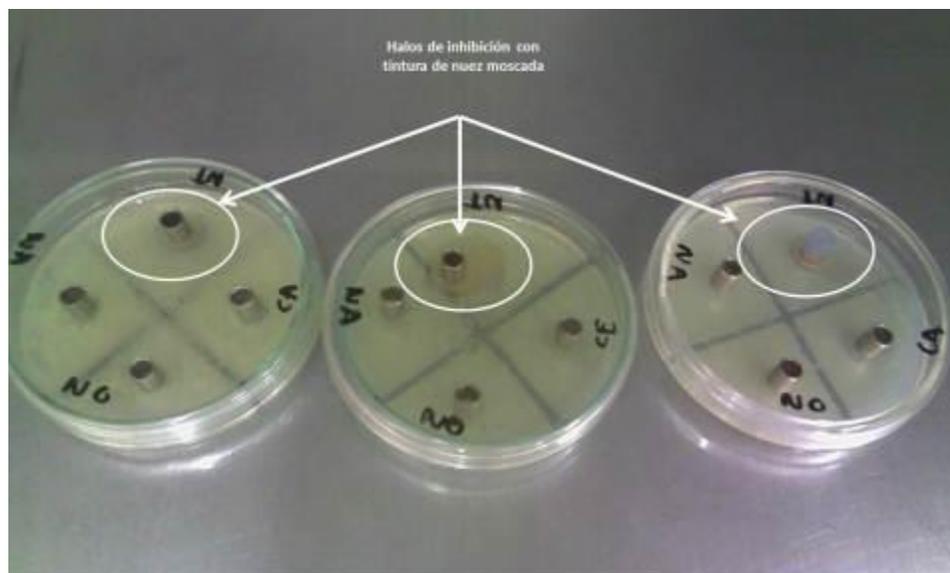


Figura 1. Halos de inhibición de crecimiento de *Listeria monocytogenes* con los diferentes extractos de nuez moscada (*Myristica fragrans*) evaluados (NT-tintura, NA-extracto acuoso, NO-extracto oleoso, CA CE CC-controles).

En la tabla 1, se muestran los diámetros de los halos de inhibición observados con las diferentes fracciones extraídas, se elaboraron tres controles: con alcohol, con éter y con cloroformo para evaluar que el efecto no se debiera al alcohol contenido en la tintura o a los restos de éter y cloroformo que pudieran haber quedado en las otras fracciones.

Tabla 1. Diámetro de los halos de inhibición (cm) en agar

Fase Oleosa (Destilación)	Fase Acuosa (Destilación)	Extracto etéreo	Tintura	Controles		
				Alcohol	Eter	Cloroformo
1.1	1.3	1.15	2.6	1.3	1	0.75

Como se puede observar de la tabla 1, el efecto antibacteriano casi se duplicó en la tintura con respecto a las fases oleosas (por destilación y por soxhlet) y acuosa. Sin embargo y a pesar de que esta actividad es muy similar a la reportada por autores como Uma mahesswari (2013) sobre hongos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavum* y *Fusarium sp.*, deberá tomarse en cuenta que en el control con alcohol se presentó también un halo de inhibición, aunque en este caso de exactamente la mitad del diámetro del obtenido con la tintura, es decir, de 1.3 cm, por lo que aunque parte del efecto antimicrobiano se pudiera deber directamente al alcohol, otra parte de dicho efecto estaría relacionada con la tintura de nuez moscada.

Este estudio pone de manifiesto la importancia de las especias como la nuez moscada para el control de microorganismos patógenos que se están convirtiendo en una amenaza para la salud humana, adicionalmente, esta información científica

puede servir como una importante plataforma para el desarrollo de medicamentos naturales económicos, seguros y eficaces. También, es preciso considerar que aunque ya se ha documentado la actividad antimicrobiana de algunas especias y hierbas, las cantidades normales añadidas a los alimentos para impartir sabor no es suficiente para inhibir completamente el crecimiento microbiano. La actividad antimicrobiana varía ampliamente, dependiendo del tipo de especia o hierba, medio de ensayo, y microorganismo. Por estas razones, los antimicrobianos de especias no deben considerarse como un método primario de conservación. Sin embargo, se puede esperar que la adición de hierbas y especias pueda ayudar en la conservación de los alimentos mantenidos a temperaturas de refrigeración, en el que la multiplicación de microorganismos es más lenta.

BIBLIOGRAFÍA

Zhang, W., S. Xiao, H. Samaraweera, E. Lee and D. Ahn. 2010. Improving functional value of meat products. *Meat Science* 86(1):15–31.

Bajpai, V., A. Rahman and S. Kang. 2008. Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 125(2): 117–122.

Tajkarimi, M.M., S. Ibrahim and D. Cliver. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 21(9):1199–1218.

Gutiérrez, J., C. Barry and P. Bourke. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology* 124(1): 91–97.

Uma maheswari N., Ramya K. 2013. Antifungal activity of natural indian spices against human pathogens. *Int J Pharm Biological Sci Res Devlop. IJPBSRD* 1(2): 1-6.