

Actividad Antimicrobiana de *Cuminum cyminum* L.

Antimicrobial Activity of Cuminum cyminum L.

DE M¹, DE AK², MUKHOPADHYAY R³, BANERJEE AB^{1*} Y MIRÓ M⁴

¹Department of Biochemistry, University College of Science, 35 Ballygunge Circular Road, Calcutta 700 019, India.

²Indian Science Congress Association, 14 Dr Biresh Guha Street, Calcutta 700 014, India.

³Medicinal Chemistry Division, Indian Institute of Chemical Biology, 4 Raja S C Mullick Road, Calcutta 700 032, India (*Corresponding author).

⁴Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, 18071- Granada, Spain.

RESUMEN

El comino (*Cuminum cyminum*) es un ingrediente habitual en la comida india. Ha sido usado desde hace mucho tiempo en la medicina tradicional para curar la diarrea, dispepsia y trastornos gástricos, así como agente antiséptico. Estudios realizados en nuestro laboratorio han mostrado que el comino tiene una potente actividad antimicrobiana sobre diversas especies de bacterias y hongos, tanto patógenas como no patógenas. Los estudios químicos realizados indican que la mayor parte de esta actividad antimicrobiana es debida al cuminaldehído [p-isopropil benzaldehído] presente en el fruto desecado de esta planta. Los estudios de concentración mínima inhibitoria (CMI) con el cuminaldehído aislado (comparado con el cuminaldehído patrón) indican que es efectivo sobre diferentes microorganismos, incluyendo cepas de bacterias, levaduras y hongos.

ABSTRACT

Cumin (Cuminum cyminum) is a widely used ingredient in Indian food. It has been used for a very long time in traditional medicine in the treatment of diarrhoea, dyspepsia and gastric disorders, and as an antiseptic agent. Studies carried out at our laboratory have shown that cumin has powerful antimicrobial properties against diverse species of bacteria and fungi, as much in the case of pathogens as in non-pathogens.

The chemical studies carried out indicate that the greater part of this antimicrobial activity may be attributed to the cuminaldehyde [p-isopropil benzaldehyde] that is present in the dried fruit of this plant.

Minimum inhibitory concentration studies (MIC) with isolated cuminaldehyde (compared with standard cuminaldehyde) indicate that it is effective upon different microorganisms, including bacterial strains, yeasts and fungi.

INTRODUCCIÓN

El comino es una especia indispensable en casi todos los preparados de curry, sopas, pasteles, pan, queso, picantes, salsas y todas las mezclas de especias. Ha sido muy cotizado por las culturas antiguas, a lo largo y ancho del mundo y ha sido mencionado frecuentemente en la Biblia, particularmente por Isaías (capítulo 28:25,27) y Mateo (capítulo 23:23). Mateo 23:23 se refiere a su uso como diezmo «...pagad un diezmo de

INTRODUCTION

Cumin is an indispensable spice in almost all recipes for curries, soups, cakes, bread, cheese, spicy dishes, sauces and all types of spice mixtures. It was highly sought after by ancient cultures all over the world and has been frequently referred to in the bible, particularly by Isaiah (chapter 28:25,27) and Mathew (chapter 23:23). Matthew 23:23 refers to its use as tithe “...for you tithe mint and dill and cumin...” Cumin

menta y anís y comino...». El comino fue la especia favorita del mundo antiguo y fue usada como condimento y medicina por los babilonios y egipcios. Los egipcios no solo lo usaron para aromatizar carnes, pescados y guisos, sino también para momificar sus muertos.

La planta es posiblemente originaria del área mediterránea, tal vez de Egipto y Siria. Ahora crece extensivamente en Turquía e Irán. Parece que ha sido cultivada en Palestina desde hace mucho tiempo. El primer exportador de comino a los Estados Unidos fue Irán, antes de las restricciones llevadas a cabo en 1979, suplidas actualmente sobre todo por Turquía, India y China¹.

Según la Asociación Americana para el Comercio de las Especies –y de acuerdo con Webster–, la pronunciación correcta de comino es “kuh-min” (mejor que “kew’min” o “koomin”). En algunos países europeos y en Méjico, se le conoce como comino. En la Tabla I aparecen las diferentes denominaciones del comino.

was especially sought after in the ancient world and was used as a condiment and a medicine by the Babylonians and Egyptians. The Egyptians not only used the spice to aromatize meats, fish and stews, but also to mummify their dead.

The plant possibly originates from the Mediterranean area, perhaps Egypt and Syria. Nowadays it grows extensively in Turkey and Iran. It seems to have been cultivated in Palestine for a very long time. Before restrictions imposed in 1979, the largest cumin exporter to the United States was Iran. However, currently Turkey, India and China¹ have provided alternative supplies.

According to the American Spice Trade Association –and according to Webster–, the correct pronunciation of cumin is “kuh-min” (rather than “kew’min” or “koomin”). In some European countries and in Mexico, it is known as comino. The varying terms given to cumin appear in Table 1.

TABLA I. Nombres del comino en diferentes lenguajes

Árabe	Kannun
Chino	Ma-Chin
Holandés	Komijn
Francés	Cumin
Alemán	Romischer kummel
Italiano	Comino
Portugués	Cominho
Ruso	Kmin
Español	Comino
Sueco	Spiskummin

TABLE I. Names of cumin in different languages

Arabic	Kannun
Chinese	Ma-Chin
Dutch	Komijn
French	Cumin
German	Romischer kummel
Italian	Comino
Portuguese	Cominho
Russian	Kmin
Spanish	Comino
Swedish	Spiskummin

Su nombre botánico, *Cuminum cyminum*, procede del griego *kymionon*, para la familia Umbelíferas. Una umbelífera es una planta con racimos de flores planos o redondeados, que sobresalen de la parte alta de los tallos partiendo desde un único punto central (como una sombrilla). Como la alcaravea, zanahoria y perejil, el comino pertenece a la familia Umbelíferas. La planta del comino es pequeña, tierna y anual, creciendo hasta una altura de aproximadamente 30 cm y produciendo pequeñas flores blancas, rosas o lilas, incluidas en umbelas con 10 a 20 flores. El fruto –se le conoce como semilla de comino– es amarillo-pardusco, alargado y con nueve prominencias. Su aspecto y sabor recuerdan al de la alcaravea, aunque una observación detallada muestra que el comino es más erguido, alargado y verde que la alcaravea. El comino fructifica unos dos meses después de la siembra y es recolectado cuando las plantas comienzan a blanquear y la semilla pierde su color amarillo. Las semillas son trilladas y “desbigotadas” (los largos pelos son eliminados).

El cultivo puede llevarse a cabo en llanuras y por encima de 3.335 m. Prefiere un clima templado a uno cálido y puede soportar fuertes lluvias. A partir de las lluvias, se cultiva generalmente tras los primeros avisos de los monzones, pudiendo crecer dos veces al año, una a mediados de abril y otra a finales de octubre.

El comino presenta diversas propiedades medicinales. Es una hierba aromática y astringente que beneficia el aparato digestivo y actúa como estimulante de los órganos sexuales. Ha sido usado en el tratamiento de trastornos digestivos leves, como carminativo, eupéptico y astringente, en afecciones broncopulmonares y tos, y como analgésico^{1,2}.

Hipócrates y Dioscórides describieron las propiedades medicinales del comino. En la Edad Media fue habitualmente usado como medicinal en Europa y Asia, siendo bien conocidos sus efectos positivos sobre la digestión. Aunque el aceite esencial de comino fue usado como medicinal en el mundo antiguo, carece de gran importancia en la medicina occidental actual.

El comino ha sido usado como conservante en picantes y otros productos alimentarios. Es sabido que inhibe el crecimiento de algunos hongos de la putrefacción de los alimentos y que controla la enfermedad del mildiu³. Estudios preliminares realizados en nuestro laboratorio muestran

Its botanical name, *Cuminum cyminum*, originates from the Greek *kymionon*, for the umbellifer family. An umbellifer is a plant having clusters of flat-topped or rounded flowers, that protrude from the centres of the top of the stalks (like a parasol). Like the caraway, carrot and parsley, cumin belongs to the umbellifer family. The cumin plant is small, tender and annual, growing to a height of approximately 30cm and producing small white, rose or lilac coloured flowers that are clustered into umbels of 10 to 20 flowers. Its fruit, known as cumin seed, is yellow to brownish-grey in colour and is elongated in shape with nine protuberances. Its appearance and taste are reminiscent of the caraway, although a closer observation reveals that cumin is more upright, elongated and greener than the caraway. Cumin bears fruit two months after seeding and is harvested when the plants begin to whiten and the seeds lose their yellow colouring. The seeds are threshed and “shaven” (the long hairs are eliminated).

The crop can be grown on plains and at heights of over 3,335m. It prefers a temperate climate to a hot one and can withstand heavy rainfall. In step with the rain cycle, it is generally planted after the first signs of the monsoons, and can produce two crops per year, one halfway through the month of April and the other at the end of October.

Cumin possesses numerous medicinal properties. It is an aromatic herb and an astringent that benefits the digestive apparatus and acts as stimulant of the sexual organs. It has been used in the treatment of mild digestive disorders, as a carminative, eupeptic and astringent, in broncopulmonary disorders and as a cough remedy, as well as an analgesic^{1,2}.

Hippocrates and Dioscorides described the medicinal properties of cumin. During the middle ages it was used as a medicine in Europe and Asia, and its beneficial effects on digestion were well known. Although essential oil of cumin was used as a medicine in the ancient world, it does not have a place of great importance in modern western medicine.

Cumin has been used as a preservative in spicy foods and other food products. It is known to inhibit the growth of some fungi in the putrefaction of foods and to control mildew disease³. Preliminary studies carried out in our laboratory show that cumin presents antimicrobial proper-

que el comino presenta propiedades antimicrobianas⁴. Buscando componentes antimicrobianos en otras especias, el extracto alcohólico de comino presentó una inhibición significativa de microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*. Sin embargo, el componente del extracto responsable de la actividad antimicrobiana no fue identificado. En este trabajo, se han desarrollado investigaciones para identificar los componentes antimicrobianos presentes en *Cuminum cyminum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción. Se trocearon y molturaron 2,5 kg de frutos desecados de comino (*Cuminum cyminum*), obtenidos del Departamento de Especias, Cochin, India, que luego fueron extraídos en Soxhlet con 5 l de éter de petróleo (60-80 °C) durante 7 días. El extracto fue filtrado, concentrado y ensayada su actividad antimicrobiana. El residuo fue percolado en frío con 10-12 L de alcohol (90%) durante 21 días. El extracto obtenido se concentró a presión reducida y se ensayó su actividad antimicrobiana. El extracto concentrado pesaba alrededor de 500 g.

Cromatografía en columna. El extracto en éter de petróleo del comino no mostró ninguna actividad antimicrobiana. Sin embargo, el extracto en alcohol etílico presentó una elevada actividad antimicrobiana, por lo que fue sometido a ulteriores investigaciones. Se adsorbieron 50 g del extracto desecado en silicagel (60-120 mesh, Merck) y se preparó una columna cromatográfica (90 x 8 cm) que fue eluída sucesivamente con unos 2 l de éter de petróleo (60-80 °C), 4 l de benceno, 5 l de benceno-acetato de etilo (3:1), 5 l de benceno-acetato de etilo (1:1) y 5 l de acetato de etilo. Los eluatos fueron recogidos, concentrados y clasificados en diferentes fracciones. Las fracciones fueron analizadas por CCF y ensayadas frente a *B. subtilis*, *E.coli* y *S. cereveseae*. Finalmente, las fracciones que presentaban efectos inhibidores del crecimiento se reunieron conjuntamente si mostraban idénticas imágenes en la CCF.

Cromatografía en capa fina (CCF). La CCF de las fracciones anteriores fue realizada en silicagel G 60 (Merck), con fase móvil éter de

ties⁴. In the search for antimicrobial components including other species, the alcoholic extract of cumin presented a significant inhibition of microorganisms, such as *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. However, the component of the extract that was responsible for the antimicrobial activity was not identified. In this work, our research has been directed towards identifying the antimicrobial components present in *Cuminum cyminum*.

MATERIALS AND METHODS

Extraction: 2,5kg of dried cumin fruit (*Cuminum cyminum*), obtained from the Department of Spices, Cochin, India, were chopped and ground and subsequently extracted in Soxhlet with 5L of petroleum ether (60-80 °C) for 7 days. The extract was filtered, concentrated and tested for its antimicrobial activity. The residue was percolated in conditions of cold with 10-12L of alcohol (90%) for 21 days. The extract obtained was concentrated at reduced pressure and its antimicrobial activity was tested. The concentrated extract weighed approximately 500g.

Column chromatography. The petroleum ether extract of cumin did not show any antimicrobial activity. However, the ethyl alcohol extract presented a high degree of antimicrobial activity and was therefore subjected to subsequent research. 50g of dried extract on silica gel (60-120 mesh, Merck) were adsorbed, and a chromatographic column (90 x 8 cm) was prepared and successively eluted with 2L of petroleum ether (60-80 °C), 4L of benzene, 5L of benzene-ethyl acetate (3:1), 5L of benzene-ethyl acetate (1:1) and 5L of ethyl acetate. The eluates were collected, concentrated and classified into different fractions. The fractions were analysed through TLC and tested against *B. subtilis*, *E.coli* and *S. cereveseae*. Finally, the fractions that presented inhibitory effects on growth were grouped together, if they produced identical images in TLC.

Thin layer chromatography (TLC). TLC of the previously mentioned fractions was carried out on silica gel G 60 (Merck) with mobile phase petroleum-ether-ethyl ether glacial acetic acid (90:10:1). Stains were observed when the plate was introduced into an iodine chamber. The

petróleo-éter etílico-ácido acético glacial (90:10:1). Se observaron varias manchas cuando se introdujo la placa en una cámara de yodo. Se reunieron las fracciones que presentaban una sola mancha, con objeto de someterlas a CCF preparativa y CLAR.

Estudios espectroscópicos. Los componentes aislados fueron sometidos a espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis) a una concentración de 200 ppm en etanol, usando un espectrofotómetro Karl-Zeiss VSU 1 Varian 634S. La espectroscopía infrarroja (IR) de los componentes fue realizada en forma de fina película líquida, en un espectrofotómetro JASCO modelo FT/IR 410. Los espectros ^1H y ^{13}C -RMN fueron realizados en CDCl_3 , en un espectrofotómetro Bruker DPX-300, empleando TMS como patrón interno. La CG-EM se realizó en un aparato Fisons Instruments GC 8000 Series, con detector MD 800. La columna utilizada fue DB-5MS (30 m x 0.25 mm).

Actividad antimicrobiana. La determinación de la actividad antimicrobiana se ha realizado utilizando el método convencional de series de diluciones con agar inclinado como nutriente^{4,5}. Se tomó una serie de tubos que contenían 5 ml de medio nutritivo estéril, fundido a 45-50°C (medio agar nutritivo para el crecimiento bacteriano, caldo de cultivo de patata glucosa –medio Sabouraeids– para el crecimiento fúngico y medio de extracto de levaduras peptona glucosa - YEPD- para el crecimiento de levaduras). Se añadió a cada uno de los tubos un volumen medido (0,05 ml) de extracto de la especia de modo que su concentración final en los tubos problema con el medio de agar estuviera comprendida en un margen entre 1-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. El medio solidificó en forma de agar inclinado. Entonces, fueron inoculados los organismos de prueba. Los tubos control, que fueron desarrollados simultáneamente, contenían 0,05 ml de alcohol etílico en lugar del extracto de la especia, con objeto de comprobar el posible efecto inhibitor del crecimiento por parte del disolvente. La mínima concentración del extracto problema necesaria para inhibir el crecimiento durante 72 h se consideró como la concentración mínima inhibitoria para los organismos de prueba. Los ensayos fueron repetidos seis veces. La concentración del componente a la que no aparecía crecimiento de un organismo

fractions that presented one single stain were grouped together in order to be subsequently subjected to preparative TLC and HRLC.

Spectroscopic studies. The isolated components were subjected to ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) at a concentration of 200ppm in ethanol, using a Karl-Zeiss VSU 1 spectrophotometer Varian 634S. Infrared spectroscopy (IR) of the components was carried out in liquid thin film form, in a JASCO spectrophotometer-FT/IR 410 model. The spectra ^1H and ^{13}C -NMR were carried out in CDCl_3 , in a Bruker DPX-300 spectrophotometer, using TMS as internal standard. The CG-EM was carried out in a Fisons GC 8000 Series Instrument, with MD 800 detector. The column used was DB-5MS (30 m x 0.25 mm).

Antimicrobial activity. The determination of antimicrobial activity was carried out using the conventional serial dilution method with inclined agar as nutrient^{4,5}. A series of tubes were taken containing 5ml of sterile nutritive medium, melted at 45-50°C (nutritive agar medium for bacterial growth, culture medium containing potato glucose – Sabouraeids medium- for fungi growth and yeast extract of peptone glucose medium – YEPD- for the growth of yeasts. To each one of the tubes, a measured volume (0.05 ml) of extract from the species was added, so that its final concentration in the problem tubes with agar medium would fall within the margin of between 1-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The medium solidified in the form of inclined agar. Subsequently the test organisms were inoculated. Test control tubes, containing 0.05ml of ethyl alcohol were prepared simultaneously, instead of the species extract, so as to check the possible growth inhibition effect that could be afforded by the solvent. The minimum concentration of problem extract needed to inhibit growth for 72 hours was considered as the minimum inhibitory concentration for the test organism. The tests were repeated six times. The concentration of the component to which no organism growth was apparent, was considered as the minimum inhibitory concentration (MIC) of the component for that determined organism.

Standard compound. The reference compound for the TLC, HPLC, UV and IR tests and for

se consideró como la concentración mínima inhibitoria (CMI) del componente para ese determinado organismo.

Compuesto patrón. El compuesto de referencia para los ensayos de CCF, CLAR, UV, IR y de actividad antimicrobiana fue el cuminaldehído (p-isopropil benzaldehído) Merck.

RESULTADOS

Efectos inhibitorios del extracto de comino sobre los microorganismos. El extracto alcohólico de comino fue ensayado sobre diferentes organismos de prueba como prospección preliminar de su actividad antimicrobiana. La concentración del compuesto problema purificado fue expresada en términos de peso de especia usada para la extracción y fue definida como "peso de especia equivalente" (PEE). Con el extracto de comino, se observó una significativa inhibición del crecimiento para *Agrobacterium tumefaciens* y *B. subtilis*. En ambos casos, el crecimiento fue inhibido a concentraciones mínimas de 10 mg PEE/ml. *Micrococcus luteus*, *Enterobacter aerogenes* y *E. coli* fueron insensibles a concentraciones inferiores a 100 mg PEE/ml del extracto. *Aspergillus niger* y *Fusarium oxysporum* no mostraron inhibición del crecimiento a concentraciones de 100 mg PEE/ml de extracto de comino. *Trichophyton rubrum* no presentó crecimiento a partir de 25 mg PEE/ml, mientras que *Helminthosporium oryzae* no mostró crecimiento desde 20 mg PEE/ml en adelante. Sin embargo, el extracto de comino no pudo inhibir el crecimiento de *S. cerevisiae* a ninguna de las concentraciones ensayadas.

Identificación del componente antimicrobiano del comino. El componente más antimicrobiano del comino fue sometido a un bioensayo de purificación directa por extracción con disolvente y CCF. Los espectros IR y RMN del componente aislado fueron comparados con el cuminaldehído patrón y resultaron ser idénticos. El espectro IR y los datos de RMN y CG-EM confirmaron claramente su identidad como cuminaldehído (p-isopropil benzaldehído). El espectro IR mostró fuertes bandas a 1701, 1606, 1574, 1513 y 1461 cm^{-1} , indicando la presencia de un anillo aromático con un grupo carbonilo ligado al mismo.

antimicrobial activity was cuminaldehyde (p-isopropil benzaldehyde) Merck.

RESULTS

The inhibitory effects of cuminaldehyde on microorganisms. The alcohol extract of cuminaldehyde was tested on different test organisms as a preliminary exploration of its antimicrobial activity. The concentration of the purified problem compound was expressed in terms of weight of the species used for the extraction and was defined as "equivalent species weight" (EPW). In the case of cuminaldehyde extract, significant growth inhibition was observed for *Agrobacterium tumefaciens* and *B. subtilis*. In both cases, growth was inhibited at minimum concentrations of 10 mg EPW/ml. *Micrococcus luteus*, *Enterobacter aerogenes* and *E. coli* did not show sensitivity to concentrations that were lower than 100 mg EPW/ml of the extract. *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum* did not show growth inhibition at concentrations of 100 mg EPW/ml of cuminaldehyde extract. *Trichophyton rubrum* did not present growth from 25 mg EPW/ml, while *Helminthosporium oryzae* did not show growth from 20mg EPW/ml. However, the cuminaldehyde extract could not inhibit the growth of *S. cerevisiae* at any of the concentrations tested.

Identification of the antimicrobial component of cuminaldehyde. The most active antimicrobial component of cuminaldehyde was subjected to a biotest of direct purification through extraction with solvent and TLC. The IR and NMR spectra of the isolated component were compared with standard cuminaldehyde and the results were identified. The IR spectra and the NMR and CG-EM data clearly confirmed its identity as cuminaldehyde (p-isopropil benzaldehyde). The IR spectra showed strong bands at 1701, 1606, 1574, 1513 & 1461 cm^{-1} , indicating the presence of an aromatic ring to which a carbonyl group was linked.

The mass spectrum presented the ion molecular peak (M^+) at m/z 148, with different fragmented peaks at m/z 133 [$M^+ - \text{CH}_3$] and m/z 105 [$M^+ - \text{HC}(\text{CH}_3)_2$]. The peak [$M^+ - \text{CH}_3$] is the base peak and confirms further still the aromatic nature of the component.

The data from the IR and mass spectra were finally confirmed by the ^1H NMR (Table II) and

El espectro de masas presentó el pico ión molecular (M^+) a m/z 148, con distintos picos fragmentados a m/z 133 [$M^+ - CH_3$] y m/z 105 [$M^+ - HC(CH_3)_2$]. El pico [$M^+ - CH_3$] es el pico base y además confirma la naturaleza aromática del componente.

Los datos de los espectros IR y masas fueron finalmente confirmados por los espectros 1H RMN (Tabla II) y ^{13}C RMN (Tabla III). El espectro 1H RMN presentó un anillo bencénico disustituido con dos grupos de protones similares (dos dobletes protónicos a δ 7,80 y 7,37) orto-acoplados ($J=8.1Hz$) el uno con el otro. Un singlete protónico a bajo campo (δ 9.96) confirmó la presencia de un grupo aldehído. Un septete protónico (δ 2.98) y dos dobletes de tres protones (δ 1.27 y 1.23, $J=6.9 Hz$) indicaron que el otro sustituyente era un grupo isopropilo.

^{13}C NMR (Table III) spectra. The 1H NMR spectra showed a benzene disubstituted ring with two similar groups of protons (two proton pairs at δ 7.80 and 7.37) ortho-coupled ($J=8.1Hz$) one to the other. A single proton in a low field spectrum (δ 9.96) confirmed the presence of an aldehyde group. A septet proton (δ 2.98) and two pairs of three protons (δ 1.27 y 1.23, $J=6.9 Hz$) indicated that the other substitute was an isopropil group.

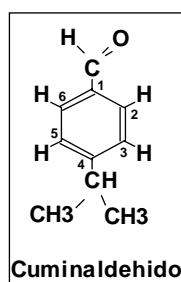


TABLA II. Señales 1H -RMN del cuminaldehído purificado en $CDCl_3$ a 300 MHz con TMS como patrón interno

Carbono N°	δ (ppm)	Protones	J (Hz)	Multiplicidad	Posible asignación
C ₁	-	-	-	-	-
C ₂	7.80	1H	8.1	doblete	protón aromático orto-acoplado
C ₃	7.37	1H	8.1	doblete	protón aromático orto-acoplado
C ₄	-	-	-	-	-
C ₅	7.37	1H	8.1	doblete	protón aromático orto-acoplado
C ₆	7.80	1H	8.1	doblete	protón aromático orto-acoplado
	2.98	1H	6.9	septete	
	3.15	1H	6.9	singlete	CH ₃ -CH-CH ₃
	1.27	3H	6.9	doblete	CH ₃ -CH-CH ₃
	1.23	3H	6.9	doblete	CH ₃ -CH-CH ₃
	9.96	1H	-	singlete	H-C=O

TABLA II. ¹H-RMN signals of purified cuminaldehyde in CDCl₃ at 300 MHz with TMS as internal standard.

Carbon N°	δ (ppm)	Protons	J (Hz)	Multiplicity	Possible denomination
C ₁	-	-	-	-	-
C ₂	7.80	1H	8.1	pair	aromatic proton ortho-coupled
C ₃	7.37	1H	8.1	pair	aromatic proton ortho-coupled
C ₄	-	-	-	-	-
C ₅	7.37	1H	8.1	pair	aromatic proton ortho-coupled
C ₆	7.80	1H	8.1	pair	aromatic proton ortho-coupled
	2.98	1H	6.9	septet	
	3.15	1H	6.9	singlet	CH ₃ -CH-CH ₃
	1.27	3H	6.9	pair	CH ₃ -CH-CH ₃
	1.23	3H	6.9	pair	CH ₃ -CH-CH ₃
	9.96	1H	-	singlet	H-C=O

TABLA III. Datos espectrales ¹³C-RMN (75MHz) del cuminaldehído purificado en CDCl₃

Carbono N°	δ (ppm)	Asignación
C ₁	155.98	aromático cuaternario
C ₂	130.00	metino aromático
C ₃	127.10	metino aromático
C ₄	134.40	aromático cuaternario
C ₅	127.10	metino aromático
C ₆	130.00	metino aromático
	34.42	metino alifático
	23.56	metilo alifático
	192.14	carbono aldehídico

TABLE III. ¹³C-RMN (75MHz) spectral data of purified cuminaldehyde in CDCl₃

Carbon N°	δ (ppm)	Denomination
C ₁	155.98	quaternary aromatic
C ₂	130.00	methin aromatic
C ₃	127.10	methin aromatic
C ₄	134.40	quaternary aromatic
C ₅	127.10	methin aromatic
C ₆	130.00	methin aromatic
	34.42	aliphatic methin
	23.56	aliphatic methyl
	192.14	carbon aldehyde

Los resultados de ^1H RMN fueron además confirmados por los espectros ^{13}C RMN (desacoplamiento C-H, DEPT 135 y DEPT 90) del componente. El anillo aromático dio señales para los dos carbonos cuaternarios C1 y C4 a δ 155.98 y 134.40 respectivamente. Dos grupos de señales similares de carbonos fueron observadas a δ 130.00 (C2 y C6) y 127.10 (C3 y C5). El carbono aldehídico presentó una señal a δ 192.14, mientras que los carbonos isopropílicos mostraron señales a δ 23.56 (grupos CH_3) y δ 34.42 (-CH).

El componente purificado mostró efectos inhibitorios sobre microorganismos de un amplio espectro (Tabla IV). Para confirmar la identidad del citado componente, se determinó cuantitativamente la actividad antimicrobiana del cuminaldehído puro (obtenido de Sigma Chemicals, USA) frente a diversos organismos de prueba como los usados en el ensayo anterior. Los resultados (como los recogidos en la Tabla IV) indican que los valores de CMI del compuesto antimicrobiano purificado del comino sobre diferentes microorganismos son similares a los del cuminaldehído patrón.

The ^1H NMR results were further confirmed by ^{13}C NMR spectra (uncoupling C-H, DEPT 135 and DEPT 90). The aromatic ring gave signals for the two quaternary carbons C1 and C4 at δ 155.98 & 134.40 respectively. Two similar signal groups of carbons were observed at δ 130.00 (C2 & C6) and 127.10 (C3 & C5). The aldehyde carbon presented a signal at δ 192.14, while the isopropil carbons showed signals at δ 23.56 (groups CH_3) and δ 34.42 (-CH).

The purified component showed inhibitory effects upon microorganisms over a wide range of spectra (Table IV). In order to confirm the identity of this component, the quantitative antimicrobial activity of pure cuminaldehyde (obtained from Sigma Chemicals, USA) was determined against numerous test organisms as used in the previous test. The results (as shown in Table IV) indicate that the MIC values for purified antimicrobial cumin compound tested against different microorganisms are similar to those obtained for cuminaldehyde standard.

TABLA IV. CMI del componente antimicrobiano aislado de *C. cuminum* frente a diversos microorganismos

Organismos de prueba	CMI ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	Componente aislado de <i>C. cuminum</i>	Cuminaldehído patrón
(A) Bacterias		
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	16	15
<i>Bacillus subtilis</i>	16	17
<i>Bacillus licheniformis</i>	18	19
<i>Pseudomonas oleovorans</i>	20	18
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	25	27
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	34	30
<i>Bacillus megaterium</i>	35	35
<i>Bacillus cereus</i>	38	38
<i>Escherichia coli</i>	45	42
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	45	44
<i>Enterobacter aerogenes</i>	50	49
<i>Micrococcus luteus</i>	52	52
<i>Micrococcus glutamicus</i>	56	54
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56	54
<i>Staphylococcus aureus</i>	60	62
(B) Hongos		
<i>Trichophyton rubrum</i>	16	18
<i>Aspergillus flavus</i>	28	27
<i>Helminthosporium oryzae</i>	28	27
<i>Sclerotium rolfsii</i>	30	27
<i>Myrothecium roridum</i>	30	30
<i>Penicillium cryogenum</i>	32	31
<i>Fusarium sp.</i>	36	37
<i>Macrophominaphaseolina sp.</i>	40	39
<i>Exserohilum furcicum</i>	40	40
<i>Pestalotiopsis versicolor</i>	52	50
<i>Aspergillus versicolor</i>	54	57
<i>Aspergillus niger</i>	60	57
<i>Curvularia sp.</i>	60	61
(C) Levaduras		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10	8
<i>Saccharomyces pombe</i>	20	19

TABLA IV. MIC of isolated antimicrobial component of *C. cyminum* against numerous microorganismos

Test organisms	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	
	Isolated component of <i>C. cyminum</i>	Cuminaldehyde standard
(A) Bacteria		
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	16	15
<i>Bacillus subtilis</i>	16	17
<i>Bacillus licheniformis</i>	18	19
<i>Pseudomonas oleovorans</i>	20	18
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	25	27
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	34	30
<i>Bacillus megaterium</i>	35	35
<i>Bacillus cereus</i>	38	38
<i>Escherichia coli</i>	45	42
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	45	44
<i>Enterobacter aerogenes</i>	50	49
<i>Micrococcus luteus</i>	52	52
<i>Micrococcus glutamicus</i>	56	54
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56	54
<i>Staphylococcus aureus</i>	60	62
(B) Fungi		
<i>Trichophyton rubrum</i>	16	18
<i>Aspergillus flavus</i>	28	27
<i>Helminthosporium oryzae</i>	28	27
<i>Sclerotium rolfsii</i>	30	27
<i>Myrothecium roridum</i>	30	30
<i>Penicillium cryogenum</i>	32	31
<i>Fusarium sp.</i>	36	37
<i>Macrophominaphaseolina sp.</i>	40	39
<i>Exserohilum furcicum</i>	40	40
<i>Pestalotiopsis versicolor</i>	52	50
<i>Aspergillus versicolor</i>	54	57
<i>Aspergillus niger</i>	60	57
<i>Curvularia sp.</i>	60	61
(C) Yeasts		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10	8
<i>Saccharomyces pombe</i>	20	19

DISCUSIÓN

El comino tiene un sabor cálido, aromático y penetrante, y se usa para preparar tartas de frutas y galletas, platos de queso, requesón, pastas para bocadillos, huevos, pescado, cazuelas, salsas para ensaladas, salsas de tomate, aves y carnes como el cerdo asado, embutidos y preparados a base de carne picada¹.

El comino tiene varias propiedades medicinales. Es una hierba aromática, un astringente beneficioso para el aparato digestivo y actúa como estimulante de los órganos sexuales. Ha sido usado

DISCUSSION

Cumin has a warm, penetrating, aromatic taste, and is used to prepare fruit tarts and biscuits, cheese dishes, curd cheese, sandwich pastes, eggs, fish, stews, salad sauces, tomatoe sauces, poultry and meat dishes, such as roast pork, sausage meats and minced meat dishes¹.

Cumin possesses numerous medicinal properties. It is an aromatic herb and an astringent that benefits the digestive apparatus and acts as stimulant of the sexual organs. It has been used in the treatment of mild digestive disorders, bron-

en el tratamiento de afecciones digestivas leves, afecciones broncopulmonares y tos, así como analgésico y en el tratamiento de las caries dentales⁶. El aceite esencial de comino se usa especialmente como carminativo, estomacal y astringente². Es útil en diarreas y dispepsias. Puede utilizarse también tópicamente en forma de cataplasmas para eliminar manchas y dolores ocasionales.

El contenido en aceite esencial del comino –incluyendo el mayoritario cuminaldehído y otros aldehídos– varía entre el 2 al 6%. Aunque este aceite es responsable del fuerte aroma y sabor del comino, es también muy volátil –puede perderse la mitad tan sólo durante el proceso de molienda–. El aceite también puede ser utilizado en perfumería y como aromatizante de bebidas. El cuminaldehído se utiliza a veces en perfumería y el cumeno como esterilizante. Es antidiarreico, antidisentérico, aromático, astringente, carminativo, diurético, estimulante y estomacal⁷. El compuesto es beneficioso para la ronquera, para las irritaciones debidas a los gusanos abdominales y para el eczema. El residuo obtenido después de la destilación del aceite esencial contiene un 17,2% de proteínas y un 30% de grasas. Puede ser utilizado como alimento para gatos.

El comino tiene muchas aplicaciones en medicina veterinaria. Recientemente, se ha visto que los frutos de comino tienen efectos anti-fertilidad en ratas hembras albinas⁸. El Departamento de Bioquímica y Nutrición, Central Food Technol. Research Inst., Mysore, ha puesto de manifiesto la actividad antidiabética de los frutos de comino presentes en la dieta sobre ratas con diabetes inducida por estreptozotocina⁹.

El comino presenta actividad antimicrobiana. Inhibe el crecimiento de algunos hongos de la putrefacción de los alimentos y controla la enfermedad del mildiu³. En una serie de ensayos, científicos de India han demostrado que el comino incrementa la actividad de la glutatión transferasa, que protege frente a ciertos tipos de cáncer. En el Instituto del Cáncer de Madrás, India, se observó que el comino disminuye un 83% el daño cromosómico que podría causar normalmente un potente agente químico cancerígeno (las semillas de adormidera y cúrcuma, con una menor inhibición, también fueron efectivas). Quizás la ciencia moderna añadirá el siguiente capítulo a la larga historia de esta popular hierba.

copulmonary disorders and coughing, as an analgesic and in the treatment of tooth decay⁶. The essential oil of cumin is especially used as a carminative, stomach calmer and astringent². It is useful in diarrhoea and dyspepsia treatments. It can be used topically in the form of a cataplasm in the elimination of stains and occasional pains.

Cumin essential oil content, including cuminaldehyde as main component and other aldehydes, varies between 2 to 6%. This oil is responsible for the strong aroma and taste of cumin. However, it is also very volatile and up to half of its strength may be lost during the grinding process. It may also be used in perfumes and as an aromatic in drinks. While cuminaldehyde is sometimes used in perfumes, cumeno is used as a sterilizer. It is a diarrhoea and dysentery remedy, an aromatic, an astringent, a carminative, a diuretic, a stimulant and a stomach calmer⁷. The compound is beneficial for hoarseness, for irritations caused by abdominal worms and for eczema. The residue obtained after essential oil distillation contains 17.2% of proteins and 30% of fats. It can be used as cat food.

Cumin has many applications in veterinary medicine. Recently, in female albino rats, cumin fruit has been observed as having anti-fertility effects⁸. The Department of Biochemistry and Nutrition, Central Food Technological Research Institute, Mysore, has highlighted the antidiabetic activity of the presence of cumin fruit in diets in rats with streptozotocin induced diabetes⁹.

Cumin presents antimicrobial activity. It inhibits the growth of some fungi in the putrefaction of foods and controls mildew disease³. In a series of tests, Indian scientists have demonstrated that cumin increases glutathione transferase activity, which protects against certain types of cancer. At the Cancer Institute of Madras, India, it was observed that cumin can decrease the chromosomal damage that could normally be caused by a powerful cancerous chemical agent, by 83% (poppy and turmeric seeds, at a lower degree of inhibition, were also found to be effective). Perhaps modern science could add the next chapter to the long history of this popular herb.

From this research, the antimicrobial activity of isolated cuminaldehyde from *C. cyminum* has emerged. While being logically similar to standard cuminaldehyde, its effect is considerable against all the bacteria, fungi and yeasts tested

De este trabajo se desprende que la actividad antimicrobiana del cuminaldehído aislado de *C. cyminum*, lógicamente similar a la del cuminaldehído patrón, es considerable frente a todas las bacterias, hongos y levaduras ensayadas, con una CMI inferior a 60 en todos las pruebas. Es especialmente activo (CMI \leq 20) frente a *A. tumefaciens*, *B. subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas oleovorans*, *Trichophyton rubrum*, *S. cerevisiae* y *Saccharomyces pombe*.

with a MIC of less than 60, in all the tests carried out. It was found to be especially active (MIC \leq 20) against *A. tumefaciens*, *B. subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas oleovorans*, *Trichophyton rubrum*, *S. cerevisiae* y *Saccharomyces pombe*.

BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHY

1. Singh VB, Singh K. Spices. New Age International (P) Limited Publishers, Delhi, 1996.
2. Pruthi JS. Spices and condiments. National Book Trust, Delhi, 1976.
3. Saksena NK, Saksena S. Enhancement in the antifungal activity of some essential oils in combination against some dermatophytes. Indian Perfumer 1984; 28: 42-45.
4. De M, De AK, Banerjee A. Antimicrobial screening of some Indian spices. Phytother. Res. 1999; 13: 166.
5. Osborn EM. On the occurrence of antibacterial substances in green plants. Brit. J. Exptl. Path. 1943; 24: 227.
6. Bown D. Encyclopaedia of Herbs and their Uses. Dorling Kindersley, London, 1995.
7. Chopra RN, Nayar SL, Chopra IC. Glossary of Indian Medicinal Plants (Including the Supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi. 1986
8. Al-Khamis KI, Al-Said MA, Islam MW, Tariq M, Parmar NS, Ageel AM. Antifertility, anti-implantation and abortifacient activity of the aqueous extract of *Cuminum cyminum*. Fitoterapia 1988; 59: 5-9.
9. Willatgamuwa SA, Platel K, Saraswathi G, Srinivasan K. Antidiabetic influence of dietary cumin seeds (*Cuminum cyminum*) in streptozotocin induced diabetic rats. Nutrition Research 1998; 18(1): 131-142.