Universidad Nacional de Catamarca
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Doctorado en Ciencias
Mención Química

TESIS DOCTORAL

Los aceites esenciales de comino (Cuminum cyminum L.*) de Catamarca como fuente de compuestos bioactivos con propiedades anti-insecto, antifúngicas y antimicotoxicogénicas.*

Presentada por:

Lic. en Química, Viviana del Valle Quiroga

Director: Dr. Julio A. Zygadlo **Co-Director:** Dra. Romina P. Pizzolitto

2019

Los aceites esenciales de comino (*Cuminum cyminum* L.) de Catamarca como fuente de compuestos bioactivos con propiedades anti-insectos, antifúngicas y antimicotoxicogénicas

Viviana del Valle Quiroga

Quiroga, Viviana del Valle
Los aceites esenciales de comino (*Cuminum cyminum* L.) de Catamarca como fuente de compuestos bioactivos con propiedades anti-insectos, antifúngicas y antimicotoxicogénicas / Viviana del Valle Quiroga. - 1a ed. - Catamarca: Editorial Científica Universitaria de la Universidad Nacional de Catamarca, 2020.
Libro digital, HTML

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-661-354-5

1. Aceites. 2. Compuestos Orgánicos. I. Título.
CDD 664.3

ISBN: 978-987-661-354-5

Queda hecho el depósito que marca la ley 11.723.

E.C.U. 2020
Avda. Belgrano 300 - Pab. Variante I - Planta Alta - Predio Universitario - San Fernando del Valle de Catamarca - 4700 - Catamarca - República Argentina

Prohibida la reproducción, por cualquier medio mecánico y/o electrónico, total o parcial de este material, sin autorización del autor.
Todos los derechos de autoría quedan reservados por el autor.

El presente estudio fue realizado en las dependencias del Departamento Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Catamarca y en los Laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA) de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba.

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Julio Alberto Zygadlo

CODIRECTORA DE TESIS:

Dra. Romina Paula Pizzolitto

TRIBUNAL EVALUADOR:

Dra. María de las Mercedes Oliva

Dra. Sabrina I. Volentini

Dra. Romina Mariana Bodoira

Si bien Arquímedes refiriéndose a la palanca dijo,

dadme un punto de apoyo y moveré el mundo,

hoy, después de todo lo vivido y transcurrido,

digo, dadme voluntad y alcanzaré mis metas.

Considero que la voluntad es la mayor fuerza

que mueve al mundo.

Viviana

Agradecimientos

A Dios, Principio y Fin de Todo,
Por la Vida,
Por el Espíritu
Y por la Voluntad.

¡Después de haber recibido tanto!!! ..., ¡tanto más difícil es agradecer sin omitir!!!

Este trabajo que hoy entrego me costó mucho más de lo que jamás hubiera imaginado, sin embargo, ¡acá está!!!

Todo fue posible gracias a lo que me fue dado y brindado, nada lo hubiera logrado sola.

Infinitas gracias a mis directores Julio Zygadlo y Romina Pizzolitto, por creer en mí, por enseñarme, por corregirme, por esperarme, por alentarme, por cuidarme. ¡A dos personas maravillosas, con inmensa sabiduría, generosidad y humildad, nuevamente muchas gracias!!!

Gracias a todos los investigadores, tesinistas y doctorandos del ICTA de la UNC, quienes me recibieron y me trataron como si me hubieran conocido de siempre, quienes me hicieron sentir parte de esa hermosa familia, quienes generosa y desinteresadamente me ayudaron siempre que los necesité. Gracias por su cordialidad, por su alegría, por su juventud.

Gracias a Bruno Olivera QEPD†, por su invaluable colaboración en el muestreo del comino de Los Chañaritos, departamento Capayán, por su conocimiento, por su entusiasmo y disposición desinteresadas… ¡Siempre te recordaremos!!!

Gracias a la Ingeniera Agr. Gabriela Alemanno, del INTA Belén, Catamarca, por haberme facilitado la vinculación con los productores de comino del departamento Belén.

Gracias a los que fueron y a los que son integrantes de mi equipo de investigación sobre el comino de Catamarca, sólo espero contagiarles mi pasión por lo que me gusta hacer y renovar su entusiasmo por la investigación para seguir compartiendo con ellos…

Gracias a mi querida Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UNCA por apostar en mí, por apoyarme, por esperarme… También, infinitas gracias.

Gracias a mis compañeros y compañeras de trabajo de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UNCA, quienes también son mis amigos, y que de una forma u otra me empujaron a seguir y a no caer.

¡Gracias a mis Alumnos, pues fueron mi mayor inspiración, y a ellos también les dedico especialmente este trabajo!

Finalmente, gracias a mi Familia por comprenderme, por darme tiempo, por esperarme, por disimular mis ausencias y soportar mis desvelos. Especialmente muchas gracias a mi hija Camila, que de pequeña, cuando salía de la escuela se quedaba en el laboratorio para ayudarme a separar granitos de comino y otras tareas.

¡Gracias por tanto Amor!!!

Gracias, muchas gracias.

Dedicatoria

Dedico este fruto de mi esfuerzo y perseverancia a toda mi familia,

Especialmente a mi esposo Luis, a mis hijos Alejandro, Lucas y Camila,

A mis nietos Lucía e Ignacio y a los nietos que seguramente vendrán…

Pues ellos fueron los mayores testigos de todo lo que me costó

Y los depositarios de muchas privaciones de tiempo y atención.

También a mis padres, Luis y María,

A quienes les robé muchas visitas y tiempo de compartir.

Viviana

Prólogo

A fin de sistematizar la información recogida y el conocimiento generado durante la investigación, este trabajo se organizó en capítulos según se detalla:

- En el **Capítulo I** se realiza la introducción al estudio en la cual se plantea la dimensión epistemológica de la investigación que se aborda y que da lugar a esta tesis. En esta dimensión, se desarrolla el tema desde una perspectiva general con tendencia a lo particular y se exponen los antecedentes que finalmente ponen de relieve ciertos vacíos de conocimiento que conducen al planteamiento del problema de investigación. El problema se plantea desde sus tres elementos básicos: las preguntas de investigación, los objetivos científicos y la justificación del estudio.

- En el **Capítulo II,** que corresponde a Materiales y Métodos, se identifica la población de estudio, se esclarece la metodología de trabajo y además se explicitan cada una de las técnicas analíticas empleadas y bioensayos realizados.

- En el **Capítulo III** de Resultados y Discusión, se presentan y analizan los datos y se discuten los resultados obtenidos a la luz de la teoría y de los antecedentes expuestos en el Capítulo I.

- En el **Capítulo IV** se presentan las conclusiones como respuestas a los interrogantes formulados en el planteamiento del problema, tratando de sintetizar los aspectos más relevantes de la investigación.

- Finalmente se consigna la bibliografía citada y demás fuentes de estudio. También se incluyen Anexos, que contienen información sobre datos utilizados en cálculos y su análisis estadístico.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN 18

ABSTRACT 20

I. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN 22

I.1. Antecedentes. 22
I.1.1 Aceites Esenciales. 22

I.1.1.1 Definición. 22
I.1.1.2 Nomenclatura. 24
I.1.1.3 Distribución en la naturaleza 24
I.1.1.4 Determinación de Rendimiento y Métodos de obtención. 25
I.1.1.5 Propiedades físicoquímicas 32
I.1.1.6 Características sensoriales. Aroma. 33
I.1.1.7 Composición química. 34
I.1.1.7.1 Biogénesis. 38
I.1.1.7.2 Factores que influyen en la composición química de los AEs. 41
I.1.1.7.2.1 Factores Genéticos. 41
I.1.1.7.2.1.1 Quimotipo. 41
I.1.1.7.2.2 Condiciones ambientales. 42
I.1.1.7.2.3 Origen geográfico. 42
I.1.1.7.2.4 Efectos estacionales. 43
I.1.1.7.2.5 Etapas fenológicas. 43
I.1.1.7.2.6 Prácticas agrícolas. 43
I.1.1.7.2.7 Técnicas postcosecha. 45
I.1.1.7.2.8 Condiciones de estrés ambiental. 46
I.1.1.7.3 Técnicas de estudio de la composición química. 47
I.1.1.7.3.1 Cromatografía de gases (CG). 47
I.1.1.7.3.2 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). 53
I.1.1.8 Actividad biológica. 54
I.1.1.8.1 Citotoxicidad y actividad antimicrobiana. 54
I.1.1.8.2 Actividad antimicotoxicogénica. 59
I.1.1.8.3 Actividad insecticida. 60
I.1.1.8.4 Acción repelente. 64
I.1.1.8.5 Toxicidad de los AEs y sus componentes. 66
I.1.1.8.5.1 Toxicidad en mamíferos. 67
I.1.1.8.6 Sinergismo entre los componentes de los aceites esenciales. 72
I.1.1.9 Usos de los AEs. 75
I.1.1.9.1 Usos comunes. 75
I.1.1.9.2 Futuras Aplicaciones. 84
I.1.2. Aspectos generales y especificaciones de la especie *Cuminum cyminum* L. 85

I.1.2.1 Historia, Procedencia y Origen del Nombre. 85
I.1.2.2 Identificación taxonómica y descripción botánica. 88
I.1.2.2.1 Características de los frutos-semillas. 90
I.1.2.2.2 Estándares de calidad de los frutos-semillas. 98
I.1.2.3 Aceite Esencial de comino. 101
I.1.2.3.1 Obtención y determinación del rendimiento. 101
I.1.2.3.2 Características organolépticas y propiedades físicas. 101
I.1.2.3.3 Composición química. 102
I.1.2.3.4 Estándares de calidad y normativas vigentes. 107

I.1.2.4 Propiedades, usos tradicionales y actividad biológica del fruto-semilla y su aceite esencial. 109
I.1.2.4.1 Uso Etnomédico. 110
I.1.2.4.2 Actividad Biológica. 112
I.1.2.4.2.1 Actividad antibacteriana. 112
I.1.2.4.2.2 Actividad antibiofilm y potencial inhibitorio de detección de quorum. 113
I.1.2.4.2.3 Actividad Antifúngica. 114
I.1.2.4.2.4 Actividad insecticida-ovicida. 117

I.2. Planteamiento del Problema de Investigación. 119
I.2.1 Preguntas de investigación. 119

I.2.2. Hipótesis de Investigación. 120

I.2.2.1. Hipótesis general. 120
I.2.2.2. Hipótesis específicas. 120
I.2.3 Objetivos. 121

I.2.4. Justificación. 122

II. CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS 125

II.1. Metodología de trabajo. 125
II.1.1. Área de estudio. 125

II.1.2. Tipo de estudio. 126

II.1.3. Población y Muestra. 126

II.1.3.1. Descripción de la población de comino en estudio. 126
II.1.3.2. Material vegetal. 127
II.1.3.3. Toma de la muestra primaria. Obtención de la alícuota para análisis y ensayos de laboratorio. 127
II.1.3.4. Muestra secundaria. Preparación de las muestras para los análisis. 130
II.1.3.5. Identificación y codificación de las muestras para los análisis. 130

II.2. Técnicas empleadas en determinaciones físicas, químicas y bioensayos. 133
II.2.1 Estudio del fruto-semilla de comino. 133

II.2.1.1. Determinación del peso de 1000 semillas. 134
II.2.1.2 Determinación del tamaño de los frutos-semillas. 134
II.2.1.3. Determinación del contenido de agua. Humedad en porcentaje de masa. 135
II.2.1.4. Extracción del aceite esencial y determinación del rendimiento. 136
II.2.2 Estudio del aceite esencial obtenido del fruto-semilla de comino. 140

II.2.2.1. Determinación del índice de refracción (n_D^t).. 140
II.2.2.2. Determinación de la densidad relativa al agua a 20 ºC ($\boldsymbol{d_{20}^{20}}$). 141
II.2.2.3. Determinación de la composición química. 142
II.2.2.4 Estudio de la actividad biológica del aceite esencial de comino. 143
II.2.2.4.1 Estudio de la actividad anti-insecto frente a *Sitophilus zeamais*. 143
II.2.2.4.1.1. Pruebas de actividad insecticida por acción fumigante. 143
II.2.2.4.1.2. Pruebas de inhibición de AChE in vitro. 145
II.2.2.4.1.3 Pruebas de atracción-repelencia por olfatometría. Cálculo de Índice de Respuesta. 146
II.2.2.4.2 Estudio de la actividad anti-fúngica frente a *Fusarium verticillioides*. 148
II.2.2.4.2.1 Innhibición del crecimiento fúngico. 148
II.2.2.4.2.2 Actividad antimicotoxicogénica. 150

II.2.3 Evaluación de la actividad antifúngica, repelente e insecticida del cuminaldehído como componente mayoritario. 151
II.3 Análisis estadístico en general....151
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 153
III. Introducción. 153
III.1 Resultados del estudio del fruto-semilla de comino. 154
III.1.1 Peso y Tamaño de los frutos-semillas....154
III.1.1.1 Peso medio de 1000 semillas (g). 154
III.1.1.1.1 Departamento Belén. 154
III.1.1.1.2 Departamento Capayán. 156
III.1.1.1.3 Departamento Pomán. 156
III.1.1.1.4 Departamento Santa María. 157
III.1.1.1.5 Departamento Tinogasta. 158
III.1.1.1.6 Provincia de Catamarca. 158
I II.1.1.2 Tamaño de los frutos-semillas. 160
III.1.1.2.1 Departamento Belén. 160
III.1.1.2.2 Departamento Capayán. 161
III.1.1.2.3 Departamento Pomán. 165
III.1.1.2.4 Departamento Santa María. 167
III.1.1.2.5 Departamento Tinogasta. 169
III.1.1.2.6 Tamaño de los frutos-semillas expresado como área superficial media Sm (mm^2). Provincia de Catamarca. 171
III.1.2 Humedad media (% fracción en masa). 173
III.1.2.1 Departamento Belén. 173
III.1.2.2 Departamento Capayán. 174
III.1.2.3 Departamento Pomán. 175
III.1.2.4 Departamento Santa María. 176
III.1.2.5 Departamento Tinogasta. 177
III.1.2.6 Provincia de Catamarca. 178
III.1.3 Rendimiento medio en aceite esencial expresados en base húmeda (bh) (ml de AE/100g de muestra húmeda) y en base seca (bs) (ml de AE/100g de muestra seca). 180
III.1.3.1 Departamento Belén. 180
III.1.3.2 Departamento Capayán. 182
III.1.3.3 Departamento Pomán. 183
III.1.3.4 Departamento Santa María. 184
III.1.3.5 Departamento Tinogasta. 186
III.1.3.6 Provincia de Catamarca. 187
III.2 Resultados del estudio del aceite esencial obtenido del fruto-semilla de comino 189
III.2.1 Índice de refracción a 20 ºC ($\boldsymbol{n_D^t}$). 189
III.2.1.1 Departamento Belén. 189
III.2.1.2 Departamento Capayán. 190
III.2.1.3 Departamento Pomán. 190
III.2.1.4 Departamento Santa María. 191
III.2.1.5 Departamento Tinogasta. 192
III.2.1.6 Provincia de Catamarca. 192
III.2.2 Densidad relativa al agua a 20 ºC ($\boldsymbol{d_{20}^{20}}$) 194
III.2.2.1 Departamento Belén. 195

III.2.2.2 Departamento Capayán. 196
III.2.2.3 Departamento Pomán. 196
III.2.2.4 Departamento Santa María. 197
III.2.2.5 Departamento Tinogasta. 198
III.2.2.6 Provincia de Catamarca. 199
III.2.3 Composición química. 200

III.2.3.1 Departamento Belén. 200
III.2.3.2 Departamento Capayán. 204
III.2.3.3 Departamento Pomán. 207
III.2.3.4 Departamento Santa María. 210
III.2.3.5 Departamento Tinogasta. 213
III.2.3.6 Provincia de Catamarca. 216
III.2.4 Actividad biológica. 222

III.2.4.1 Actividad anti-insecto contra *S. zeamais*. 222
III.2.4.1.1 Actividad insecticida. 222
III.2.4.1.1.1 Departamento Belén. 222
III.2.4.1.1.2 Departamento Capayán. 224
III.2.4.1.1.3 Departamento Pomán. 225
III.2.4.1.1.4 Departamento Santa María 225
III.2.4.1.1.5 Departamento Tinogasta. 226
III.2.4.1.1.6 Provincia de Catamarca. 227
III.2.4.1.2 Pruebas de atracción-repelencia por olfatometría. Cálculo de Índice de Respuesta. 233
III.2.4.1.2.1 Departamento Belén. 233
III.2.4.1.2.2 Departamento Capayán 234
III.2.4.1.2.3 Departamento Pomán 235
III.2.4.1.2.4 Departamento Santa María. 236
III.2.4.1.2.5 Departamento Tinogasta. 237
III.2.4.1.2.6 Provincia de Catamarca. 238
III.2.4.2 Actividad anti-fúngica frente a *F. verticillioides*. 242
III.2.4.2.1 Porcentaje de inhibición del AE de *C. cyminum* frente al crecimiento fúngico de *F. verticillioides M3125*. 242
III.2.4.2.1.1 Departamento Belén. 242
III.2.4.2.1.2 Departamento Capayán. 244
III.2.4.2.1.3 Departamento Pomán. 245
III.2.4.2.1.4 Departamento Santa María. 246
III.2.4.2.1.5 Departamento Tinogasta. 247
III.2.4.2.1.6 Provincia de Catamarca. 248
III.2.4.2.2 Efecto de AEs de comino sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125. 253
III.2.4.2.2.1 Departamento Belén. 253
III.2.4.2.2.2 Departamento Capayán. 254
III.2.4.2.2.3 Departamento Pomán. 255
III.2.4.2.2.4 Departamento Santa María. 256
III.2.4.2.2.5 Departamento Tinogasta. 257
III.2.4.2.2.6 Provincia de Catamarca. 259
III.2.4.2.3 Efecto de AEs de comino sobre la Fase Lag de *F. verticillioides* M3125. 262
III.2.4.2.3.1 Departamento Belén. 262
III.2.4.2.3.2 Departamento Capayán. 263
III.2.4.2.3.3 Departamento Pomán. 264
III.2.4.2.3.4 Departamento Santa María. 265
III.2.4.2.3.5 Departamento Tinogasta. 266

III.2.4.2.3.6 Provincia de Catamarca. 267
III.2.4.3 Actividad antimicotoxicogénica ante FB_1. 270
III.2.4.4 Síntesis de la actividad antifúngica del AE de comino de Catamarca contra el *F. verticillioides.* 272

III.3 Resumen de resultados para el *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina. 275

III.4 Proyecciones futuras....276

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES. 278
IV.I. Conclusiones Generales. 278

Bibliografía citada....281

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Categorías para comino entero. 100*
Tabla 2. *Requisitos químicos.....100*
Tabla 3. *Composiciones químicas de AE de comino de departamentos productores de Catamarca. 106*
Tabla 4*. Perfil cromatográfico del AE de comino según la Norma ISO 9301:2003(E). 108*
Tabla 5. *Significado de los Códigos de identificación de muestras. 131*
Tabla 6. *Diseño experimental puro para el estudio de la actividad insecticida por acción fumigante del aceite esencial (AE) de comino frente S. zeamais. 145*
Tabla 7. *Diseño experimental puro para el estudio de la actividad Insectífuga del aceite esencial (AE) de comino, evaluada por olfatometría frente S. zeamais. 148*
Tabla 8. *Diseño experimental puro. Esquema del bioensayo de actividad antifúngica por inhibición de crecimiento radial en agar czapek-dox. 150*
Tabla 9. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Belén- Catamarca. 155*
Tabla 10. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Capayán- Catamarca. 156*
Tabla 11*. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Pomán- Catamarca. 157*
Tabla 12*. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Santa María- Catamarca.....157*
Tabla 13. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Tinogasta- Catamarca. 158*
Tabla 14*. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Belén- Catamarca. 162*
Tabla 15. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Capayán- Catamarca. 164*
Tabla 16. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Pomán- Catamarca. 166*
Tabla 17. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Santa María- Catamarca.....168*
Tabla 18. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Tinogasta- Catamarca.....170*
Tabla 19. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Belén- Catamarca. 174*
Tabla 20. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Capayán – Catamarca.....175*
Tabla 21. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Pomán – Catamarca.....176*
Tabla 22. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Santa María – Catamarca. 177*
Tabla 23. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Tinogasta – Catamarca. 178*
Tabla 24. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Belén- Catamarca. 181*
Tabla 25. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Capayán- Catamarca. 183*
Tabla 26. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Pomán- Catamarca. 184*
Tabla 27. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Santa María- Catamarca.....185*

Tabla 28. *Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Tinogasta- Catamarca.....186*
Tabla 29. *Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Belén, Catamarca. 189*
Tabla 30. *Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Capayán, Catamarca. 190*
Tabla 31. *Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Pomán, Catamarca. 191*
Tabla 32. *Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Santa María, Catamarca. 191*
Tabla 33. *Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Tinogasta, Catamarca....192*
Tabla 34. *Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Catamarca.....194*
Tabla 35. *Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Belén, Catamarca..195*
Tabla 36. *Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Capayán, Catamarca. 196*
Tabla 37. *Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Pomán, Catamarca. 197*
Tabla 38. *Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Santa María, Catamarca. 198*
Tabla 39. *Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Tinogasta, Catamarca. 198*
Tabla 40. *Densidad relativa al agua de aceites esenciales de comino de Catamarca. 199*
Tabla 41. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Belén.....202
Tabla 42. *Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino de distintas localidades productoras del departamento Belén.....203*
Tabla 43. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Capayán.....205
Tabla 44*. Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Capayán. 206*
Tabla 45. *Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Pomán.....208*
Tabla 46. *Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Pomán. 209*
Tabla 47*. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Santa María. 211*
Tabla 48. *Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Santa María.....212*
Tabla 49*. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Tinogasta. 214*
Tabla 50. *Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Tinogasta.....215*
Tabla 51. *Composición porcentual media de los aceites esenciales de semillas de cominos de Catamarca. 221*
Tabla 52. *Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Belén contra S. zeamais M. 223*
Tabla 53. *Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Capayán contra S. zeamais M. 224*
Tabla 54. *Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Pomán contra S. zeamais M. 225*
Tabla 55. *Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Santa María contra S. zeamais M. 226*
Tabla 56. *Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Tinogasta contra S. zeamais M. 227*
Tabla 57. *Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Catamarca contra S. zeamais M. 228*

Tabla 58. *Inhibición de acetilcolinesterasa (AChE) de individuos adultos de S. zeamais M. por el aceite esencial de comino de Catamarca.....231*
Tabla 59. *Acción atracción-repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Belén contra S. zeamais M. 234*
Tabla 60. *Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Capayán contra S. zeamais M. 235*
Tabla 61. *Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Pomán contra S. zeamais M. 236*
Tabla 62. *Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Santa María contra S. zeamais M.....237*
Tabla 63. *Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Tinogasta contra S. zeamais M. 238*
Tabla 64. *Inhibición del crecimiento de F. verticillioides M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Belén y cuminal. 243*
Tabla 65. *Inhibición del crecimiento de F. verticillioides M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Capayán y cuminal. 245*
Tabla 66. *Inhibición del crecimiento de F. verticillioides M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Pomán y cuminal. 246*
Tabla 67. *Inhibición del crecimiento de F. verticillioides M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Santa María y cuminal. 247*
Tabla 68. *Inhibición del crecimiento de F. verticillioides M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Tinogasta y cuminal. 248*
Tabla 69. *Efecto de AEs de comino del departamento Belén y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de F. verticillioides M3125. .....254*
Tabla 70. *Efecto de AEs de comino del departamento Capayán y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de F. verticillioides M3125. .....255*
Tabla 71. *Efecto de AEs de comino del departamento Pomán y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de F. verticillioides M3125. .....256*
Tabla 72. *Efecto de AEs de comino del departamento Santa María y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de F. verticillioides M3125. .....257*
Tabla 73. *Efecto de AEs de comino del departamento Tinogasta y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de F. verticillioides M3125. .....258*
Tabla 74. *Efecto de los AEs de comino de Catamarca y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de F. verticillioides M3125. .....260*
Tabla 75. *Efecto de AEs de comino del departamento Belén y del cuminal sobre la fase Lag de F. verticillioides M3125. .....262*
Tabla 76. *Efecto de AEs de comino del departamento Capayán y del cuminal sobre la fase Lag de F. verticillioides M3125. .....264*
Tabla 77. *Efecto de AEs de comino del departamento Pomán y del cuminal sobre la fase Lag de F. verticillioides M3125. .....265*
Tabla 78. *Efecto de AEs de comino del departamento Santa María y del cuminal sobre la fase Lag de F. verticillioides M3125. .....266*
Tabla 79. *Efecto de AEs de comino del departamento Tinogasta y del cuminal sobre la fase Lag de F. verticillioides M3125. .....267*
Tabla 80. *Efecto de AEs de comino de la provincia de Catamarca y del cuminal sobre la fase Lag de F. verticillioides M3125. .....269*
Tabla 81. *Medias ± DE e IC de la media de variables físicas, químicas y bioactivas de semillas y AEs de semillas de comino de Catamarca. 275*

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Sistema de condensación de La Real Farmacopea Española (1997) y adoptada por la Norma ISO 6571:2008.* *27*
Figura 2*. Equipo de hidrodestilación a escala industrial.* *28*
Figura 3. *Equipo de hidrodestilación a escala industrial con tubo de cohobación lateral.* *29*
Figura 4. *Equipo piloto de extracción de AEs tipo CIATEJ.* *30*
Figura 5. *Esquema de un destilador por arrastre de vapor con sistema de cohobación* *31*
Figura 6. *Equipo tradicional de destilación vapor – agua.* *32*
Figura 7. *Ejemplos de monoterpenos naturales.* *35*
Figura 8. *Ejemplos de sesquiterpenos naturales.* *36*
Figura 9. *Diterpenos que aparecen ocasionalmente en los aceites esenciales.* *37*
Figura 10. *Ejemplos de fenilpropanos naturales presentes en aceites esenciales.* *38*
Figura 11. *Ruta metabólica implicada en la síntesis de terpenoides.* *39*
Figura 12. *Ruta de los fenilpropanoides.* *40*
Figura 13. *Esquema de las partes básicas de un cromatógrafo de gases.* *48*
Figura 14. *Esquema de un sistema convencional de cromatografía de gases-masa* *53*
Figura 15. *Planta de comino y sus distintas estructuras botánicas.* *90*
Figura 16. *n-Tricosanyl oleate.* *96*
Figura 17. *Tetrahydroxynaphthyl geranilan-10'-al-1'-oate.* *96*
Figura 18. *Lanostdienyl-n-docosanoate.* *96*
Figura 19. *Antraquinoato de trihidroxi labdanilo.* *97*
Figura 20. *β-Sitosteril-3-Oβ-D-arabino-2'-benzoato.* *97*
Figura 21. *Lanostdienyl arabinolinoleiate.* *97*
Figura 22. *Fotos originales. Semillas de comino a granel (a), semillas de comino embolsadas (b). Lugar: Finca Maskay, INDOMEGA S.A.* *128*
Figura 23. *Fotos originales (a) y (b). Proceso de cuarteo en laboratorio para el fraccionamiento y almacenamiento de la muestra primaria.* *129*
Figura 24. *Fotos originales (a) y (b). Etapa final del proceso de cuarteo de la muestra primaria para la obtención de una alícuota.* *129*
Figura 25. *Significado de la codificación de las muestra.* *130*
Figura 26. *Fotos originales. Conteo y pesado de mil semillas.* *134*
Figura 27. *Fotos originales. Esquema de medición de las semillas de comino.* *135*
Figura 28. *Fotos originales. Esquema de la determinación del contenido de agua en semillas de comino.* *136*
Figura 29. *Fotos originales. Esquema de la extracción y determinación del contenido de aceite volátil en semillas de comino.* *139*
Figura 30*. Fotos originales (a) y (b). Determinación de los índices de refracción de los aceites esenciales de comino.* *141*
Figura 31. *Fotos originales (a) y (b). Determinación de las densidades de los aceites esenciales de comino.* *142*
Figura 32. *Fotos originales. Esquema del bioensayo de actividad insecticida del aceite esencial de comino contra S. zeamais.* *144*
Figura 33. *Fotos originales. Esquema del bioensayo de actividad insectífuga del aceite esencial de comino contra S. zeamais.* *147*
Figura 34. *Fotos originales. Esquema del bioensayo de actividad antifúngica por inhibición de crecimiento fúngico.* *149*
Figura 35. *Peso medio (g) de mil semillas de comino de los distintos departamentos productores de Catamarca* *159*
Figura 36. *Tamaño de los frutos-semilla de comino de Catamarca expresado como área superficial media S (mm^2)* *172*
Figura 37. *Humedad media de los frutos-semilla de cominos de Catamarca, (% p/p).* *179*

Figura 38. *Rendimiento medio, en base seca, de aceite esencial de frutos de comino de Catamarca, (mL/100 g).*.....*188*
Figura 39 a y b. Abundancias relativas medias de las diferentes fracciones de compuestos presentes en los AEs de cominos de Catamarca......*220*
Figura 40. *Respuestas de comportamiento de S. zeamais M. adulto a los AEs de comino de Catamarca y al cuminaldehído.*.....*240*
Figura 41. *Medias ± DE (%) de inhibición de crecimiento fúngico de F. verticillioides M3125 en función del tratamiento y el origen de los AEs de comino de Catamarca y su comparación con el cuminaldehído.*.....*250*
Figura 42. *Acción de concentración subletal (500 ppm) de aceites esenciales de cominos de Catamarca sobre la producción de Fumonisina B1 por Fusarium verticillioides.* *271*
Figura 43. *Parámetros de crecimiento fúngico de F. verticillioides tratado con AE de comino de Catamarca a distintas concentraciones.* *273*

RESUMEN

El comino, (*Cuminum cyminum* L.), es una planta herbácea, anual, Apiaceae, originaria de la cuenca del Mediterráneo cuyo fruto semilla contiene entre 2 y 5 % de aceite esencial (AE). En Argentina el comino se cultiva en valles áridos intermontanos de altura de La Rioja, Catamarca y Salta. Catamarca es la primera productora de comino de Argentina y los principales departamentos productores son Belén, Capayán, Pomán, Santa María y Tinogasta. Existen antecedentes de las propiedades insecticidas y antimicrobianas del AE de comino, sin embargo, el comino de Catamarca ha sido poco estudiado. Actualmente hay un marcado interés en la búsqueda de productos naturales bioactivos para el control de plagas con menor impacto ambiental negativo que los plaguicidas sintéticos convencionales. En este sentido, los AEs constituyen una buena alternativa. Los principales objetivos de esta investigación fueron describir la composición química y las propiedades físicas del AE de comino de Catamarca y estudiar las actividades insecticida contra *Sitophilus zeamais* y antifúngica frente a *Fusarium verticillioides*, ambas, plagas del maíz. Se trabajó con 23 muestras de frutos maduros y secos de *C. cyminum* de los departamentos productores de Catamarca. Los AEs se obtuvieron tras 5 h de hidrodestilación con trampa de Clevenger y desecados con sulfato de sodio anhidro. Las composiciones químicas se estudiaron por cromatografía gas-líquida y cromatografía gaseosa - espectrometría de masas. La actividad insecticida se evaluó por toxicidad fumigante, la conducta de *S. zeamais* frente al AE de comino utilizando un olfatómetro de dos vías y la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE) por un método colorimétrico. La actividad antifúngica contra *F. verticillioides* se evaluó in vitro por el método de inhibición del crecimiento radial en agar Czapek-dox y se calcularon los parámetros de crecimiento fúngico (% de inhibición, tasa de crecimiento y fase lag). La fumonisina B_1 (FB_1) se determinó por fluorescencia/HPLC en fase reversa. Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que el comino de Catamarca presentó un fruto-semilla de buen tamaño y peso, con humedad de 8,29 ± 1,53 (% m/m), AE en base seca de 4,66 ± 0,97 (% v/m). El AE recién destilado fue de color amarillo pálido a incoloro, con índice de refracción y densidad relativa a 20 ºC de 1,4972 ± 0,0017 y 0,9086 ± 0,0090 respectivamente. Se identificaron 28 compuestos de 29 detectados en el AE, siendo los mayoritarios γ-terpineno (20,42 ± 4,71 %), cuminaldehído (18,91 ± 3,91 %), p-cimeno (15,40 ± 4,56 %), β-pineno (14,94 ± 1,07 %), p-menta-1,4-dien-7-al (10,38 ±

3,10 %), 2-caren-10-al (5,97 ± 1,96 %) sobre un total de 97,69 ± 0,60 %. El AE presentó actividad insecticida contra *S. zeamais* siendo las CL_{50} y CL_{95} de 74,68 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ y 214,55 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ respectivamente. La acción repelente del AE fue dependiente de la concentración y fue máxima a 4 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ con un índice de respuesta de -52,53 ± 31,15 %. La inhibición de AChE fue de 88,39 ± 15,45 % a 9,2 µg/L y 47,75 ± 25,19 % a 2,3 µg/L. El AE presentó actividad antifúngica frente a *F. verticillioides* y a la máxima concentración ensayada (1000 ppm), inhibió el 80 % del crecimiento, disminuyó un 25 % la tasa de crecimiento y prolongó la fase lag de 57,41 ± 16,11 h (control) a 117,38 ± 25,29 h (tratamiento). A 500 ppm de AE no se observó inhibición en la producción de FB_1, más bien una leve estimulación. El AE de comino de Catamarca podría ser una alternativa para el control integrado de estas dos plagas del maíz almacenado.

ABSTRACT

Cumin, (*Cuminum cyminum* L.), is an annual herbaceous plant, Apiaceae, native to the Mediterranean basin whose seed fruit contains between 2 and 5 % of essential oil (EO). In Argentina, cumin is grown in high-altitude arid valleys of La Rioja, Catamarca and Salta. Catamarca is the first cumin producer in Argentina and the main producing departments are Belén, Capayán, Pomán, Santa María and Tinogasta. There is a history of the insecticidal and antimicrobial properties of cumin EO, however, Catamarca cumin has been little studied. There is currently a marked interest in the search for bioactive natural products for pest control with less negative environmental impact than conventional synthetic pesticides. In this sense, the EOs constitute a good alternative. The main objectives of this investigation were to describe the chemical composition and physical properties of the cumin EO of Catamarca and to study the insecticidal activities against *Sitophilus zeamais* and antifungal against *Fusarium verticillioides*, both, corn pests. We worked with 23 samples of ripe and dried fruits of *C. cyminum* from the producing departments of Catamarca. The AEs were obtained after 5 h of hydro-distillation with Clevenger trap and dried with anhydrous sodium sulfate. The chemical compositions were studied by gas-liquid chromatography and gas chromatography - mass spectrometry. The insecticidal activity was evaluated by fumigant toxicity, the behavior of *S. zeamais* against cumin EO using a two-way olfactometer and the inhibition of acetylcholinesterase (AChE) activity by a colorimetric method. The antifungal activity against *F. verticillioides* was evaluated in vitro by the method of inhibition of radial growth in Czapek-dox agar and fungal growth parameters (% inhibition, growth rate and lag phase) were calculated. Fumonisin B_1 (FB_1) was determined by fluorescence / reverse phase HPLC. The results obtained in the present study showed that the Catamarca cumin presented a fruit-seed of good size and weight, with humidity of 8.29 ± 1.53 (% m / m), EO on dry basis of 4.66 ± 0.97 (% v / m). The freshly distilled EO was pale yellow to colorless, with refractive index and relative density at 20 °C of 1.4972 ± 0.0017 and 0.9086 ± 0.0090 respectively. Twenty-eight compounds of 29 detected in EO were identified, with the majority being γ-terpinen (20.42 ± 4.71 %), cuminaldehyde (18.91 ± 3.91 %), p-cimeno (15.40 ± 4, 56 %), β-pinene (14.94 ± 1.07 %), p-mint-1,4-dien-7-al (10.38 ± 3.10 %), 2-caren-10-al (5.97 ± 1.96 %) over a total of 97.69 ± 0.60 %. The AE presented insecticidal activity against *S. zeamais* with LC_{50} and CL_{95} being 74.68 μL_{AE} /

L_{aire} and 214.55 μL_{AE} / L_{aire} respectively. The repellent action of AE was concentration dependent and was maximum at 4 μL_{AE} / L_{aire} with a response rate of -52.53 ± 31.15 %. AChE inhibition was 88.39 ± 15.45 % at 9.2 µg / L and 47.75 ± 25.19 % at 2.3 µg / L. The AE presented antifungal activity against *F. verticillioides* and at the maximum concentration tested (1000 ppm), inhibited 80% of growth, decreased the growth rate by 25 % and prolonged the lag phase of 57.41 ± 16.11 h (control) at 117.38 ± 25.29 h (treatment). At 500 ppm of EO no inhibition was observed in the production of FB_1, rather a mild stimulation. The Catamarca cumin EO could be an alternative for the integrated control of these two stored corn pests.

Capítulo I

Introducción

I. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

I.1. Antecedentes.

I.1.1 Aceites Esenciales.

I.1.1.1 Definición.

Según la Organización International de Normalización (I.S.O.), un aceite esencial (AE) se define como: "Producto obtenido a partir de una materia prima natural de origen vegetal, por destilación al vapor, por procesos mecánicos a partir del epicarpio de los cítricos, o por destilación en seco, después de la separación de la fase acuosa, en su caso, por procesos físicos" [ISO 9235:2013(en), término 2.11].

En esta Norma, en el apartado 2.11, se incluyen dos Notas. La primera Nota indica que el AE puede someterse a tratamientos físicos que no produzcan ningún cambio significativo en su composición (por ejemplo, filtración, decantación, centrifugación). En la segunda Nota se comenta que durante la 27ª reunión de ISO / TC 54 celebrada en 2010, se decidió adoptar la terminología "Aceite esencial de..." en lugar de "Aceite de..." para todas las normas publicadas por el comité y que este cambio se introduciría progresivamente al revisar los estándares y para todos los nuevos borradores.

En la Norma ISO 9235:2013(en), ligado al término 2.11 se define el término 2.12 AE obtenido por destilación al vapor, como: "aceite esencial (2.11) que se obtiene por destilación al vapor con la adición de agua al alambique (hidrodestilación) o sin la adición de agua al alambique (directamente por vapor)".

En la Norma ISO 9235:2013(en), previo al término 2.11 se definen los términos 2.5 y 2.6, como:

> 2.5 Aceite esencial prensado en frío
> Aceite esencial (2.11) obtenido por procesos mecánicos del epicarpio de la fruta de un cítrico, a temperatura ambiente.
> 2.6 Aceite esencial concentrado
> Aceite doblado

> Aceite esencial (2.11) tratado por un proceso físico para concentrar uno o más componentes considerados de interés.

La definición (2.11) marca las diferencias entre AEs y extractos, concretos y absolutos. Estos últimos se preparan a partir del material vegetal y se extraen con la ayuda de un disolvente orgánico consiguiendo una composición química y unas propiedades farmacodinámicas diferentes (Rouzet, 1984). La definición (2.11) también diferencia al AE, del AE rectificado, (ISO 9235:2013(en), término 2.24), dado que en el proceso de rectificación se modifica el contenido de ciertos compuestos y / o su color.

Gerhard Buchbauer, profesor del Instituto de Química Farmacéutica de la Universidad de Viena, propone la siguiente definición: "Los aceites esenciales son sustancias más o menos volátiles con un impacto más o menos oloroso, ya sea por destilación por vapor o destilación en seco o mediante un tratamiento mecánico de una sola especie" (25º Simposio Internacional sobre Aceites Esenciales, 1994).

Esto sugiere que no se permite mezclar diferentes especies de plantas dentro del proceso de producción, ni variedades diferentes de una misma especie ya que los diferentes quimotipos cambiarían totalmente la composición del aceite (Başer y Buchbauer, 2010).

Haagen-Smit, autor del capítulo 2 del libro "Los aceites esenciales" de Güenther, (1948), menciona que en los primeros trabajos, el término "aceite esencial" o "aceite etéreo" se define como el aceite volátil obtenido por la destilación al vapor de las plantas, e interpreta que tal definición distingue entre los aceites grasos y los aceites que son fácilmente volátiles. También menciona que, como la volatilidad y origen de la planta son las propiedades características de estos aceites, otros autores consideraron más satisfactorio incluir en la definición a los aceites vegetales volátiles obtenidos por otros medios además de la destilación directa con vapor. Esta consideración incluye al aceite de almendra amarga y al de mostaza, obtenidos por acción enzimática, seguido de destilación al vapor; al aceite de limón y de naranja aislados por prensado simple, y a ciertos aceites volátiles obtenidos por extracción. Como puede advertirse, la definición actual expresada en la Norma ISO coincide en gran parte con las primeras definiciones, pero claramente excluye a los extractos, de la definición de AE.

I.1.1.2 Nomenclatura.

Por lo general se designan con el nombre de la planta de la cual se extraen, por ejemplo, AE de lavanda, AE de comino, AE de laurel, AE de limón.

De algunas plantas se extrae más de un AE, en ese caso el nombre varía. Por ejemplo, de las flores del naranjo se extrae por destilación el nerolí o azahar, por destilación de las hojas y de los frutos recién formados y verdes, se obtiene la esencia de petit grain y de la cáscara o corteza de los frutos, el AE de naranjo.

En algunos casos es preciso apelar a la nomenclatura botánica para evitar confusiones, por ejemplo, el AE de palo de rosa, proviene de la planta *Aniba rosaeodora* que no tiene ningún parentesco con la *Rosa damascena*.

En el caso de que una misma especie aromática presente más de un quimiotipo, el nombre lleva también la designación del quimiotipo, por ejemplo, AE de tomillo timol, de tomillo carvacrol, de tomillo linalol, de tomillo geraniol, etc. (Bandoni, 2003; Horváth et al., 2006).

I.1.1.3 Distribución en la naturaleza.

Los AEs son biosintetizados, casi totalmente, por vegetales superiores que pertenecen a varios géneros distribuidos en alrededor de 60 familias. Las principales familias de plantas son bien conocidas por su capacidad para producir AE de valor medicinal e industrial, e incluyen Alliaceae, Apiaceae, Asteraceae (Compositae), Lamiaceae (Labiatae), Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae, Lauraceae, Pinaceae, Zingiberaceae, Rosaceae, Magnoliaceae y Rutaceae (Hammer and Carson, 2011; Tisserand and Young, 2013; Vigan, 2010).

Los AEs suelen encontrarse en formaciones secretoras especializadas, tales como pelos glandulosos (Lamiáceas), canales secretores (Asteráceas), canales lisígenos o esquizógenos (Rutáceas), que por lo general se localizan en la superficie del vegetal o cerca de la misma. Se pueden obtener de muchas partes diferentes de las plantas, tales como las flores de arbusto (rosa, jazmín), flores de árbol (ylang – ylang), las hojas (eucalipto, albahaca, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), las raíces (cálamo, valeriana,

vetíver, etc.), rizomas (jengibre), la corteza de la madera (canela, cedro, sándalo, etc.), leños (alcanforero, sasafrás), en el epicarpio de los frutos (limón, mandarina, naranja, etc.), en los frutos-semillas (anís, cardamomo, comino, eneldo, hinojo, etc.), semillas (mostazas), sumidades (tomillo, lavanda, romero, etc.), goma (incienso), bulbos (ajo) y brotes secos de flor (clavo) (Romero, 2004; Tisserand y Young, 2013).

Para el caso particular del comino (*Cuminum cyminum* L.), el AE se extrae del fruto-semilla, aunque también se encuentran AEs en las flores, en las raíces, en los tallos y hojas, con diferencias significativas en el rendimiento y en la composición química (Bettaieb et al., 2010; El-Sawi y Mohamed, 2002). Según las normativas oficiales ISO 9301:2003(E), IRAM-SAIPA Nº 18 571 y Código Alimentario Argentino (C.A.A), artículo 1300, apartado 16; el AE de comino es el que se obtiene a partir del fruto semilla, por lo que los AEs que se extraen a partir de las otras estructuras botánicas de la planta, no son considerados como AE de comino.

Los contenidos de AE por lo general no superan el 1 %; pero hay excepciones como el clavo (botón floral de *Eugenia caryophyllus*) que contiene más del 15 %. En el caso particular del comino, se han medido rendimientos entre el 2 % y el 5 % o más, dependiendo de la procedencia y de las condiciones de hidrodestilación (Quiroga et al., 2016).

I.1.1.4 Determinación de Rendimiento y Métodos de obtención.

A los fines analíticos, la determinación del contenido en AE de hierbas, condimentos y especias se hace por el método de hidrodestilación según se especifica en la Norma (ISO 6571:2008). La UNE-EN ISO 6571 es la versión oficial, en español, de la Norma Europea EN ISO 6571:2009, que a su vez adopta la Norma Internacional ISO 6571:2008. Según esta norma se destila una suspensión acuosa del producto. El destilado se recoge en un tubo graduado que contiene un volumen exacto de xileno para fijar el AE y permitir la separación por decantación de las fases orgánica y acuosa. Para calcular el contenido de AE, al volumen total de la fase orgánica, se le resta el volumen de xileno y se expresa en ml de AE por 100 g de producto seco. Para expresar el rendimiento en base seca (bs) se requiere determinar previamente el contenido de humedad del material vegetal destilado según la técnica especificada en la Norma ISO 939 que consiste en una

destilación azeotrópica con tolueno empleando una trampa de Dean Stark y el resultado se expresa en porcentaje de masa (% m/m). La hidrodestilación según la Norma ISO 6571:2008 emplea un aparato propuesto por La Real Farmacopea Española (1997), de tipo Clevenger modificado. La modificación consiste en que el material vegetal se encuentra en contacto permanente con el agua, hirviendo con ésta y sumergida en ella, y no separado por una rejilla como Clevenger proponía. Como puede observarse en la Figura 1, la trampa presenta un retorno, que permite que el agua condensada y separada del AE, regrese al balón que contiene la muestra vegetal y el agua en ebullición. Por las características especificadas se puede decir que se trata de una hidrodestilación de cohobación sumergida. Para la extracción de aceites con fines analíticos, este tipo de destilación resulta muy adecuado debido a su fácil montaje, a la exactitud en la evaluación del rendimiento y a que permite obtener mejores datos y más reproducibles. Si además del rendimiento, al AE obtenido se le debe determinar propiedades físicas y composición química, o emplearlo para futuros bioensayos, hay que eliminar los xilenos usados para fijar el AE extraído, lo cual es un inconveniente. En ese caso se recomienda hidrodestilar sin xilenos, dado que las diferencias que se obtienen en los rendimientos no son estadísticamente significativas (Quiroga et al., 2016).

Para la extracción de aceites con fines comerciales hay tres métodos en uso. La expresión es probablemente el método más antiguo y se usa casi exclusivamente para la producción de aceites de Citrus. El segundo método, la hidrodestilación o la destilación a vapor, es el más utilizado, mientras que la destilación en seco se usa en algunos casos muy especiales (Schmidt, 2010).

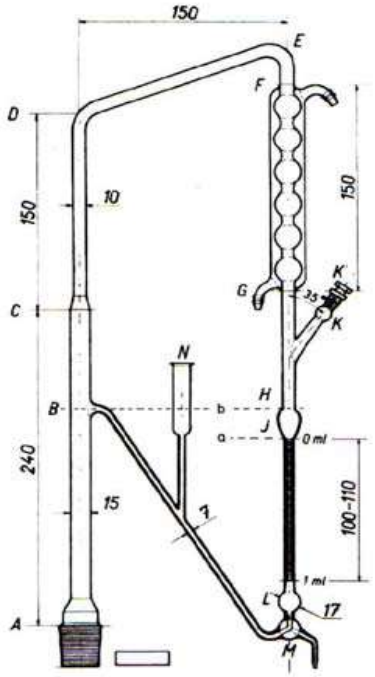


Figura 1. Sistema de condensación de La Real Farmacopea Española (1997) y adoptada por la Norma ISO 6571:2008.

Expresión: La expresión en frío, por ejemplo, a temperatura ambiente sin la participación de calor extraño, se practicó mucho antes de que los humanos descubrieran el proceso de destilación, probablemente porque las herramientas necesarias para ello estaban fácilmente disponibles. Las piedras o las herramientas de madera eran muy adecuadas para romper las células de aceite y liberar su contenido fragante. Este método fue utilizado casi exclusivamente para la producción de aceites de cáscara de cítricos. Actualmente, la razón para extraer aceites cítricos de la cáscara de la fruta utilizando métodos mecánicos es la relativa inestabilidad térmica de los aldehídos que contienen y la tendencia a la oxidación. La hidrodestilación de los frutos cítricos produce aceites de mala calidad debido a las reacciones químicas que pueden atribuirse al calor y a la degradación iniciada por el ácido de algunos de los volátiles inestables de la fruta (Schmidt, 2010). Los procesos de expresión industrial se desarrollaron en el siglo XX. Los sistemas más usados para la producción industrial de aceites de cáscara se pueden clasificar en cuatro categorías: máquinas "sfumatrici" y máquinas "speciale sfumatrici", máquinas "Pellatrici", "proceso de fruta entera FMC" y "extractores de aceite marrón (BOE)" (Arnodou, 1991). Las etapas para la extracción del aceite fueron clasificadas por Rodano y son: a) Laceración de la epidermis y de las celdas que contienen la esencia. b)

Creación en la cáscara de áreas con presión mayor que sus circundantes a través de las cuales el aceite fluye al exterior. c) Abrasión de la cáscara, con la formación de pequeñas partículas de la raspadura. La extracción del aceite se realiza sobre la fruta entera o sobre la cáscara, y en ambos casos puede ser manual o mecánica. El AE extraído por expresión es arrastrado con agua finamente nebulizada que luego se separa por centrifugación (Bandoni y Flores Martínez, 2003 capítulo IX)

Destilación con agua o hidrodestilación: consiste en colocar el material vegetal aromático sumergido en agua que se lleva a ebullición de modo que los vapores generados (agua + AE) puedan ser condensados y colectados. El AE, inmiscible en agua, se separa. El tiempo total de destilación es función de los puntos de ebullición de los componentes presentes. Cuando el ciclo de destilación debe ser muy prolongado, para evitar que se seque el sistema se han diseñado equipos que presentan un tubo de cohobación lateral que permite el retorno de agua hacia la olla. En las Figuras 2 y 3 se muestran esquemas de esta técnica a escala de producción semiindustrial o mayor.

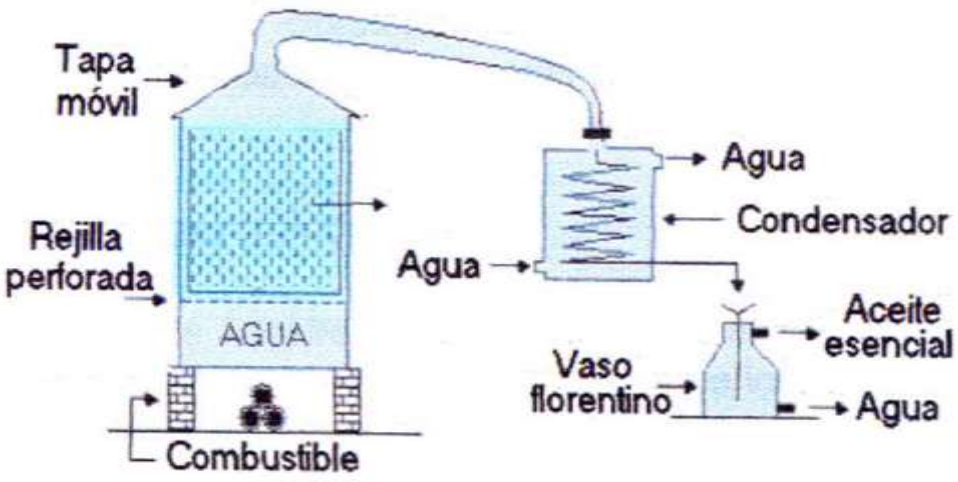


Figura 2. Equipo de hidrodestilación a escala industrial.

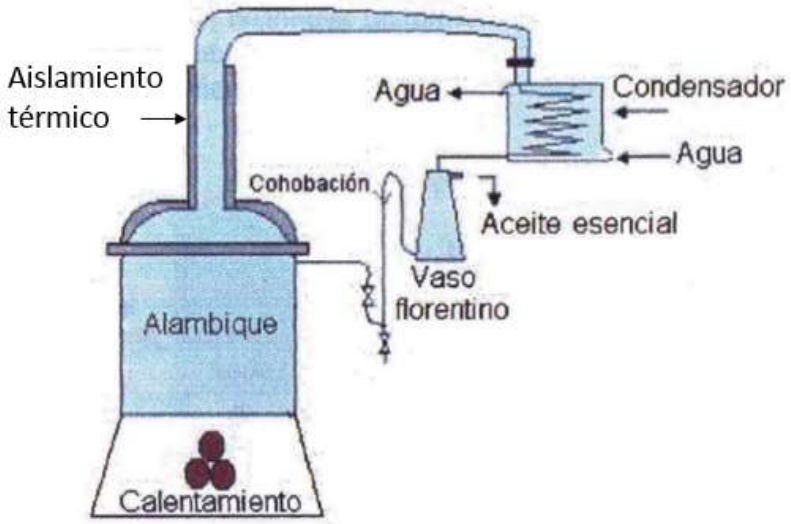


Figura 3. Equipo de hidrodestilación a escala industrial con tubo de cohobación lateral.

Fuente: Introducción a la industria de los aceites esenciales extraídos de plantas medicinales y aromáticas. Sistema de Bibliotecas SENA.

Destilación por arrastre con vapor de agua: el vapor de agua generado en un recinto diferente al que contiene la muestra a destilar se inyecta en el seno de la mezcla, pero su función no es la de arrastrar los compuestos volátiles, sino condensarse formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. Así, cada fase, orgánica y acuosa, ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia (Wankat, 1988). La condición más importante para aplicar este tipo de destilación, es que el componente volátil (AE) y la impureza (planta), sean insolubles en agua. Los vapores que salen del cuello de cisne (agua y AE) se enfrían en un condensador y los dos productos líquidos inmiscibles se separan en un decantador o vaso florentino lo cual permite la fácil separación del AE (Peredo Luna et al., 2009). Hay distintos diseños de destiladores por arrastre con vapor que se adaptan a la escala de producción, al tipo de vegetal a tratar, a la calidad de AE que se espera obtener, etc. y se calculan o planifican las condiciones de trabajo.

Peredo Luna et al. (2009) citan a Da Porto et al. (2009), Guan et al. (2007) y a Sefidkon et al. (2006); quienes expresan que en la destilación por arrastre con vapor es común que se formen emulsiones de aceite en agua o emulsiones directas y emulsiones de agua en aceite o emulsión inversa, ambas muy estables y difíciles de separar. También

expresan que, por lo general, las técnicas de separación de fases de una emulsión se basan en la ecuación de Stokes, que relaciona la velocidad ascensional o de sedimentación de una microgota de la fase dispersa en el seno de una fase continua. Este método sencillo y económico presenta la desventaja de requerir más tiempo y de obtener rendimientos más bajos que con otros métodos.

Si la cantidad de agua contenida en el extractor es insuficiente para sostener el proceso de destilación, se utiliza un sistema de cohobación por el cual el agua ya condensada y separada del AE, retorna al cuerpo del extractor para volver a ser calentada. Esto permite minimizar las pérdidas de componentes oxigenados, particularmente los fenoles, que presentan una gran solubilidad en agua. La reutilización del agua condensada permite que ésta se sature con los constituyentes disueltos y de ese modo impide que se sigan disolviendo mayor número de componentes. En las Figuras 4 y 5 se muestran equipos tradicionales, a escala piloto, de destilación por arrastre sin y con sistema de cohobación respectivamente.

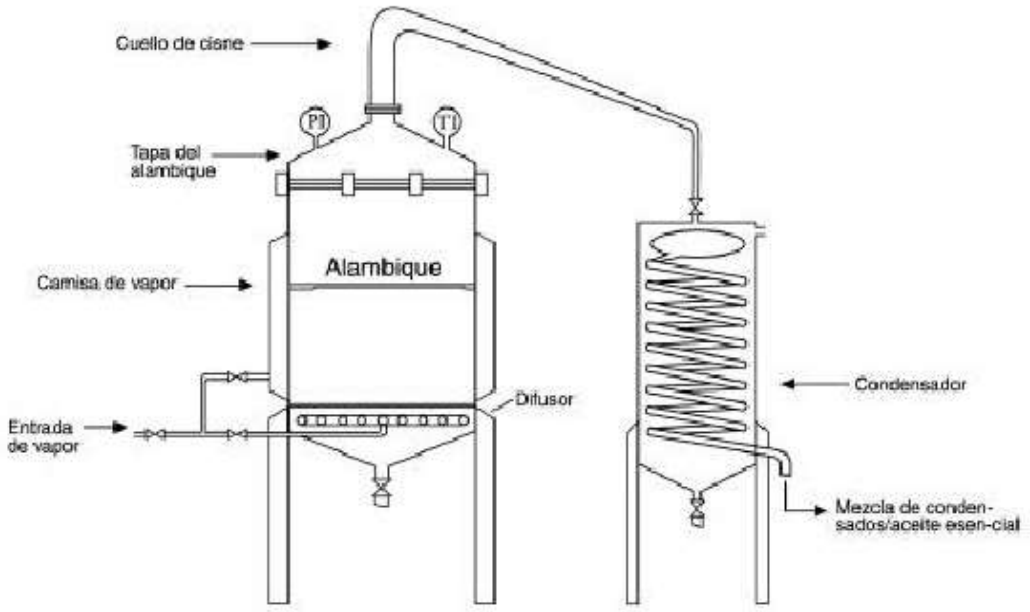


Figura 4. Equipo piloto de extracción de AEs tipo CIATEJ.

Fuente: (Bandoni, 2003).

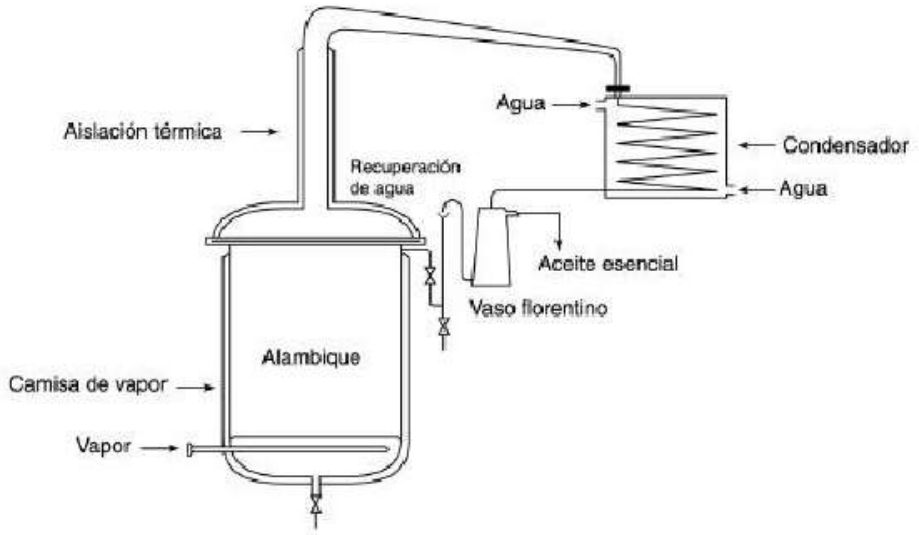


Figura 5. Esquema de un destilador por arrastre de vapor con sistema de cohobación

Fuente: (Bandoni, 2003).

Destilación con agua y vapor: El vapor puede ser generado mediante una fuente externa o dentro del propio cuerpo del extractor, aunque separado del material vegetal (Figura 6). En este sistema, el material vegetal se encuentra sobre un tramado (falso fondo) que impide el contacto del material vegetal con el agua hirviente. Este sistema reduce la capacidad neta de carga de materia prima dentro del extractor pero la calidad del AE obtenido es mejor.

Destilación previa maceración: en algunos casos los componentes volátiles de las plantas aromáticas están glicosidados, por lo que requieren ser sometidas, previamente, a un proceso de maceración en agua caliente que favorece reacciones enzimáticas (Block, 1985; Güenther, 1948), luego de las cuales se logra la separación del AE. Este procedimiento se aplica para extraer el aceite de semillas de almendras amargas, bulbos de cebolla, bulbos de ajo, semillas de mostaza, hojas de gaulteria y hojas y corteza de abedul.

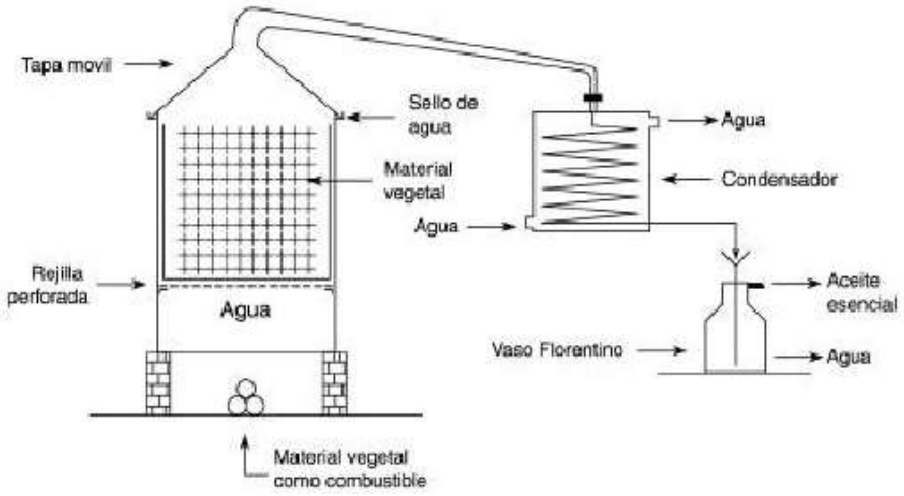


Figura 6. Equipo tradicional de destilación vapor – agua.

Fuente: (Bandoni 2003).

I.1.1.5 Propiedades físicoquímicas

Si bien existe una gran diversidad química entre los distintos AEs, en su gran mayoría, presentan una serie de propiedades físicas comunes como el estado físico, la volatilidad, la solubilidad, la densidad, etc.

En general, los AEs son líquidos pero algunos son sólidos a temperatura ambiente, como el AE de lirio, o semisólidos, como el de la madera de guayaco. Son transparentes y de aspecto límpido, por lo general incoloros o de color amarillo pálido, aunque el AE de manzanilla es azul y el de valeriana europea, es verde (Tisserand y Young, 2013).

La densidad de los AEs es diferente a la del agua (Porter y Lammerink 1994) y por lo general son menos densos que ésta, siendo una excepción los obtenidos a partir del clavo (http://indianspices.com), la canela (Haddi et al., 2017) y el sasafrás (Sigma-Aldrich), cuyas densidades son superiores a la unidad.

Los AEs son solubles en solventes orgánicos, y esta solubilidad es mayor cuando el AE es rico en monoterpenos. Suelen ser altamente solubles en etanol y algo solubles en agua, propiedad que es utilizada en la elaboración de fragancias y extractos hidroalcohólicos para las industrias farmacéutica, cosmética y alimenticia. La elaboración de agua de rosas y de azahar es posible gracias a sus solubilidades en agua.

La solubilidad es una propiedad que también suele ser utilizada para la evaluación de la pureza y calidad de los AEs (Güenther, 1972).

El índice de refracción a 20 °C también representa una constante física característica de un AE, son elevados en comparación con el del agua y suelen oscilar entre 1.450 y 1.590. Los AEs refractan la luz polarizada, propiedad que es usada como criterio de pureza y genuinidad. (Bandoni, 2003; Bosart, 1937).

En su composición, los AEs contienen numerosos productos ópticamente activos, lo que hace que presenten un poder rotatorio característico. Esto también es usado como criterio de pureza y pueden ser considerados elementos de alto valor diagnóstico (Adlard, 2010; Villar del Fresno, 1999).

Químicamente, los AEs son inestables ante la luz, la temperatura, el oxígeno disponible, la presencia de oxidantes, de reductores, de medios con pH extremos, o de trazas de metales pesados que pueden catalizar reacciones de descomposición o promover la fotooxidación (Turek y Stintzing, 2013). Esta inestabilidad, que significa un problema para la conservación o formulación de una esencia, puede ser un factor interesante cuando se trata de utilizarla para la semisíntesis química, pues una molécula inestable es una molécula reactiva, y solamente es necesario fijar las condiciones para poder aprovechar esta reactividad química de ciertas moléculas y orientar su transformación hacia productos deseables (Bandoni, 2003).

Otra propiedad importante de un AE es la variabilidad estructural de sus componentes, lo que permite generar estructuras novedosas por semisíntesis (Cáceres, 2014; Cáceres et al., 2018).

I.1.1.6 Características sensoriales. Aroma.

Todos los AEs poseen un olor característico que los relaciona a la planta de la cual se los extrajo. Si bien esto parece evidente, por cuanto estamos hablando de los productos volátiles que son sacados de una planta aromática, en la práctica se observan discrepancias importantes que se pueden explicar. El olor que tiene una planta viva no es idéntico que el de su AE aislado. En una planta hay productos aromáticos muy volátiles

que ocultan permanentemente a los constituyentes aromáticos menos volátiles. Para poder percibir los constituyentes menos volátiles habría que dejar secar la planta para favorecer la eliminación de los más volátiles. Esto no ocurre si se huele la esencia pura, pues a medida que se van evaporando las fracciones según su volatilidad, se logran percibir todos los constituyentes. Además, los componentes muy volátiles suelen perderse durante el proceso extractivo, sobre todo si se emplea arrastre con vapor de agua. También, cuando se obtiene una esencia por hidrodestilación, algunos compuestos quedan parcialmente retenidos en la fase acuosa, como ocurre con el alcohol feniletílico en la esencia de rosa, o con algunos ácidos y ésteres livianos. Otro factor que influye en el olor que se percibe, es el metabólico. Una vez que la planta es cosechada para extraerle sus esencias, su metabolismo continúa evolucionando mientras tenga algo de humedad que permita los procesos enzimáticos. Recién cuando se extrae la esencia, el metabolismo se detiene, lográndose una relativa estabilidad en la calidad olfativa del producto. Sin embargo, los componentes interactúan entre sí y con el medio, produciendo transformaciones en la composición, algunas veces deseadas y otras no (Bråred-Christensson et al., 2009; Fincke y Maurer 1974; Kubeczka, 1993). La calidad olfativa de una esencia también varía según la parte de la planta que se empleó para la extracción del aceite. Por lo general, el olor de las partes más externas de una planta difiere del olor de sus partes más internas, pero al extraer la esencia, los aromas se mezclan, produciendo uno distinto al que se percibe en la planta viva.

El umbral de olor específico determinado por la estructura y la volatilidad de los compuestos individuales de un AE contribuye al sabor (Grosch, 2007).

I.1.1.7 Composición química.

Los AEs son mezclas de moléculas volátiles cuyos componentes fundamentalmente pertenecen a dos grandes grupos, el de los terpenos (mono y sesquiterpenos) y sus derivados, en el que se encuentran incluidos la mayor parte de los constituyentes de los AEs (Treibs y Merkel, 1960), y el de los derivados aromáticos fenilpropánicos. Aunque los terpenos y sus derivados oxigenados (terpenoides) son más frecuentes y abundantes en los AEs, ciertas especies contienen altas cantidades de fenilpropanoides, y cuando estos compuestos están presentes, proporcionan un olor y un

sabor específicos a la planta (Başer y Buchbauer, 2015; Tisserand y Young, 2013; Zuzarte y Salgueiro, 2015). También pueden hallarse compuestos alifáticos de cadena corta y bajo peso molecular (Charles Sell, 2010; Kubeczka, 1979) tales como carburos, ácidos comprendidos entre C3 y C10, alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, detectándose en algunos casos la presencia de cumarinas arrastrables en corriente de vapor de agua, tal como la herniarina (7-metoxi-cumarina) (Lake, 1999; Murray et al., 1982).

Los monoterpenos y sesquiterpenos son terpenos de 10 y 15 átomos de carbono, de masa molecular no muy elevada. En la Figura 7 se muestran algunos monoterpenos que forman parte del AE de comino y en la Figura 8 se ilustran algunos sesquiterpenos naturales.

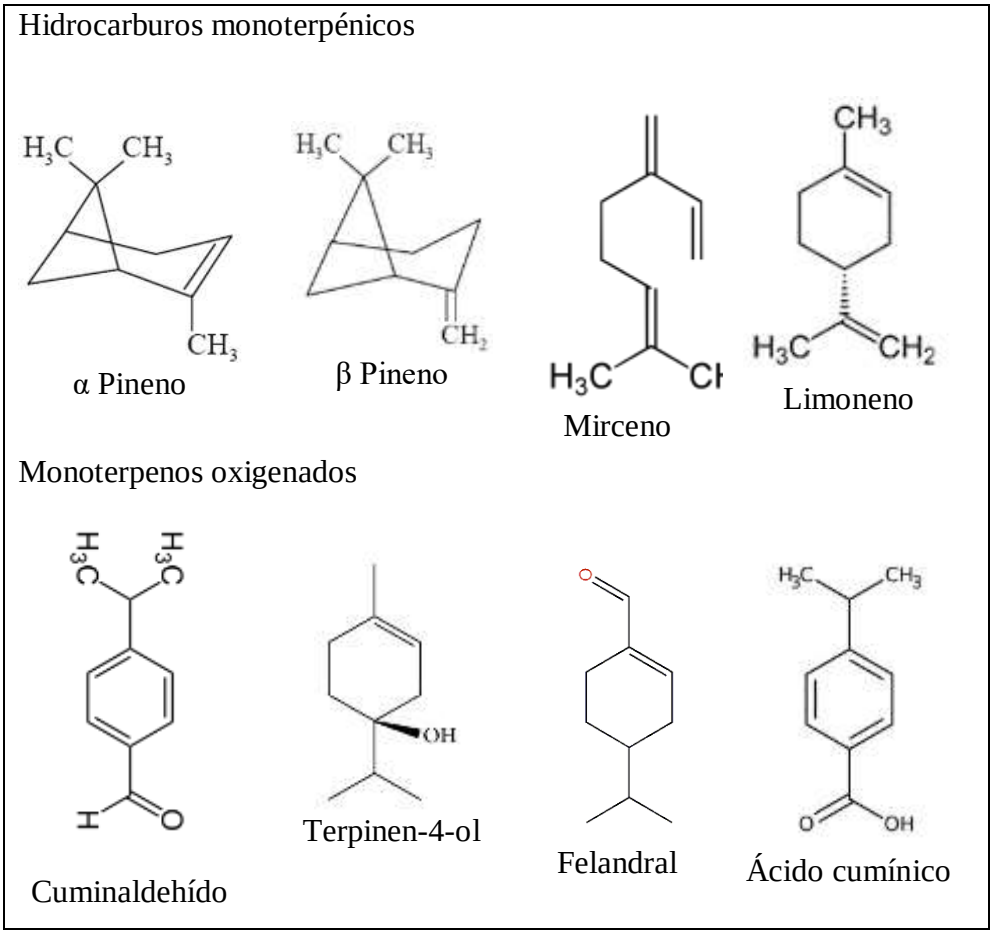


Figura 7. Ejemplos de monoterpenos naturales.

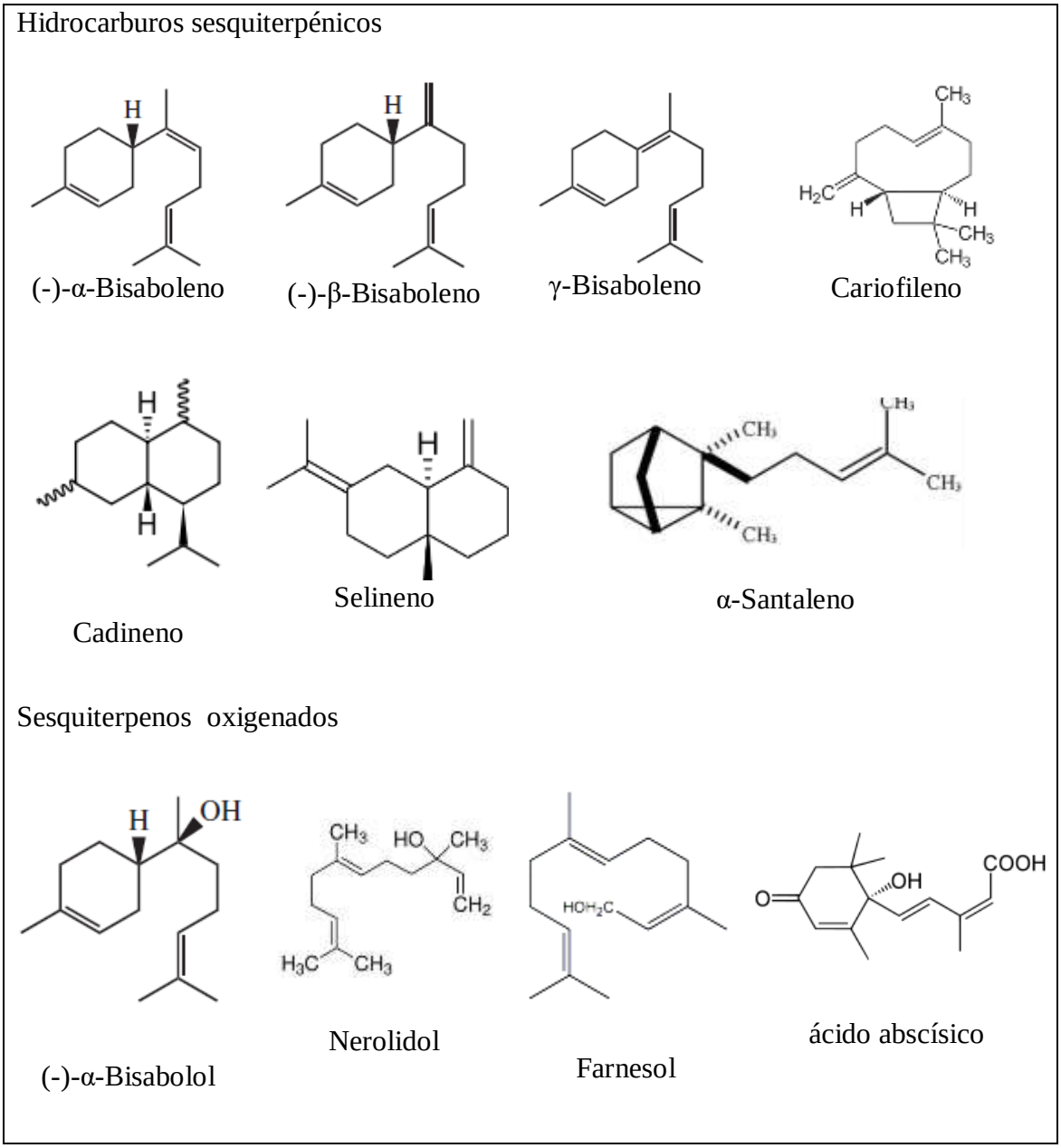


Figura 8. Ejemplos de sesquiterpenos naturales.

De acuerdo con la estructura, los terpenos se clasifican según el número de ciclos como acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, etc. o bien como derivados oxigenados de los mismos (alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres, óxidos, peróxidos, fenoles). En algunas plantas los terpenos están ligados químicamente a azúcares formando glicósidos o heterósidos. En este caso debe favorecerse una hidrólisis previa para lograr un buen rendimiento de esencia.

Los diterpenos constituyen otro gran grupo de terpenoides que, según las circunstancias, pueden presentarse en los AEs junto con los monoterpenos (C-10) y sesquiterpenos (C-15) pero generalmente no contribuyen al aroma, como ocurre con los diterpenos que se encuentran en el aceite de jengibre (Başer y Buchbauer, 2010; Bowles, 2003; Hunter, 2009). Los que suelen aparecer en las esencias son derivados del labdano y del esclareol (Torres et al., 1997). En la Figura 9 aparecen dos de los diterpenos más frecuentemente nombrados en estudios de AEs. La mayoría de los diterpenos han sido extraídos de plantas vasculares, y de algunos talófitos, principalmente algas y hongos (Islam et al., 2016).

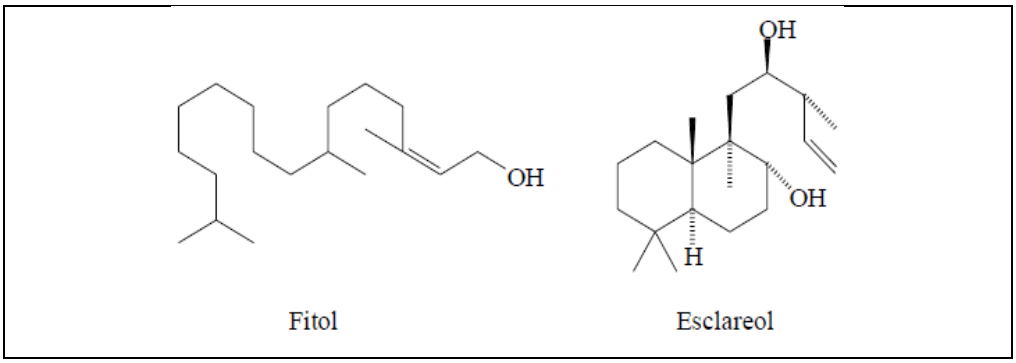


Figura 9. Diterpenos que aparecen ocasionalmente en los aceites esenciales.

Los fenilpropanos son sustancias naturales ampliamente distribuidas en los vegetales, caracterizados por un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos. Algunos ejemplos de fenilpropanoides ampliamente distribuidos se muestran en la Figura 10.

La cadena lateral puede presentar varios estados de oxidación (grupos metilo, hidroximetileno, aldehído y carboxilo) e insaturación. El anillo aromático generalmente está sustituido en los carbonos 3, 4 y 5, siendo estos sustituyentes grupos hidroxilo, metoxilo o metiléndioxi, principalmente. Predominan los alil y propenilfenoles, entre los que destacan el anetol, el eugenol y la asarona, característicos de determinados AEs tales como los de anís, clavo y cálamo aromático.

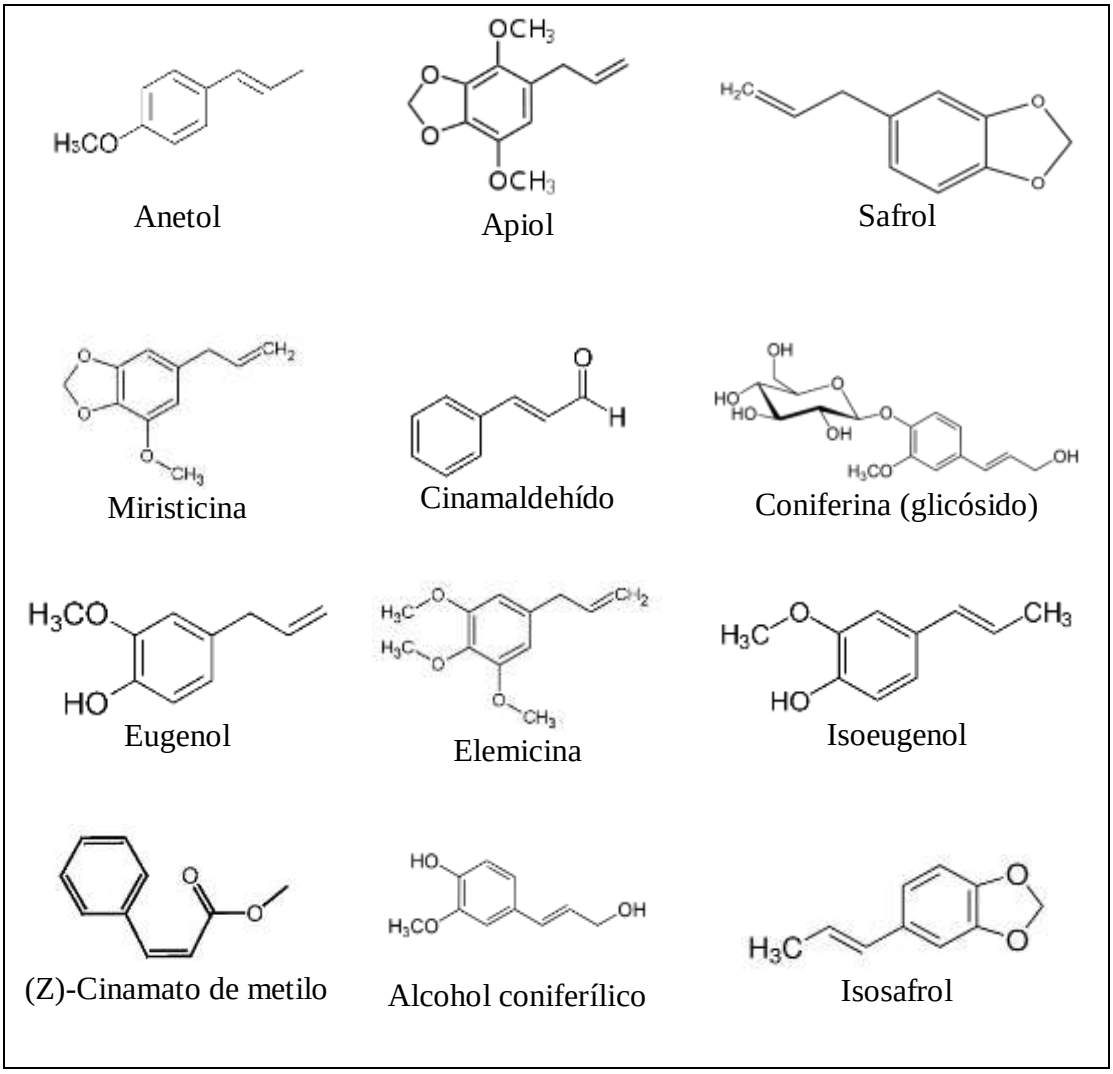


Figura 10. Ejemplos de fenilpropanos naturales presentes en aceites esenciales.

I.1.1.7.1 Biogénesis.

Los metabolitos secundarios que constituyen los AEs son sintetizados a partir de distintas rutas metabólicas. La naturaleza ha proporcionado una diversa gama de productos químicos (Hay y Waterman, 1993; Lawrence, 1985) que responden a ciertos patrones de estructura molecular que dan pistas sobre cómo se construyeron las moléculas.

Los monoterpenos, sesquiterpenos y en general todos los compuestos terpenoides naturales y sus derivados oxidados que constituyen a los AEs se biosintetizan por la ruta de la acetilcoenzima a través de un intermediario común que es el ácido mevalónico. Los monoterpenos son derivados biosintéticos del geranilpirofosfato (GPP) y los

sesquiterpenos, del farnesilpirofosfato (FPP) (Figura 11). La gran reactividad de las especies catiónicas intermediarias que intervienen en la formación de estos compuestos es la responsable de su gran variedad estructural. Sin embargo, se ha propuesto que algunos terpenoides no se originan por esta ruta, sino por una ruta alterna que puede involucrar piruvato, gliceraldehído-3-fosfato y un intermedio de 5 átomos de carbono: 1-desoxi-xilulosa-5-fosfato (Adam y Zapp, 1998).

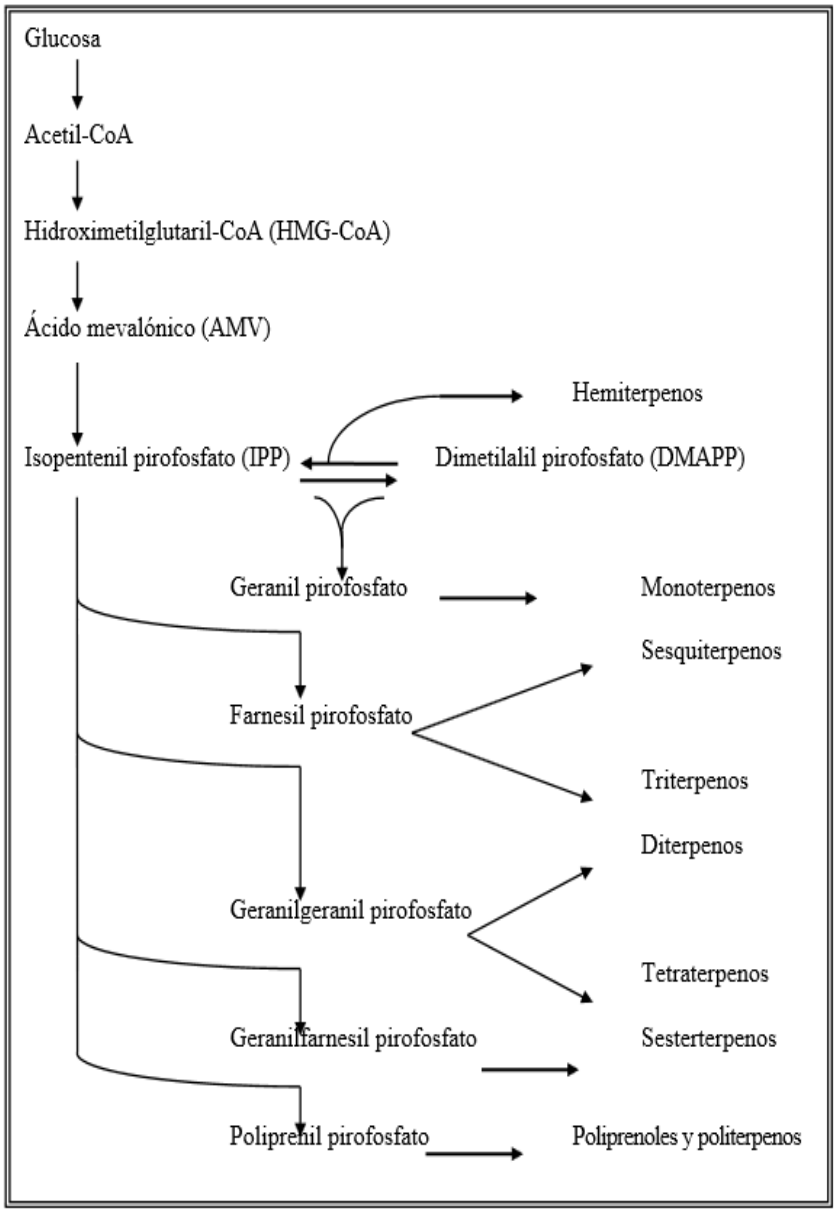


Figura 11. Ruta metabólica implicada en la síntesis de terpenoides.

Fuente: Jesús Palá Paúl, 2002. Tesis Doctoral.

Los derivados fenilpropánicos proceden biosintéticamente de la ruta del ácido shikímico. Este ácido es precursor de diversos intermediarios metabólicos aromáticos, tales como los taninos, el cloranfenicol, el ácido 4-aminobenzoico, los fenilpropanoides, los lignanos, los aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina y triptofano), así como sus derivados: glucósidos cianogénicos aromáticos, aminas biógenas aromáticas, catecolaminas, betalaínas, melaninas, bisindoles, flavonoides, fenazinas y diversos alcaloides tales como los tetrahidroisoquinolínicos, los alcaloides del ergot y los morfinanos, entre otros. El intermediario principal es el ácido shikímico, un compuesto originalmente aislado de plantas del género *Illicium*. Esta ruta es empleada por bacterias, algas, plantas y algunos hongos pero no por animales ni protozoarios. La L-fenilalanina y la L-tirosina son bloques de construcción para una amplia gama de metabolitos secundarios y en particular para los fenilpropanoides (Figura 12). En plantas, el primer paso es la eliminación del nitrógeno de la fenilalanina en forma de amoníaco para generar el ácido trans-cinámico (En el caso de la tirosina se forma ácido p-cumárico).

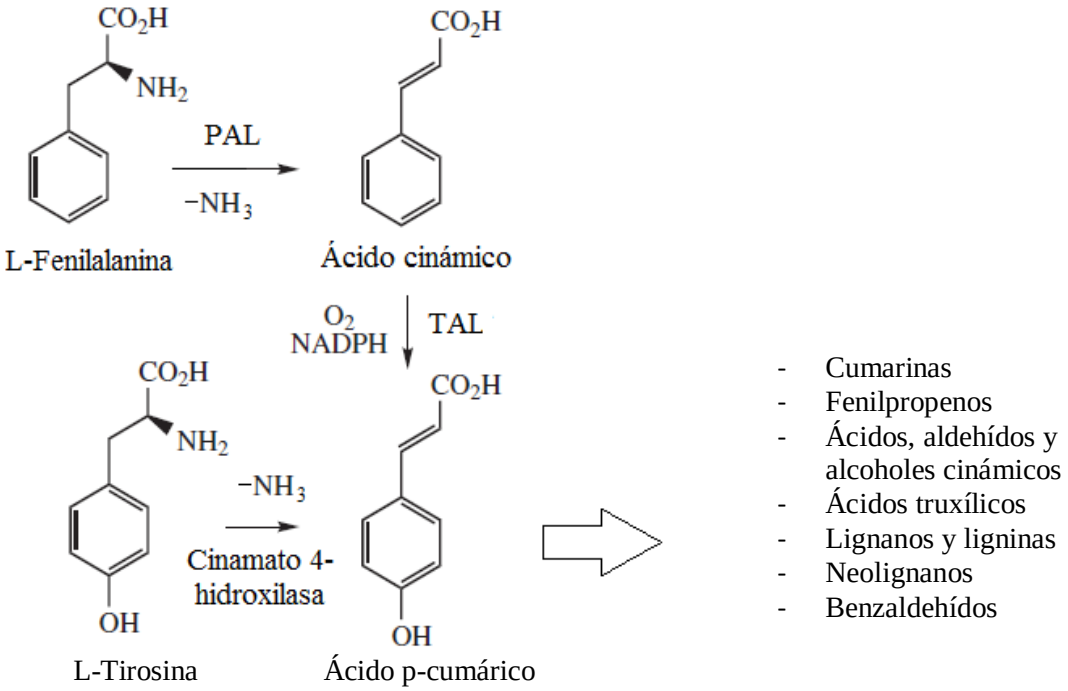


Figura 12. Ruta de los fenilpropanoides.

Todas las plantas pueden desaminar fenilalanina por medio de la fenilalanina amoniaco liasa (PAL), pero la desaminación de tirosina parece ser más restringida a miembros de la familia Poaceae. La tirosina amoniaco liasa (TAL) ha sido encontrada en

plantas y bacterias. Aquellos organismos que no pueden desaminar la tirosina obtienen el ácido p-cumárico por hidroxilación del ácido cinámico.

I.1.1.7.2 Factores que influyen en la composición química de los AEs.

El rendimiento del AE, el patrón de composición y la concentración de los componentes individuales dependen de factores genéticos, población y origen de la planta, tipo de parte de la planta, etapa de desarrollo o período de muestreo estacional, ruta fisiológica y bioquímica, y fisiología de todo el vegetal (Moghaddam et al., 2015, Moghaddam and Mehdizadeh, 2017). También influyen factores ambientales (clima y condiciones del hábitat, temperatura, humedad, radiación, viento, propiedades del suelo, ubicación geográfica), condiciones de cultivo (agrotécnicas, fecha de siembra y variaciones de fertilizantes, tiempo y métodos de cosecha) y técnicas poscosecha (métodos de secado y extracción, tiempo de destilación, métodos de cuantificación y condiciones de análisis) (Derwich et al., 2011; Djouahri et al., 2015; Formisano et al., 2015; Gazim et al., 2010; Gurusaravanan et al., 2010; Hassanpouraghdam et al., 2011; Rehman et al., 2016; Se fi dkon y Abdoli, 2005; Singh y Guleria, 2013; Sirousmehr et al., 2014; Verma et al., 2013, 2014; Vidic et al., 2010).

I.1.1.7.2.1 Factores Genéticos.

Los factores genéticos y ecológicos y sus interacciones pueden afectar algunas características de las hierbas (Pirbalouti et al., 2013a, b, 2014, 2015).

I.1.1.7.2.1.1 Quimiotipo.

Aunque la composición química está principalmente bajo control genético, el perfil químico permanece esencialmente constante después de varios años en diferentes ambientes. En este caso, se considera un "quimiotipo" (Sadeghi et al., 2015). Un quimiotipo es una entidad químicamente distinta en una planta con diferencias en la composición de los metabolitos secundarios. Los cambios genéticos y epigenéticos menores con poco o ningún efecto sobre la morfología o la anatomía pueden producir grandes cambios en el fenotipo químico. Los quimotipos a menudo se definen por el producto químico más abundante producido por ese individuo (Keefover-Ring et al.,

2009) y este concepto, aunque muy útil, puede tener poco significado práctico en un grupo de organismos que comparten el mismo rasgo pero presentan perfiles químicos muy diferentes al variar la abundancia del siguiente químico más abundante (Keefover-Ring et al., 2009).

La planta *T. vulgaris*, aunque su apariencia, en gran medida, es indistinguible, presenta siete quimiotipos diferentes dependiendo de si el componente dominante del AE es timol, carvacrol, linalol, geraniol, hidrato de sabineno (tuyanol), α-terpineol o eucaliptol. Tales quimiotipos pueden estar indicados como *T. vulgaris* qt. timol (tomillo rojo), *T. vulgaris* qt. geraniol (tomillo dulce), etc. (Keefover-Ring et al., 2009).

Bettaieb et al. (2011) encontraron para el comino de Túnez el quimiotipo γ - terpineno/1-fenil-1,2-etanodiol y para el de India cuminaldehído/γ-terpineno y atribuyeron estas diferencias a la procedencia gegráfica y a factores genéticos.

I.1.1.7.2.2 Condiciones ambientales.

Las variaciones en la composición de los AEs debidas a las condiciones ambientales se describen como "ecotipos" (Laribi et al., 2013; Nurzyn´ska-Wierdak et al., 2012). Además del ecotipo / quimotipo de la planta, el contenido de AE y la composición de las plantas medicinales y aromáticas se ven influenciadas por las condiciones ambientales y climáticas (temperatura, la duración del día, la luz y el estado del agua), las condiciones de cultivo (densidad de la planta, fecha de siembra, tipo y fertilidad del suelo), técnicas de cultivo y prácticas culturales (dosis de riego, fertilización y nutrición mineral, control de plagas) (Dudai, 2005; Özgüven et al., 2008; Pirbalouti et al., 2013b; Rioba et al., 2015). Por otro lado, las diferencias en los AEs de muestras de sitios experimentales confirman la influencia de las condiciones ambientales, como la altitud y la exposición solar, en la producción de metabolitos secundarios (Ćavar Zeljkovic´ et al., 2015; Melito et al., 2016).

I.1.1.7.2.3 Origen geográfico.

Se reportó variabilidad en la composición química de los AEs según el origen geográfico (Maxia et al., 2009). Las diferencias en la exposición a la radiación, así como

a las condiciones bioclimáticas y pedológicas, pueden inducir una variación cualitativa y cuantitativa del perfil de un AE (Rapposelli et al., 2015). Además, también se encontró una estrecha correlación entre los grupos químicos y el hábitat montaña / playa (Ćavar Zeljkovic´ et al., 2015; Melito et al., 2016).

I.1.1.7.2.4 Efectos estacionales.

Se encontraron variaciones en la composición química de AEs de diversas especies de plantas que se obtuvieron en diferentes estaciones del año (Demuner et al., 2011; Dhouioui et al., 2016; Gazim et al., 2010; Hussain et al., 2008). En los AEs de *Ocimun basilicum* se observó que los contenidos de mono y sequiterpenos oxigenados fueron más altos durante el invierno (80,9 %) que durante el verano (74,3 %) (Gazim et al., 2010; Hussain et al., 2008) y que a las temperaturas más bajas del invierno el rendimiento en AE fue mayor. Se especula que la temperatura elevada del verano favorece la evaporación parcial de algunos componentes del aceite (Hussain et al., 2008).

I.1.1.7.2.5 Etapas fenológicas.

Se determinaron diferencias y similitudes en el rendimiento y la composición química de varios AEs de plantas en diferentes etapas fenológicas, por ejemplo, en *Origanum ciliatum* (Moghaddam et al., 2015c), *Tagetes minuta* (Moghaddam et al., 2007a) y *C. cyminum* (Moghaddam et al., 2015b). Otras investigaciones revelaron que diferencias considerables en el contenido y la composición química de los AEs en diferentes etapas de crecimiento y desarrollo de la planta son concomitantes con las modificaciones en la actividad enzimática y en el metabolismo de producción de AEs (Ghani et al., 2009; Msaada et al., 2007; Sellami et al., 2009).

I.1.1.7.2.6 Prácticas agrícolas.

Se ha informado que la fertilización del suelo es una de las prácticas agrícolas que más puede influir en la biosíntesis de AEs, impactando en el rendimiento y en la composición química (Alizadeh et al., 2010; Karamanos y Sotiropoulou, 2013). El nitrógeno y el fósforo contenidos en los fertilizantes son factores clave que controlan la producción de metabolitos primarios y secundarios (Omer et al., 2014; Sharafzadeh et al.,

2011). Algunos estudios demostraron el efecto de la nutrición sobre el contenido de AE y la composición de algunas plantas aromáticas y medicinales (Hendawy y Khalid, 2011; NurzynskaWierdak, 2012; Sharma y Kumar, 2012; Zheljazkov et al., 2012), mientras que otros informaron falta de efectos significativos del cultivo en los perfiles químicos de *Ocimum gratissimum* (Biasi et al., 2009), *Thymus transcaspicus* (Tabrizi et al., 2011), *Thymus maroccanus* (El Bouzidi et al., 2013) y *Thymus leptobotrys* (Jamali et al., 2014). En algunos casos la fertilización con nitrógeno aumentó el rendimiento y el contenido de AE en especies de menta (Abbaszadeh et al., 2009; Castro et al., 2010) y en comino (Azizi y Kahrizi, 2008), mientras que en algunas variedades de *O. vulgare*, redujo la producción de AE (Azizi et al., 2009). También se han informado resultados contradictorios sobre el efecto de la nutrición con fósforo y potasio en el contenido de AEs (Davies et al., 2009; Emongor et al., 1990; Nell et al., 2009; Ramezani et al., 2009; Saharkhiz y Omidbaigi, 2008; Said-Al Ahl et al., 2009; Tuncturk y Tuncturk, 2006; Zaghloul et al., 2009). El tipo de fertilizante y el método de aplicación generan diferencias significativas en el rendimiento y en la composición del AE de *Rosmarinus officinalis*. Estudios recientes indican que la fertilización con algas causaron un aumento significativo en la cantidad de aceite en comparación con los tratamientos inorgánicos y los controles, independientemente del método de aplicación utilizado (Tawfeeq et al., 2016).

Los valores y frecuencia de irrigación y la densidad de plantas parecen ejercer distintos efectos en el contenido y la composición de AEs, según la especie vegetal. En anís (*Anethum graveolens* L.), la baja densidad de plantas promueve un aceite con mayor contenido de carvona, mientras que la alta densidad produce un aceite con mayor contenido de felandreno y con características más herbáceas, típico de plantas menos maduras (Callan et al., 2007). El-Zaeddi et al. (2016) encontraron que la mayor cantidad y calidad sensorial del aceite volátil de perejil (*Petroselinum sativum*) se consigue a una densidad normal o intermedia de plantas, (5,56 plantas.m^{-2}). Estos autores también reportaron que valores bajos e intermedios de irrigación (861 $m^3.ha^{-1}$; 1290 $m^3.ha^{-1}$) favorecen la producción de perejil con mejor calidad aromática y sensorial que a irrigaciones altas (1788 $m^3.ha^{-1}$). Bettaieb et al. (2009) demostraron que un déficit moderado de agua aumenta el rendimiento de AE de *Salvia officinalis* y la abundancia relativa de sus principales constituyentes tales como alcanfor, α-tuyona y 1,8-cineol.

Según experimentos realizados por Khazaie et al. (2008), con tomillo (*Thymus vulgaris*) e hisopo (*Hyssopus officinalis*), sólo en el primer año de cultivo, los diferentes intervalos de irrigación modifican significativamente la producción de AE de tomillo, luego, la planta parece adaptarse a los diferentes intervalos de riego generando la misma cantidad de AE por m^2 y el mismo porcentaje de aceite. Por otro lado, la producción de aceite más alta se obtiene con la densidad de plantación más baja. En cambio, la frecuencia de riego y la densidad de siembra no afectan la producción de aceite de hisopo. La cantidad de AE ($L.m^{-2}$) de Ajowan (*Carum copticum*) es menor y el rendimiento en base seca (bs) de AE es mayor cuando la frecuencia de riego es media-baja (cada 14 días). A mayor frecuencia de riego (cada 7 días), la cantidad de AE es mayor y el rendimiento en bs es menor (Vahidipour et al., 2013). El déficit moderado de agua en el crecimiento del *C. cyminum* promueve un mayor rendimiento de AE, mientras que el déficit severo lo disminuye considerablemente. En todos los casos, el estrés hídrico genera cambios en la composición química del AE (Bettaieb et al., 2011a).

I.1.1.7.2.7 Técnicas postcosecha.

Se han realizado muchos estudios sobre los efectos de diferentes métodos de secado sobre el contenido y la composición química de los AEs (Antal et al., 2011; Argyropoulos y Müller, 2014; Buchaillot et al., 2009; Huang et al., 2012; Sellami et al., 2011; Shahhoseini et al., 2013).

La composición de los AEs puede variar de acuerdo a las condiciones y al método de extracción utilizado. Las diferencias pueden darse tanto en la proporción de los compuestos, como en el número y tipo de compuestos que constituyen el AE (Da Porto et al., 2009; Guan et al., 2007; Romero et al., 2007; Romero et al., 2012; Sefidkon et al., 2006). Entre los factores reconocidos que producen estos cambios son: la falta de homogeneidad en el calentamiento, la velocidad de agitación, el pH y la salinidad del agua, el material de los reservorios (vidrio o metal), la arquitectura de las trampas, el diseño completo del equipo extractor, la forma de carga y descarga del material, la densidad de carga (vegetal/agua), la relación de carga (volumen cargado/capacidad del recinto), el tiempo de humectación del vegetal previa a la destilación, la dureza y el grado de compactación del material vegetal, la granulometría, la humedad residual del material

vegetal que se carga, el tiempo de destilación (Ajayi et al., 2016; Cannon et al., 2013; Kumar et al., 2016; Zheljazkov et al., 2013a, b, 2014), el régimen de destilación (volumen condensado/tiempo), la eficiencia de la refrigeración para una adecuada condensación, etc. Estudios sobre el comino (Romero et al. 2012, Quiroga et al., 2016) y coriandro (Perineau y col., 1991; Smallfield y col., 2001) muestran algunas de estas influencias. En el caso de la alcaravea y el comino se extraen primero la carvona y el cuminaldehído antes que los terpenos, porque algunos de éstos están presentes como glicósidos que tienen puntos de ebullición más altos. Si bien estos terpenos aumentan el rendimiento, disminuyen la calidad porque pueden producir ácidos libres que bajarían el pH del medio y favorecerían la hidrólisis de otros compuestos.

I.1.1.7.2.8 Condiciones de estrés ambiental.

El contenido de AE a menudo se mejora como una respuesta de defensa debido a varias tensiones ambientales, así como el resultado de cambios en el equilibrio entre el uso de carbono en el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios (Blanch et al., 2007). Sin embargo, las tensiones ambientales severas, como las temperaturas extremas (Copolovici et al., 2012), la sequía (Copolovici et al., 2014; Timmusk et al., 2014), la alcalinidad, la salinidad, el estrés UV y la infección por patógenos pueden ser excesivas y reducir la tasa de producción de metabolitos secundarios (Blanch et al., 2007). Las variaciones en la sodicidad, salinidad y textura del suelo también afectan la composición del aceite (Amzallag et al., 2005; Bernstein et al., 2009).

La respuesta del rendimiento y la composición de AE al estrés hídrico varían con la severidad y la duración del estrés. Se observó que la producción total de AEs de *S. officinalis* (Corell et al., 2007), perejil (Petropoulos et al., 2008) y orégano mexicano (Dunford y Vazquez, 2005) disminuyó en condiciones de estrés hídrico. Sin embargo, el estrés por sequía no tuvo un efecto significativo en el contenido de AE de la manzanilla alemana (Baghalian et al., 2011), mientras que los déficits de agua moderados y severos mejoraron el rendimiento de AE en la salvia (Baghalian et al., 2011), en el perejil de hoja lisa y de hoja rizada (El-Zaeddi et al., 2016; Petropoulos et al., 2004), en la lavanda y absintio (Baher et al., 2002; Karamzadeh, 2003; Khazaie et al., 2008). Por otro lado, también se ha informado un aumento en los niveles de α y β-tuyona con un aumento de

los niveles de estrés por sequía, (Manukyan, 2011). Además, el estrés hídrico disminuye el contenido de p-cimeno en *T. vulgaris* (Azizi y Kahrizi, 2008). Sin embargo, en la manzanilla, el estrés por sequía disminuye el contenido de epigenina, pero no afecta la composición del AE (Baghalian et al., 2011). También se ha informado un aumento en la concentración de monoterpenos en condiciones de sequía (Nowak et al., 2012). En el *C. cyminum*, la sequía da como resultado la modificación del quimotipo de AE de 1-fenil-1-butanol a 1-fenil-1,2-etanodiol (Bettaieb et al., 2011a).

I.1.1.7.3 Técnicas de estudio de la composición química.

La cromatografía de gases (CG), la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), la espectrometría de masas (EM) y la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) son los diferentes métodos que se utilizan habitualmente para determinar la composición de los AEs (Tisserand y Young, 2013).

I.1.1.7.3.1 Cromatografía de gases (CG).

La CG se reconoce como la técnica más adecuada para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos volátiles presentes en una mezcla compleja. Es un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una estacionaria y la otra móvil. La fase estacionaria, de gran área superficial, puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como soporte. La fase móvil es un gas que puede ser nitrógeno, helio o hidrógeno que cruza o atraviesa a la fase estacionaria y se usa como portador de la mezcla (ReLaQ, 2019). El equipo posee un sistema de inyección que vaporiza la muestra, la cual luego es transportada por la fase móvil a través de la columna (Figura 13). El reparto de los compuestos se basa en la afinidad que tiene cada uno con la fase estacionaria a una determinada temperatura. Los compuestos, una vez separados, llegan a un detector el cual genera una señal que tiene como característica la posición y la intensidad correspondiente al orden de elución y la proporción en la que se encuentra cada componente en el AE.

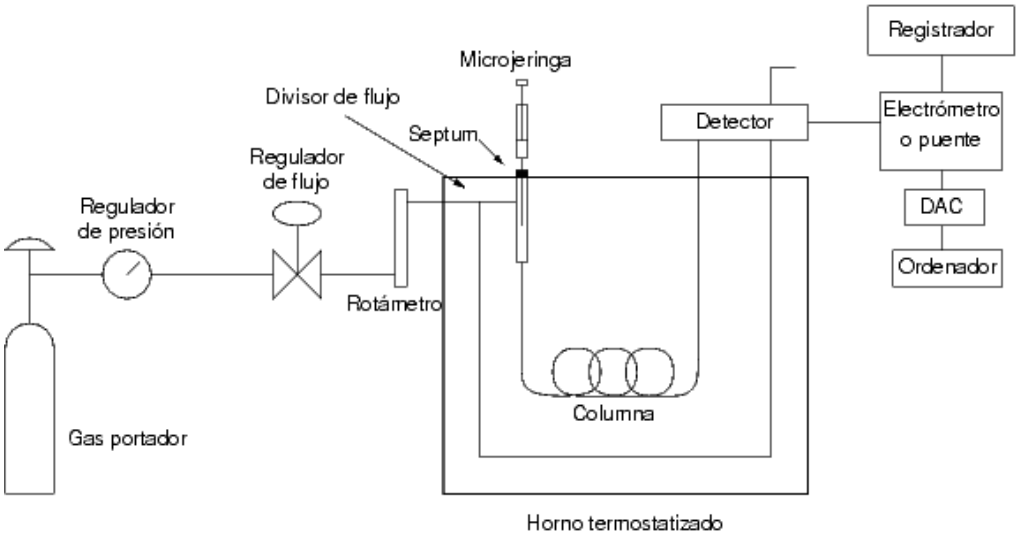


Figura 13. Esquema de las partes básicas de un cromatógrafo de gases.

Nomenclatura de cromatografía de gases: La CG se puede clasificar primero por el tipo de columna utilizada, y después por la fase estacionaria.

En una columna empaquetada de CG, la fase estacionaria está constituida por partículas empaquetadas dentro de una columna de vidrio o de acero inoxidable con un diámetro interno (d.i.) normalmente entre 2 y 4 mm. La fase estacionaria puede consistir en varios sólidos porosos por sí solos (cromatografía de gas-sólido, CGS), donde la retención de los analitos se debe al equilibrio propiciado por la adsorción y desorción sobre la superficie del sólido. Otra opción es recubrir las partículas de la fase estacionaria con cierto número de líquidos con un alto punto de ebullición (cromatografía de gas-líquido, CGL). La separación de los analitos depende de las diferentes fracciones de tiempo en las que se mantienen disueltos en la fase estacionaria líquida. Los componentes más solubles se retienen durante más tiempo (Rubinson y Rubinson, 2001).

Actualmente está más extendido el uso de columnas capilares. Las columnas capilares poseen diámetros internos menores de 1 mm, y sus paredes interiores suelen estar recubiertas de una película de fase estacionaria. Las columnas con d.i. de 530 μm se denominan normalmente megabore y con d.i. de 100 μm, microbore. La cromatografía capilar fue sustituyendo a la cromatografía empaquetada porque la primera ofrece mayor eficiencia cromatográfica típica, lo que aumenta el rendimiento en el análisis de muestras (Rubinson y Rubinson, 2001).

En una columna capilar WCOT (columna abierta de pared recubierta), la fase estacionaria consiste en una película de material recubriendo la superficie interior de la columna. Para aumentar la capacidad de la columna puede incrementarse la superficie situando material de empaquetamiento en la pared. Una columna SCOT (columna abierta de soporte recubierto) posee partículas de soporte en su pared; éstas son las que realmente se recubren con la fase líquida. Una columna PLOT (columna abierta de capa porosa) tiene una fina capa de un polímero poroso depositado en su superficie interna. Tanto las columnas WCOT como las SCOT son para la CGL, aunque las SCOT se emplean más extensamente por su mayor capacidad. Las columnas PLOT se utilizan en CGS.

Inyección de muestras: Las muestras para CG pueden ser gases, líquidos o sólidos. Las muestras sólidas y líquidas deben ser vaporizadas. Para mejores separaciones las muestras deberían ser inyectadas en el menor tiempo posible. Con muestras líquidas, el tiempo de inyección incluye también todo el tiempo utilizado en la vaporización. El tiempo de vaporización se minimiza inyectando las muestras en una zona más caliente que la columna, pero sin llegar a su pirólisis. Esta región más caliente y sus piezas en la cabeza de la columna se conocen como inyector, y la evaporación rápida de la muestra se denomina evaporación flash. La temperatura óptima del inyector se determina experimentalmente y en general es igual o superior a la temperatura máxima alcanzada por la columna durante la separación. La inyección de la muestra se hace con una jeringa y puede ser manual o automática. Existen tres técnicas básicas de inyección de muestras (líquidas o gaseosas) en columnas capilares: split, split-less y on column. Las dos primeras consisten en inyectar y vaporizar la muestra en una cámara de vaporización. El sistema split desvía la mayor parte de la muestra fuera del sistema cromatográfico y envía sólo una pequeña fracción a la columna. El método split-less dirige toda la muestra a la columna, por lo que resulta más adecuado para el análisis de trazas o de componentes muy volátiles. La inyección on column se lleva a cabo en frío, eliminando la etapa de vaporización que podría producir la descomposición de los compuestos termolábiles (Grant, 1996; Grob, 1995; Gutierrez y Droguet, 2002).

Columnas y fases estacionarias: Para columnas empaquetadas, los diámetros de partícula se expresan en función del tamaño de malla del empaquetado. Estos números definen el tamaño de poro en un tamiz convencional para sólidos pulverizados. Cuanto

más alto es el número, más densa la malla y menor el diámetro de la partícula del empaquetamiento. Tanto para CGS como para CGL en columnas empaquetadas, la capacidad de la columna y los tiempos de retención del analito, aumentan a medida que disminuye el tamaño de partícula. En CGL, las fases de alta polaridad tienden a retener más los compuestos, y el tiempo de separación aumenta. Se puede contrarrestar el aumento de este tiempo incrementando la temperatura de la columna, pero una temperatura más alta disminuye las retenciones y tiende a reducir la selectividad de la fase estacionaria.

Temperatura en CG: La temperatura es crucial en separaciones por CG y el control de esta temperatura a ±0,5 °C es muy recomendable (Rubinson y Rubinson, 2001). El aumento de la temperatura de la columna acelera tanto la elución como el ritmo de aproximación al equilibrio entre la fase móvil y la estacionaria. La separación puede llevarse a cabo a una temperatura constante (separación isotérmica) o con un aumento programado. El cambio de temperatura mientras se realiza la separación se denomina gradiente de temperatura, *dT/dt*. El gradiente de temperatura puede ser lineal o seguir cierto número de pendientes y mesetas. La programación del gradiente permite el análisis de compuestos con una gran diferencia de puntos de ebullición y de retención y conseguir tiempos de separación más cortos.

Detectores para CG: Una señal cuantitativa y reproducible es la principal característica esperada de un sistema de detección.

El cromatograma es un gráfico de la señal del detector en función del tiempo. Las alturas o áreas cromatográficas de pico (utilizadas preferiblemente) son la base para la cuantificación del analito luego de corregir la respuesta diferente que el detector puede proporcionar después de su interacción con cada componente de muestra individual, de acuerdo con su naturaleza química (Novák, 1988).

Existe una gran variedad de detectores que indican los cambios de la composición del eluido de una CG. El límite de detección se expresa en masa / tiempo (g/s).

Los detectores que generan una señal para cada una de las sustancias eluyentes (excepto el gas portador) se clasifican como universales. El detector de conductividad

térmica (TCD) (Kaanta et al., 2010), el detector de infrarrojos (IRD) (Wang y Edwards, 2007), el detector selectivo de masa (MSD) que funciona en modo de escaneo completo (Hayward y Wong, 2009) y el detector de ionización de llama (FID) (Souza y Andrade, 2009) pertenecen a este grupo, aunque el FID es casi universal por no responder a gases permanentes, agua o compuestos sin grupos que contienen carbono.

Los detectores olfatométricos son de gran interés en el análisis de plantas volátiles. En combinación con detectores convencionales (TCD, FID, MSD), permiten ir más allá de la cuantificación e identificación de una mezcla aromática para realizar la evaluación organoléptica de todas las sustancias que emergen de la columna cromatográfica (Sasamoto y Ochiai, 2010). Las moléculas insaturadas y aromáticas pueden diferenciarse de otros componentes de la mezcla cuando se utiliza el detector de fotoionización (PI) (Lewis et al., 2010).

Índice de retención: A mediados del siglo anterior, con el objetivo de aumentar el nivel de confianza de la comparación de los datos de retención cromatográfica, el científico húngaro E. Kovàts introdujo un sistema de índice de retención que se conoce como índices de Kovàts. Se basan en la medición de los tiempos de retención relativos a los de una serie homóloga de n-parafina que se ejecutan en las mismas condiciones experimentales que la muestra (Kovàts, 1958, 1965). Debido al estado de desarrollo técnico en el momento, las separaciones cromatográficas se realizaron a temperatura constante (régimen isotérmico). La posibilidad de programar de manera confiable la temperatura del horno cromatográfico se implementó en equipos comerciales varios años después (Stashenko y René Martínez, 2012).

El índice de retención se utiliza para cuantificar la retención de un compuesto comparándolo con una pareja de n-alcanos consecutivos homólogos. La pareja de alcanos como n-butano/n-pentano, se elige para que bajo ciertas condiciones específicas de la cromatografía, un homólogo eluya antes que el compuesto y el otro después. En condiciones isotérmicas, el logaritmo del tiempo de retención aumenta con el número de átomos de carbono de la parafina. E. Kovàts asignó valores de índice de retención de n-parafina (KI) igual a 100n, por lo que 500 corresponde a pentano, 600 a hexano, 700 a heptanos, etc. Los índices de retención isotérmica (KI) se calculan de acuerdo con la

ecuación (1), donde n es el número de átomos de carbono en la n-parafina que eluye (con el tiempo de retención tRn) antes del compuesto de interés (con el tiempo de retención tRx). N es el número de átomos de carbono de la n-parafina que eluye (con tiempo de retención tRN) después del compuesto de interés.

$$KI = 100n + 100\frac{logt_{Rx} - logt_{Rn}}{logt_{RN} - logt_{Rn}} \quad (1)$$

Se espera que los índices de retención sean independientes de la mayoría de las condiciones experimentales (temperatura, flujo de gas portador y, lo que es más importante, dimensiones de la columna). Sin embargo, se observa dependencia de la temperatura y una clara dependencia de la polaridad de la fase estacionaria. La mayoría de las muestras son mezclas de muchos componentes, con grandes diferencias en la presión de vapor y el peso molecular, que no pueden analizarse en un tiempo razonable con una resolución suficiente utilizando condiciones isotérmicas. El análisis cromatográfico de mezclas complejas requiere programar la temperatura del horno para mezclar periodos isotérmicos con periodos de calentamiento a una velocidad constante. Esto hace que la elución de n-parafina sea lineal, no logarítmica. Van den Dool y Kratz (1963) modificaron la ecuación 1 para calcular los índices de retención lineal (LRI), que se emplean masivamente hoy en día según la ecuación 2 (pp 463-471).

$$LRI = 100n + 100\frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \quad (2)$$

Aunque los índices de retención isotérmica (KI) y lineal (LRI) tienen valores cercanos, no son idénticos. Por lo tanto, cuando se informan índices de retención, es importante indicar qué tipo de índice se calculó. El LRI realmente depende de la temperatura inicial de la columna, la velocidad de calentamiento, la polaridad de la fase estacionaria y su estado (contaminación, actividad y fabricante). De hecho, los datos de retención publicados tienen una dispersión apreciable, incluso para la misma fase estacionaria (Babushok y Zenkevich, 2009). Esto reduce la confiabilidad de la identificación de sustancias basándose únicamente en la coincidencia del índice de retención. La estandarización de las condiciones cromatográficas para la determinación

del índice de retención indudablemente conduciría a una mayor reproducibilidad y confianza en su uso en la identificación de compuestos. Para reducir la posibilidad de coincidencias accidentales, se recomienda determinar los índices de retención en fases estacionarias ortogonales (polares y no polares). De esta manera, la identificación presunta se obtiene sólo cuando la sustancia desconocida y un estándar tienen índices de retención muy similares en ambos tipos de fase estacionaria. La identificación confirmatoria requiere la coincidencia de un tercer parámetro, sus espectros de masas (Stashenko y René Martínez, 2012).

I.1.1.7.3.2 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).

La CG/EM es una herramienta que une dos poderosas técnicas, la de separación (CG) y la espectrométrica (EM), las cuales se usan para detectar, cuantificar e identificar los analitos volátiles presentes en sistemas complejos, tales como los AEs (Barcelo, 1993; Stashenko y René Martínez, 2012). En la Figura 14 se muestra un esquema del sistema.

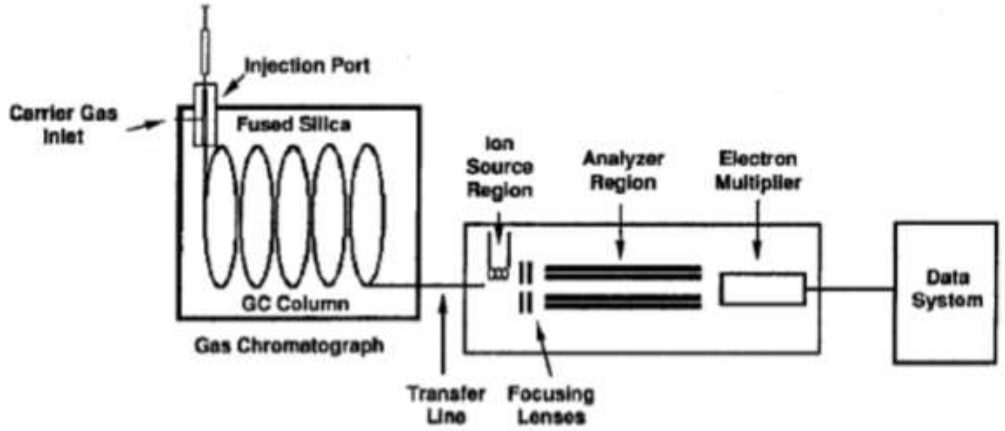


Figura 14. Esquema de un sistema convencional de cromatografía de gases-masa

Fuente: Grob Robert L. Modem practice of gas chromatography. New Jersey 2004. p. 342.

Los datos resultantes de la CG/EM tienen una naturaleza tridimensional, a partir de la cual se pueden obtener tiempos de retención, áreas cromatográficas y espectros de masas para cada componente individual de una mezcla compleja.

El detector selectivo de masa puede operar en 3 modos de adquisición (universal, selectivo o específico) que facilitan la caracterización detallada de mezclas complejas como las que normalmente se encuentran aisladas.

I.1.1.8 Actividad biológica.

Desde la Edad Media (Essential Oils Academy, 2010; Mitch Medical Healthcare. Essential Oils, 2016), los AEs han sido ampliamente utilizados para aplicaciones bactericidas, antivirales, fungicidas, antiparasitarias, insecticidas, medicinales y cosméticas. Debido al modo de extracción, principalmente por destilación de plantas aromáticas, contienen una variedad de moléculas volátiles tales como terpenos y terpenoides, componentes aromáticos derivados de fenol y componentes alifáticos. Los ensayos fisicoquímicos in vitro caracterizan a la mayoría de ellos como antioxidantes (Bakkali et al., 2008).

Sin embargo, hay trabajos (Barbehenn et al., 2005; Burt, 2004) que muestran que en las células eucariotas, los AEs pueden actuar como prooxidantes que afectan las membranas celulares internas y orgánulos como las mitocondrias. Dependiendo del tipo y la concentración, muestran efectos citotóxicos en las células vivas.

En algunos casos, los cambios en el potencial redox intracelular y la disfunción mitocondrial inducida por los AEs pueden estar asociados con su capacidad de ejercer efectos antigenotóxicos. El efecto prooxidante que muestran los AEs en el nivel celular podría ser, en parte, el responsable de la actividad antimicrobiana observada (Bakkali et al., 2008).

Las actividades biológicas encontradas en los AEs son aprovechadas hoy en día por las distintas industrias como la farmacéutica, sanitaria, cosmética y la agroalimentaria.

I.1.1.8.1 Citotoxicidad y actividad antimicrobiana.

Debido a la gran diversidad de constituyentes presentes en un mismo AE, éstos no parecen tener objetivos celulares específicos (Carson et al., 2002). Las características lipofílicas de estas sustancias alteran la estructura de las diferentes capas de polisacáridos,

ácidos grasos y fosfolípidos de la pared celular y membrana citoplasmática, volviéndolas permeables y conduciendo a la fuga del contenido celular. La citotoxicidad parece incluir daño a la membrana (Bakkali et al., 2008).

En bacterias, la permeabilización de las membranas se asocia con pérdida de iones y reducción del potencial de membrana, colapso de la bomba de protones y el agotamiento del ATP (Di Pasqua et al., 2006; Helander et al., 1998; Knobloch et al., 1989; Turina et al., 2006; Ultee et al., 2000, 2002). Los AEs pueden coagular el citoplasma (Gustafson et al., 1998) y dañar los lípidos y las proteínas (Burt, 2004; Ultee et al., 2002). El daño a la pared celular y la membrana puede conducir a la ruptura y fuga de macromoléculas (Cox et al., 2000; Gustafson et al., 1998; Juven et al., 1994, Lambert et al., 2001; Oussalah et al., 2006).

En las células eucariotas, los AEs pueden provocar despolarización de las membranas mitocondriales al disminuir el potencial de la membrana, afectan al ciclo iónico Ca^{2+} (Novgorodov y Gudz, 1996; Richter y Schlegel, 1993; Vercesi et al., 1997) y otros canales iónicos y reducen el gradiente de pH, afectando (como en las bacterias) la bomba de protones y el ATP. Cambian la fluidez de las membranas, que se vuelven anormalmente permeables, dando lugar a la fuga de radicales, citocromo C, iones de calcio y proteínas, como en el caso de estrés oxidativo y fracaso bioenergético. La permeabilización de las membranas mitocondriales externas e internas conduce a la muerte celular por apoptosis y necrosis (Armstrong, 2006). Parece que las reacciones en cadena de la pared celular o la membrana celular externa invaden la célula entera a través de las membranas de diferentes organelos como las mitocondrias y los peroxisomas. Estos efectos sugieren una actividad prooxidante de tipo fenólico (Barbehenn et al., 2005; Burt, 2004; Cowan, 1999; Fukumoto y Mazza, 2000; Sakagami et al., 1997; Sakihama et al., 2002).

Observaciones realizadas con microscopía electrónica de barrido revelan alteraciones celulares ultraestructurales en varios compartimentos como la membrana plasmática, el citoplasma (hinchazón, encogimiento, vacuolaciones, fugas) y el núcleo (Santoro et al., 2007a, b; Soylu et al., 2006). Los análisis de los perfiles lipídicos mediante CG y de la estructura de la envoltura celular mediante microscopía electrónica de barrido

de varias bacterias tratadas con algunos constituyentes de AEs mostraron una fuerte disminución de ácidos grasos insaturados y un aumento de ácidos grasos saturados, así como alteraciones de las envolturas celulares (Di Pasqua et al., 2007). También se pudo observar mediante microscopía electrónica, la interrupción de la envoltura viral causada por AEs (Schnitzler et al., 2007). Por otro lado, se mostró que los genes de *Saccharomyces cerevisiae* implicados en la biosíntesis de ergosterol y absorción de esterol, metabolismo lipídico, estructura y función de la pared celular, desintoxicación y transporte celular se ven afectados por un tratamiento con α-terpineno (Parveen et al., 2004). En *S. cerevisiae*, se ha demostrado que la citotoxicidad de algunos AEs difiere considerablemente dependiendo de su composición química. Las células de esta levadura, en fase estacionaria de crecimiento, tratadas con distintos AEs, mostraron letalidad del 50% a 0,45 µL/mL de AE de *Origanum compacta*, 1,6 µL/mL de AE de *Coriandrum sativum*, > de 8 µL/mL de *Cinnamomum camphora*, *Artemisia Herba-alba* y *Helichrysum italicum* (Bakkali et al., 2005).

Se sabe de la actividad antimicrobiana de AEs obtenidos de los frutos de pimienta negra, comino, cilantro y cardamomo encontrándose inhibición en el crecimiento de microorganismos patógenos y saprófitos causantes de enfermedades gastrointestinales, por lo que son adecuados para su uso como agentes biopreservadores (Teneva et al., 2015; Hajlaoui et al., 2010). Otros estudios in vitro han demostrado actividad antibacteriana de los AEs contra, *Escherichia coli* O157: H7, *Shigella dysenteriae* y *Bacillus cereus*.

En la mayoría de los informes de la literatura, los microorganismos G (+) parecen ser más sensibles a los AEs que los G (-). Los dos grupos de bacterias tienen diferente estructura y composición de las membranas celulares por lo que presentan diferente permeabilidad. La presencia de una membrana externa en bacterias G (-) con proteínas de porina dificulta la difusión de los extractos a través de la membrana al protoplasma de la célula, haciéndolos más estables (Burt, 2004). Sin embargo, otros estudios no confirman esta observación, ya que se ha encontrado que las bacterias G (+) son menos o igualmente sensibles que las bacterias G (-). Se observaron efectos citotóxicos in vitro en la mayoría de los microorganismos G (+) y G (-) cultivados mediante el método de difusión de agar, utilizando un disco de papel de filtro o por el método de dilución

utilizando agar o cultivos de caldo líquido (Arnal-Schnebelen et al., 2004, Burt, 2004, Hong et al., 2004, Rota et al., 2004, Si et al., 2006), en ADN o ARN de virus (De Logu et al., 2000, Jassim y Naji, 2003, Reichling et al., 2005) y en hongos (Manohar et al., 2001, Pitarokili y otros, 2002, Hammer et al., 2002, Kosalec et al. 2005), incluyendo levaduras (Carson et al., 2006; Duarte et al., 2005; Hammer et al., 2004; Harris, 2002; Pauli, 2006). También se puede citar el caso de AEs de *Cinnamosma fragrans* de dos procedencias, ricos en linalool y 1,8-cineol, que mostraron actividad frente *Bacillus subtilis y Staphylococcus aureus*. El AE más rico en 1,8-cineol presentó importante actividad antimicrobiana frente a todas las cepas G (-) ensayadas, incluso mayor que la actividad observada con el 1,8-cineol puro. Mientras que el linalol puro, contra *Salmonella typhimurium* y *Vibrio alginolyticus,* mostró ser más activo que el AE rico en linalol. Se observó un comportamiento similar del linalol para las otras cepas G (-). Para el caso de *Fusarium oxysporum* los componentes principales puros fueron más activos que sus AEs. Estos resultados sugirieren efectos de sinergismo o antagonismo entre los diferentes constituyentes del aceite (Randrianarivelo et al., 2009).

En síntesis, se puede decir que se han identificado una gran cantidad de componentes de AEs como antimicrobianos eficaces, por ejemplo: carvacrol, linalool, 1,8 cineol, sabineno, nerolidol, cuminaldehído; alcanfor, α-terpineol, limoneno, pulegona, timol, eugenol, perilaldehído, cinamaldehído, ácido cinámico, α-pineno, borneol, timol, p-cimeno, mentona, citronelol, eucaliptol, geraniol, triacetin anetol, isotiocianato de alilo, trans-anetol, disulfuro de dialilo, p-anisaldehído, etc. (Basile et al., 2006; Gopanraj et al., 2005; Hierro et al., 2004; Hüsnü Can Baser et al., 2006; Knio et al., 2007; Lee et al., 2007b; Park et al., 2006; Rafii and Shahverdi 2007; Rosato et al., 2007; Santoro et al., 2007a; Santoro et al., 2007b; Segvic-Klaric et al., 2007) y otros con actividad antiviral sobre influenza, HIV-1, como metil n-nonil cetona, lauril aldehído, capril aldehído (Hayashi et al.,1995), b-tricetona sobre HSV-1, HSV-2 (Reichling et al., 2005), por citar sólo algunos antecedentes. En general, la actividad citotóxica de los AEs es atribuida principalmente a la presencia de fenoles, aldehídos y alcoholes (Bruni et al., 2003, Sacchetti et al., 2005).

Las concentraciones de los constituyentes de AEs ensayadas in vitro con cierta eficacia antimicrobiana son relativamente bajas, entre 100 y 1000 ppm. Sin embargo, para lograr el mismo efecto en los alimentos es necesaria una concentración más alta. Los estudios con carne fresca, productos cárnicos, pescado, leche, productos lácteos, verduras, frutas y arroz cocido han demostrado que la concentración necesaria para lograr un efecto antibacteriano significativo es de alrededor de 0,5 a 20 µL/g en los alimentos y de aproximadamente 0,1- 10 µL/mL en soluciones para el lavado de frutas y hortalizas. Las condiciones físicas que mejoran la acción de los AEs son pH bajo, baja temperatura y bajos niveles de oxígeno. Se ha observado sinergismo entre el carvacrol y su precursor p-cimeno y entre el cinamaldehído y el eugenol. Algunos componentes de AEs son aromatizantes registrados legalmente en la UE y los EE.UU. Los efectos organolépticos indeseables pueden limitarse mediante una cuidadosa selección de los AEs según el tipo de alimento al que se vaya a aplicar (Burt, 2004).

Se ha reportado una significativa actividad antifúngica fumigante del AE de *Chenopodium ambrosioides* frente a *F. oxysporum* f. sp. en dosis de 117,7 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ (Jaramillo et al., 2012), al igual que del AE de comino frente a las distintas cepas patógenas de Cándida (Naeini, et al., 2014). Esta actividad por acción fumigante ha conducido a ensayos con películas impregnadas con agentes antifúngicos. Se ha probado el potencial de los AEs añadidos a las películas comestibles como agentes antifúngicos por contacto de vapor. Las actividades antimicrobianas de los diferentes vapores de AEs se pueden lograr en cantidades menores que cuando se aplican los AEs en contacto directo con una superficie de alimento. Se ha probado la actividad de los AEs de orégano mexicano y canela, ricos en timol y cinnamaldehído respectivamente (Avila-Sosa et al., 2010b, Dunford y Silva-Vázquez, 2005; Silva-Vázquez y Dunford, 2005). La actividad antimicrobiana del AE de orégano se debe a la presencia de timol y carvacrol junto con otros componentes menores (Lambert et al., 2001; Sivropoulou et al., 1996). Inouye et al. (2001), reportaron concentraciones de cinnamaldehído (63 %) en aceite de corteza de canela como componente principal, sin embargo el aceite de las hojas y la corteza de algunos arbustos de canela tiene eugenol como componente principal (Ayala-Zavala et al., 2009). Hay muchos estudios que demostraron que los AEs tienen actividad antifúngica en concentraciones más altas que las determinadas por contacto de vapor. Se puede decir que hay evidencia suficiente de que los AEs de canela, orégano y lemongrass

inhiben el crecimiento de mohos incluyendo *Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger*, *Penicillium islandicum* y *Aspergillus flavus* (Inouye et al., 2001, 2003, 2006; López et al., 2005, 2007). La actividad antimicrobiana mostrada por los AEs, por lo general, es atribuida a ciertos compuestos mayoritarios, aunque algunos estudios informan que los compuestos menores también podrían tener efectos sinérgicos o aditivos (Tyagi y Malik, 2011).

El aceite de clavos (*Syzygium aromaticum*) tiene diversas actividades biológicas que incluyen propiedades antibacteriana, antifúngica, antioxidante e insecticida. El alto nivel de eugenol presente en el AE imparte una fuerte actividad biológica y antimicrobiana (Raghavenra et al., 2006). Por su parte, las hojas de curry (*Murraya koenigii*) también fueron estudiadas por su actividad antifúngica (Saini y Tyagi, 2015; Ray y Strivastava, 2006).

Se ha sugerido que la canela (*Cinnamomum verum*) tiene muchas propiedades farmacológicas que incluyen actividad antioxidante y efectos antimicrobianos (López et al., 2005), encontrando entre sus componentes mayoritarios al polifenol polimérico de procianidina (Anderson et al., 2004), cinamaldehído y ésteres como el cinamato de etilo (Iyer et al., 2009).

I.1.1.8.2 Actividad antimicotoxicogénica.

Las especies de *Fusarium* y sus metabolitos secundarios tóxicos (micotoxinas), son responsables de ciertas patologías vegetales y colonizan los granos de cereal, particularmente, trigo, cebada, arroz y maíz. Por esta razón, muchos ensayos que se realizaron para evaluar la actividad antifúngica de los AEs incluyeron también el estudio de la inhibición de la producción de micotoxinas.

AEs de *Zataria multiflora*, *C. cyminum*, *Foeniculum vulgare*, *Pinaceae* y *Heracleum persicum*, han mostrado efecto inhibitorio en 10 especies de *Fusarium* toxicogénicos aislados (Naeini et al., 2010). Por otro lado se encontró que AEs de canela, clavo, orégano, lemongrass y palmarosa ejercen efecto inhibitorio en la biosíntesis de Fumonisina B_1 y depende de las condiciones ambientales (Velluti et al., 2003, 2004).

Estudios *in vitro* mostraron que los AEs de canela, eucaliptus, limón y palmarosa son buenos reductores del contenido de la toxina Zearalenona (ZEA) en un amplio espectro de condiciones de proceso, aunque los mejores resultados se obtuvieron en condiciones de pH 6. Es difícil indicar qué AE tiene las propiedades de degradación más altas debido a la variedad de factores que influyen en la efectividad del proceso. También se ensayó con AE de pomelo rosado, aunque los resultados no fueron prometedores (Perczak, et al., 2016).

Los AEs parecen ser una buena alternativa a otros métodos de desintoxicación, ya que la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, 2015) los recomienda como sustancias seguras. Además, estos compuestos volátiles se reconocen como parte del concepto de "pesticidas verdes", que favorece el uso de sustancias naturales respetuosas con el medio ambiente en lugar de compuestos químicos sintéticos.

I.1.1.8.3 Actividad insecticida.

Desde épocas inmemoriables se han usado los principios activos o extractos de plantas como insecticidas, aun sin conocer cuales eran los compuestos responsables de estas propiedades.

Las plantas producen una amplia diversidad de compuestos involucrados en su defensa química. Entre estos productos naturales, se ha demostrado que los compuestos terpénicos tienen un potencial significativo para el control de insectos (Dambolena et al., 2016).

Muchas plantas de diferentes familias sintetizan compuestos, algunos constituyentes de sus AEs, que presentan propiedades tóxicas para insectos (Benner, 1993) y particularmente con actividad insecticida contra plagas agrícolas que atacan a granos almacenados, plagas de importancia sanitaria, veterinaria y médica (Isman, 1999).

La propiedad de toxicidad ejerce diversos efectos que van desde repelencia (Nieves et al., 2010), afectación de la oviposición (Pascual-Villalobos y Ballesta-Acosta, 2003), toxicidad aguda e interferencia con el crecimiento y desarrollo (López Belchí,

2008), inhibición de la alimentación (Romeu Carballo y Veitía Rubio, 2012) e inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE) (Chaubey, 2011; Peschiutta et al., 2016).

Existe un marcado interés en los AEs como alternativa biológica para aplicarla en el control de vectores de enfermedades (Cárdenas Castro et al., 2013) y como sustitutos de productos sintéticos frente a plagas que atacan a cultivos o a productos almacenados (Isman, 2000; Prates et al., 1998).

El AE extraído de las partes aéreas del ajenjo dulce, *Artemisa annua*, (Asteraceae), tiene efecto antimalárico y también es usado contra insectos plaga de productos almacenados (Tripathi et al., 2000; Tripathi et al., 2001). Uno de los principales compuestos activos presente en este AE es la artemisina, el cual provoca un efecto neurotóxico por el cual los insectos comienzan a moverse descordinadamente y tiemblan hasta que colapsan. De la planta *Ruta graveolens* (Rutaceae), se ha extraído rutina, un compuesto con propiedades insecticidas. Huang et al., (1998) observaron los efectos antialimentarios de monoterpenoides sobre gorgojos plaga de granos almacenados. El efecto ovicida, larvicida y adulticida de 22 monoterpenoides estructuralmente relacionados fue estudiado sobre la mosca común, *Musca domestica* (Rice y Coats, 1994) y el AE de *Eucalyptus globulus* mostró efectividad contra las pupas de la mosca (Abdel y Morsy, 2005), también mostró actividad ovicida y adulticida contra piojos de la cabeza *Pediculus humanus capitis* (Yang et al., 2004) y al igual que el AE de *Eucalyptus grandis* y la resina de pino (terpineno) es efectivo contra el desarrollo de las larvas de *Aedes aegypti* (Lucia et al., 2007). Los AEs de *Curcuma longa, Melaleuca leucadendron, Artemisia abrotamum* (Leiva et al., 2008), *Cymbopogon citratus* y *C. nardus* mostraron efectiva actividad insectidica contra adultos de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*. Abramson et al., (2007), demostraron que el olor de la canela retardó el desarrollo de *Rhodnius prolixus* y que las ninfas del quinto estadio no lograron pasar al estadio adulto. Se encontraron 20 componentes de AEs que ejercen efectos tóxicos sobre huevos y ninfas de las vinchucas transmisoras del mal de Chagas, *Triatoma infestans* (Laurent et al., 1997).

Esta efectividad que en general presentan los AEs frente a diversos tipos de mosquitos y otros insectos perjudiciales los convierten en una buena alternativa para el

control de vectores (Batish et al., 2008; Cárdenas Castro et al., 2013; Choochote et al., 2007; Enan, 2001).

Con respecto a los sitios y modos de acción de los AEs con actividad insecticida, existen reportes que indican que los AEs o sus componentes monoterpenoides producen intoxicación del tipo neurotóxica, similar a la producida por los organofosforados y carbamatos, inhibiendo la AChE (Houghton et al., 2006; Isman, 1999). El efecto neurotóxico se produce cuando en la transmisión del impulso nervioso, la acetilcolina (ACh) es liberada de las vesículas de las terminales nerviosas cuando éstas son despolarizadas, luego la ACh ingresa a la sinapsis y se une al receptor post sináptico. La ACh posee una vida media corta debido a la presencia de la AChE, una enzima que hidroliza la unión éster de la molécula generando la interrupción de la actividad estimulatoria. La inhibición de AChE produce que la transmisión eléctrica se prolongue ya que la ACh está estimulada (Houghton et al., 2006).

Los síntomas de intoxicación son hiperactividad, convulsiones, temblores en las extremidades seguidos de parálisis, postración y muerte del insecto. Por ejemplo, Grundy y Still, (1985) encontraron que el epóxido 1,2-pulegona inhibió irreversiblemente la AChE de anguila eléctrica. Además, encontraron que los grupos ceto y epoxi de los demás monoterpenos estudiados produjeron un efecto similar de inhibición. En un estudio comparativo de la acción fumígena de los AEs ZP51 y SEM 76 obtenidos de plantas de la familia Labiatae y del (+) limoneno sobre adultos de *R. dominica*, Kostyukovsky et al., (2002) observaron que la acción inhibitoria sobre la AChE del AE ZP51 fue fuerte (65%), moderada del SEM 76 (27%) y solamente del 2 % para el (+)-limoneno. Además, estos autores vieron que los dos AEs incrementaron significativamente los niveles de adenosin monofosfato (AMP) cíclico, aún a muy bajas concentraciones. Resultados similares fueron obtenidos por Enan (2001) en moscas y cucarachas expuestas a eugenol y α-terpineol. Sin embargo, la inhibición producida fue encontrada solamente en los estudios in-vitro pero no en in-vivo.

Existe evidencia de que los AEs interfieren con el neuromodulador octopamina del sistema olfativo de los insectos (Bischof y Enan, 2004; Kostyukovsky et al., 2002). La octopamina está presente en el sistema nervioso de todos los insectos actuando como

neurotransmisor, neurohormona y neuromodulador (Evans, 1980). Además, existen evidencias que sugieren que la octopamina es un transmisor periférico en invertebrados superiores (Woodring et al., 1989). Otra función atribuida a esta molécula es la relacionada con el comportamiento activo o de "atención", la cual ha sido denominada como la hormona de "luchar o volar", y ha sido sugerido que es parte de un sistema general que prepara al insecto para su actividad vigorosa (Evans, 1980). Así como la octopamina, la norepinefrina también se halla presente en el sistema nervioso central de los insectos y actúa como neurotransmisora y neuromoduladora con un rol similar al que cumple en vertebrados (Owen y Bouquillon, 1992), pero en insectos, la norepinefrina es menos abundante que la octopamina (Orchard, 1982). Se ha documentado la acción moduladora del AE de limón sobre la norepinefrina (Hao et al., 2013).

El coeficiente de partición octanol-agua (Kow) y la presión de vapor (Pv) son dos variables de los AEs o de sus componentes que pueden ser consideradas cuando se pretende estudiar la relación estructura química de la molécula y la actividad biológica sobre el insecto. Por lo tanto, se puede hipotetizar que los compuestos aplicados mediante los métodos de contacto directo (tópico del insecticida, impregnación de papeles de filtro con insecticida) o fumígeno (exposición de los insectos a los vapores de los compuestos o AEs) con gran poder insecticida, necesitan en primer lugar penetrar la cutícula lipofílica, con lo que es de esperar que aquellos que posean un alto (Kow) sean efectivos; mientras que compuestos con alta efectividad fumígena tengan altas presiones de vapor (Rossini et al., 2008).

La correlación de la actividad insecticida de los AEs estudiados por Papachristos et al. (2004) y su composición química, reveló que la misma estaba dada de forma directa por los monoterpenoides oxigenados y que era inversamente proporcional con los hidrocarburos monoterpénicos. De manera similar, la fuerte actividad de los AEs que contenían monoterpenoides oxigenados en comparación con aquellos ricos en hidrocarburos fue reportado por Regnault-Roger y Hamraoui (1995) para *Acanthoscelides obtectus* y por Shaaya et al. (1991) para *Rhyzoperta dominica*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* y *Sitophilus oryzae*.

Sin embargo, la actividad insecticida de los AEs estudiados por Papachristos et al. (2004) no fue linealmente dependiente de su composición química. Además, las cetonas fueron más efectivas que los alcoholes y estos más activos que los hidrocarburos.

I.1.1.8.4 Acción repelente.

Quizás desde sus orígenes el hombre acudió al uso de repelentes para evitar las picaduras de artrópodos (Tolosa, 2010).

Existen muchas definiciones de repelente y la más general y aceptada es la que lo define como "cualquier estímulo que produce una reacción de evitación" (Dethier, 1956). Además, este autor mencionó que en teoría pueden existir tantos repelentes como clases de estímulos externos existan y definió dos categorías principales: física y química, estando esta última compuesta de repelentes olfativos (vapor) y gustativos (contacto).

Browne (1977) expresa otra definición que dice: "un repelente es un compuesto químico o mezcla de compuestos que actúan en la fase vapor causando que el insecto se mueva o se desplace en dirección opuesta a la fuente inicial". Otra definición algo más "experimental" es la dada por Rogoff (1952) y dice que "un repelente es cualquier cosa que reduce el número de insectos sobre la superficie tratada". Estas definiciones, a diferencia de la expresada por Dethier, apuntan a la acción sobre insectos.

De todas formas, cualquiera de estas definiciones refleja la idea que actualmente se tiene sobre los repelentes, ya sea de insectos o de otros organismos.

Se ha observado que varias especies de primates frotan sobre su piel milípedos y plantas para evitar ser picados por insectos hematófagos. Por ejemplo, los monos capuchinos llorones *Cebus olivaceus* frotan milípedos de la especie *Orthoporus dorsovittatus* durante los períodos de máxima actividad de mosquitos (Valderrama et al., 2000). Estos milípedos contienen benzoquinonas que actúan como repelentes de insectos (Moore y Debboun, 2007).

Existe una gran cantidad de trabajos, especialmente en mosquitos, de la acción repelente de los AEs y de sus componentes (Moore et al., 2007). Por ejemplo, AEs extraídos de *Zanthoxylum piperitum*, *Anethum graveolens* y *Kaempferia galanga*,

mostraron propiedad repelente contra adultos de *Ae. aegypti*, (Leyva et al., 2008). También Gillij et al. (2008) reportaron que el 70 % de los AEs extraídos de catorce plantas aromáticas estudiadas mostraron efecto repelente sobre este vector del dengue. Además, el efecto repelente tuvo una duración de 60 minutos o más y los componentes principales con mayor efecto fueron el limoneno y el alcanfor. El estudio de Trongtokit et al. (2005) reveló que los AEs de plantas pertenecientes a las familias Lamiaceae, Myrtaceae y Poaceae presentaron actividad repelente sobre *Ae. aegypti* desde 10 a 120 minutos. Otro repelente de origen botánico que tiene una gran aceptación en cuanto a su uso y residualidad es el AE de citronela. Sin embargo, muy pocos tienen la residualidad de la N, N- dietil-m-toluamida (DEET) considerado como el repelente sintético universal de preferencia. Existen productos conteniendo DEET que ofrecen una protección de hasta 8 horas, aunque esto varía con la concentración empleada y con las condiciones de exposición de las personas (Moore y Debboun, 2007). En la actualidad está discutiéndose la toxicidad del DEET ya que existen varios reportes que sostienen que este compuesto sintético puede ser tóxico y generar diversas reacciones adversas en niños y adultos tales como encefalopatías, alergias y muertes. Además, este compuesto ha sido considerado como uno de los responsables del síndrome de la guerra del Golfo (Torrez-Ruiz et al., 2016).

Con respecto a los compuestos químicos con acción repelente podemos decir que los mismos actúan sobre los sentidos del gusto y del olfato causando reacciones directas de evitación. Experimentos en los que se extirparon las antenas de moscas domésticas (los principales receptores olfativos), mostraron que éstas fueron incapaces de alejarse de la fuente de vapor con el principio repelente. Por otro lado, los repelentes de contacto parecen actuar sobre quimioreceptores específicos que no son normalmente sensibles a vapores (Dethier, 1956). Se puede decir que la repelencia afecta el comportamiento al alterar la percepción a nivel del sistema nervioso periférico (SNP) y genera que el insecto no muerda o succione, y que se aleje de su fuente de alimento (Pickett et al., 2008).

La mayoría de los estudios realizados para profundizar en el conocimiento del modo de acción de los compuestos repelentes han sido sobre el repelente universal DEET y sobre mosquitos de importancia médica. Se propuso que el compuesto sintético DEET empleado mundialmente como repelente en insectos voladores actúa (en fase vapor) a

nivel de las membranas lipídicas, alterando la organización de las membranas dendríticas e impidiendo que se produzca la respuesta normal de los insectos hacia los compuestos atractantes (odorantes emanados por la piel de voluntarios, CO_2, ácido láctico, etc.) (Zeiger, 1999). Más recientemente, Syed y Leal (2008) propusieron un nuevo mecanismo en el que los mosquitos detectarían el DEET mediante olfación y que esto sería la causa directa del comportamiento de evitación. Estos autores demostraron que algunos insectos poseen neuronas receptoras específicas (siglas en inglés, ORNs) ubicadas en los palpos antenales y maxilares, que serían las encargadas de responder al DEET. Estas neuronas también responden electrofisiológicamente (a concentraciones de un orden de magnitud menor) a terpenoides tales como la tuyona, eucaliptol y linalol.

I.1.1.8.5 Toxicidad de los AEs y sus componentes.

Para abordar el tema de la toxicidad de los AEs o de algunos de sus componentes hay que distinguir las circunstancias y los organismos a los que se refiere. En este sentido se puede hablar si son o no ecotóxicos, si son tóxicos para los microorganismos, los hongos y para los insectos, o si son tóxicos para animales superiores y el hombre. Según el contexto y la aplicabilidad de los AEs, la toxicidad es una propiedad deseable y potencialmente explotable.

Desde la perspectiva de la ecotoxicidad, debido a la volatilidad y simplicidad de las moléculas que constituyen los AEs, tienen poca persistencia en el ambiente y en su mayoría no son tóxicos para mamíferos, aves y peces (Stroh et al., 1998), lo cual los hace buenos candidatos para catalogarlos como insecticidas amigables con el ambiente (Koul et al., 2008).

Estudios ecotoxicológicos realizados para comprobar la toxicidad aguda del componente eugenol sobre peces demostró que este compuesto es 1500 y 15000 veces menos tóxico que los insecticidas piretro y azinfosmetilo respectivamente (Stroh et al., 1998). Misra y Pavlostathis (1997) demostraron que el eugenol no es persistente ni en agua dulce ni en el suelo. Encontraron que bajo condiciones aeróbicas a 23 °C, el tiempo de vida medio del α-eugenol varió entre 30-40 hs, y con una degradación completa a las 50 hs. Además vieron que el eugenol es degradado en su totalidad por bacterias del suelo del tipo *Pseudomonas* y transformado en ácidos orgánicos. Esta baja persistencia en el

ambiente puede deberse en parte a que los compuestos poseen una lipofilicidad media y una alta presión de vapor, que hace predecir que casi ninguno de ellos alcance las capas freáticas de agua o persista en los sedimentos o en el suelo (Isman, 1999).

I.1.1.8.5.1 Toxicidad en mamíferos.

La mayoría de los estudios de toxicidad de los AEs en mamíferos se hicieron en ratas, aunque se registraron casos de toxicidad accidental o por aplicación inapropiada en perros, gatos y humanos (Vigan, 2010).

Toxicidad en ratas: Algunos de los compuestos puros de AEs presentan una muy baja o nula toxicidad, con valores de toxicidad aguda oral en ratas de DL_{50} de 2-5 $g.kg^{-1}$. Este último valor es el límite superior de toxicidad aguda requerido por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) (Isman, 1999).

En ratones, el AE de *Mentha pulegium* L., rico en R- (+) pulegona, es hepatotóxica debido a la función cetona de este terpeno, así como a su metabolito epóxido, mentofurano (Gordon et al., 1982).

La administración por inyección intraperitoneal de AE de *Salvia officinalis* L., en ratones, demostró que los AEs de invierno son más tóxicos que los de primavera. El AE de *S. officinalis* es neurotóxico y puede provocar crisis convulsivas precedidas por vómitos e interrumpidas por episodios de obnubilización, hiporreflexia e hipotonía (Newall, 1996). Se estableció que la toxicidad dependía del nivel de alcanfor y αβ-tuyona (Vigan, 2010). Por otro lado, Millet et al. (1981) demostraron la toxicidad en ratas por crisis convulsivas, epileptiformes y letales del alcanfor y de la αβ-tuyona, cetonas monoterpénicas presentes en aceite de salvia, de tuya y de cedro, y también de la pinocanfona en aceite de hisopo. Esta toxicidad se relaciona con una inhibición del metabolismo oxidativo de las neuronas y/o modulador del canal de cloro asociado al receptor GABA A y presenta una sintomatología similar al antagonista picrotoxinina (Hold et al., 2000).

La miristicina presente en el AE de la nuez moscada se comporta como inhibidor de las Monoamino oxidasas (MAO) provocando un incremento de la serotonina en el

SNC y produciendo efectos psicótropos. La ingesta por vía oral de elevadas dosis de ciertos AEs como los de eucalipto, nuez moscada, canela o clavo es capaz de originar depresión generalizada del SNC, pudiendo ocasionar la muerte (Europian Food Safety Authority, ¿? a).

Dosis altas de AE de *Mentha piperita* en ratas macho causaron espacios quísticos en la sustancia blanca del cerebelo y nefropatía (Spindler y Madsen, 1992). En el mismo estudio, todas las dosis de aceite de menta administradas a ratas causaron la vacuolización de los hepatocitos y aumentaron el peso del hígado. Sin embargo, no se observó ningún signo de encefalopatía (Andersen, 2001). También, se ha sugerido que una cantidad excesiva de mentol causa vértigo, mareo, agitación, nistagmo, ataxia, alucinaciones, letargo y coma (Opdyke, 1976). Umezu (2009) sugiere que la mentona, asociada con la dopamina, estimula la ambulación de ratones.

El acetato de sabinilo presente en los AEs de salvia española (0,1-24 % de acet.sabinilo) o de sabina (20-50 % acet.sabinilo) puede atravesar la barrera placentaria y producir efectos tóxicos en el feto. En ratas tratadas con acetato de sabinilo se observaron alteraciones en el desarrollo fetal del ratón, por lo que se desaconseja su ingestión por mujeres embarazadas (Europian Food Safety Authority, ¿? b).

Según información contenida en la ficha toxicológica del limoneno, (Dipentène ou d,l-Limonène Fiche toxicologique synthétique n° 227 - Edition Mise à jour 2010) se han utilizado diferentes especies animales para evaluar la toxicidad del dipenteno, una mezcla de dos isómeros ópticos de limoneno presente en los AEs de los cítricos. Es hepatotóxico después de la exposición aguda por administración oral y peritoneal. Tiene un efecto relajante muscular y sedante en ratones y es nefrotóxico sólo en ratas macho, a través de la unión irreversible de su metabolito a la proteína alfa 2 u globulina. Durante la exposición prolongada, no se pudo calcular el nivel de efecto no adverso (NOAEL) para la rata macho debido a su nefrotoxicidad, mientras que el NOAEL es bastante alto en ratas hembras (1.200 mg / kg). En ratones, la inhalación puede inducir irritación sensorial con un RD 50 de más de 1.000 ppm. El dipenteno tiene poco efecto irritante en la piel del conejillo de indias e induce lagrimeo y enrojecimiento en la conjuntiva. No es genotóxico, sino cancerígeno en ratas macho y antitumoral en ratones y hembras.

El estragol (1-metoxi-4- (3-propenil) -benceno) y sus metabolitos, que se encuentra en los AEs de estragón, anís estrellado, anís verde, algunas albahacas e hinojos, presentan carcinogenicidad con daño en el ADN. Este efecto se observó en ratones a los que se les administró estragol mediante ingestión o inyección intraperitoneal y se ha demostrado es dependiente de la dosis y el nivel tóxico es mucho más alto que el predecible para el hombre. No hay datos suficientes sobre la exposición tópica (Vigan, 2010). Los estudios de alimentación forzada, primero con ratas, luego con ratones, han mostrado resultados similares para el metil iso-eugenol (http://www.emea. europa.eu/ pdfs/human/hmpc/13836305en.pdf). En lo referente a la toxicidad crónica de los AEs, han sido valorados experimentalmente los efectos cancerígenos presentados por algunos de sus componentes. Ciertos derivados del fenilpropano tales como asarona, safrol y estragol, se metabolizan sufriendo un proceso de hidroxilación, siendo los 1-hidroxiderivados los metabolitos responsables de los efectos cancerígenos por formación de enlaces cruzados en la molécula de ADN. El isómero beta de la asarona, presente en el AE de cálamo aromático, al igual que el safrol y estragol, son capaces de inducir tumores hepáticos e intestinales en roedores tras administración crónica.

Toxicidad en animales domésticos: Se ha observado que aplicaciones tópicas de AE de árbol de té en tratamientos de dermatosis de perros y gatos domésticos (Villar et al., 1994) generaron depresión, debilidad y temblores musculares que desaparecieron tres días después de interrumpir la aplicación. El AE de *M. pulegium* L. aplicado para eliminar pulgas generó muerte por intoxicación en un perro. La autopsia demostró hemorragia interna generalizada y membranas hialinas en los pulmones (Sudekum et al., 1992).

Estos diferentes informes exponen la complejidad del problema. Los AEs, aunque son productos naturales, muestran toxicidad en animales. Natural no es sinónimo de inofensivo. La toxicidad puede variar según la especie, a veces según el sexo en la misma especie, lo que dificulta la transposición de los resultados de estos estudios a los humanos. Se podría utilizar la toxicidad en bacterias e insectos, pero los efectos secundarios en los seres humanos y el medio ambiente no son fáciles de evaluar (Vigan, 2010).

Resumiendo, se puede decir que la toxicidad aguda de los AEs en mamíferos se manifiesta fundamentalmente a nivel del SNC, aparato respiratorio y cardiovascular; y en algunos casos actúan con efectos hepatotóxicos, nefrotóxicos, teratogénicos y abortivos.

Toxicidad en humanos: Se ha observado en situaciones particulares tales como aplicación en piel humana recién cortada, ingestión accidental, estudios clínicos de productos industriales, uso inadecuado y observaciones clínicas de toxicidad cutánea.

En la piel humana recién extirpada, el AE de *Backhousia citriodora* crea necrosis celular histológica y vacuolización (Hayes et al., 2003).

La intoxicación por ingestión accidental se da por lo general en niños pequeños. Lo más común es ingestión de citronella, aunque no parece significativamente tóxico (http://www.centres-antipoison.net/cctv/rapport_cctv_repulsifs_2007.pdf).

Se ha reportado un caso de toxicidad mortal por mentol después de una exposición aguda de un joven agricultor de veintiún años que vivía en una aldea de Uttar, de India, al entrar a un tambor de menta para limpiarlo. La inhalación de vapores tóxicos lo dejó inconsciente. Desarrolló disfunción renal aguda, convulsiones recurrentes y hematuria intermitente, finalmente falleció (Kumar et al., 2016).

La intoxicación por uso inadecuado se ha registrado en un anciano por consumir durante veinte años gotas para la tos ricas en mentol y las consumía también para tratar la halitosis, con efectos neurotóxico y nefrotóxico (Baibars, 2012).

El AE de *M. pulegium* L. ha sido restringido como aditivo alimenticio (Tisserand y Balazs, 1995) y la pulegona fue limitada en caramelos de menta a una dosis máxima de 250 ppm y de 20 ppm en las bebidas de menta (Gordon et al., 1982).

Algunos estudios clínicos de productos industriales describen que para estudiar la toxicidad de la trementina se administró a 8 voluntarios sanos 450 mg/m^3 en una cámara de inhalación. Se registró irritación de la garganta durante la exposición y aumento de la resistencia a la vía aérea después de la exposición (Filipson, 1996). Voluntarios sanos después de ingerir 20 g de d-limoneno sufrieron diarrea y proteinuria transitoria. La inhalación de vapor causó trastornos respiratorios junto con una disminución de la

capacidad vital. No se produjeron trastornos neurológicos (Bonnard, 2004). El limoneno es un irritante para la piel cuando se aplica durante 4 horas. Las salpicaduras pueden causar irritación ocular. La exposición crónica al dipenteno puede inducir irritación y alergia.

Como ejemplo de uso inadecuado está el caso registrado por el comité para seguridad cosmética en 2003-4, un bálsamo que contenía alcanfor, eucaliptol y mentol administrados con regalos cosméticos gratuitos en una Hospital de maternidad y utilizado para tratar enfermedades del tracto respiratorio, causó convulsiones en niños de entre 2,5 meses y 4 años. Casos similares han sido descritos con alcanfor (Gouin y Patel, 1996; Laribie`re et al., 2005). El uso inadecuado por lo general es el resultado de la confusión entre natural e inofensiva.

En observaciones clínicas de toxicidad cutánea se han reportado dermatosis fototóxicas causadas por los AEs que incluyen la dermatitis de prado y la dermatitis berloque. Las sustancias involucradas son las furocumarinas entre otras. La dermatitis de contacto alérgica causada por los AEs es tan común que muchos de sus componentes se han agregado a la lista de alergenos de fragancia tales como d-limoneno, geraniol, citronela, linalool, citral, cumarina, alcohol cinámico, alcohol bencílico, alcohol anísico, eugenol, isoeugenol, salicilato de bencilo, cinamato de bencilo, cinamaldehído, mentol, atranorina, trementina, aceite de árbol de té, etc., pero otros como el β-pineno, no están disponibles para pruebas (Nardelli et al., 2009).

Muchos AEs han sido considerados como abortivos, destacando los de ruda, menta poleo, enebro, tanaceto, etc. Sin embargo, los datos experimentales ponen en evidencia los AEs con contenidos elevados en apiol y/o acetato de sabinilo (Buckle, 2015).

El hecho saliente es que la mayoría de los componentes de AEs en los que se ha reportado actividad biológica, la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos los ha incorporado a la lista de productos considerados generalmente como seguros (GRAS), y los mismos han estado exentos de ciertos requerimientos toxicológicos de la EPA (Isman, 2000).

I.1.1.8.6 Sinergismo entre los componentes de los aceites esenciales.

Cuando se habla de actividad biológica de los AEs existe la tendencia a atribuirla a un compuesto activo y que en general es el que se encuentra en mayor proporción. Sin embargo, dado a que los AEs son mezclas complejas de una gran variedad de moléculas, se podría pensar que los efectos biológicos son el resultado de un sinergismo de todas ellas o de un conjunto de ellas.

Según la literatura, en la mayoría de los casos, sólo se analizaron los componentes principales de ciertos AEs tales como terpineol, eugenol, timol, carvacrol, carvona, geraniol, linalol, citronelol, nerol, safrol, eucaliptol, limoneno, cinamaldehído etc.. En general, los componentes principales reflejan muy bien las características biofísicas y biológicas de los AEs de los que fueron aislados (Ipek et al., 2005). La amplitud de sus efectos depende sólo de su concentración cuando se prueban los compuestos puros o comprendidos en sus AEs. Por lo tanto, las funciones sinérgicas de las diversas moléculas contenidas en un AE, en comparación con la acción de uno o dos componentes principales del aceite, parecen cuestionables. Sin embargo, es posible que la actividad de los componentes principales esté modulada por otras moléculas menores (Franzios et al., 1997; Hoet et al., 2006; Santana-Rios et al., 2001). Es muy probable que numerosos componentes de los AEs jueguen un papel importante en la definición de las características de los aceites, la atracción lipofílica o hidrófila y la fijación en la pared celular y las membranas, y la distribución celular (Cal, 2006). Esta característica es crucial porque, dependiendo de su composición, la distribución del aceite en la célula determina los diferentes tipos de reacción radical producida (Bakkali et al., 2008). En este sentido, para fines biológicos, es más informativo estudiar un aceite completo en lugar de algunos de sus componentes, por lo que el concepto de sinergismo parece ser más significativo.

En cuanto a la inocuidad y conservación de los alimentos, existen varias razones que conducen a la combinación de agentes antimicrobianos para inhibir microorganismos patógenos o deteriorantes. Entre estas razones se mencionan (Eliopoulos y Mollering, 1991): a) la resistencia que puedan desarrollar algunas colonias frente a algunos agentes antimicrobianos; b) según las regulaciones alimentarias, algunos agentes tienen

concentraciones máximas permitidas para impedir intoxicaciones y c) el sinergismo entre agentes. Por estas razones, las mezclas de antimicrobianos en la industria alimentaria se utilizan con frecuencia; sin embargo, la forma en que los agentes interaccionan no es del todo claro. Cuando se combinan dos antimicrobianos pueden ocurrir efectos, aditivo, sinérgico o antagónico (Barry, 1976).

Goñi et al. (2009) mencionan que la sinergia se presenta cuando el efecto de las sustancias combinadas es mayor que la suma de los efectos individuales; el antagonismo se observa cuando el efecto de la mezcla es menor que cuando se aplican individualmente y un efecto aditivo se observa cuando el efecto combinado es igual a la suma de los efectos individuales. Por lo cual al combinar los AEs entre ellos mismos o con otros aditivos, se pueden encontrar varias formas de interacción, las cuales tienen importancia en la industria de alimentos.

Los AEs son muy volátiles por lo cual son ideales para ser evaluados en fase vapor. Estudios sugieren que algunos terpenos presentes en los AEs tienen mayor actividad antifúngica en fase vapor (Vilela et al., 2009). Algunos estudios mencionan que los AEs en su conjunto tienen una actividad antimicrobiana mayor que las mezclas de sus componentes mayoritarios y por lo tanto pueden presentar efectos sinérgicos (Rocha, 2012).

La evaluación de la combinación de agentes antimicrobianos es necesaria debido a que un microorganismo puede ser resistente a la inhibición y/o eliminación por dosis convencionales de un solo antimicrobiano, pero al ser expuesto a una combinación de agentes se puede vencer su resistencia (Eliopoulos y Mollering, 1991).

Se conocen algunos mecanismos de interacción antimicrobiana que producen sinergismo; como ser: la inhibición de una via bioquímica, la inhibición de enzimas protectoras, la combinación de agentes activos de la célula y el uso de agentes activos de la célula para aumentar la acción de otros agentes antimicrobianos (Eliopoulos y Mollering, 1991).

Los principales componentes a los cuales se les atribuye la actividad antimicrobiana del AE de orégano son los monoterpenos carvacrol, timol, p-cimeno y γ-

terpineno (Baratta et al., 1998; Belitz et al., 2004; Burt 2004; Russo et al., 1998), especialmente a la presencia del grupo hidroxilo en los compuestos fenólicos (Lambert et al., 2001) y a los electrones deslocalizados del anillo bencénico (Dorman y Deans, 2000; Veldhuizen et al., 2006). Esto refuerza lo que algunos investigadores informan acerca de la existencia de una relación entre las estructuras químicas de los compuestos más abundantes en los AEs probados y su actividad antimicrobiana (Ipek et al., 2005).

Aunque no hay demasiada información sobre el efecto combinado de agentes antimicrobianos naturales en alimentos, se puede mencionar que el carvacrol y el timol parecen tener efectos aditivos (Daferera et al., 2000) en la inhibición de mohos, al trabajar con *Penicillium digitatum*, ya que al comparar las actividades fungicidas entre las especies de orégano *Origanum vulgare* con 71 % de carvacrol-timol del total y *Origamum dictamus* con 78 % de timol del total, y de tomillo con 66% carvacrol-timol del total, el *Origanum vulgare* y el tomillo fueron más tóxicos, atribuyendo este efecto a la sinergia de carvacrol-timol. También es interesante destacar que diversas investigaciones (Dorman y Deans, 2000; Juliano et al., 2000; Juven et al., 1994) señalan que el p-cimeno carece de actividad antimicrobiana cuando se usa solo, pero que al combinarse con carvacrol, presenta sinergismo, facilitando el transporte de este último a través de la membrana citoplasmática. También Cristiani et al. (2007) demostraron la eficacia antimicrobiana de los monoterpenos carvacrol, timol, γ-terpineno y p-cimeno actuando juntos, contra las bacterias *S. aureus* y *E. coli*.

El AE de canela es otro antimicrobiano natural bien estudiado y cuyas propiedades son atribuidas principalmente al aldehído cinámico y al eugenol (Baratta et al., 1998; Belitz et al., 2004; Burt 2004; Russo et al., 1998). Se han demostrado e interpretado las acciones antimicrobianas de cada uno de estos compuestos por separado (Helander et al., 1998; Thoroski 1989; Wendakoon y Sakaguchi 1995) y Moleyar y Narasimham (1992) observaron sinergismo entre el aldehído cinámico y el eugenol en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus sp*., *Micrococcus sp*., *Bacilus sp*., y *Enterobacter sp*.

Otro ejemplo de sinergismo se puede ver en la mezcla contra *Listeria innocua* que incluye 50 o 100 ppm de carvacrol, timol o eugenol con 100 o 200 ppm de sorbato de potasio dependiendo de la actividad de agua y del pH del medio (Santiesteban- López et

al., 2007). También, León (2002) demostró en estudios realizados sobre *S. aureus* y *E. coli* que en medios de cultivo sólidos existen mezclas ternarias sinérgicas de sorbato de potasio, carvacrol y timol. García (2005) evaluó estas mezclas ternarias en medio líquido reportando 28 combinaciones sinérgicas, 15 aditivas y 9 antagónicas para inhibir el crecimiento de *S. aureus, L. innocua, S. thyphimirium* y *E. coli,* siendo estos dos últimos microorganismos más sensibles a la acción de las mezclas de agentes antimicrobianos que los primeros.

Basílico y Basílico (1999) señalaron que la producción de ocratoxina A, por *Aspergillus ochraceus* es inhibida por 1000 mg/L de AE de orégano, lo que equivale a una mezcla de 50 mg/L de timol y 250 mg/L de carvacrol, asimismo señalan que *Aspergillus niger* es inhibido por una mezcla de carvacrol y timol a 200 mg/L.

Un estudio de actividad antifúngica de especies de *Juniperus* de Argentina (Dambolena et al., 2011), también destaca la importancia del efecto del conjunto de terpenos que componen los AEs en la actividad antifúngica de los mismos.

Aunque se han reportado casos de sinergia, aditividad y antagonismo, son necesarios más estudios que evalúen la aplicación en alimentos y no sólo en sistemas modelo, por lo que se requiere seguir buscando más interacciones entre diferentes tipos de AEs y combinaciones con aditivos. Las mezclas reportadas como sinérgicas en sistemas modelo deben ser evaluadas directamente en alimentos para observar además los efectos sobre la calidad sensorial y por consiguiente la aceptación del consumidor (Olivarez-Cruz y López-Malo, 2013).

I.1.1.9 Usos de los AEs.

I.1.1.9.1 Usos comunes.

Los AEs son usados en un amplio rango de preparados alimenticios, en las industrias de perfumería, de cosmética, farmacéutica, en la producción de detergentes y en medicina. Por las propiedades insecticidas y acaricidas que poseen algunos aceites, se los produce con fines de controlar algunas plagas de manera ecológica.

En general se puede decir que las principales ramas de la industria que más consumen plantas aromáticas o sus AEs son:

* Industria perfumera y cosmética: es por todos sabido que una de las principales aplicaciones que se le da a los AEs tiene que ver con el mercado de las fragancias, tanto para la fabricación de perfumes, como colonias, extractos y aguas de tocador.

También existe una gran demanda en la elaboración de cosméticos como cremas y maquillajes, que no tan sólo los incorporan por el aroma que prestan, sino por los efectos benéficos que los AEs o sus principales componentes pueden aportar a los mismos. Algo similar ocurre con la industria de productos de higiene personal que incoprporan AEs en las formualciones de champues, jabones, geles, desodorantes, sales de baño, muchos de los cuales tienen un posicionamiento en el mercado por la fragancia que contienen o por los beneficios que ofrecen. Otro rubro importante es el que tiene que ver con la higiene bucal, como dentífricos y enjuagues, por su consumo de derivados de la menta.

* Industria alimenticia: los AEs son demandados para la elaboración de sabores, salsas, aditivos, licores, bebida colas y otras analcohólicas. Los propios AEs son empleados directamente como aditivos para mejorar el olor y el sabor en una gran variedad de productos alimenticios, tales como bebidas, productos de confitería y panadería, conservas y preparados vegetales, productos cárnicos, lácteos, etc.

Dado que los AEs son microbiológicamente estériles y presentan marcadas propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes, podrían ser muy útiles como conservantes naturales para aumentar la seguridad e inocuidad de los alimentos (Iacobellis et al., 2005). Desde esta perspectiva debería estar más extendido el uso de AEs en la fabricación de embutidos y preparados alimenticios terminados, no sólo con el propósito de añadir aroma y sabor al alimento, sino conservación y seguridad alimentaria. Sin embargo, este uso no está muy difundido y en su lugar se emplean mayormente las especias vegetales secas o frescas. También son adecuados para saborizar y prolongar la vida útil a aceites comestibles (Amariei et al., 2016).

* Industria licorera: esta industria es muy dependiente de los extractos y AEs de las plantas aromáticas. Son muy conocidos los licores de menta, anís, naranja, limón,

mandarina, vainilla o los que son producto de mezclas cuidadosamente equilibradas de aromas y sabores. En muchos lugares del mundo existe una industria licorera dedicada a especies autóctonas, la que aprovecha los conocimientos populares de las plantas aromáticas para la elaboración de formulaciones del tipo amargos, aperitivos, o licores regionales.

* Industria farmacéutica y uso fitoterapéutico: los AEs son empleados en esta industria con el fin de mejorar las cualidades organolépticas de distintos preparados galénicos o formar parte de ellos por sus reconocidas propiedades terapéuticas.

Es relevante el uso médico de los AEs que se proporcionan al paciente por todas las vías de administración para tratar condiciones específicas y en cantidades comparablemente concentradas (Bob Harris-Baser y Buchbauer, 2010).

Las propiedades acaricidas fueron probadas contra el ácaro de la sarna, *Sarcoptes scabiei* var. Hominis, resultando efectivos preparados con AE de *Melaleuca alternifolia*, cuyo principal componente activo fue el terpinen-4-ol (Walton et al., 2004), AE de *Lippia multiflora* (Oladimeji et al., 2005). Aunque no es una infección, la actividad letal de los AEs hacia el ácaro del polvo doméstico (*Dermatophagoides farina* y *Dermatophagoides pteronyssinus*) es importante ya que estos ácaros son una causa importante de alergias respiratorias y un agente etiológico en la sensibilización y desencadenamiento del asma en los niños. Contra estos ácaros demostraron ser muy eficaces los AEs de clavo, el romero, el eucalipto y la alcaravea (El-Zemity et al., 2006; Tovey y McDonald, 1997), y de árbol de té y lavanda (Williamson et al., 2007).

Basados en las propiedades antimicrobianas, la aplicación tópica y sistémica de AEs para tratar infecciones, es una práctica generalizada entre los terapeutas con (aparentemente) buenos resultados. Sin embargo, hay poco o nada de ensayos en vivo en humanos (Bob Harris-Baser y Buchbauer, 2010). El uso tópico de AE de *Ocimum gratissimum* (quimiotipo de timol) al 2 % en una base de crema hidrófila es efectivo en el tratamiento del acné causado por *Propionibacterium acnes* (Orafi diya et al., 2002). También demostró ser eficaz el AE de árbol de té (Enshaieh et al., 2007). El uso tópico de preparados con AE de naranja amarga (*Citrus aurantium* var. amara) resultó eficaz contra los hongos de la piel *Tinea corporis*, *T. cruris* o *T. pedís* (Ramadan et al., 1996).

El AE de *Zataria multiflora* y sus componentes activos (timol, carvacrol y eugenol) demostraron propiedades anticándidas (Mahmoudabadi et al., 2006), lo que explicaría su uso en casos de prurito vulvar y vaginal, quemadura vaginal, ardor urinario y las secreciones vaginales, edema vaginal y escoriación vulvovaginal (Khosravi et al., 2008).

El uso tópico de AEs para tratar las heridas malolientes en pacientes con cáncer se está generalizando, aunque todavía son escasos los ensayos clínicos formales. La reducción de olores con AEs se informó por primera vez por Warnke et al. (2004) en 25 pacientes malolientes con carcinoma de células escamosas inoperable de cabeza y cuello. La aplicación tópica sobre las heridas de un producto comercial que contenía AEs de eucalipto, toronja y árbol de té (Megabac®) eliminó completamente el olor y los signos de sobreinfección y secreción de pus se redujeron en las áreas necróticas. También se usó, con excelentes resultados, aplicado por pulverización para tratar áreas gangrenosas hasta la formación de tejido de granulación (Sherry et al., 2003). Los AEs de *Lavandula angustifolia, Melaleuca alternifolia* y *Pogostemon cablin* se utilizaron a concentraciones de 2,5 a 5 % en una base de crema. Un producto hecho a medida (Klonemax®) que contenía AEs de eucalipto, árbol de té, hierba de limón, limón, clavo y tomillo se aplicó tópicamente (5 ml) dos veces al día. Todos los pacientes tuvieron una resolución completa del mal olor; además de la actividad antibacteriana, también se observó un efecto antiinflamatorio (Warnke et al., 2006).

Los AEs de clavo, lavanda, romero, eucaliptus, árbol de té y algunos de sus componentes fueron usados en formulaciones de enjuagues bucales y en odontología por su potencia antiséptica y efecto anestésico, indicándose para la prevención de caries y tratamiento de inflamaciones e infecciones bucales (Takarada et al., 2004; Fine et al., 2007; Tufekci et al., 2008). AEs colocados en pastas dentales probaron ser eficaces antiplaca y antigingivitis (Coelho et al., 2000).

También se destacan los usos internos que se les da a los AEs. Se prescriben por administración oral, preparados con AEs de *Cinnamomum camphora* qt 1,8-cineol, *Daucus carota*, *Ledum groelandicum*, *Laurus nobilis*, *Helichrysum italicum*, *T. vulgaris* qt tuyanol y *Melaleuca quinquenervia*, en tratamientos de hepatitis B y C, crónicas (Giraud-Robert, 2005). Los productos comerciales Rowachol y Rowatinex, basados en

componentes de AEs se han comercializado durante muchos años para la disolución de cálculos biliares y piedras del tracto biliar (Bob Harris-Baser y Buchbauer, 2010). Se han publicado muchos trabajos sobre sus efectos (Doran y Bell, 1979; Ellis y Bell, 1981; Ellis et al., 1981; Lamy, 1967). Se ha demostrado que Rowachol inhibe la síntesis de colesterol hepático mediada por una disminución de la actividad de la S-3-hidroxi-3-metilgutaril-CoA reductasa hepática (Middleton y Hui, 1982); los componentes más responsables de esta actividad fueron el mentol y el 1,8-cineol, y el pineno y el canfeno no presentaron un efecto significativo (Clegg et al., 1980). Se ha demostrado en pacientes con cálculos biliares tratados con Rowachol una reducción en la formación de cristales de colesterol en la bilis (von Bergmann, 1987). Se informó que Rowachol aumentó significativamente el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma cuando se administró a pacientes con colesterol HDL bajo (Bell et al., 1980; Hordinsky y Hordinsky, 1979). El d-limoneno introducido en la vesícula biliar a través de un catéter fue exitoso en el tratamiento de disolución de cálculos biliares (Igimi et al., 1976; Igimi et al., 1991). Rowatinex se usa en el tratamiento de los cálculos renales y existe evidencia científica de su eficacia (Engelstein et al., 1992; Mukamel et al., 1987). También se ha utilizado Rowatinex con éxito, en la eliminación de fragmentos de cálculos residuales después de la litotricia extracorpórea por ondas de choque, aceleró la disminución del número de residuos de cálculos, lo que redujo el número de complicaciones tardías y otras intervenciones (Siller et al., 1998). También fue probado exitosamente en el tratamiento de la urolitiasis infantil (Al-Mosawi, 2005) y disminuyó la cantidad de analgésicos requeridos (Bak et al., 2007).

Varios AEs se han utilizado en el tratamiento de la dispepsia funcional (no ulcerosa). El uso independiente o combinado de AEs de menta y alcaravea actúa localmente en el intestino como antiespasmódico (Micklefi eld et al., 2000, 2003) y tiene un efecto relajante sobre la vesícula biliar (Goerg y Spilker, 1996; Goerg y Spilker, 2003; May et al., 1996; Reiter y Brandt, 1985). El producto comercial Enteroplant, formulado a base de AEs de menta y alcaravea ha mostrado ser eficaz y su uso podía considerarse para el manejo a largo plazo de la funcionalidad en pacientes con dispepsia (Holtmann et al., 2003). También se ha documentado la eficacia del d-limoneno en el tratamiento del trastorno de reflujo gastroesofágico (Wilkins, 2002). El Girosital es un producto comercial encapsulado de origen búlgaro que consiste en AE de rosa (68 mg) y vitamina

A en aceite vegetal de girasol. Tiene un efecto hepatoprotector contra el etanol, reduce la distrofia y la infiltración de lípidos y tiende a recuperar por completo el glucógeno, lo que sugiere un efecto beneficioso del aceite de rosa sobre el metabolismo de los lípidos (Kirov et al., 1988a). En hombres con abuso prolongado de alcohol, Girosital redujo significativamente los triglicéridos séricos y las lipoproteínas de baja densidad y aumentó el nivel de HDL-colesterina; fue particularmente eficaz para el tratamiento de los tipos IIb y IV de hiperlipoproteinemia. Las lesiones hepáticas relacionadas con la intoxicación por alcohol mejoraron y se redujeron las quejas subjetivas, como los síntomas dispépticos y el dolor (Konstantinova et al., 1988). El AE de *M. piperita* se ha utilizado durante muchos años como un carminativo natural del tracto gastrointestinal. Este efecto se debe principalmente a la actividad antiespasmódica del mentol, que actúa como un antagonista del canal de calcio del músculo liso intestinal (Taylor et al., 1984, 1985). La administración de aceite de menta con recubrimiento entérico (180-200 mg) tres veces al día es un tratamiento eficaz para el síndrome del intestino irritable (Grigoleit y Grigoleit, 2005). También el AE de menta alivia malestares gastrointestinales a pacientes con intolerancia a la lactosa, síndrome de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y enfermedad celíaca (Cappello et al., 2007). Por su actividad antiespasmódica, el AE de menta se ha utilizado para facilitar los exámenes del tracto gastrointestinal superior e inferior, administrado en enemas de bario de doble contraste (Asao et al., 2003) y durante la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (Yamamoto et al., 2006). También se usaron AEs de *Foeniculum vulgare* var. dulce, *Chaemomelum nobile* y *M. piperita*, individualmente o en mezclas en tratamientos para las náuseas (Gilligan, 2005).

Está muy difundido el uso de AEs para el alivio del dolor debido a sus acciones antiespasmódicas, antinflamatorias. Se comprobó su efectividad en casos de dismenorrea (Han et al., 2006; Jahromi et al., 2003; Khorshidi et al., 2003), de cefaleas (Göbel et al., 1995a), cólico infantil (Alexandrovich et al., 2003), dolores por patologías de rodilla o tobillo de origen traumático o quirúrgico (Le Faou et al., 2005), dolor de pezones causado por grietas (Melli et al., 2007), tratamiento a corto plazo de dolor de rodilla causado por osteoartritis (Yip et al., 2008), dolor postherpético moderado a severo (Greenway et al., 2003, Maruyama et al., 2006, Stotz et al., 2008), dolor postoperatorio (Kim et al., 2006; 2007), alivio del dolor por prostatitis (Lee et al., 2006), dolor y afecciones causadas por

la estomatitis aftosa recurrente, también conocida como úlceras bucales (Abdollahi et al., 2003; Amanlou et al., 2007; Mansoori et al., 2002).

Está muy difundido el uso de los AEs o sus componentes en el tratamiento de una variedad de afecciones respiratorias, ya sea por inhalación (Kenia et al., 2008) o por ingestión (Sloan et al., 1993).

Una mezcla de 15 AEs compone un producto comercial que se utiliza para el tratamiento del ronquido y ha demostrado ser eficaz (Pritchard, 2004).

Se considera apropiado el uso de una pastilla de mentol antes de las comidas para disminuir el tiempo de deglución y mejorar la disfagia (Ebihara et al., 2006 a, b).

Los AEs también son usados actualmente en formulaciones comerciales de pediculicidas y hay estudios que respaldan su eficacia (Scanni y Bonifazi, 2006; Willimason et al., 2007; Yang et al., 2004).

Un uso muy difundido de los AEs es en aromaterapia, complemento terapéutico para la prevención y tratamiento de enfermedades con resultados a nivel fisiológico, que consiste en la ingesta o aplicaciones externas de AEs como principales agentes terapéuticos (Babar et al., 2015). Por otro lado está la aromacología, que utiliza sustancias aromáticas naturales como sintéticas y estudia el efecto que producen en el sistema nervioso límbico (Prieto, 2018). En este sentido, se han reportado estudios clínicos que muestran el efecto ansiolítico del AE obtenido de flores frescas de lavanda (*Lavandula officinalis* L.) rico en linalol (15 %) y acetato de linalilo (40 %) (Lorca et al., 2011). También se reportó que los AEs de lavanda y romero aumentan la memoria a corto plazo (Filiptsova et al., 2018).

* Productos de uso doméstico: productos de uso cotidiano como desinfectantes, desodorantes de ambientes, jabones de lavar, suavizantes, perfumantes para ropas y telas, son formulados en base a fragancias o a subproductos obtenidos de plantas aromáticas. En esta línea de productos, la trementina, las esencias cítricas y las florales son las más usadas. La trementina es usada para la elaboración de productos de semisíntesis como el aceite de pino que no tiene relación con el aceite natural de pino.

* Industria agroquímica: esta industria emplea algunos subproductos obtenidos a partir de AEs para la elaboración de bioinsecticidas, o insecticidas biodegradables de origen natural. Es el caso de los productos aleloquímicos, como el cis-6-nonadienal que funciona como atractante sexual de ciertos insectos plaga de cultivos. También la (+)-carvona que está presente en la alcaravea y el eneldo se usa como inhibidor de la formación de brotes en la papa almacenada (Oosterhaven et al., 1996).

* Industria tabacalera: es una de las mayores consumidoras de mentol y también aprovecha otros numerosos extractos de plantas aromáticas.

* Industria textil: emplea AEs en la elaboración de enmascaradores de olores, en tratamientos con mordientes después o durante el teñido.

* Industria petroquímica y minera: utiliza esencias o terpenos derivados de ellas como vehículos de flotación y lubricantes.

* Industria de pinturas: generalmente emplea terpenos extraídos de los AEs para enmascarar olores y al limoneno como disolvente biodegradable.

* Química fina: la trementina es una esencia obtenida de la resina de varias especies de *Pinus* spp., y es muy valorada como materia prima para la semisíntesis de productos aromáticos tales como el aceite de pino, el terpineol, el canfeno, acetato de isobornilo, etc. También se emplea para la producción de insecticidas, vitaminas y otros productos de uso industrial. Otro ejemplo es el safrol, un terpeno obtenido de varias esencias de origen tropical, y es usado para la semisíntesis de la vainillina.

En síntesis, se puede decir que los AEs tienen dos grandes mercados, el primero es el más difundido, está determinado por sus características organolépticas, explotado primordialmente por la industria de sabores y fragancias, lo cual se mencionó en el apartado anterior. El segundo, es el que se interesa por sus componentes aislados o no.

Si bien los AEs son los extractos más complejos por su composición química, debido a su baja temperatura de ebullición, son los más fáciles de aislar o purificar. Una planta cultivable, cuya esencia contiene pocos componentes mayoritarios, constituye un material fácilmente purificable, de relativa alta pureza que al ser una fuente renovable, es

barata y está disponible en cantidad suficiente. Estas características, junto a la variabilidad genotípica de las plantas aromáticas, hacen de los AEs una excelente fuente de materias primas para la industria.

Muchas veces los componentes responsables de las cualidades olfativas o sápidas de interés, se encuentran en pequeñas proporciones en el AE. Tal es el caso del AE de limón, en el que los compuestos con mayor significancia olfativa se encuentran en muy bajas proporciones, por ejemplo el geranial (2,00 % de abundancia relativa y 164 de significancia relativa en el olor de la esencia). Otros ejemplos para esta esencia y de los cuales se expresan sus abundancias y significancias relativas, respectivamente, son: neral (1,30 %; 8,2); linalol (0,18 %; 48,1); nonanal (0,12 %; 10,7); citronelal (0,13 %; 9,4); octanal (0,10 %; 9,4); acetato de nerilo (0,52 %; 7,3).

Se advierte que lo importante es identificar claramente cuál o cuáles de los constituyentes de un AE son los responsables ya sea de la calidad organoléptica o de las propiedades químicas o biológicas de interés para la industria. Si los constituyentes de interés son los principales, su aislamiento o concentración se puede hacer por los procesos industriales clásicos. Pero si éstos son minoritarios o se hallan en trazas, su aislamiento es poco rentable. De todos modos hay un marcado interés por aislar y conocer exhaustivamente las moléculas responsables de las propiedades útiles para la industria, para, con la ayuda de la química fina, sintetizar estas moléculas a partir de materias primas asequibles y con mecanismos de síntesis que resulten competitivos a nivel del mercado internacional. Esto no siempre se logra y es allí cuando estos productos naturales son irreemplazables por la industria química; son ejemplos la esencia de vetiver o de patchuli. La dilucidación estructural de una molécula natural responsable de una propiedad organoléptica, permite buscar otras estructuras similares, modificarlas o sintetizarlas químicamente para lograr el mismo o similar efecto. Un ejemplo de esto ha sido el aislamiento y reconocimiento de la estructura del jasmonato de metilo a partir del absoluto de jazmín y como este compuesto es muy escaso en la naturaleza se ha desarrollado la síntesis de un derivado: el dihidrojasmonato, con un olor semejante, para ser usado en la industria de fragancias. Inicialmente el producto sintético era la mezcla de dos isómeros, pero luego se consiguieron los isómeros por separado. El descubrimiento del jasmonato

en la naturaleza fue importante en el mundo académico, pero la síntesis de su imitación fue un éxito comercial.

Algunos componentes terpenoides tales como el alcanfor, α y β pineno, 1,8-cineol, dipenteno y ácido abscísico, (Sampietro, 2010), presentes en AEs, son útiles como materia prima para otras ramas industriales por sus propiedades alelopáticas o farmacológicas (Bandoni, 2003).

I.1.1.9.2 Futuras Aplicaciones.

La capacidad citotóxica de los AEs basada en una actividad prooxidante, puede convertirlos en excelentes agentes antisépticos y antimicrobianos contra ciertos patógenos o parásitos humanos. Pueden formar parte de la formulación de productos ya sea para la higiene personal, para el consumo interno por vía oral o para purificar el aire de distintos ambientes.

La efectividad de los AEs o algunos de sus constituyentes contra una gran variedad de organismos incluyendo bacterias (Abbaszadegan et al., 2016; Basile et al., 2006; Celikel y Kavas, 2008; Holley y Patel, 2005; Hüsnu¨ Can Baser et al., 2006), virus (Duschatzky et al., 2005), hongos (Cavaleiro et al., 2006; Dambolena et al., 2011; Hammer et al., 2002, Pawar y Thaker, 2006; Soylu et al., 2006; Velluti et al., 2003, 2004), protozoos (Monzote et al., 2006), parásitos (Dos Santos Salesa et al., 2018; Moon et al., 2006), ácaros (Attia et al., 2012; Sertkaya et al, 2010), larvas (Amer y Mehlhorn, 2006a, b; Hierro et al., 2004; Leyva, et al., 2009), gusanos, insectos (Cárdenas Castro, 2013; Cheng et al., 2007; Ebadollahi y Mahboubi, 2011; Kounink et al., 2007; Liu et al., 2006; Park et al., 2006) y moluscos (Coutinho et al., 2007), los convierten en ingredientes prometedores para la formulación de pesticidas específicos para ser aplicados en agro-veterinaria y para la conservación de cultivos o reservas de alimentos.

I.1.2. Aspectos generales y especificaciones de la especie *Cuminum cyminum* L.

I.1.2.1 Historia, Procedencia y Origen del Nombre.

La planta de comino o jeera, es una hierba originaria de la cuenca del Mediterráneo, particularmente del norte de Egipto (Grieve) y Siria, aunque otros autores también la ubican como originaria de Turkestán (Hager) (Curioni y Arizio, 1997; Panda, 2010; Tunçtürk y Tunçtürk, 2006) que luego se extendió a varias regiones áridas y semiáridas del mundo, incluyendo Oriente Medio, India, Turquía, Irán, Palestina y a diferentes partes de Pakistán (Hajlaoui et al., 2010, Moghaddam et al., 2014). Posteriormente los árabes llevaron la planta a Europa y se adaptó muy bien en España.

Los principales productores de semillas de comino incluyen India, Pakistán, Egipto, Iraq, Marruecos, Turquía, Siria, Sicilia, Yugoslavia, Bulgaria, Malta, Sudán, Checoslovaquia, China e Indonesia (Baser et al., 1992; Zohary y Hopf, 2000).

Actualmente el uso del comino está muy difundido en toda América, aunque no está claro quienes lo introdujeron. Se piensa que los españoles y portugueses que colonizaron las tierras americanas trajeron consigo muchas plantas y fundamentalmente semillas, entre ellas podría haber ingresado esta especie que no tan sólo era valiosa por su uso en la cocina sino por sus propiedades medicinales (Divakara Sastry y Muthuswamy Anandaraj, 2011). También es sensato pensar que las grandes colectividades de árabes, turcos, sirios y libaneses que llegaron a América y particularmente a Argentina trajeron consigo sus más preciadas especias, entre ellas el comino. También se cultiva en México y Chile (Azeez, 2008).

En Argentina, la especie fue introducida en regiones de clima templado o templado cálido, convirtiéndose los valles áridos intermontanos de altura de las provincias de La Rioja, Catamarca y Salta, en las principales zonas productoras de comino del país. La superficie implantada con comino es de aproximadamente 500 ha (Sánchez et al., 2010), lo que implica alrededor de 500 toneladas anuales (Sánchez, 2012). Di Paola, (?) cita datos de la Dirección Nacional de Alimentos (2006), que indican que en el año 2005 sólo se exportaron 17,53 toneladas de comino y se importaron 117 toneladas. Por otro lado, Cameroni (2012), cita fuentes de Aduana que indican que Argentina exportó,

en el año 2011, 2,1 toneladas de comino e importó, en el mismo año, 234 toneladas. La cantidad de comino producido en Argentina por año, frente a la cantidad importada, indica que la producción nacional sólo alcanza a abastecer entre el 50 % y 60 % del mercado interno argentino.

No es casual que en el Noroeste Argentino y particularmente en el Oeste catamarqueño, donde está el mayor asiento de las comunidades de origen árabe y turco de la provincia, el cultivo de comino constituye una actividad ancestral y forma parte de la cultura productiva de la zona. Además, las condiciones edafoclimáticas de esta región de Catamarca guardan similitudes con las zonas del norte de África y de Oriente Medio de donde es originario el comino.

Debido a las excelentes condiciones de clima y suelo que presenta la provincia de Catamarca para el cultivo de comino, se ubica, en el contexto nacional, como una de las principales productoras junto a Salta y La Rioja. Los departamentos de Catamarca tradicionalmente comineros son Belén, Pomán, Tinogasta, Santa María y Andalgalá; aunque aproximadamente a partir del año 2010 se incorporó al contexto productivo, el departamento Capayán (Quiroga et al., 2016). En La Rioja se lo cultiva en el departamento Arauco y en Salta, en los Valles Calchaquíes: Cafayate, Cachi, La Poma, San Carlos, Candelaria y en el Valle de Lerma: La Viña, Guachipa y Cerrillo (Sánchez, 2012).

El primer exportador de comino a los Estados Unidos fue Irán, antes de las restricciones llevadas a cabo en 1979, suplidas luego, sobre todo, por Turquía, India y China. Hacia el año 2009 la mayor producción de comino procedía de los estados Rajastán y Gujarat, India (Shivakumar et al., 2010).

Tanto el nombre genérico como el específico derivan del latin *cuminum* y que a su vez deriva de la palabra griega originaria kyminon que hace referencia a una Apiaceae parecida al kummel (Simonetti, 1990; Rai et al., 2012). Muñoz (1996) considera que el nombre genérico es una deformación de la palabra árabe Kamoun, Kamun, comino. También se lo conoce con el nombre de "madres de la alcaravea" pues en las regiones mediterráneas se lo emplea como sustituto de ésta. Tanto en Inglaterra como en Estados Unidos se lo llama comúnmente cumin (Brako et al., 1995).

El comino era una hierba muy valorada por las culturas del antiguo mundo y su utilización es mencionada en la Biblia, particularmente por Mateo (capítulo 23:23), el cual se refiere a su uso como diezmo "…pagad un diezmo de menta y anís y comino..." (Saksena y Saksena, 1984). También el profeta Isaías en el versículo 28:27 menciona la recolección del comino. El comino ya se mencionaba, aproximadamente por el año 1550 a.C., en una lista de plantas medicinales egipcias en el Papiro de la Yerbas. Plinio lo menciona al igual que otros poetas clásicos. Los papiros de Nahum, 1990 años a.C. y de Ebers, 1500 años a.C. contenían instrucciones terapéuticas, recetas y otras indicaciones de los vegetales mas utilizados, entre ellos el comino (EcuRed, ¿?).

También existen antecedentes indicando que en la antigua Mesopotamia, utilizaban el comino, junto con otras hierbas, semillas aromáticas y picantes, como ser la mostaza y el cilantro, etc., para condimentar carne vacuna, aves y cerdo (Oates, 1989). Respecto a su uso como conservante, ya desde el mundo antiguo, 5.000 años a.C., los egipcios y babilónicos empleaban el comino, anís y mejorana para momificar los cuerpos de los reyes (Divakara Sastry y Muthuswamy Anandaraj, 2011).

En la Edad Media, Hipócrates y Dioscórides describieron las propiedades medicinales del comino y su empleo se extendió a Europa y Asia, siendo reconocidos sus efectos positivos sobre la digestión. Aunque el AE de comino fue usado como medicina en el mundo antiguo, carece de importancia en la medicina occidental actual (Singh y Singh, 1996).

Teofrasto, el discípulo de Aristóteles, ya decía (hacia el año 300 a.C.) que el comino "es una de esas plantas que más crecen cuanto más las maldicen…" "Elimina los flatos y cura la dificultad de orinar".

El comino era símbolo de avaricia entre los antiguos griegos.

Durante la época medieval, en Alemania, se acostumbraba en las bodas, que los novios llevaran entre sus bolsillos, durante la ceremonia, comino, anís y sal, para asegurar la fidelidad entre ambos. Fue una de las especias más comunes en la Edad Media.

En nuestro país el comino se empezó a usar como condimento en las preparaciones culinarias a partir de la llegada de los españoles o quizás con las colectividades árabes o turcas, quienes lo trajeron, probablemente, de Europa o, con mayor seguridad, de Asia o Egipto.

I.1.2.2 Identificación taxonómica y descripción botánica.

La planta de comino cuyo nombre científico es *Cuminum cyminum* L. fue descrita por Carl von Linnaeus, y publicado en *Species Plantarum* 1: 254. 1753

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Equiseptosida (Agardh)
Subclase	Magnoliidae (Novák ex Takhtajan)
Superorden	Asteranae (Takhtajan)
Orden	Apiales (Nakai)
Familia	Apiaceae (Lindley)
Subfamilia	Apioideae
Tribu	Scandiceae
Subtribu	Daucinae
Género	*Cuminum* L.
Especie	*Cuminum cyminum* L.

Es una planta herbácea, anual, erguida, de la familia Apiaceae. Presenta una raíz pivotante de poca longitud, un tallo fino, erecto, glabro, ramificado desde la base que alcanza alturas comprendidas entre 20 y 50 cm, llegando a veces hasta el metro según las condiciones ambientales (Muñoz, 1996; Sánchez, 2012). Sus hojas de color verde claro laciniadas, son alternas, glabras, divididas en varios lóbulos (multífidas), casi filiformes de segmentos muy finos, inermes (Curioni y Arizio, 1997; Dimitri, 1988).

Las flores son pocas y pequeñas, hermafroditas y poseen un ovario ínfero (hipógino) de dos carpelos, unidos a éste se encuentran cinco sépalos de color verde y cinco pétalos de color rosado. Están agrupadas en umbelas compuestas provistas de involucro o involucelo, de muy pocos radios con 3 a 6 umbélulas rodeadas en la base de

hojitas bracteales también divididas en angostas lacinias, y con tres a cinco flores de color blanco o rosado en cada umbela (Dimitri, 1988; Kafi et al., 2006). En la Figura 15 se pueden observar las características de la planta.

El hábito de floración de esta especie es indeterminado, las umbelas se forman en distintos órdenes (Sehgal, 1966), la misma es desencadenada por el fotoperíodo al alargarse los días. Las umbelas de primer orden presentan un mayor porcentaje de flores hermafroditas, un mayor número de umbélulas y un mayor número de flores por umbélula, decreciendo estos valores para los órdenes más altos. Estos diferentes grados de maduración generan semillas de diferentes tamaños y con embriones diferentes lo que provoca una emergencia despareja y plántulas de diferente tamaño (Gray et al., 1984; Oliva et al., 1988).

El polvo de comino o comino molido, y el polvillo que se observa cuando se tienen frutos semillas maduros y secos acumulados, ya sea a granel o en bolsas, a la observación microscópica presentan: restos de pelos cónicos, pluricelulares, pluriseriados; fragmentos de canales secretores, de color pardo amarillento; abundantes células esclerosas, distribuidas en el mesocarpio; resto de albumen cuyas células, de paredes espesas, contienen aleurona, aceite y cristales de oxalato de calcio en forma de rosetas. No contiene gránulos de almidón. El polvo presenta olor y sabor aromático, ligeramente alcanforado (Rai et al., 2012).

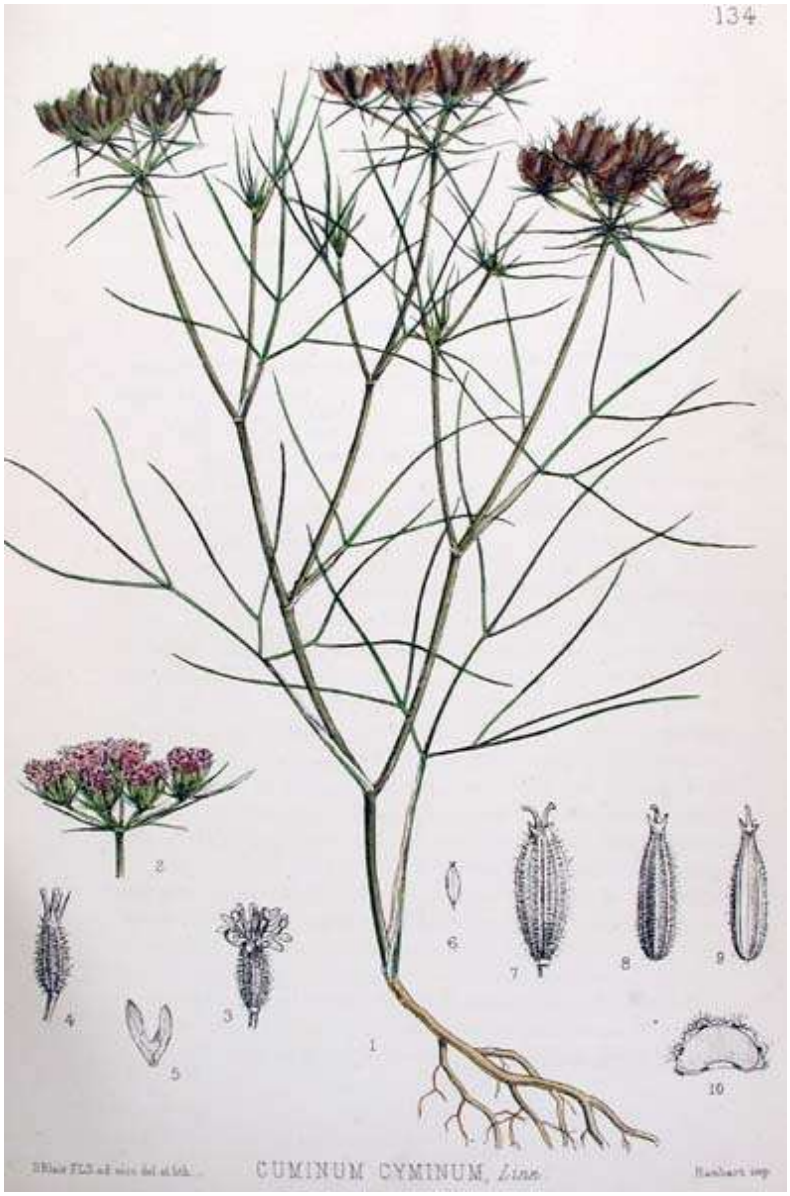


Figura 15. Planta de comino y sus distintas estructuras botánicas.

Fuente: Bentley, Robert and Henry Trimen. Medicinal Plants; being descriptions with original figures of the principal plants employed in medicine and an account of the characters, properties, and uses of their parts and products of medicinal value. London, Churchill, 1880. (WZ 295 B556m 1880) Online: image (context), Dominio público, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=60634 Creado el: 31 de diciembre de 1879.

I.1.2.2.1 Características de los frutos-semillas.

El fruto es un diaquenio (esquizocarpo) comúnmente llamado "semilla", constituido por dos mericarpios uniseminados y glabros que permanecen unidos después de la desecación. Presenta color cuero verdoso o marrón claro pajizo, de forma ovoide, alargada, ligeramente comprimido lateralmente, coronado por las cinco divisiones del

cáliz y de un estilo terminado en dos ramificaciones redondeadas en su extremidad. La semilla contiene un embrión anátropo de reducido tamaño. Presenta un olor fuerte característico y un sabor picante poco agradable y menos fino que la alcaravea (Curioni y Arizio 1997; Quiroga y Luna, 1999; Trease, 1976).

En cada pericarpio se notan cinco costillas primarias, poco salientes, de color blanco, a menudo cubiertas de pelos cortos y cuatro costillas secundarias, más pronunciadas, con pelos duros y aguijones que dan al fruto su aspecto característico. Al corte transversal se observa: el epicarpio, formado por una hilera de células poligonales; el mesocarpio presenta cinco fascículos fibro-vasculares, situados debajo de cada costilla primaria y seis canales secretores, situados cuatro debajo de las costillas secundarias y los dos restantes, sobre la cara interna del pericarpio; el endocarpio formado por una hilera de células poligonales, bastante regulares, alargadas. El tegumento seminal, compuesto por una capa de células irregulares parduzcas, de paredes onduladas y el albumen constituido por células poligonales, que encierran aleurona y gotitas oleosas. Los pelos de las costillas primarias están formados por una sola célula cónica y los aguijones de las secundarias por varias series de células poligonales.

Existe escasa literatura que especifique el tamaño y peso de los frutos-semillas del *C. cyminum*. Respecto al tamaño, se menciona un largo de semilla de 4 a 6 mm y un espesor de 1,5 a 2 mm (Curioni y Arizio, 1997; Murúa, 2012; Quiroga y Luna, 1999; Trease, 1976). Cuando se habla del peso, se refiere a 1000 semillas y se expresa en gramos (g). Para el comino egipcio se ha mencionado un peso medio de 2,33 g (Curioni y Arizio, 1997), considerablente menor al reportado para el comino criollo, variedad denominada Sumalao Nº1, desarrollada por el INTA-Catamarca y registrado en el Instituto Nacional de Semillas (INASE) en 1983, con un peso medio de 3,51 g (Curioni y Arizio, 1997; Paunero, 1992; Ratti, 1984; Sánchez, 2012). La variedad Sumalao Nº 1 es de uso libre, pero por el tiempo transcurrido y el modo de cruzamiento de esta especie, es muy posible que actualmente no mantenga los caracteres originales (Sánchez, 2012). Estudios realizados sobre el comino de los distintos departamentos de la provincia de Catamarca, Argentina, señalan un peso medio de 4,24 g para el comino procedente de Santa María, 4,67 g para el comino procedente de Belén y 2,94 g para el comino de Pomán. Según este parámetro los autores identificaron a los cominos de Belén y Santa María como variedad

criolla y al de Pomán como variedad egipcia (Martínez et al., 2004). Posteriormente se estudió el comino de cosechas 2008 y 2009 de los departamentos productores y se encontró, según el peso de 1000 semillas, que todos los productores trabajaron con comino criollo. En este estudio el peso de 1000 semillas fue de 4,52 g (Belén); 4,35 g (Santa María); 4,33 g (Pomán); 3,45 g (Valle Viejo) y de 3,24 g (Tinogasta) (Cabrera et al., 2012).

En cuanto a la composición química de las semillas, el agua es un componente natural y su contenido es una de las principales variables que se tiene en cuenta cuando se evalúa la calidad de la especia. Conocer el contenido medio de humedad de una muestra de comino es fundamental para calcular otras variables sobre base seca (bs) como el contenido de AE, la fibra bruta, el extracto etéreo, el contenido mineral, las cenizas totales y cenizas ácido insolubles, etc. Valores de humedad o contenido de agua elevados (mayores al 12 % p/p), generan condiciones propicias para que las semillas se contaminen con hongos y levaduras y sean atacadas por insectos plaga, mientras que la humedad extremadamente baja, (menor al 3 % p/p), facilita la pérdida de compuestos volátiles. La literatura menciona valores de humedad de los frutos de comino de distintos países inferiores al 9 % p/p, (Moawad et al., 2015; Rai et al., 2012; Tainter y Grenis, 1993). Para cominos de Catamarca, Argentina, se registraron porcentajes de humedad que varían entre 3,95 % a 8,80 % (Cabrera et al., 2012; Martínez et al., 2004).

Los valores de cenizas totales (CT) nos brindan información sobre el contenido mineral total presente en la muestra de comino, incluída la sílice que se la vincula a la tierra o arena presente en el producto. Valores anormalmente altos de CT pueden indicar la presencia anormal de partes leñosas y de sílice en la muestra, ya sea por adulteración intencional o por limpieza deficiente. Las cenizas ácido insolubles (CI) indican, básicamente, el contenido de sílice de la muestra, por lo que constituye un muy buen indicador de limpieza. Se han reportado valores de CT en bh que van de 5,66 % p/p a 12,93 % p/p y en bs, de 6,16 % p/p a 13,69 % p/p; mientras que las CI en bh van de 0,69 % p/p a 3,75 % p/p y en bs de 0,74 % p/p a 4,00 % p/p (Martínez et al., 2004; Moawad et al., 2015; Quiroga et al., 2017; Rai et al., 2012; Kafi, 2002). Para el caso de cominos de Catamarca, los valores elevados de cenizas en bs (13,69 % para CT y 4,0 % CI) (Martínez et al., 2004), encontrados en comino de Pomán, se correspondieron con evidencia visible

de tierra adherida a los granos, causado por lluvia previa a la cosecha. De todos modos, no es común encontrar estos valores y sólo se debió a un problema puntual. La mayoría de los estudios señalan valores de CT y CI por debajo de los límites máximos indicados por la Organización Internacional de Normalización (ISO: 6465:2009) para las semillas de comino secas (8,5 % - 12 % y 1,5 % - 4 %) según los grados de calidad, respectivamente.

La fibra bruta es otra variable indicadora de limpieza y pureza del grano, pues cantidades anormalmente altas de partes leñosas de la planta de comino (tallos y hojas) o de otras plantas, se traducen en valores elevados de fibra bruta e indican adulteración. Sin embargo, la legislación que regula la calidad de la especia no contempla esta variable y son escasos los trabajos que tienen en cuenta esta característica. Moawad et al., (2015) determinaron fibra cruda o bruta de comino egipcio y reportaron 21,82 ± 0,13 % p/p en bh y 23,57 ± 0,13 % p/p en bs. En variedades paquistaníes se informaron cantidades elevadas de fibras (37,2 % p/p) (El-Ghorab et al., 2010) dependiendo de las variedades. En cultivares de Catamarca, Argentina, se encontraron valores de fibra bruta que van de 9,61 % p/p a 18,03 % p/p en bh y de 10,17 % p/p a 18,77 % p/p en bs (Martínez et al., 2004).

El extracto etéreo es una variable de interés que se correlaciona positivamente con el contenido de AE y negativamente con la fibra bruta, además es una medida del contenido de materia grasa. Para comino se reportaron valores de extracto etéreo de 11,44 ± 0,20 % p/p en bh y 12,36 ± 0,23 % p/p en bs (Moawad et al., 2015), del 10 % (Gopalan et al., 1989; Li y Jiang, 2004), mientras que cominos de Catamarca presentan valores de 19,60 % p/p a 22,63 % p/p en bh y 20,41 % p/p a 23,95 % p/p en bs (Martínez et al., 2004).

Otras variables consideradas fueron el extracto alcohólico (6,5 % p/p) y el extracto acuoso (13,0 % p/p) (Rai et al., 2012).

En algunos casos los carbohidratos totales se calcularon por diferencia y fueron 55,58 % p/p en bh y 60,05 % p/p en bs (Moawad et al., 2015), aunque otros trabajos reportan valores de 48,01 % (Farhath et al., 2001).

El contenido de proteína, tanto en bh como en bs de semillas de comino egipcio fue (18,40 % y 19,88 %, respectivamente) (Moawad et al., 2015). Otros estudios de comino dieron valores similares de proteínas 19 % (Gopalan et al., 1989), 18,7 % (Emam, 2001), 17,7 % (Farhath et al., 2001) y 15,7 % (El-Ghorab et al., 2010).

En los últimos años ha habido un interés creciente en monitorear el contenido de los elementos químicos esenciales presentes en las hierbas y especias. En las semillas de comino, el nivel de macroelementos esenciales responde al siguiente orden expresado en g /100 g: K (3,51 ± 0,52) > P (0,56 ± 0,01) > Mg (0,23 ± 0,05) > Ca (0,22 ± 0,02) > Na (0,11 ± 0,01) y el nivel de microelementos esenciales expresado en mg / 100 g es: Fe (357 ± 7,24) > Mn (70 ± 2,22) > Zn (69 ± 1,13) > Cu (33 ± 1,34) (Moawad et al., 2015). Otros informes también coinciden en que las semillas de comino son ricas en K, Ca, Na, Fe y Zn (Hamad et al., 2012) y que podría considerarse al comino como una fuente interesante de estos minerales (Milan et al., 2008).

Estudios fitoquímicos de las semillas mostraron que el *C. cyminum* contiene monoterpenos, alcaloides, antraquinona, cumarina, flavonoide, glucósido de alquilo, proteína, aminoácidos libres, azúcares, almidón, resina, saponina, tanino, lactona sesquiterpénica y esteroide (Ishikawa et al., 2002; Rai et al., 2012; Yetim et al., 2008). Los polifenoles totales encontrados en comino, expresados como ácido gálico equivalente (GAE) en bs fueron 4,98 ± 0,31 (mg GAE/g bs) (Vallverdú-Queralt et al., 2014). También se aislaron de las semillas de *C. cyminum*, los fenoles (ácido salicílico, ácido gálico, ácido cinámico, hidroquinona, resorcinol, ácido p-hidroxibenzoico, rutina, cumarina, quercetina) y otros ácidos orgánicos tales como ácido fítico, aspártico, cítrico, málico, tartárico, propiónico, ascórbico, oxálico, maleico y fumárico (Hashum y Al-Hashemi, 2014).

Se investigaron los contenidos totales de fenoles, flavonoides y taninos en las raíces, tallos, hojas y flores de *C. cyminum*. En todos los órganos de la planta el contenido de fenoles totales varió de 11,8 a 19,2 (mg de GAE/g bs). Entre los polifenoles estudiados, 13 se identificaron en las raíces, 17 en el tallo y las hojas, y 15 en las flores. El principal compuesto fenólico en las raíces fue la quercetina (26 %), mientras que en los tallos y las hojas predominaron los ácidos p-cumárico, rosmarínico, trans-2 dihidrocinámico y el

resorcinol. En las flores, el ácido vainillico fue el compuesto principal (51 %) (Bettaieb et al., 2010).

Un total de 19 compuestos fenólicos se identificaron con éxito durante la maduración de las semillas de comino. El ácido rosmarínico fue el principal ácido fenólico para las semillas verdes, mientras que en las semillas semi maduras y maduras predominaba el ácido p-cumárico (Rebey et al., 2014).

En 2 g de semillas de comino hay 7,50 calorías, de las cuales, 4,00 calorías son de grasas y sólo 0,28 de estas calorías son de grasas saturadas. Contiene 0,36 g de proteínas, 0,88 g de carbohidratos, 0,22 g de fibras dietéticas; 0,44 g de grasas totales. Contiene 0,16 g de agua; 0,16 g de ceniza; 25,40 (UI) de vitamina A; 2,54 (RE) de vitamina A; 2,54 (RE) de α-carotenoide; 15,24 (μg) de beta caroteno; 0,02(mg) de tiamina-B_1; 0,10 (mg) de niacina-B_3; niacina equivalente 0,10; vitamina C 0,16; 0,02 (mg) de vitamina E; 0,20 (μg) de folato; vitamina K (μg) 0,11; calcio (mg) 18,62; cobre (mg) 0,02; hierro (mg) 1,32; magnesio (mg) 7,32; manganeso (mg) 0,06; fósforo (mg) 9,98; potasio (mg) 35,76; selenio (μg) 0,10; sodio (mg) 3,36 y zinc (mg) 0,10 (Parthasarathy et al., 2008).

El análisis fitoquímico del extracto metanólico de los frutos de *C. cyminum* condujo al aislamiento de un éster de ácido graso identificado como n-tricosanil n-octadec-9-enoato (n-tricosanil oleato) (Figura 16) y de cinco constituyentes terpénicos y esteroidales caracterizados como 1,4,5,8-tetrahidroxinaftil-geranilan-10'-al1'-oate (Figura 17); lanost-5,20(22)-dien-3α-olil n-docosanoato (Figura 18); labdan-6α, 16,20 triol-16- (10', 11'-dihidroxiantraquinona -2'-oate) (Antraquinoato de trihidroxi labdanilo) (Figura 19); β-Sitosteryl-3-Oβ-D-arabino-2'-benzoate (β-sitosterol 3-O-arabinobenzoato) (Figura 20); y lanost-5, 24-dien-3β-ol 3β-OD- arabinopironosil-2'-n-octadec -9", 12"-dienoato (lanostdienyl arabinolinoleiate) (Figura 21). La presencia de estos fitoconstituyentes se informaron por primera vez en frutos de *C. cyminum* y sus estructuras se establecieron sobre la base del análisis de datos espectrales (Chaudhary et al., 2014).

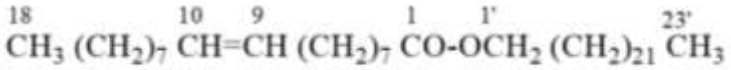


Figura 16. n-Tricosanyl oleate.

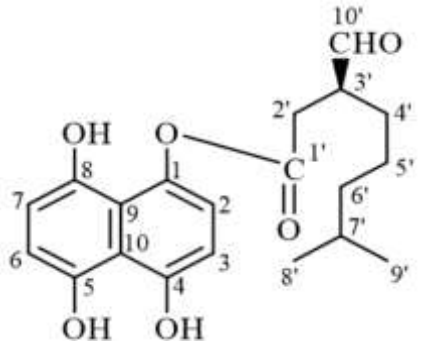


Figura 17. Tetrahydroxynaphthyl geranilan-10'-al-1'-oate.

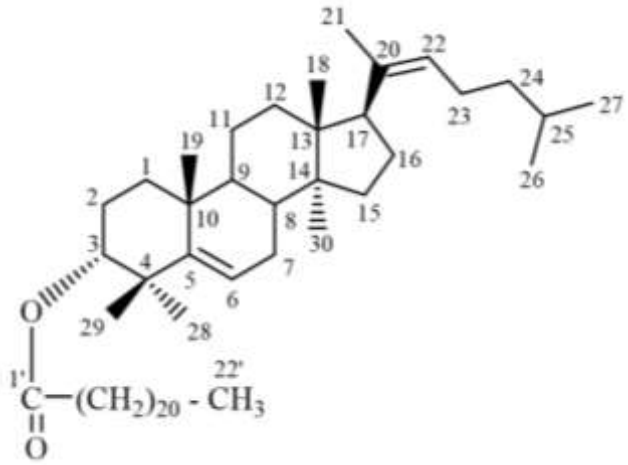


Figura 18. Lanostdienyl-n-docosanoate.

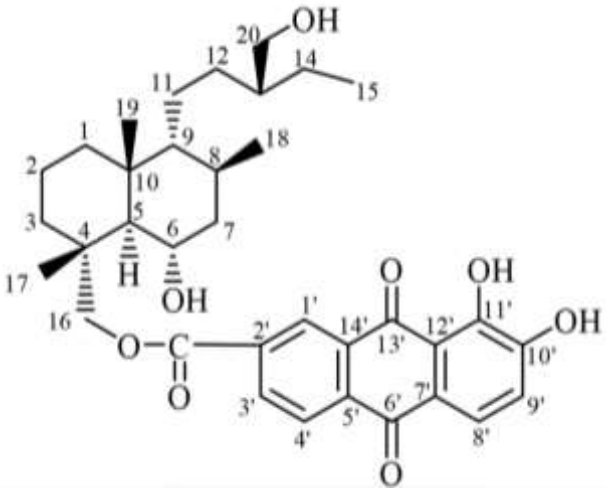


Figura 19. Antraquinoato de trihidroxi labdanilo.

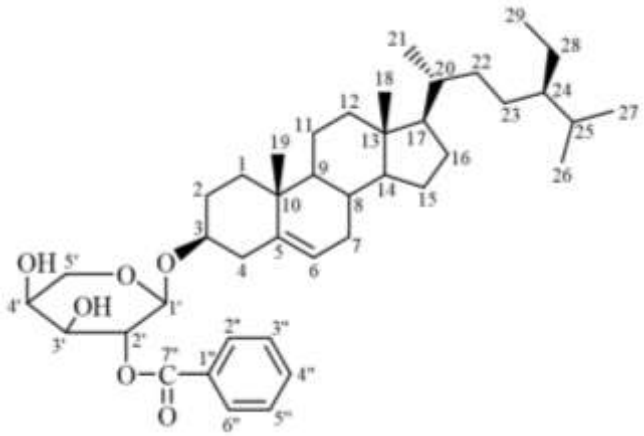


Figura 20. β-Sitosteril-3-Oβ-D-arabino-2'-benzoato.

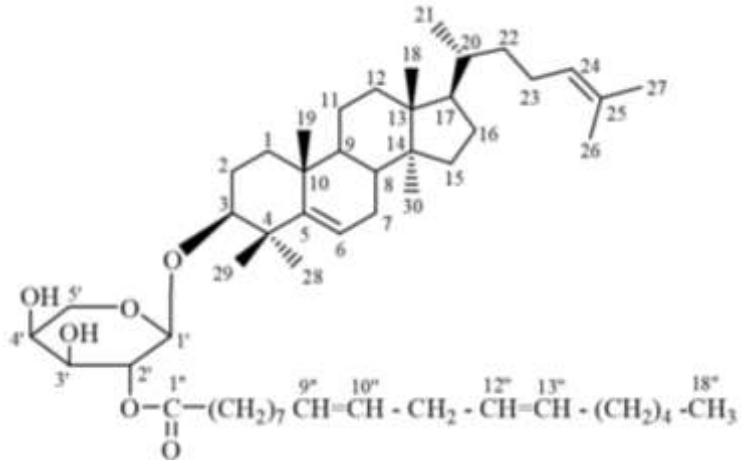


Figura 21. Lanostdienyl arabinolinoleiate.

En cuanto al conocimiento de los lípidos presentes en el comino se puede decir que el rendimiento del aceite extraído con una mezcla de disolventes, cloroformo: metanol (2:1 v/v), fue del 18,7 %. El aceite se clasificó en hidrocarburo 1 %, ésteres de cera 1 %, éster de esterol 25 %, triglicéridos 55 %, 1,3 diglicéridos 1 %, 1,2 diglicéridos 1 %, monoglicéridos 2 %, ácido graso libre 10 %, fosfatidil-etanolaminas 2,0 %, fosfatidilcolina 1,2 %, lisofosfatidil-etanolaminas 0,6 % y fosfatidinositol 0,2 %. El bajo valor de ácido graso libre y el alto porcentaje de triglicéridos es la propiedad básica del aceite comestible, por lo que el aceite de comino es apto para fines comestibles en función de su composición de ácidos grasos. El análisis por CGL de los lípidos totales indica que la cantidad de ácido oleico fue máxima (65,87 %), el ácido linoleico fue el segundo ácido insaturado principal (18,67 %) presente en el aceite con la menor cantidad de ácido saturado excepto el ácido palmítico (11,69 %). Se considera al aceite de comino como una buena fuente de ácido petroselínico (51,7 %) según su composición de ácidos grasos y en general se encontró el rango de ácido graso de C10 a C20 (Shahnaz et al., 2004). El ácido graso esencial C18: 2 puede ser precursor de las prostaglandinas que se encuentran en las glándulas genitales accesorias, plasma seminal y tejidos pulmonares del cuerpo humano y, por lo tanto, desempeñan un papel vital en la salud de una persona (Gunstone, 1967).

Los frutos de comino son ricos en AE. Los rendimientos reportados para AE de cominos de distintas procedencias, extraídos por hidrodestilación de las semillas y expresadas en mL de AE por cada 100 g de especia seca fueron de 2,3 % a 5,7 % (Gachkar et al., 2007; Gohari and Saeidnia, 2011, Hajlaoui et al., 2010; Li y Jiang 2004). Para comino egipcio, 3,76 % ± 0,18 % (Moawad et al., 2015); para comino búlgaro 5,3 % (Jirovetz et al., 2005); para comino Chino del 2,61 % al 4,1 % (Wu et al., 2011); para comino pakistaní del 2,52 % ± 0,11 % (El-Ghorab et al., 2010); y para comino de Catamarca, Argentina se han encontrado rendimientos que van de 3,24 % a 5,09 % (Cabrera et al., 2012; Martínez et al., 2004).

I.1.2.2.2 Estándares de calidad de los frutos-semillas.

Los estándares de calidad utilizados por los organismos nacionales e internacionales y que constituyen los referentes autorizados para normalizar los productos

y sus derivados son: la Organización Internacional para la Estandarización comúnmente conocida como ISO (International Organization for Standardization) y el AFNOR (Association Française de Normalisation). En Argentina, el Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM) es el representante del país en la ISO, en la Comisión Panamericana de Normas Técnicas (COPANT) y en la Asociación Mercado Común del Sur (MERCOSUR) de Normalización (AMN). Para el caso particular de alimentos, el Código Alimentario Argentino (C.A.A.), también brinda un marco legal prescriptivo y normativo para la regulación y control.

En el C.A.A, el tema sustancias aromáticas se incluye en el Capítulo XVI – Correctivos y Coadyuvantes junto a condimentos vegetales, salsas, hongos, aderezos, etc. En el artículo 1217: "Con los nombres de Comino, Comino común o de España, se entiende el fruto sano, limpio y seco del *Cuminum cyminum* L.". El comino deberá responder a las siguientes condiciones: no tener más de 12 % de cenizas totales a 500-550 °C, 4 % de cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %, ni menos de 1,5 % de esencia.

La Norma Internacional ISO 6465:2009 especifica los requisitos para los frutos-semillas del comino (*C. cyminum* L.) y expresa una breve descripción sobre la forma y apariencia y sobre el aroma y sabor. Se menciona que el aroma debe ser característico, aromático y no mohoso.

Respecto de los requisitos hace referencia a:

Ausencia de hongos, insectos, etc.: los cominos enteros y molidos, deben presentar ausencia de insectos vivos y contaminación por mohos, y prácticamente ausencia de insectos muertos, fragmento de insectos y contaminación por roedores apreciable a la vista (corregido si es necesario para una visión anormal) o con aumento si es necesario para casos particulares. Si el aumento es superior a x 10, debe indicarse en el informe del análisis.

Materias extrañas y ajenas: el contenido en materia extraña se determina según el método descrito en la Norma ISO 927. Los máximos permitidos según la categoría se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Categorías para comino entero.

Categoría	Contenido en materia extraña, máx. % fracción en masa	Contenido en materia ajena, máx. % fracción en masa	Proporción de fruto dañado/defectuoso, máx. % fracción en masa	Materia dañada por insectos, máx. % fracción en masa
I	1	0,5	5	1
II	2	0,5	5	1
III	3	0,5	5	1

Clasificación: los cominos pueden clasificarse en función de su origen, y en tres categorías de acuerdo al contenido en materias extrañas y la proporción de frutos rotos. Se consideran frutos rotos los dañados, descascarillados, descoloridos o inmaduros.

Las especificaciones químicas, según la categoría, se muestran en la Tabla 2. Como requisito microbiológico expresa que la Salmonella debe estar ausente en 25 g de producto cuando se analiza siguiendo las especificaciones de la Norma ISO 6579.

Tabla 2. Requisitos químicos.

Características	Requisitos para la categoría			Método de análisis
	I	II	III	
Humedad, % fracción en masa, máximo	9	10	12	ISO 939
Cenizas totales, % fracción en masa, (en base seca) máximo	8,5	10	12	ISO 928
Cenizas insolubles en ácido, % fracción en masa, (en base seca) máximo	1,5	3	4	ISO 930
Extracto etéreo no volátil, % fracción en masa, (en base seca), mínimo	15	15	12	ISO 1108
Aceite volátil, mL/100g (en base seca) mínimo	2	1,5	1,5	ISO 6571

La Norma ISO 6465:2009, también establece la metodología de muestreo y preparación de la muestra, los métodos de análisis (Tabla 2) y las condiciones de envasado y etiquetado. En el Anexo A de esta Norma se brindan recomendaciones sobre las condiciones de almacenamiento y transporte.

I.1.2.3 Aceite Esencial de comino.

I.1.2.3.1 Obtención y determinación del rendimiento.

La cuantificación total del AE contenido en las semillas se realiza por el método de hidrodestilación. Para la destilación se muelen previamente los frutos de comino y se dispersan en agua destilada en una relación de 20 g de frutos/500 mL de agua en un balón de vidrio de 1000 mL y se hidrodestila durante 4h con un régimen de destilación de 3 a 4 mL / minuto y el volumen se mide usando xylol (Steinegger y Hansel, 1972). También se encontraron rendimientos óptimos de AE de comino por hidrodestilación con cohobación, empleando una trampa Clevenger con dedo frío como refrigerante de acuerdo con la farmacopea británica y dispersando los frutos previamente molidos en agua destilada o potable con una densidad de carga (peso de comino molido/volumen de agua) de 0,05 g / mL, relación de carga del balón (volumen de carga / capacidad del balón) de 1/3 o 1/2, tiempo de destilación efectiva de 4 h o 5 h y un régimen de 40 gotas por minuto (Quiroga et al., 2016; Romero y Quiroga, 2014).

Estas condiciones de trabajo responden mayormente a las especificaciones dadas en la norma internacional ISO 6571:2008, obteniéndose iguales resultados, aunque los sistemas de condensación empleados en ambos casos tienen diferentes arquitecturas, pero el mismo fundamento. La farmacopea argentina se basa en la norma ISO 6571:2008 para la cuantificación de AE y por lo tanto emplea la trampa que propone esta norma y que se corresponde con el aparato descrito en la farmacopea europea y española.

I.1.2.3.2 Características organolépticas y propiedades físicas.

El AE de comino recién destilado es incoloro o amarillo pálido (Chaudhari et al., 2014 b), pero con el tiempo toma color ámbar o ámbar oscuro. El índice de refracción a 20 ºC va de 1,4700 a 1,5150; la densidad relativa a 20 ºC va de 0,9000-0,9400; la rotación

óptica a 20 ºC va entre +1º y +9º; la solubilidad en etanol al 80 % v / v a 20 ºC 1: 1,3-1: 2 o bien 4 volúmenes mínimo y 8 volúmenes máximo. El porcentaje de aldehído o compuestos carbonílicos expresados como aldehído cumínico va de 35 % a 63 % (Gohari y Saeidnia, 2011), aunque la norma ISO 9301:2003 es más restrictiva y requiere valores que van de 45 % a 58 %. En la norma IRAM-SAIPA Nº 18 571 se especifican los valores máximos y mínimos y los métodos de ensayo para los estándares físicos y químicos del AE de comino otorgando rangos más amplios que los especificados en el C.A.A., como es el caso del mínimo de 35 % p/p y máximo de 66 % p/p para los compuestos carbonílicos expresados como aldehído cumínico. La acidez (sobre la base de ácido cuminico): 0,36-1,8, porcentaje de alcohol (sobre la base de cuminol): 3,5; índice de carbonilo: 9,32 e índice estérico: 19,24. El olor es intenso, algo graso y herbáceo y se debe principalmente a los aldehídos presentes (Gohari y Saeidnia, 2011; Norma ISO 9301:2003).

Los AEs de comino de producciones de diferentes años y cultivares de Catamarca, Argentina, presentaron valores medios de densidad relativa a 20 ºC comprendidos entre 0,8982 y 0,9257. Los índices de refracción medios variaron entre 1,4941 y 1,5033 (Cabrera et al., 2012; Fuentes et al., 2008; Quiroga y Luna 1999; Quiroga et al., 2017; Soriano et al., 2017). En todos los casos los AEs recién destilados fueron casi incoloros o amarillo pálido. De acuerdo a los valores encontrados de densidad e índice de refracción, los AEs de comino de Catamarca cumplen con las exigencias de la norma ISO 9301:2003 para estos requerimientos y sólo en una oportunidad se registró una densidad inferior a la requerida por la norma. Sin embargo, en ningún caso el AE recién destilado fue de color marrón oscuro o ámbar oscuro como dice la norma, aunque otros autores también describen al AE de *C. cyminum* como incoloro o amarillo pálido (Borges y Pino, 1993; Kafi, 2002).

I.1.2.3.3 Composición química.

Existe una gran cantidad de estudios que describen el rendimiento y la composición química del AE de comino y se advierte una amplia variabilidad que seguramente depende de las variedades botánicas, el origen geográfico, el tipo de cultivar, las labores agrícolas, las condiciones de suelo y clima, el tiempo y forma de cosecha,

limpieza y acondicionamiento del grano, el método de extracción, las condiciones de almacenamiento, etcétera (Gohari y Saeidnia, 2011).

Se encontraron distintos quimiotipos para los AE de comino, entre ellos trans dihidro carvona (31,11 %) para comino de Delhi (Chaudary et al., 2014 b); γ-terpineno (29,1 %), (Borges y Pino, 1993), p-menta-1,4-dien-7-al (27,4 %), (Iacobellis, N. S. et al., 2005), cuminal (31,40 – 32,99 %) para comino de Valle Viejo y Pomán respectivamente, (Fuentes et al., 2008; Quiroga y Luna 1999), y para comino de Túnez, cuminal (39,48 %) (Hajlaoui et al., 2010).

El AE de muestras de comino tomadas del Jardín Botánico Nacional de Irán fueron analizadas por Gachkar et al. (2007) y aislaron 32 compuestos, siendo los más abundantes el α -pineno (29,1 %), limoneno (21,5 %), 1,8 cineol (17,9 %), linalool (10,4 %), α -terpineol (3,7 %), acetato de linalilo (4,8 %), metil eugenol (1,6 %), geraniol (1,1 %), isobutil isobutirato (0,8 %), sabineno (0,6 %), γ-terpineno (0,6 %), acetociclohexano diona (2) (0,4 %), entre otros. Sin embargo, los principales componentes aislados del AE de comino de la montaña del Kurdistán de Irán fueron: Timol (40,65 %), γ-terpineno (24,51 %), β-pineno (5,38 %), α-pineno (3,47 %), canfeno (2,31 %), terpineno-4-ol (2,00 %), cuminaldehído (1,79 %), α-tuyeno (1,45 %), α-terpinoleno (1,17 %), mirceno (1,07 %), limoneno (1,04 %), α-felandreno (0,94 %), acetoxylinalool (0,57 %) y sabineno (0,37 %) (Moghadam, 2015). Estos estudios ponen de relieve la variabilidad en la composición química de los AEs de comino, incluso de un mismo país.

Los componentes predominantes del AE de *C. cyminum* italiano fueron p-menta-1,4-dien-7-al, aldehído cumínico, γ-terpineno y β-pineno (Iacobellis et al., 2005).

Los principales compuestos encontrados en el AE de *C. cyminum* de Bulgaria fue el aldehído cumínico (36 %), el β-pineno (19,3 %), el p-cimeno (18,4 %) y el γ-terpineno (15,3 %) (Jirovetz et al., 2005).

El AE de comino chino contenía cuminal (36,31 %), alcohol cumínico (16,92 %), γ-terpineno (11,14 %), safranal (10,87 %), p-cimeno (9,85 %) y β-pineno (7,75 %) como los monoterpenos predominantes (Li y Jiang, 2004).

El AE de la variedad tunecina contenía cuminaldehído (39,48 %), γ-terpineno (15,21 %), ocimeno (11,82 %), β-pineno (11,13 %), 2-caren-10-al (7,93 %), trans-carveol (4,49 %) y mirtenal (3,5 %) como componentes principales (Hajlaoui et al., 2010).

El AE de comino de la región mediterránea contiene γ-pineno (27,4 %), p-cimeno (20,49 %) y cuminal (20,39 %) (Viuda-Martos et al., 2007)

El análisis de muestras de aceite de comino de cuatro regiones alemanas diferentes mostró que los principales compuestos en todas las muestras eran los monoterpenos β-pineno, p-cimeno, γ-terpineno, los aldehídos terpenoides, aldehído cumínico y los mentodienos carboxaldehídos isoméricos (Wanner et al., 2010).

En el AE de comino de regiones de Delhi se identificaron 49 componentes correspondientes al 99,78 % del total de componentes detectados. El AE se caracterizó por la presencia de monoterpenos (79,61 %), sesquiterpenos (2,66 %), compuestos aromáticos (16,55 %) y alifáticos (0,66 %). Entre los treinta y cuatro monoterpenos detectados, había catorce hidrocarburos (41,28 %), doce alcoholes (5,76 %), seis compuestos ceto (31,92 %), un aldehído (0,54 %) y dos ésteres (0,11 %). Los componentes principales fueron la cetona monoterpénica trans dihidro carvona (31,11 %), el hidrocarburo monoterpénico γ-terpineno (23,22 %), el compuesto aromático p-cimeno (15,8 %), el hidrocarburo monoterpénico α-felandreno (12,01 %), el alcohol monoterpénico p-menta-2-en -7-ol (3,48 %), y el cuminlaldehído constituyó sólo el 0,58 % del AE. Esta variación puede deberse a la influencia de factores genéticos, fisiológicos y ambientales en la composición química del AE de *C. cyminum* (Chaudhary et al., 2014 b).

Los principales compuestos del AE de comino turco fueron el cuminaldehído (19,25-27,02 %), p-menta-1,3-dien-7-al (4,29-12,26 %), p-menta-1,4- dien-7-al (24,48-44,91 %), γ-terpineno (7,06-14,10 %), p-cimeno (4,61-12,01 %) y β-pineno (2,98-8,90 %) (Baser et al., 1992).

Se determinó que el cuminaldehído, γ-terpineno, ocimeno, limoneno y β-pineno son los principales constituyentes de *C. cyminum* sirio (Rihawy et al., 2014).

Los compuestos principales en el AE de comino de cultivares egipcios fueron aldehído cumínico (35,25 %), tetradeceno (12,25 %), γ-terpineno (12 %), β-ocimeno (9,72 %), p-menta-2-en-ol (9 %), α-terpinil acetato (5,32 %), α-terpinoleno (3 %), limoneno (0,5 %), mirceno (0,2 %), β-pineno (0,9 %) y α-pineno (0,19 %) (Moawad et al., 2015). De otros cultivares de comino de Egipto se aislaron 20 compuestos del AE encontrando un elevado porcentaje de cuminaldehído 60,01 %, además, α-pineno 2,14 %, sabineno 1,01 %, β-pineno 4,89 %, β-mirceno 1,45 %, α-terpineno 0,84 %, p-cimeno 1,77 %, limoneno 0,24 %, γ -terpineno 1,07 %, α-terpinoleno 0,08 %, alcanfor 0,12 %, terpinen-4-ol 0,04 %, α-terpineol 2,47 %, geraniol 0,07 %, geranil acetato 4,11 %, β-cariofileno 3,44 %, α-felandreno 1,09 %, timol 2,04 %, β-farneseno 3,01 % y óxido de cariofileno 6,12 % (Romeilah et al., 2010).

Las composiciones de los AEs de cominos de los departamentos productores de Catamarca, Argentina, de cosechas de 2008-2009, determinadas por CG y CG-EM se muestran en la Tabla 3, a partir de las cuales también se observa cierta variabilidad en la composición química como se advirtió en la literatura consultada (Cabrera et al., 2012). Estos AEs de comino de Catamarca presentan fracciones de aldehídos comprendidas entre 26,94 % y 38, 85 % en las que predomina el cuminaldehído, aunque también hay una presencia bien definida del compuesto 2-caren-10-al. Respecto de los hidrocarburos monoterpénicos predominan el ocimeno, el γ-terpineno y el β-pineno.

Tabla 3. Composiciones químicas de AE de comino de departamentos productores de Catamarca.

Compuesto	Pomán	Valle Viejo	Tinogasta	Belén	S. María
	Abundancia relativa (%)				
α-tuyeno	-	-	-	0,39	-
α-pineno	0,76	1,28	1,12	0,70	3,73
β-pineno	15,32	22,45	18,37	13,41	11,17
sabineno (o 4(10)-tujeno)	0,74	1,26	1,08	0,66%	7,85
β-mirceno	0,72	1,03	1,04	0,62	3,65
α-felandreno	-	-	-	0,64	-
α-terpinoleno	0,09	0,07	-	-	-
limoneno	0,17	0,26	0,23	0,20	0,46
β-felandreno	0,25	0,33	0,32	0,35	-
γ-terpineno	20,01	22,45	23,49	24,01	15,53
linalol	-	-	-	0,05	-
ocimeno	21,71	22,45	22,37	28,20	15,53
cis-p-terpineol	-	-	0,03	-	-
(4-isopropil-1,3-ciclohexadien-1-il) metanol	0,30	0,18	0,22	-	1,20
(NI)	-	-	-	0,23	2,84
terminen-4-ol	0,15	0,11	0,12	0,22	0,77
Trans-pinocarveol	0,03	0,05	0,04	-	-
β-farneseno	0,15	0,21	0,28	0,14	0,57
β-cariofileno	-	-	-	0,04	-
óxido de cariofileno	-	-	-	-	0,17
acoradieno	0,12	0,15	0,11	-	0,25
felandral	0,11	0,05	0,06	-	-
NI	-	-	-	2,15	-
cuminaldehído	22,53	17,00	17,66	13,00	15,53
timol	-	-	-	1,06	
2-caren-10-al	16,32	10,23	12,86	5,57	15,53
mirtenal	-	-	-	8,37	-
p-cimen-8-ol	0,04	-	-	-	0,47
carotol	0,06	0,04	0,09	-	0,54
p-menta-1,4-dien-7-ol	0,20	0,09	0,19	-	-
cuminol	0,24	0,17	0,21	-	1,47
carvacrol	-	0,14	0,11	-	0,99
ácido cumínico	-	-	-	-	1,76

Fuente: Cabrera et al., 2012. (NI) compuesto no identificado.

I.1.2.3.4 Estándares de calidad y normativas vigentes.

El AE de comino está estandarizado por las normas IRAM-SAIPA (Instituto Argentino de Normalización y Certificación – Sociedad Argentina para la Investigación de Productos Aromáticos). El MERCOSUR incluye a los AEs de especias condimenticias como aditivos aromatizantes. La Unión Europea no considera como aditivos a los aromas o agentes aromatizantes tomando una nomenclatura diferente. Se ha decidido excluir del ejercicio de control a aquellos aditivos para los que se ha demostrado su inocuidad o bien, por las bajas concentraciones empleadas, no implican peligro alguno.

En el artículo 1300 del C.A.A. se define al AE como el producto volátil de origen vegetal obtenido por un proceso adecuado (arrastre con vapor de agua, expresión, destilación a presión reducida, etc.) y en el apartado 16 del mismo artículo expresa las siguientes especificaciones para el AE de *C. cyminum* L. "obtenido de las semillas, líquido transparente, de color amarillo ámbar o amarillo oscuro y de olor fuerte característico. Densidad relativa a 20/20 ºC: 0,908 a 0,928; Índice de refracción a 20 ºC: 1,5010 a 1,5060; Desviación polarimétrica a 20 ºC: +3º a +8º, Solubilidad en alcohol etílico de 80º: 4 vol mín – 8 vol máx. y aldehído cumínico: 45 % mín. a 52 % máx. p/p".

En la norma IRAM-SAIPA Nº 18 571 se especifican los valores máximos y mínimos y los métodos de ensayo para los estándares físicos y químicos del AE de comino otorgando rangos más amplios que los especificados en el C.A.A., como es el caso del mínimo de 35 % p/p y máximo de 66 % p/p para los compuestos carbonílicos expresados como aldehído cumínico. Esta norma también especifica un máximo de 2 % de ácido cumínico.

La Norma ISO 9301:2003(E) define como aceite de semilla de comino al AE obtenido por destilación al vapor de las semillas de *C. cyminum* L., de la familia Apiaceae. Los requerimientos de calidad están expresados en su apartado 4 y contempla:

…"Apariencia: Líquido móvil claro. Color: Marrón oscuro a ámbar oscuro. Olor: Intenso y algo graso y herbáceo. Densidad relativa a 20 ºC d_{20}^{20}: Mínimo: 0,900 0 y Máximo: 0,940 0. Índice de refracción a 20 ºC: Mínimo: 1,490 0 y Máximo: 1,510 0. Rotación óptica a 20 ºC: Entre +1º y +9º. Miscibilidad en etanol, 80 % (fracción en

volumen), a 20 ºC: No será necesario usar más de 8 volúmenes de etanol, 80 % (fracción de volumen), para obtener una solución clara con 1 volumen de aceite esencial. Valor de carbonilo: Contendrá del 45 % al 58 % de compuestos carbonílicos, expresados como aldehído cumínico. Perfil cromatográfico: El análisis del aceite esencial se llevará a cabo mediante cromatografía de gases. En el cromatograma obtenido, se identificarán los componentes representativos y característicos"… En la Tabla 4 se muestran los componentes y las proporciones que constituyen el perfil cromatográfico del AE dado por la Norma.

Tabla 4. Perfil cromatográfico del AE de comino según la Norma ISO 9301:2003(E).

Componente	Mínimo %	Máximo %
α-Pineno	0,3	2,0
β-Pineno	7,0	20,0
α-Felandreno	Trazas	2,5
Mirceno	0,1	1,5
α-Terpineno	0,1	0,3
Limoneno	0,2	0,5
β -Felandreno	0,2	0,5
γ-Terpineno	14,0	32,0
p-Cimeno	3,0	17,0
p-Menta-3-en-7-al	0,3	5,0
Aldehído cumínico	15,0	46,0
p-Menta-1,3-dien-7-al	2,8	22,0
p-Menta-1,4-dien-7-al	1,5	16,0

En la Norma ISO 9301:2003(E) también se indican las Normas ISO que hay que consultar para aplicar cada uno de los métodos de prueba. Finalmente en el apartado 7, remite a las Normas ISO/TR 210 e ISO/TR 211 para atender los requerimiento de embalaje, etiquetado, marcado y almacenamiento.

Las condiciones de almacenamiento del aceite son también un aspecto importante, pues de ellas depende el tiempo que tarde en sufrir modificaciones en su composición

química. Se ha reportado que el AE de comino conservado 12 meses sufre una mínima alteración o deterioro caracterizada por una disminución del aldehído cumínico y un aumento del γ-terpineno, β-pineno, p-cimeno, acetato de linalilo y alcohol cuminílico (El-Wakeil et al., 1989).

I.1.2.4 Propiedades, usos tradicionales y actividad biológica del fruto-semilla y su aceite esencial.

El fruto maduro y desecado del comino se emplea, principalmente, como saborizante y aromatizante alimentario, dado que posee un sabor amargo y olor fuerte, aromático, estimulante y apetitoso, del cual se obtienen sus AEs con iguales propiedades sápidas aromáticas (Muñoz, 1996). Estas características son atribuídas al cuminaldehído, principal constituyente de su AE (Román-Ramos et al., 1995), y también a la presencia de los monoterpenos como α-pineno y cis-β-farneseno (Mann, 2011).

El comino es popular por su uso en la preparación de quesos, salmueras, sopas, platos de frijoles, licores (Gohari y Saeidnia, 2011; Thippeswamy & Akhilender Naidu, 2005) y debido a su uso múltiple con variados fines culinarios y medicinales en Oriente Medio, Norte de África, India, Pakistán, Sri Lanka, Cuba, Norte de México y China occidental, por lo que diversos autores resaltan su importancia y lo consideran como la segunda especia más popular del mundo después de la pimienta negra (*Pepper nigrum*), (Curioni y Arizio, 1997; Heidari Zolleh et al., 2009; Kafi et al., 2006; Zohary y Hopf, 2000).

En Catamarca, Argentina, y en general en toda la región noroeste del país, el comino se consume entero o molido y es utilizado en platos regionales (Ratti, 1984), destacándose las empanadas criollas, tamales, estofados, cazuelas de gallina y chorizos criollos, por mencionar algunos de los platos típicos representativos de la región.

El AE de comino es utilizado además en las industrias de perfumería, licorería y como condimento en polvos de curry, sopas, guisos, embutidos, quesos, encurtidos, carnes y chutneys (Behera et al., 2004; Pérez, 2006; Ratti, 1984). En la industria farmacéutica se lo emplea para extraer cimol.

El saber popular le atribuye al comino muchas propiedades curativas y sus semillas se han utilizado ampliamente en la medicina tradicional para el tratamiento de varios trastornos de la salud y enfermedades, empleándose tanto como medicamento para uso interno como externo.

Los beneficios medicinales del comino se han atribuido generalmente al alto contenido y a la acción potente de constituyentes activos como terpenos, fenoles y flavonoides. Por ello, la composición de las semillas de *C. cyminum* y del AE ha sido objeto de una amplia investigación (Hajlaoui et al., 2010; Li y Jiang, 2004; Oroojalian et al., 2010).

Las sustancias aromáticas presentes en esta hierba han atraído considerable atención en investigaciones recientes en todo el mundo, donde se han realizado varios esfuerzos para validar experimentalmente y confirmar los beneficios terapéuticos del comino. De hecho, aunque los mecanismos y modos terapéuticos exactos de la semilla de comino aún permanecen sin determinar, se han presentado pruebas sólidas de sus prometedores efectos terapéuticos. La correlación entre los perfiles químicos de las semillas de comino y su uso tradicional como material medicinal es digno de investigación. A continuación se exponen resultados de estudios recientes sobre sus diversas acciones farmacodinámicas y las pruebas disponibles en la actualidad para la presencia de diversos componentes bioactivos en esta planta y su potencial valor.

I.1.2.4.1 Uso Etnomédico.

En muchos países del Magreb, incluyendo Túnez, el polvo o la decocción de las semillas de comino se han utilizado tradicionalmente para el tratamiento de trastornos gastrointestinales. Se recomienda como estomáquico, carminativo, antiespasmódico y antihelmíntico. La decocción de las semillas también se ha utilizado como emmenagogo (agente que estimula el flujo menstrual). Se ha utilizado comúnmente una cataplasma de comino para la aplicación externa sobre las inflamaciones infecciosas agudas, como las paperas del cuello (Bellakhdar, 1997). En la antigua medicina iraní, los frutos de la planta se han utilizado ampliamente para el tratamiento de los dolores de muelas y la epilepsia (Janahmadi et al., 2006). Además, los herbolarios indios suelen prescribir comino contra el insomnio, la ronquera, el frío y la fiebre. La pasta de semillas de comino, mezclada con

jugo de cebolla, también se ha aplicado comúnmente sobre picaduras de abeja y de escorpión para retrasar la frecuencia de los latidos (Vican, 2001). Otros autores mencionan que una mezcla de semillas de comino en polvo, miel, sal y mantequilla se aplica para aliviar el dolor de las picaduras de escorpión (Mhaskar et al., 2000; Al–Yahya y Collpharm, 1986).

Al igual que en los países del Norte de África y Oriente Medio, existen informes del uso de comino en la medicina ayurvédica (la antigua medicina india) y también muchas citas de la medicina moderna que le atribuyen propiedades aperitivas, carminativas, estomáquicas, estimulantes, eupépticas, astringentes, antiespasmódicas, hepatoprotectoras, antinauseosas, desinfectantes, relajantes, antiinflamatorias, analgésicas, emenagogas, sudoríficas, diuréticas, galactógenas, hipoglucemiante, hipolipidemiante, antioxidante (Al-Snafi, 2016; Parthasarathy et al., 2008; Prajapati et al., 2003) por lo que se recomienda para el tratamiento de la dispepsia, la diarrea, la ictericia, las náuseas durante el embarazo, para aumentar la secreción de leche, para el alivio de la mama o los testículos, para la ronquera (Jalali-Heravi et al., 2007), para las afecciones broncopulmonares y tos, para la diabetes e hiperlipidemias, entre otras afecciones (Bremness, 1996; Curioni y Arizio, 1997; Dhandapani et al., 2002; Kafi et al., 2006; Lee, 2005; Pruthi, 1976; Singh y Singh, 1996; Tunçtürk y Tunçtürk, 2006; Willatgamuwa et al., 1998).

Otras fuentes también destacan que en América, África e India la droga se utiliza como un abortivo y como emmenagogo. En Indonesia, se utilizó en casos de diarrea sanguinolenta y dolor de cabeza (se aplica pasta a la frente). También se tomó por vía oral para enfermedades reumáticas. En la India también se utilizó para cálculos renales y vesicales, para tratar diarrea crónica, lepra y enfermedad ocular (PDR for Herbal Medicines, 2000). En el sistema de medicina Unani, los frutos de comino se utilizaron como astringente, carminativo, emmenagogo, para el tratamiento de opacidades corneales, úlceras, furúnculos, orzuelos y para aliviar la tos y la inflamación (Shivakumar et al., 2010).

I.1.2.4.2 Actividad Biológica.

Las características biológicas y farmacológicas de las semillas de comino han atraído la atención de los investigadores, por lo que actualmente se expresa que el comino se ha movido del estante de la cocina a la clínica.

I.1.2.4.2.1 Actividad antibacteriana.

Existe suficiente evidencia científica de las propiedades antimicrobianas del AE de comino (El-Sawi y Mohamed, 2002).

Numerosos estudios *in vitro* probaron la actividad antibacteriana del AE de comino frente a *E. coli*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Serratia marcescens*, *Micrococcus spp*., *Sarcina spp*., *y Mycobacterium phlei* (Chaudhary et al., 2014; Fakoor y Rasooli 2008; Farag et al., 1989; Leopold et al., 2005; Oroojalian et al., 2010; Stefanini et al., 2003) y en algunos casos se observó que el AE de comino exhibía efectos antibacterianos más fuertes que el AE de romero (Gachkar et al., 2007).

En 2010, Wanner et al. probaron las actividades antimicrobianas del aldehído cumínico y de los AEs de muestras de comino recogidas de diferentes lugares geográficos. Utilizaron métodos de difusión en agar y dilución en serie contra diferentes bacterias Gram (+) y Gram (-) aisladas de diferentes fuentes de alimento, (filete de cerdo, carne picada y salchichas) y tres aislados clínicos de *Candida albicans* diferentes, e informaron que sus colecciones de aceites mostraron un efecto inhibitorio considerable contra todos los microorganismos ensayados, excepto *Pseudomonas spp*. Por otro lado, se registró una gran inhibición del AE de comino en *Pseudomonas syringae pv. Syringae* (Mahmoudi et al., 2010).

También se informó un amplio espectro antibacteriano del AE de *C. cyminum* por su actividad contra *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Bacillus cereus*, *Clostridium tetani*, *Clostridium difficile*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio*

cholerae, *Aeromonas hpydrophila*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Neisseria gonorrhoeae*. La actividad antimicrobiana inducida por extractos metanólicos, hidroalcohólicos y acuosos fue menor que la producida por los AEs (Chaudhary et al., 2014).

Se estudió la eficacia de los AEs de comino frente al crecimiento de algunas bacterias comúnmente utilizadas en la industria alimentaria, *Lactobacillus curvatus*, *L. sakei*, *Staphylococcus carnosus* y *S. xylosus* y otras relacionadas con el deterioro de alimentos, *Enterobacter gergoviae*, *E. amnigenus.* Se utilizó el método de difusión en disco de agar para determinar las actividades antibacterianas de los aceites, observándose efecto inhibidor contra todas las bacterias ensayadas (Manuel et al., 2008).

Los intervalos de concentración inhibitoria mínima de los AEs de *C. cyminum* contra varios patógenos transmitidos por alimentos (*S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* y *L. monocytogenes*) fueron de 0,37-3,0 mg/mL. Además, la combinación de AEs de *B. persicum* y *C. cyminum* confirmó actividades sinérgicas y aditivas contra los patógenos (Oroojalian et al., 2010)

I.1.2.4.2.2 Actividad antibiofilm y potencial inhibitorio de detección de quorum.

Los biofilms o biopelículas son estructuras complejas de asociación de microorganismos similares y de diferentes especies bacterianas que se organizan en forma de un supra organismo con características superiores a las que presentan individualmente las bacterias (Czaran y Hoekstra, 2009).

El principio de la formación de una biopelícula se establece como parte de los procesos que se pueden presentar en el mecanismo conocido como quórum sensing (QS). Las bacterias mantienen una comunicación permanente entre ellas dentro de los diferentes ambientes o microambientes donde permanecen y conviven. Los mecanismos de comunicación le permiten reconocer cuándo se alcanza el umbral o nivel de presencia, para desarrollar nuevas funciones, especialmente un comportamiento social, simbiótico y de permanente reconocimiento, útil para las tareas que adquieren en el mecanismo de QS (Nowak y Kurnatowski, 2009).

La formación de biopelícula que detecta el quórum es la causa principal de la patogénesis bacteriana. El Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en los EE.UU. ha declarado que el 65 % de todas las infecciones son causadas por biopelículas (Lewis, 2007). En este contexto, se ha expuesto el potencial inhibidor de biopelícula y de quórum-sensing de *C. cyminum* y su metabolito secundario eugenol frente a patógenos bacterianos negativos. El AE de comino ha sido probado contra las células planctónicas y biopelícula de *K. pneumoniae*, y sobre la integridad de la resistencia anatómica del ADN plasmídico de *K. pneumoniae* (Derakhshan et al., 2010). Los resultados revelaron que el AE inhibió el crecimiento de la cepa y disminuyó la formación de biopelícula y ejerció una reacción sinérgica para aumentar la actividad de la ciprofloxacina contra *K. pneumoniae*. La incubación del ADN del plásmido R con AE de comino no pudo inducir la degradación del ADN plasmídico.

Se evaluaron las actividades antimicrobianas y las propiedades preventivas de la formación de biopelículas de los AEs de *C. cyminum* y la clorhexidina contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes*. Se determinaron las concentraciones bactericidas mínimas (MBC) de los aceites y clorhexidina y el tiempo de reducción microbiana decimal (valor D). *C. cyminum* indujo efectos antibacterianos y de prevención de biopelículas, aunque menores que la clorhexidina (Shayegh et al., 2008).

I.1.2.4.2.3 Actividad Antifúngica.

Dwivedi y Dubey (1993) informaron actividad antifúngica de los AEs de semillas de *C. cyminum*, contra *A. flavus*. Minif y Aifa (2015) señalaron la ausencia de contaminación por aflatoxina en muestras comerciales de comino en comparación con otros productos comerciales. Mohammadpour et al., (2012) informaron que el aceite de comino, particularmente rico en α-pineno (29,2 %), inhibe el crecimiento fúngico de cepas de *Aspergillus* pertenecientes a diferentes especies. También fue probado contra los hongos resistentes a Fluconazole. Las zonas de inhibición van desde 17 mm, para *Candida tropicalis*, a 36 mm, para *Trichophyton mentagrophytes* (Rabadia et al., 2011). El AE de *C. cyminum* presenta actividad antifúngica de amplio espectro contra diferentes especies de Cándida patógenas. Los valores de las zonas de inhibición oscilan entre 7 y 50 mm frente a *C. albicans* ATCC 14053, *C. dubliniensis* ATCC CD60, *C. glabrata*

ATCC 90030, *C. krusei* ATCC 6258 y *C. parapsilosis* ATCC 22019, registrándose la mejor concentración inhibitoria mínima (CIM) contra *C. albicans* y *C. dubliniensis* (289 mg/L) (Naeini et al., 2014).

El estudio *in vitro* de los hidrosoles de comino mostró actividades antifúngicas prometedoras contra una amplia gama de hongos fitopatógenos (Boyraz, 2005).

Muchos estudios informan que AEs de comino de diferentes procedencias presentan una fuerte actividad antifúngica frente a *S. cerevisiae, C. albicans*, *Aspergillus niger*, *Colletrotrichum gloeosporioides* (Farag et al., 1989; Jirovetz et al., 2005; Leopold et al., 2005) y que la actividad antimicrobiana inducida por extractos metanólicos, hidroalcohólicos y acuosos fue menor que la producida por los AEs (Chaudhary et al., 2014). La incorporación de 750 μL/L de AE de *C. cyminum* al medio PDA inhibió completamente el crecimiento de *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* y *A. niger* (Hadian et al., 2008). La vida de almacenamiento de los frutos de fresa se incrementó significativamente con el uso de AE de comino por la inhibición de *B. cinerea* (Marjanlo et al., 2009).

El AE de comino resultó eficaz contra la germinación de conidios y elongación de tubo germinal de *A. flavus* (Karbin et al., 2009). Se ensayaron dosis de 5 a 20 μL de AE contra dermatófitos y fitopatógenos, hongos, levaduras y algunos nuevos *Aspergillus*. Las pruebas antimicóticas demostraron que era activo en todos los hongos pero en particular en los dermatofitos, donde *Trichophyton rubrum* era el hongo más inhibido a la dosis más baja de 5 μL. Los fitopatógenos fueron menos sensibles al tratamiento (Romagnol et al., 2010). Se evaluaron los efectos del AE de *C. cyminum* sobre el crecimiento *A. parasiticus* y la producción de aflatoxinas. Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y las concentraciones mínimas fungicidas (CMF). El AE mostró una fuerte actividad (CMI_{90}: 1,6 y CMF: 3,5 mg/mL) contra *A. parasiticus* y la producción de aflatoxina se inhibió a 0,25 mg/mL de AE (Khosravi et al., 2011).

Se estudió el potencial del AE de comino como un prolongador de la vida útil de la planta contra la contaminación por hongos y aflatoxinas y la peroxidación lipídica. El AE mostró eficacia como conservante en sistemas alimentarios (trigo y garbanzos

almacenados). La CMI para el hongo y la CMI de aflatoxina de AE fueron de 0,6 y 0,5 μL/mL, respectivamente. El AE mostró toxicidad frente a un amplio espectro de hongos transmitidos por alimentos. Se determinó la acción antifúngica de AE sobre el contenido de ergosterol en la membrana plasmática de *A. flavus*. Como fumigante en los sistemas alimentarios, el AE proporcionó suficiente protección de las muestras de alimentos contra la asociación de hongos sin afectar la germinación de las semillas. En vista de la naturaleza antifúngica, antiaflatoxigénica, el potencial de barrido de radicales libres y la eficacia en el sistema alimentario, el AE de comino puede ser capaz de proporcionar protección a los productos alimenticios frente a pérdidas cuantitativas y cualitativas, aumentando así su vida útil (Kedia et al., 2014).

Se evaluó, por el método de difusión en agar, la actividad antifúngica del aceite de comino sobre el crecimiento de micelios de 90 aislamientos fúngicos de diversos géneros y especies. El aceite de comino fue altamente eficaz contra todos los aislamientos de hongos ensayados. Se inhibió completamente el crecimiento micelial de todos los hongos cuando se añadió a medio sólido (El-Said y El-Hady, 2014). También se estudió el efecto del AE en el crecimiento y la expresión génica FUM1 de cepas de *Fusarium verticillioides* productoras de fumonisina aisladas del maíz. Los niveles de transcripción de FUM1 se cuantificaron usando un protocolo de Transcripción Inversa- Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR). Los valores mínimos de concentración inhibitoria (CMI) del aceite de *C. cyminum* frente a las cepas de *F. verticillioides* variaron de 0,195 a 0,781 μL/mL (valor medio de la CMI: 0,461 μL/mL) indicando que el 54,5 % de las cepas fúngicas se inhibían a 0,390 μL/mL. El análisis por PCR de la expresión del gen FUM1 reveló que el fragmento de ADN de 183 pb se amplificó en todos los aislamientos de *F. verticillioides* antes del tratamiento con AE de *C. cyminum*. Basado en análisis de RT-PCR, la reducción en la expresión de genes de biosíntesis de fumonisina fue significativa sólo para el gen FUM1 ($p < 0,05$), mientras que no se observó ningún efecto en el gen ITS (Khosravi et al., 2015).

Se estudió la actividad fungicida del cuminaldehído extraído de *C. cyminum*, contra *Alternaria solani*, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia cerealis*, *Alternaria alternata*, *Gaeumannomyces graminis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora capsici*, *Thanatephorus cucumeris* y *Blumeria graminis* (*Erysiphe graminis*) y *B. cinerea*. Los

resultados del bioensayo mostraron que tenía actividad fungicida in vivo e in vitro. El mejor efecto inhibitorio del cuminaldehído se observó contra *Sclerotinia sclerotiorum*, y su CI_{50} fue de 2,1 mg/L. A una concentración de 1000 mg/L, el efecto protector fue superior al 50 % frente a *B. graminis*, comparable al tratamiento con sumilex (Hu et al., 2008).

I.1.2.4.2.4 Actividad insecticida-ovicida.

La actividad fumigante de los vapores del AE de comino se registró contra los huevos de dos insectos de harina almacenada, el escarabajo confuso, *Tribolium confusum* y la polilla del Mediterráneo, *Ephestia kuehniella*. La exposición a los vapores de los AEs dio como resultado una mortalidad del 100 % de los huevos a una concentración de 98,5 μL de AE de comino/L de aire y el valor TL_{99} (tiempo letal medio) para *E. kuehniella* fue 127,0 h (Clark, 1998; Tunc et al., 2000). Más recientemente, se evaluó la actividad insecticida y de inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE) que presentan los AEs de comino y sus componentes frente a *Blattella germanica*, macho y hembra adultos. El AE de comino mostró un 90 % de toxicidad fumigante contra cucarachas alemanas machos adultos a una concentración de 5 mg / papel de filtro, y en la prueba de toxicidad por contacto, se observó una fuerte actividad insecticida contra machos y hembras adultas. Entre los compuestos de prueba, 1,8-cineol, cuminaldehído, p-cimeno y γ-terpineno demostraron una fuerte toxicidad fumigante y la toxicidad por contacto fue fuerte con el carveol, cuminaldehído y p-cimeno, contra *B. germanica* macho y hembra adultos. Los valores IC_{50} de α-pineno, carvacrol y dihidrocarvona frente a AChE de insectos hembra de *B. germanica* fueron 0,28, 0,17 y 0,78 mg/mL, respectivamente (Yeom et al., 2012).

Se estudiaron los efectos electrofisiológicos, de comportamiento (repelencia, irritación) y tóxicos de los AEs de *C. cyminum* contra la cepa *Anopheles gambiae* (Kisumu). Los aldehídos provocaron las respuestas más fuertes y los monoterpenos las respuestas más débiles en ensayos de electroantenografía (EAG). Sin embargo, las respuestas de EAG no se correlacionaron de manera consistente con los resultados de los ensayos conductuales. En estudios conductuales y de toxicidad, varios de los compuestos individuales mostraron repelencia, irritación o toxicidad en *An. gambiae*; sin embargo, la actividad de los AEs no siempre se correlacionó con la actividad esperada de los

componentes principales. La actividad biológica de los AEs parecía compleja, lo que sugiere interacciones entre los compuestos individuales y el insecto. Los datos también indicaron que los tres efectos aparecieron independientes, lo que sugiere que el (los) mecanismo (s) de repelencia pueden diferir de los mecanismos de irritación y toxicidad (Deletre et al., 2015).

En cuanto a la actividad larvicida del AE de comino y sus componentes contra el mosquito tigre asiático, *Aedes albopictus*, y la inhibición de la AChE resultó en una mortalidad de larvas mayor al 90 % a 0,1 mg/mL. De los compuestos identificados, α-felandreno, α-terpineno, p-cimeno, γ-terpineno, cuminaldehído, limoneno y carotol, entre otros, dieron como resultado una mortalidad larvaria superior al 80 % cuando se usaron a 0,1 mg/mL. Los componentes α-pineno y β-pineno inhibieron la actividad de AChE en *Ae. albopictus* con valores IC_{50} de 0,062 y 0,190 mg/ mL, respectivamente (Seo et al., 2015).

I.2. Planteamiento del Problema de Investigación.

I.2.1 Preguntas de investigación.

Interrogante general: ¿Qué composición química, propiedades físicas y actividades anti-insecto y antifúngica presenta el AE de comino cultivado en Catamarca?

Interrogantes particulares:

¿Qué características físicas (tamaño y peso de 1000 semillas) presenta el fruto de comino que se produce en las distintas localidades de la provincia de Catamarca?

¿Cuál es el rendimiento medio en AE, expresado en base seca, de los cominos de las distintas localidades de la provincia?

¿En qué rangos se encuentran las densidades y los índices de refracción de los AEs? ¿Cumplen con la normativa vigente?

¿Qué composiciones químicas presentan los AEs de comino de las distintas zonas comineras de la provincia?, ¿se pueden establecer quimiotipos?, ¿cuáles?

¿Presentan los AEs de comino de Catamarca, actividad insecticida contra *S. zeamais*? ¿Ejercen alguna acción sobre la AChE?

¿Presentan los AEs de comino de Catamarca, acción repelente contra *S. zeamais*?

¿Qué actividad antifúngica presentan los AEs contra *F. verticillioides*?

¿Qué efecto antimicotoxicogénico en la producción de Fumonisina B1 (FB_1), por parte de *F. verticillioides*, manifiestan los AEs de comino?

¿Qué efectos insecticida, repelente y antifúngico manifiesta el cuminaldehído, componente mayoritario del AE?

¿Cómo son, comparativamente, los rendimientos en AE, las composiciones y la actividad biológica según la procedencia geográfica del comino de Catamarca?

I.2.2. Hipótesis de Investigación.

I.2.2.1. Hipótesis general.

El AE de comino cultivado en Catamarca presenta actividad insecticida y repelente contra *S. zeamais* y propiedades antifúngicas contra *F. verticillioides.*

I.2.2.2. Hipótesis específicas.

- El comino de Catamarca presenta rendimiento medio de AE superior al mínimo establecido en las Normativas vigentes y es variable según los departamentos productores.
- La densidad e índice de refracción del AE de comino de Catamarca responden a las exigencias dadas por la Normativa.
- La composición química del AE varía con la zona productora, lo que dificulta establecer su quimiotipo.
- Los AEs de comino de Catamarca presentan propiedad insecticida contra *S. zeamais* y ejercen inhibición de la AChE.
- Los AEs de comino de Catamarca presentan propiedad repelente contra *S. zeamais.*
- Los AEs de comino de Catamarca presentan actividad antifúngica contra *F. verticillioides.*
- Los AEs de comino de Catamarca ejercen efecto antimicotoxicogénico en la producción de FB_1 por parte de *F. verticillioides*.
- El aldehído cumínico puro presenta actividad insecticida y repelente contra *S. zeamais.*
- El aldehído cumínico puro presenta actividad antifúngica contra *F. verticillioides*.

I.2.3 Objetivos.

Generales

- Describir la composición química y las propiedades físicas del AE de comino de Catamarca.
- Estudiar las actividades anti-insecto y antifúngica del AE de comino cultivado en Catamarca.

Específicos

De los frutos de *C. cyminum* L. que se producen en las distintas localidades de la provincia de Catamarca:

- Determinar el tamaño y peso de 1000 semillas.
- Determinar el contenido medio de agua.
- Determinar el rendimiento medio en AE expresado en base seca.

De los AEs de cominos provenientes de diferentes departamentos productores de la provincia de Catamarca:

- Conocer las propiedades físicas: densidad e índice de refracción de cada AE.
- Determinar la composición química y establecer su quimiotipo.
- Evaluar la propiedad insecticida de los AEs contra *S. zeamais* y analizar la acción sobre la AChE del insecto.
- Evaluar la propiedad repelente de los AEs contra *S. zeamais*.
- Estudiar la actividad antifúngica de los AEs contra *F. verticillioides*.
- Analizar el efecto antimicotoxicogénico de los AEs de comino en la producción de FB_1 por parte de *F. verticillioides*.
- Investigar el efecto insecticida, repelente y antifúngico del cuminaldehído, componente mayoritario del AE de comino.
- Comparar los rendimientos en AE, las composiciones químicas y la actividad biológica según su procedencia geográfica.

I.2.4. Justificación.

El volumen de producción y la superficie cubierta por especias y hierbas aromáticas en el país no es muy extenso. Los cultivos se encuentran diseminados a lo largo y ancho de Argentina, con especies características de cada zona, de acuerdo a las condiciones climáticas y culturales de cada región. En nuestro país se cultivan aproximadamente 7.600 ha a campo y 38.000 m^2 bajo cubierta.

Los principales destinos de las exportaciones de especias argentinas son Brasil (49 %), Uruguay (20 %) y España (5 %). En los últimos diez años el mercado internacional del comino se ha mantenido sin un crecimiento importante, representando el 2,8 % del mercado total de las especias (SADC, 2014). El principal importador es Estados Unidos (SADC, 2014) y el principal exportador es China (SADC, 2014).

La variedad de comino denominada Sumalao Nº 1 del INTA Catamarca, registrada en el año 1983, es de uso libre, aunque actualmente se sospecha que no mantiene los caracteres originales debido al tiempo transcurrido y al modo de cruzamiento de esta especie (Sánchez, 2012).

En Argentina, el comino se cultiva en los valles áridos inter montanos de altura de las provincias de La Rioja, Catamarca y Salta. En Catamarca, los principales departamentos tradicionalmente productores de comino son Belén, Andalgalá, Pomán, Tinogasta y Santa María, y aproximadamente desde el año 2010 se produce, con muy buen rendimiento, en el departamento Capayán. En La Rioja se produce en el departamento Arauco y en Salta, en los Valles Calchaquíes: Cafayate, Cachi, La Poma, San Carlos, Candelaria y en el Valle de Lerma en La Viña, Guachipa y Cerrillo (Sánchez, 2012; INTA, 2011), sin embargo, la producción nacional de comino sólo satisface el 30 % de la demanda interna del país.

La composición de los AEs es dependiente de variables climáticas y geográficas (Alinian y Razmjoo, 2014). De cualquier manera, existen composiciones de AEs en diferentes plantas aromáticas que se mantienen bastante estables independientemente del lugar donde se las cultive, este material es conocido como quimiotipos (Keefover-Ring et al., 2009). En el caso particular del comino se reconocen los siguientes quimiotipos

basados en el componente principal: terpineno (Borges y Pino, 1993), p-menta-1,4-dien-7-al (Iacobellis et al., 2005) y el cuminal, descripto tanto para el comino de Valle Viejo y Pomán, en Catamarca, (Fuentes et al., 2008; Quiroga y Luna, 1999), como en Túnez (Hajlaoui et al., 2010). De cualquier manera, la caracterización de estos quimiotipos es bastante controversial, dado que muchos de ellos mostraron variaciones en la composición de su AE, dependiendo de la campaña de recolección (Cabrera et al., 2012; Fuentes et al., 2008; Iacobellis, et al., 2005; Quiroga et al., 2003; Quiroga y Favore, 2015). Además, de la variabilidad en la composición del AE por razones ecológicas, genéticas y/o epigenéticas, éstos pueden sufrir cambios en sus constituyentes durante su almacenamiento, ya sea que se almacenen los órganos que los contienen o los AEs. En el caso especial del comino se presenta una disminución del aldehído cumínico y un incremento de los hidrocarburos, ésteres y alcoholes (El-Wakeil et al., 1989).

El área central de Argentina es una de las más importantes zonas de producción de maíz (SAGPyA, 2009). Los granos de maíz almacenados son atacados por gran cantidad de plagas (Rajendran y, Riranjini, 2008), entre las que podemos destacar a *S. zeamais*, plaga primaria que se alimenta de granos sanos, y *F. verticillioides*, principal patógeno fúngico de la planta de maíz (Medina-Martínez y Martínez, 2000). Dado que dichas plagas producen pérdidas importantes tanto de características cualitativas como cuantitativas, existe una marcada necesidad de proteger los alimentos almacenados del ataque de insectos, hongos y sus micotoxinas.

Las plantas aromáticas resultaron de interés para el hombre desde la antigüedad, muchas veces asociadas a ritos religiosos y en otros casos a la medicina popular (Güenther, 1948).

De la revisión de los antecedentes se advierten datos que proporcionan una fuerte evidencia de que el *C. cyminum* posee una amplia gama de características biológicas prometedoras, incluyendo actividades antibacterianas, antimicóticas, antiviral, ovicidas, insecticidas, insectífugas, antioxidantes, analgésicas, antiinflamatorias, protectoras del aparato digestivo, hipoglucemiantes, antitumorales etc., aunque es escasa la literatura sobre la actividad específica del AE de comino sobre *S. zeamais* y sobre *F. verticillioides*. Estas propiedades están directamente relacionadas con la composición química de los

AEs que presentan una gran diversidad de principios activos en cada especie vegetal (Romero Márquez, 2004). Por otro lado, el conocimiento que se tiene sobre la composición química del AE de comino de Argentina y de Catamarca, en particular, es escaso. Además, no existen estudios sobre la actividad biológica de los AEs de comino de Argentina sobre estas dos especies plaga, por lo que abordar una investigación en este sentido cobra especial relevancia tanto para el sector productivo de comino como para el sector maicero.

En concordancia con las actividades biológicas y las acciones farmacológicas reportadas para el AE de comino en la región del Medio Oriente y Asia, su uso se hace extensivo a la industria farmacéutica (Willatgamuwa et al., 1998). Por esta razón los AEs y sus componentes representan una fuente potencialmente importante de compuestos farmacológicamente activos (Koroch et al., 2007) y como agroquímicos, en especial como insecticidas (Zunino et al., 2012). Es así, que el estudio de las bioactividades del AE de comino que se cultiva en la provincia de Catamarca incrementaría el valor agregado de este recurso natural y serviría como base para el desarrollo de nuevos productos con una fuerte tendencia comercial.

Dado que el cultivo de comino es tradicional en el oeste de la provincia de Catamarca y ha constituido, en muchos casos, la fuente de ingresos más importante de las familias agricultoras de la región, abrir nuevos horizontes productivos podría significar el despegue económico de este sector.

Se espera, por lo tanto, contribuir a un conocimiento más profundo del comino que se produce en Catamarca, avisorar nuevas posibilidades de aplicación y que los resultados alcanzados se proyecten y transfieran al sector productivo.

Por otro lado, tipificar los aceites y categorizarlos según la zona productora, permitirá conocer la disponibilidad de quimiotipos diferentes y ensayar aplicaciones que los revaloricen como materia prima para la elaboración de nuevos y diversos productos.

Capítulo II

Materiales y Métodos

II. CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Metodología de trabajo.

II.1.1. Área de estudio.

El *C. cyminum* L. que se produce en la provincia de Catamarca fue estudiado a través de muestras de sus frutos secos y maduros recogidas de las siguientes localidades, parajes o barrios de los departamentos productores:

Departamento Capayán: paraje Chañarito – coordenadas geográficas: (28° 46′ 41″ S, 65° 45′ 54″ W), en decimal (-28.778°, -65.765°); altitud media de 451 m.s.n.m.

Departamento Pomán: localidad El Pajonal – coordenadas geográficas (28° 22′ 0″ S, 66° 18′ 0″ W), en decimal (-28.367°, -66.3°); altitud media de 1595 m.s.n.m.

Departamento Tinogasta: localidad El Salado - coordenadas geográficas (28° 18′ 0″ S, 67° 15′ 0″ W), en decimal (-28.3°, -67.25°); altitud media de 993 m.s.n.m.

Localidad Cordobita - coordenadas geográficas (28° 18′ 0″ S, 67° 13′ 0″ W), en decimal (-28.3°, -67.217°); altitud media de 975 m.s.n.m.

Departamento Belén: Localidad Londres, - coordenadas geográficas (27° 43′ 0″ S, 67° 07′ 0″ W), en decimal (-27.717°, -67.117°); altitud media de 1485 m.s.n.m.

Localidad Villa de Belén: se trabajó con muestras de los barrios: Artaza, Campo El Medio, Chañarañal; La Banda y La Puntilla. - coordenadas geográficas (27° 39′ 0″ S, 67° 02′ 0″ W), en decimal (-27.65°, -67.033°); altitud media de 1255 m.s.n.m.

Departamento Santa María: localidad Las Mojarras - coordenadas geográficas (26° 41′ 0″ S, 66° 03′ 0″ W), en decimal (-26.683°, -66.05°); altitud media de 1864 m.s.n.m.

II.1.2. Tipo de estudio.

Según la dimensión temporal, la investigación tiene cortes transversal y longitudinal.

Según la modalidad empírica, una parte del estudio es de tipo observacional y la otra de tipo experimental.

Según el alcance metodológico, se inicia como descriptivo – comparativo y culmina con alcance explicativo.

En todos los diseños experimentales empleados se trabajó con prepruebas, pospruebas, grupos de control y varios grados de manipulación de la variable independiente en los grupos experimentales.

En los ensayos de actividad antifúngica se trabajó además, con permanencia de estímulo y múltiples postpruebas.

II.1.3. Población y Muestra.

II.1.3.1. Descripción de la población de comino en estudio.

Las poblaciones de comino sometidas a observación corresponden a las producciones del período 2008-2015, de frutos de comino limpio y seco de los departamentos Belén, Capayán, Pomán, Santa María y Tinogasta. En el interior de los departamentos se distinguen localidades, parajes y barrios que constituyen subpoblaciones y de las cuales se tomaron muestras representativas.

El hecho de haber conservado la identidad de las muestras de estas subpoblaciones, según su procedencia, año de cosecha y productor, nos permitió hacer comparaciones respecto a las diferentes características físicas y químicas, tanto de los frutos, como de sus AEs, a la vez de ensayar experimentalmente para evaluar las actividades biológicas de los AEs.

La individualización de los AEs según la procedencia geográfica, el año de producción y la identificación de los productores, permitirá, en estudios y discusiones

futuras, conjeturar sobre las posibles causas de las diferencias observadas y que escapan a los objetivos planteados y a los alcances explicativos de la presente investigación.

II.1.3.2. Material vegetal.

El INTA-Catamarca provee a los productores de comino, las semillas de *C. cyminum* L., variedad criolla Sumalao Nº 1. Los productores, luego de la cosecha, separan aproximadamente un 1 % de su producción de frutos para ser destinados a semilla para la próxima campaña. El fruto destinado para semilla recibe una mayor limpieza que el comino limpio comercial. La entrega de semillas al productor, por parte del INTA, no es regular, depende de la demanda del productor o de los programas del INTA.

Se trabajó con muestras de frutos maduros, secos y limpios de *C. cyminum* L. obtenidas de los lugares señalados en el apartado área de estudio y que correspondieron a cosechas de diferentes años (de 2008 a 2015). Las muestras del material vegetal fueron recogidas en el período de post cosecha, comprendido entre noviembre y abril de cada año, luego que los productores realizaran el proceso de secado y trilla de la planta y limpieza de los granos.

II.1.3.3. Toma de la muestra primaria. Obtención de la alícuota para análisis y ensayos de laboratorio.

En este estudio se llama muestra primaria a la muestra obtenida en el proceso de muestreo en el lugar de origen y que se almacena luego en el laboratorio. La muestra primaria consiste en comino en grano tal como fue recogido en el muestreo y que no fue sometido a ningún proceso de limpieza ni separación adicional al que le efectuara el productor.

Para la obtención de las muestras primarias se siguieron las recomendaciones dadas en la norma IRAM 15 501 y que fueron adaptadas según las condiciones en que se encontraba la población a muestrear. Ya sea que el comino a muestrear se encontrara a granel o en bolsas de arpillera plástica (Figura 22 a, b), se extrajo con la ayuda de una pala de mano y fue colocado transitoriamente hasta la llegada al laboratorio, en bolsas gruesas de polietileno debidamente identificado.

En el momento de la toma de muestras se entrevistó a los productores comineros a fin de recabar información sobre todo lo relacionado al proceso productivo que abarca desde la preparación de la semilla y el terreno antes de la siembra, hasta la cosecha, secado, limpieza, acondicionamiento del grano y comercialización. También se indagó sobre inconvenientes sufridos durante el período de cultivo, como heladas, lluvias fuera de época, ataque de hongos, etc. que pudieran influir de alguna manera sobre las características de la muestra de comino tomada y por consiguiente en la cantidad y calidad de su AE.

(a) (b)

Figura 22. Fotos originales. Semillas de comino a granel (a), semillas de comino embolsadas (b). Lugar: Finca Maskay, INDOMEGA S.A.

En el laboratorio, las muestras primarias fueron conservadas en frascos de vidrio, limpios y secos, herméticamente cerrados, debidamente rotulados, a temperatura ambiente y al resguardo de la luz directa. La temperatura de almacenamiento osciló entre los 15 °C y 35 °C.

Para el trasvase y distribución de una muestra primaria desde la bolsa de polietileno a los frascos de vidrio, se efectuó cuarteo (Figura 23), de modo de garantizar la homogeneidad y la equivalencia de las porciones de una misma muestra en los diferentes frascos.

Para las actividades de medición del tamaño y peso de los frutos y para las distintas determinaciones analíticas de humedad y rendimiento en AE se trabajó con alícuotas extraídas de las muestras primarias.

En todos los casos, la alícuota de frutos a estudiar se tomó en el momento antes de la observación o análisis. La extracción de la alícuota se hizo siempre por cuarteo de la totalidad de la muestra primaria correspondiente (Figura 24). De este modo se garantiza la representatividad de la alícuta respecto de la muestra primaria. En el caso que la alícuota de la muestra debió ser molida, la molienda se hizo con un molinillo de cuchillas tipo Willey, siempre instantes antes del análisis o determinación correspondiente.

(a) (b)

Figura 23. Fotos originales (a) y (b). Proceso de cuarteo en laboratorio para el fraccionamiento y almacenamiento de la muestra primaria.

(a) (b)

Figura 24. Fotos originales (a) y (b). Etapa final del proceso de cuarteo de la muestra primaria para la obtención de una alícuota.

II.1.3.4. Muestra secundaria. Preparación de las muestras para los análisis.

Las muestras secundarias para análisis están constituidas por los AEs extraídos por hidrodestilación de los frutos de comino de las distintas procedencias (muestras primarias).

Para identificar a las muestras secundarias se siguió el mismo criterio de identificación e individualización que se aplicó a las muestras primarias.

Cada AE recogido, luego de la lectura de su volumen, que sirve para cuantificar el rendimiento, fue colocado en un frasco de vidrio color caramelo con sulfato de sodio anhidro (máx. 15 % en peso de sulfato con respecto a la masa de AE). Los frascos debidamente rotulados que contienen los AEs, fueron conservados bajo refrigeración a -15 ºC ± 2 ºC hasta su posterior análisis.

II.1.3.5. Identificación y codificación de las muestras para los análisis.

A los fines de la identificación de las distintas muestras de frutos de comino tomadas en distintos años de producción, de distintos lugares, productores y con distintos tratamientos de limpieza, fueron codificadas de la siguiente manera y según se muestra en el esquema de la Figura 25 y en la Tabla 5.

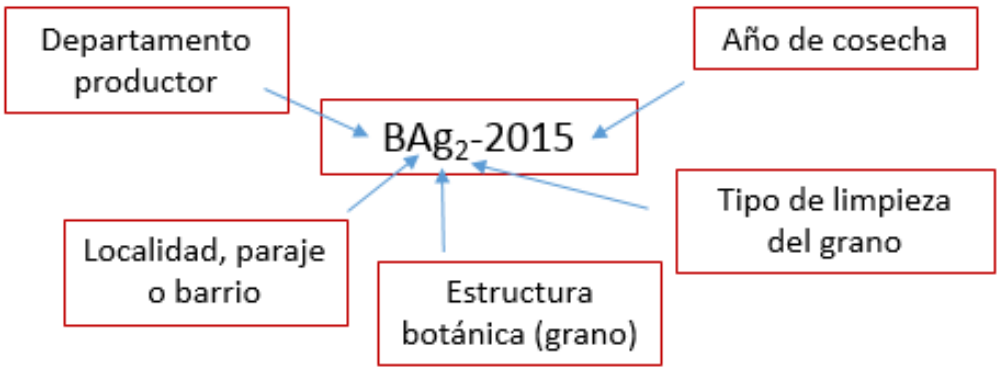


Figura 25. Significado de la codificación de las muestra.

Se observaron distintos tipos de limpieza aplicados por los productores a los granos de comino, los cuales fueron clasificados de la siguiente manera:

g_1: limpieza totalmente mecanizada con empleo de zaranda vibratoria y túnel de viento. Grano muy limpio.

g_2: limpieza manual completa. Grano limpio.

g_3: limpieza manual con una sola zarandeada. Grano semi limpio.

g_4: grano sin limpieza posterior a como sale del proceso de separación mecánica por cosechadora.

Tabla 5. Significado de los Códigos de identificación de muestras.

Código	Departa-mento	Localidad/paraje /barrio	Tipo de limpieza del grano	Año de cosecha
BAg_2-2009	(B) Belén	(A) Barrio: Artaza	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2009
BAg_2-2015				2015
BBg_2-2015		(B) Barrio: La Banda	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2015
BCg_2-2015		(C) Barrio: Chañaral	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2015
BCg_3-2015			(g_3) Grano semi limpio. Primera cernida en el campo	2015
$BCMg_2$-2015		(CM) Barrio: Campo El Medio	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2015
BLg_3-2015		(L) Localidad: Londres	(g_3) Grano semi limpio. Primera cernida en el campo	2015
BP_1g_2-2015		(P_1) Barrio: La Puntilla. Productor 1	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2015
BP_2g_2-2015		(P_2) Barrio: La Puntilla. Productor 2	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2015

Continuación Tabla 5.

Código	Departa-mento	Localidad/paraje /barrio	Tipo de limpieza del grano	Año de cosecha
Cag_1-2013	(Ca) Capayán	Paraje: Chañarito	(g_1) Grano con limpieza mecánica	2013
Cag_1-2014		Paraje: Chañarito	(g_1) Grano con limpieza mecánica	2014
Cag_4-2014		Paraje: Chañarito	(g_4) Trillado sin limpieza mecánica posterior	2014
Cag_4-2015		Paraje: Chañarito	(g_4) Trillado sin limpieza mecánica posterior	2015
PPg_2-2008	(P) Pomán	(P) Localidad: Pajonal	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2008
PPg_2-2013		(P) Localidad: Pajonal	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2013
PPg_2-2014		(P) Localidad: Pajonal	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2014
PPg_2-2015		(P) Localidad: Pajonal	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2015
SMg_3-2008	(SM) Santa María	Localidad: Las Mojarras	(g_3) Grano semi limpio. Primera cernida en el campo	2008
SMg_3-2014		Localidad: Las Mojarras	(g_3) Grano semi limpio. Primera cernida en el campo	2014

Continuación Tabla 5.

Código	Departa-mento	Localidad/paraje /barrio	Tipo de limpieza del grano	Año de cosecha
SMg_3-2015		Localidad: Las Mojarras	(g_3) Grano semi limpio. Primera cernida en el campo	2015
$TCSg_2$-2009	(T) Tinogasta	(CS) Localidades: Cordobita y El Salado	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2009
$TCSg_2$-2010		(CS) Localidades: Cordobita y El Salado	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2010
TCg_2-2015		(C) Localidad: Cordobita	(g_2) Grano limpio. Limpieza manual	2015

II.2. Técnicas empleadas en determinaciones físicas, químicas y bioensayos.

II.2.1 Estudio del fruto-semilla de comino.

A cada muestra de frutos-semillas de comino se le determinó:

- Peso medio de 1000 semillas (g). Se calculó la media de cinco repeticiones. Para algunas muestras se efectuaron hasta diez repeticiones.
- Tamaño de los frutos-semillas a partir de las medidas de largo, ancho y espesor (mm). Se calcularon las medias a partir de veinte repeticiones.
- Humedad media (% fracción en masa). Se calculó la media de tres a cinco repeticiones.
- Rendimiento medio en aceite esencial en base húmeda (bh); mL de AE/100g de muestra en bh. Se calculó la media de cinco repeticiones.
- Rendimiento medio en aceite esencial en base seca (bs); ml de AE/100g de muestra en bs. Se calculó a partir del rendimiento medio en bh y de la humedad media.

II.2.1.1. Determinación del peso de 1000 semillas.

La técnica empleada para establecer la variedad botánica de las muestras de comino consiste en determinar el peso de 1000 semillas. Esta técnica estipula, para la variedad local denominada Sumalao Nº1, un peso medio de 1000 granos de 3,51 g e incluso valores mayores a 4,24 g y, para la variedad introducida de Egipto, de grano glabro, de menor tamaño de semilla, un peso medio de 2,33 g a 2,94 g, (Martínez et al., 2004; Paunero 1995; Quiroga y Luna 1999).

A los efectos de facilitar el conteo de los frutos-semillas se empleó una cuadrícula dibujada en una hoja de papel A4 con 50 cuadros (Figura 26). En cada cuadro se colocaron 20 semillas y finalmente se reunieron las 1000 y se pesaron en balanza analítica hasta las 10 milésimas de gramo. Se trabajó con 10 repeticiones para cada muestra, se calculó la media, el desvío estándar (DE) y el intervalo de confianza (IC) de la media para una probabilidad del 95 %.

Figura 26. Fotos originales. Conteo y pesado de mil semillas.

II.2.1.2 Determinación del tamaño de los frutos-semillas.

En la Figura 27 se ilustra el proceso de medición del fruto-semilla mediante el empleo de un calibre digital. Las medidas de largo (L), ancho (A) y espesor (E) de los frutos se expresan en mm con una precisión de una centésima de mm y para cada medida se calculó la media de 20 lecturas. A partir de estos valores se calcularon: diámetro medio aritmético (Dma) según la ecuación (1) y expresado en mm, diámetro medio geométrico

(Dmg) según la ecuación (2) expresado en mm, (Koocheki et al., 2007; Mansouri et al 2017; Mohsenin, 1986; Rojas Barahona 2010) y área superficial media (Sm) según la ecuación (3), expresada en mm^2, (Jain y Bal, 1997; Koocheki et al., 2007; Milani et al., 2007).

Ecuación (1) $Dma = (L+A+E) / 3$

Ecuación (2) $Dmg = (L \cdot A \cdot E)^{1/3}$

Ecuación (3) $Sm = (\pi \cdot B \cdot L^2) / 2L-B$; $B: (A \cdot E)^{1/2}$

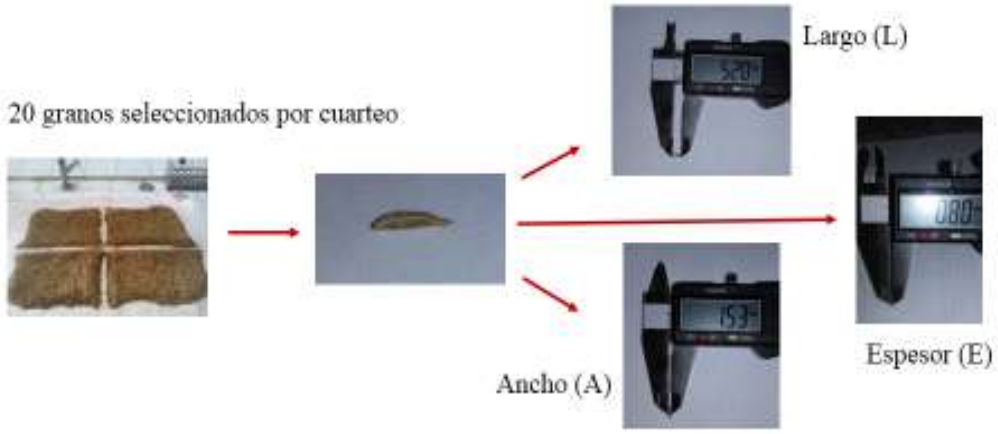


Figura 27. Fotos originales. Esquema de medición de las semillas de comino.

II.2.1.3. Determinación del contenido de agua. Humedad en porcentaje de masa.

El contenido de agua del fruto-semilla de *C. cyminum* L. se determinó según UNE 34-096-81 que responde a ISO 939. Esta determinación consiste en una destilación azeotrópica con tolueno (método de destilación por arrastre). En un balón de 250 mL se colocan 10 g de comino molido con cantidad necesaria (aproximadamente 40 mL) de tolueno, se monta una trampa de Dean Stark de 10 mL con un refrigerante de Liebig. Se calienta en manto calefactor eléctrico y se destila aproximadamente por 3 h hasta que el destilado es totalmente límpido y no se advierte aumento en el volumen de agua recogida en la trampa. Cuando el sistema está frío se hace la lectura del volumen de agua en la escala de la trampa y se multiplica x 10 y se expresa en gramos (g) de agua por cada 100

g de muestra molida. En la Figura 28 se ilustra el proceso de determinación de humedad o contenido de agua de la muestra.

Expresión de resultados:

El contenido de agua, expresado en porcentaje de masa es igual a:

$$w_{H2O} = 100\ V/m$$

V = volumen, en mililitros, de agua recogida,

m = masa, en gramos, de la toma para ensayo.

Se supone que la masa volúmica del agua es exactamente 1 g/mL

Figura 28. Fotos originales. Esquema de la determinación del contenido de agua en semillas de comino.

II.2.1.4. Extracción del aceite esencial y determinación del rendimiento.

El rendimiento de AE se determina por el método de hidrodestilación siguiendo la Norma UNE-EN ISO 6571:2009. Este método indica el empleo de xilenos para retener el AE, pero el AE + xilenos recogidos no se pueden emplear para estudios posteriores, tanto de propiedades físicas, como ensayos de bioactividades, por lo que se deben someter

a procesos de purificación que no garantizan que el AE quede totalmente libre de xilenos. Además, se realizaron ensayos preliminares de destilaciones con y sin xilenos y se encontró que no hay diferencias significativas en los rendimientos (Quiroga et al., 2016).

Para esta investigación, el AE de comino se extrajo por hidrodestilación con cohobación sin el empleo de xilenos. Una masa conocida de granos de comino previamente molidos, se coloca en un balón con agua al que se le acopla una trampa tipo Clevenger modificada y en cuya parte superior se monta un dedo frío como refrigerante. El balón que contiene el agua y la muestra se calienta en un manto calefactor eléctrico y se destila durante 5 horas de ebullición efectiva con 0,05 g/mL de densidad de carga del balón de destilación y relaciones de carga de entre 1/2 y 2/5 (Romero et al, 2012; Quiroga et al, 2016). El régimen de condensación varía entre 20 y 45 gotas / minuto, dependiendo del tamaño del balón, la masa de muestra y el volumen de agua. Cuando se trabaja con mayor cantidad de muestra, para mantener constantes la densidad y relación de carga, se debe emplear más agua y por consiguiente un balón de mayor capacidad. Estas condiciones de trabajo generan más vapor, por lo que la condensación aumenta, aumentando el régimen. La refrigeración del sistema para la condensación de los vapores agua-AE, se realiza en un circuito cerrado en el que la manguera de entrada de agua al dedo frío (refrigerante) está conectada a una bomba de agua sumergible (las mismas que se emplean en las fuentes ornamentales de agua). Esta bomba se coloca dentro de un recipiente con agua (balde o batea de 10 L o más), y la manguera de salida del dedo frío, desagota en el mismo recipiente. De esta manera no se pierde agua por refrigeración durante el proceso de destilación. En el interior del recipiente con agua que contiene la bomba, se colocan botellas plásticas con agua congelada que se renuevan, según la necesidad, para mantener muy fría el agua de refrigeración. Cuanto más fría está el agua de refrigeración, más eficiente es la condensación de los vapores y la separación de las fases acuosa-aceitosa, impidiendo la formación de emulsión. Como se muestra en la Figura 29, se puede trabajar en tándem para ahorrar tiempo.

Finalizada la destilación y una vez frío el sistema, las fases aceitosa y acuosa quedan separadas por no ser miscibles, lo que permite medir el volumen del AE extraído. La lectura del volumen se realiza en la misma escala de la trampa o bien se recoge el AE

en un tubo cónico graduado y se lee. Esta lectura se emplea para el posterior cálculo de rendimiento.

El AE obtenido se separa del hidrolato por decantación, se coloca en un frasco color caramelo, se agrega sulfato de sodio anhidro para desecarlo y se conserva en un equipo de frio a -15 °C ± 2 ºC hasta el momento de su uso. Para evitar el contacto directo de los vapores del AE de comino con el material plástico de la tapa del frasco que lo contendrá, ésta se recubre previamente en su interior con papel de aluminio. Se ha observado que el contacto de este AE con materiales plásticos, incluso vaquelitas, ha producido la disolución y deterioro de los mismos. Este proceso podría contaminar la muestra de AE, por lo que se protege la tapa según lo descrito.

El rendimiento en AE se expresa en ml de AE /100 g de muestra en base seca (bs). Para realizar este cálculo se requiere conocer previamente el contenido de agua (humedad) de la muestra.

Se realizaron, por cada muestra de comino, un mínimo de cinco repeticiones de destilación, se calculó rendimiento medio en AE, DE e IC de la media para un $\alpha = 0,05$.

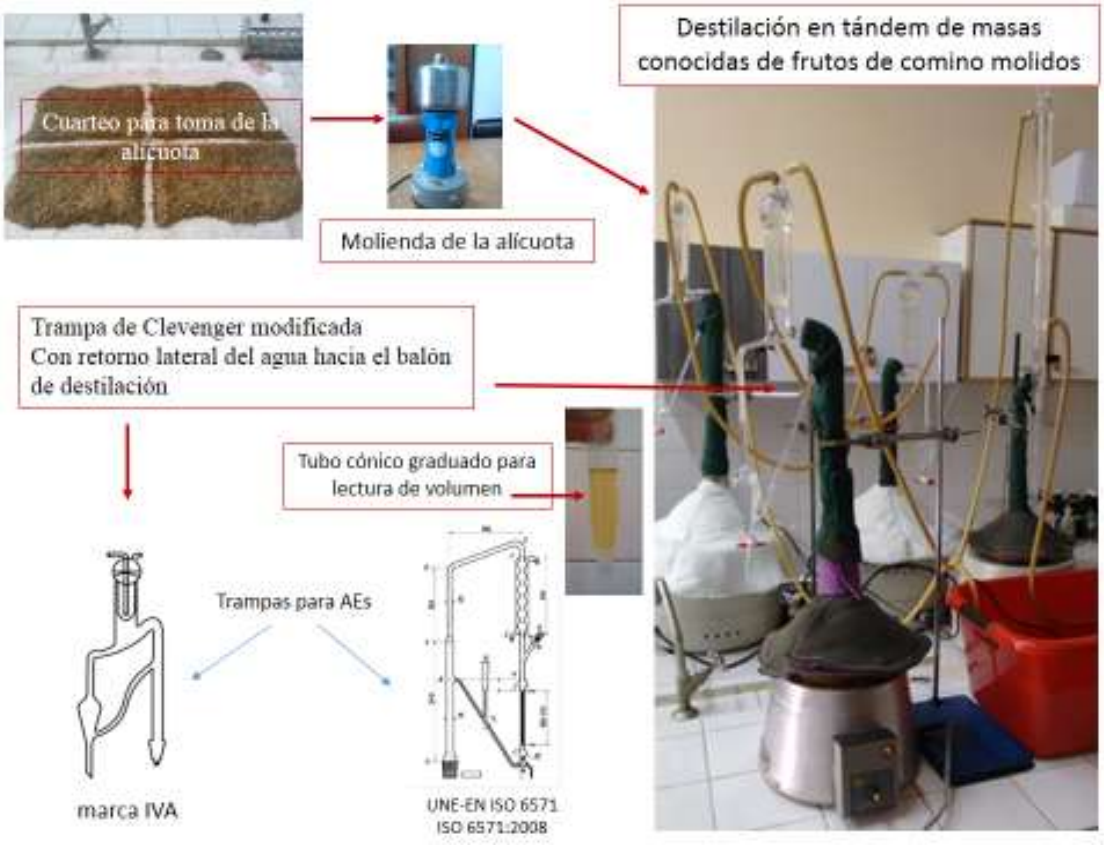


Figura 29. Fotos originales. Esquema de la extracción y determinación del contenido de aceite volátil en semillas de comino.

Expresión de resultados:

El contenido en AE, (% AE) expresado en mililitros por 100 g de producto en base seca, viene dado por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ AE} = 100 \cdot V_{AE}/m \cdot 100/(100 - w_{H2O})$$

Donde,

V_{AE}: es el volumen, en mililitros, de AE recogido;

m: es el peso, en gramos, de la porción o alícuota para análisis;

w_{H2O}: es el contenido en humedad, expresado como un porcentaje en masa, determinado en el apartado II.2.1.3.

II.2.2 Estudio del aceite esencial obtenido del fruto-semilla de comino.

Al AE obtenido de cada muestra de frutos-semillas de comino se le determinó:

- Índice de refracción a 20 ºC ($\boldsymbol{n_D^t}$). Se calculó la media de cinco repeticiones.
- Densidad relativa al agua a 20 ºC ($\boldsymbol{d_{20}^{20}}$). Se calculó la media de dos repeticiones.
- Composición química.
- Actividad biológica.
    - Actividad anti-insecto contra *S. zeamais*.
        - Acción insecticida.
        - Acción anti AChE
        - Acción Insectífuga.
    - Actividad anti-fúngica frente a *F. verticillioides*.
    - Actividad antimicotoxicogénica ante FB_1.

II.2.2.1. Determinación del índice de refracción ($\boldsymbol{n_D^t}$).

Se determinó a 20 ºC según la Norma IRAM-SAIPA Nº 18505:2002 que responde a ISO 280, empleando refractómetro de Abbé. Se trabajó con baño termostatizado a 20 ºC ± 0,2 (Figura 30).

Expresión de resultados:

Cuando no se pudo conseguir la temperatura de 20 ºC, la lectura del índice de refracción obtenida se corrigió según la siguiente ecuación:

$$n_d^t = n_d^{t'} + 0{,}0004\ (t' - t)$$

Siendo:

t = 20 ºC

t´ = temperatura a la que se efectuó la lectura del índice

n_d^t Valor del índice de refracción a 20 ºC

$n_d^{t'}$ Valor del índice de refracción leído a la temperatura real de trabajo

Los resultados se expresaron con cuatro decimales.

(a)

(b)

Figura 30. Fotos originales (a) y (b). Determinación de los índices de refracción de los aceites esenciales de comino.

II.2.2.2. Determinación de la densidad relativa al agua a 20 ºC (d_{20}^{20}).

Se determinó por picnometría a 20 ºC según la Norma IRAM-SAIPA Nº 18504:2002 que responde a ISO 279.

La determinación se basa en pesar, sucesivamente, en un picnómetro, iguales volúmenes de producto aromatizante y de agua a 20 ºC, y luego hacer la relación entre ambas masas.

Para esta determinación se emplearon picnómetros de vidrio de 5 mL de capacidad y baño de María termostatizado (Figura 31). Se calculó la media de dos determinaciones.

Expresión de resultados:

La densidad relativa $\boldsymbol{d_{20}^{20}}$, se determina con la fórmula siguiente:

$$\boldsymbol{d_{20}^{20}} = \frac{\boldsymbol{m_2 - m_0}}{\boldsymbol{m_1 - m_0}}$$

Donde

$\boldsymbol{d_{20}^{20}}$ es la densidad relativa a 20 ºC;

m_0 es la masa, en gramos, del picnómetro vacío;

m_1 es la masa, en gramos, del picnómetro lleno con agua;

m_2 es la masa, en gramos, del picnómetro lleno con el AE.

Los resultados se expresan con tres decimales.

(a)

(b)

Figura 31. Fotos originales (a) y (b). Determinación de las densidades de los aceites esenciales de comino.

II.2.2.3. Determinación de la composición química.

El estudio de Cromatografía Gas-Líquida (CGL) se realizó utilizando un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer 500 equipado con un detector de ionización de llama. Se utilizó una columna capilar de sílice fusionada DB-5 (30 m x 0,25 mm, espesor de película 0,25 µm, J&W Scientific Inc., Rancho Cordova, CA, EE. UU.) Con las siguientes condiciones de trabajo: temperatura del inyector y del detector, 250 °C y 265 °C, respectivamente; gas portador, nitrógeno; El programa de temperatura del horno 40 °C-250 °C, a una velocidad de 4 °C / min. Para la identificación de los componentes de las muestras de AE se utilizó el método del estándar interno empleando los siguientes patrones disponibles en el laboratorio: β-pineno; β-mirceno; p-cimeno; limoneno; γ-terpineno; terpinen-4-ol; cuminaldehído y β-cariofileno. Para la obtención del índice de retención se utilizaron alcanos de C9 a C25. La concentración de los diferentes componentes del AE se calculó desde el área de integración del cromatógrafo.

El equipo de CG / EM utilizado fue un cromatógrafo de gases Perkin Elmen Clarus 600 acoplado a un analizador de masas de ionización electrónica de cuadrupolo (EI), con una columna capilar apolar DB-5 (30 mx 0,25 mm, espesor de película de 0,25 µm). Se utilizó helio como gas portador a una velocidad de flujo de 0,8 mL / min. El espectrómetro de masas tenía un potencial de ionización de 70 eV, y las temperaturas del inyector y la interfaz GC / MS se mantuvieron a 290 °C y 300 °C, respectivamente. Los espectros de masas se registraron a 70 eV, y el rango de masas fue de m/z 50 a 300. La fuente de iones y las temperaturas del detector se mantuvieron a 250 ° C y 150 ° C, respectivamente, y bajo una condición de división (8: 1) se inyectó una muestra de 1 µL. La identificación de los compuestos se realizó utilizando estándares puros (Sigma Aldrich, Buenos Aires),

la base de datos NIST (versión 3.0), bibliografía (Adams, 1969) y base propia de datos de espectros de masas.

II.2.2.4 Estudio de la actividad biológica del aceite esencial de comino.

II.2.2.4.1 Estudio de la actividad anti-insecto frente a *Sitophilus zeamais*.

II.2.2.4.1.1. Pruebas de actividad insecticida por acción fumigante.

Insectos: Se trabajó con adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleóptera: Curculionidae) sin diferenciación por sexo. Fueron criados a 28 ± 2 ºC y a 70 ± 5 % de HR (Humedad Relativa) y en continua oscuridad en contenedores plásticos. La dieta de cría para *S. zeamais* fueron granos de maíz libres de insecticida (FAO, 1974). La elección del insecto para este proyecto se basó en que *S. zeamais* es una plaga primaria que se alimenta de granos sanos de maíz.

Toxicidad por acción fumigante. Un papel de filtro (Whatman) de 2 cm de diámetro fue impregnado con el AE puro en cantidad adecuada para obtener concentraciones finales de: 18,75; 37,50; 75,00; 150,00 y 300, 00 µL/L aire. Este papel de filtro impregnado se colocó en el fondo del tapón de un vial de 30 ml al cual se le agregó una micro red para evitar que el insecto entre en contacto con el mismo. En el interior del vial se colocaron 10 insectos adultos. Este sistema se mantuvo durante 24 horas en oscuridad. Como control se utilizó el papel de filtro sin AE. Se realizaron 5 réplicas para todos los tratamientos y el control. Los insectos luego fueron trasladados a una cápsula de Petri limpia y allí se contaron los insectos muertos. Los valores de las concentraciones letales 50 y 95 (CL_{50} y CL_{95}) fueron calculados usando un análisis de Regresión Probit mediante el paquete estadístico SPSS Statistics 17.0. Los datos fueron considerados significativos a un $P < 0,05$ (Mondal y Khalequzzaman 2010; Yang et al., 2011).

En la Figura 32 se muestra la secuencia del bioensayo.

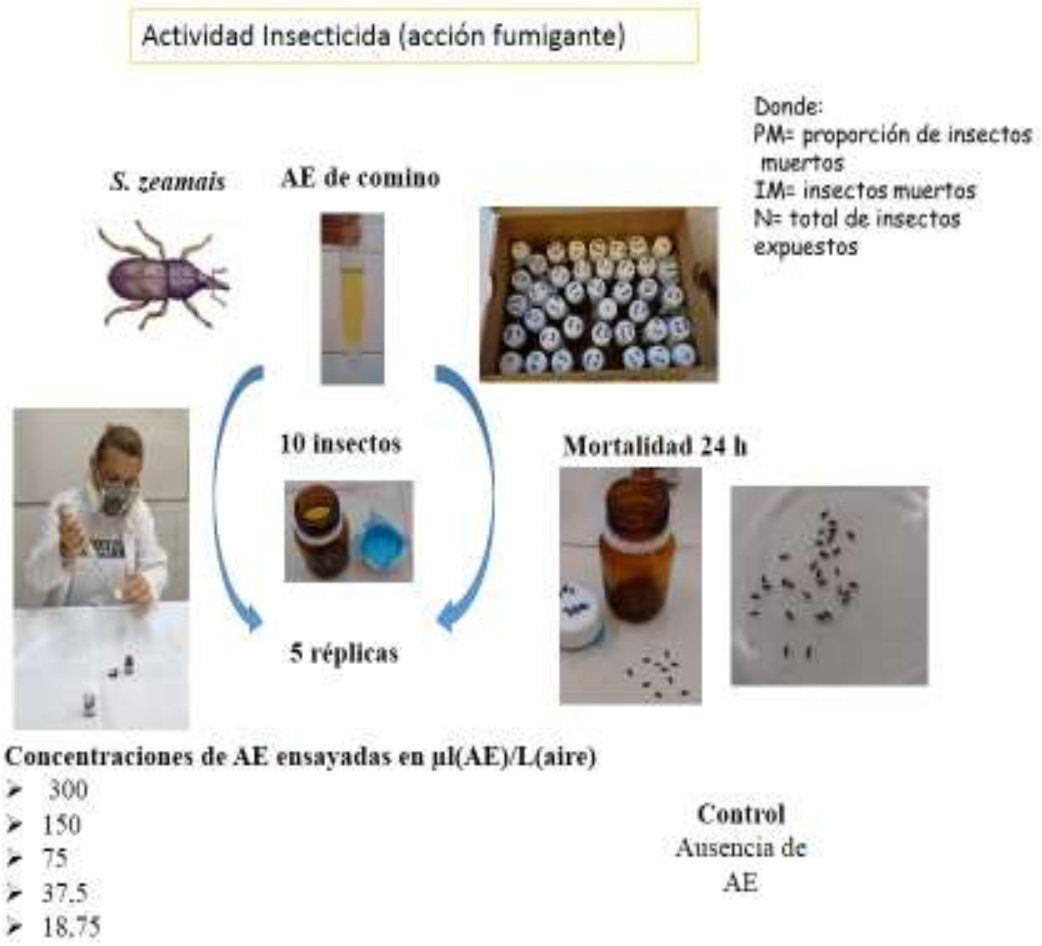


Figura 32. Fotos originales. Esquema del bioensayo de actividad insecticida del aceite esencial de comino contra *S. zeamais*.

En la Tabla 6 se muestra la representación del diseño experimental empleado y las abreviaciones usadas en esta representación tienen los siguientes significados:

(VI) Variable Independiente; (IT) Total insectos vivos; (IM) Insectos Muertos; (RG) grupos aleatorios; (On) Observaciones y/o mediciones; (Xn) Estímulo experimental; (-) ausencia de estímulo experimental. Las observaciones o mediciones efectuadas antes de la aplicación del estímulo experimental corresponden a pre-pruebas, y las aplicadas posteriores al estímulo, corresponden a post-pruebas.

Tabla 6. Diseño experimental puro para el estudio de la actividad insecticida por acción fumigante del aceite esencial (AE) de comino frente *S. zeamais*.

Diseño experimental con pre-prueba; post prueba; grupo control y diferentes niveles de manipulación de la variable independiente.

MUESTRA DEL ACEITE ESENCIAL ESTUDIADO						
Observaciones	Nivel de manipulación de la VI	Nº de réplicas	Nº de insectos/ réplicas	Pre-test total insectos vivos (IT)	Estímulo AE comino	Post-test IM/IT
				tiempo de aplicación del estímulo: 24 h		
Grupos experimentales	RG1: 18,75 μL_{AE} / L_{aire}	5	10	O1	X1	O2
	RG2: 37,50 μL_{AE} / L_{aire}	5	10	O3	X2	O4
	RG3: 75,00 μL_{AE} / L_{aire}	5	10	O5	X3	O6
	RG4: 150,00 μL_{AE} / L_{aire}	5	10	O7	X4	O8
	RG5: 300,00 μL_{AE} / L_{aire}	5	10	O9	X5	O10
Grupo control	RG-control	5	10	O11	_	O12

II.2.2.4.1.2. Pruebas de inhibición de AChE in vitro.

La actividad de la AChE se evaluó empleando el método de microplacas de 96 pocillos propuesto por Brühlmann et al. (2004), con modificaciones. El efecto de diferentes concentraciones de AE de *C. cyminum* (9,2 y 2,3 mg / L) sobre la actividad de AChE se evaluó utilizando *S. zeamais* adultos (0,5 g, aproximadamente 100 adultos) homogeneizados en 5 mL de tampón fosfato 0,1 M (pH 7,4) utilizando un homogeneizador de tejidos de vidrio. Luego, los homogeneizados se centrifugaron (5000 rpm durante 20 minutos a 0 ° C) y se utilizaron los sobrenadantes como fuente de enzima para la determinación de la actividad de AChE. Un método colorimétrico descrito por Ellman et al. (1961) se usó para determinar la inhibición de AChE, calculado como porcentaje de inhibición de AChE = (DOC - DOT / DOC) × 100, mientras que DOC es la densidad óptica de control y DOT es la densidad óptica del tratamiento.

II.2.2.4.1.3 Pruebas de atracción-repelencia por olfatometría. Cálculo de Índice de Respuesta.

Test de olfatómetro. Se utilizó un olfatómetro de dos vías, similar al descripto por Zunino et al. (2015). En el extremo de un tubo de vidrio de 30 cm de largo x 1 cm de diámetro se conectan dos frascos de 250 mL. En el centro (15 cm desde los extremos) existe una perforación de 1 cm^2. La conexión es sellada con una banda de silicona y cubierta con una cinta de parafilm para prevenir el escape de gases. En uno de los frascos se coloca un trocito de papel de filtro de aproximadamente 1 cm^2 con el AE (frasco experimental) y en el otro frasco el papel sin el AE (frasco control, control interno). Se colocan 20 insectos que han sido puestos en ayunas durante 24 h, luego ellos son introducidos en el olfatómetro a través de la perforación del tubo de vidrio. Los insectos son así liberados y evaluados a las 2 h. Durante ese tiempo el olfatómetro se coloca en una cámara oscura a 25 ± 2 °C y 60 ± 5 % humedad relativa (HR) (Figura 33). El experimento se realiza entre las 10:00 a.m. y 4:00 p.m. La posición de los frascos es cambiada en cada réplica, y los insectos que no mostraron ninguna respuesta en el experimento no son tenidos en cuenta. Estudios previos han mostrado que el movimiento de *S. zeamais* en los frascos del olfatómetro fue al azar (seis réplicas).

El índice de respuesta (IR) es calculado usando la siguiente ecuación:

$$IR = [(T-C)/Tot] \times 100,$$

Donde,

T es el número de insectos en el frasco tratamiento,

C es el número de insectos en el frasco control,

Tot es el total de insectos que decidieron.

Valores positivos del IR indican atracción, mientras que los negativos indican repelencia.

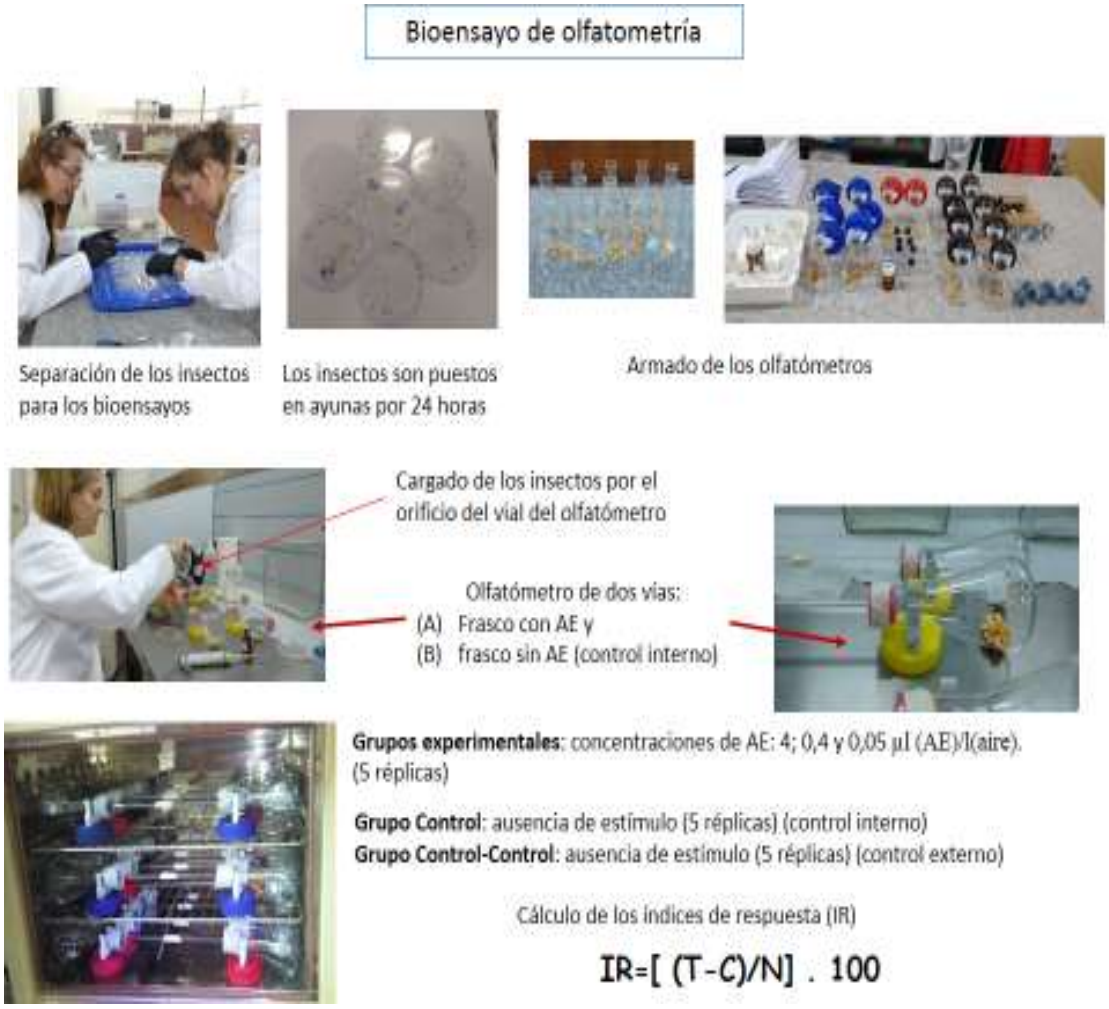


Figura 33. Fotos originales. Esquema del bioensayo de actividad insectífuga del aceite esencial de comino contra *S. zeamais*.

El diseño experimental empleado se representa en la Tabla 7 y las abreviaciones usadas en esta representación tienen los siguientes significados:

(VI) Variable Independiente; (IT) Total insectos vivos; (RG) grupos aleatorios; (C) Control; (T) Tratamiento; (On) Observaciones y/o mediciones; (Xn) Estímulo experimental; (-) ausencia de estímulo experimental. Las observaciones o mediciones efectuadas antes de la aplicación del estímulo experimental corresponden a pre-pruebas, y las aplicadas posteriores al estímulo, corresponden a post-pruebas.

Tabla 7. Diseño experimental puro para el estudio de la actividad insectífuga del aceite esencial (AE) de comino, evaluada por olfatometría frente *S. zeamais*.

Diseño experimental con pre-prueba; post prueba; grupo control interno; control-control y diferentes niveles de manipulación de la variable independiente.

MUESTRA DE ACEITE ESENCIAL ESTUDIADO						
Observaciones	Nivel de manipulación de la VI	Nº de réplicas	Nº de insectos/ réplicas	Pre-test Total insectos vivos (IT)	Estímulo AE comino	Post-test C-T
				Tiempo de aplicación del estímulo: 2 h		
Grupos experimentales con control interno	RG1: 0,05 μL_{AE} /L_{aire}	5	20	O1	X1	O2
	RG1: control				-	
	RG2: 0,40 μL_{AE} /L_{aire}	5	20	O3	X2	O4
	RG2: control				-	
	RG3: 4,00 μL_{AE} /L_{aire}	5	20	O5	X3	O6
	RG3: control				-	
Grupo control externo	RG-control A	5	20	O7	-	O8 Post-test CA-CB
	RG-control B				-	

II.2.2.4.2 Estudio de la actividad anti-fúngica frente a *Fusarium verticillioides*.

II.2.2.4.2.1 Innhibición del crecimiento fúngico.

A efectos de realizar una descripción de los parámetros de crecimiento de *F. verticillioides* frente a distintos tratamientos con AEs de comino de Catamarca y frente al cuminaldehído, se realizaron ensayos in vitro. Los inóculos fúngicos fueron preparados con la cepa toxicogénica *F. verticillioides* M 3125 obtenida desde el United States Departament of Agriculture, Agricultural Research Service, National Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, IL, USA. Para preparar el inóculo se agregó una solución estéril de Tween 80 (2,5 % en PBS) sobre las colonias fúngicas desarrolladas durante 7 días a 28 ºC en medio agar Czapek-dox. Las suspensiones obtenidas se dejaron decantar durante 30 seg., y se determinó su concentración con hemocitómetro. Las suspensiones de conidios fueron conservadas a 4 °C hasta su utilización. Los porcentajes de inhibición fúngica de *F. verticillioides* M 3125 se determinaron por el método de inhibición del crecimiento radial en agar Czapek-dox, según la metodología descripta por

Meriles et al. (2006). Brevemente, los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave a 121 ºC durante 15 minutos, y posteriormente enfriados en baño termostatizado a 45-50 ºC. Luego, los AE se agregaron puros en cantidades adecuadas para obtener concentraciones finales de 250,00; 500,00 y 1000,00 ppm. Como controles se utilizaron placas con medio de cultivo sin el agregado de AE. Una suspensión de 10 µL de conidios fúngicos (10^6 conidios/mL), preparada como se explicó previamente, se adicionó en el centro de cada placa de Petri. Las placas se incubaron a 28 °C en oscuridad hasta que el crecimiento fúngico en las placas control (medio sin el agregado de AE) y tratamiento cubrieron completamente la superficie del medio (Figura 34). Los resultados se expresan como área de crecimiento radial (cm^2).

Figura 34. Fotos originales. Esquema del bioensayo de actividad antifúngica por inhibición de crecimiento fúngico.

II.2.2.4.2.2 Actividad antimicotoxicogénica.

La actividad antimicotoxicogénica se determinó a partir del desarrollo fúngico en placas que contienen agar Czapek-dox con 500 ppm de AE. Las placas fueron incubadas a 28 °C durante 28 días. Los controles fueron preparados siguiendo la misma metodología sin el agregado de AE. Los experimentos se realizaron por cuadruplicado. El diseño experimental realizado se representa en la Tabla 8 y las abreviaciones empleadas tienen el mismo significado que los asignados en las Tablas 6 y 7.

Tabla 8. Diseño experimental puro. Esquema del bioensayo de actividad antifúngica por inhibición de crecimiento radial en agar czapek-dox.

Diseño experimental con pre-prueba; grupo control; diferentes niveles de manipulación de la variable independiente, permanencia de estímulo y múltiples post-pruebas.

MUESTRA DEL ACEITE ESENCIAL ESTUDIADO														
Observaciones	Nivel de manipulación de la VI	Nº de réplicas	Pre-test crec. radial	AE comino/ cuminal	Post-test: medición de crecimiento radial por día									
					Tiempo de actuación del estímulo en días									
			Día 0	Día 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
				Permanencia del estímulo X1										
Grupos experimentales	RG1: 250 $\mu L_{AE}/L$	4	O1	X1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11
	RG2: 500 $\mu L_{AE}/L$	4		Permanencia del estímulo X2										
			O12	X2	O13	O14	O15	O16	O17	O18	O19	O20	O21	O22
	RG3: 1000 $\mu L_{AE}/L$	4		Permanencia del estímulo X3										
			O23	X3	O24	O25	O26	O27	O28	O29	O30	O31	O32	O33
	RG1: 250 $\mu L_{cum}/L$	4		Permanencia del estímulo X4										
			O34	X4	O35	O36	O37	O38	O39	O40	O41	O42	O43	O44
	RG2: 500 $\mu L_{cum}/L$	4		Permanencia del estímulo X5										
			O45	X5	O46	O47	O48	O49	O50	O51	O52	O53	O54	O55
	RG3: 1000 $\mu L_{cum}/L$	4		Permanencia del estímulo X6										
			O56	X6	O57	O58	O59	O60	O61	O62	O63	O64	O65	O66
RG: grupo control		4		Ausencia de estímulo										
			O67	-	O68	O69	O70	O71	O72	O73	O74	O75	O76	O77

Después de la incubación, las placas se dejaron secar a 50-60 °C durante 5-7 días, dependiendo de la HR ambiente. Luego, el agar con micelio seco (0,5 g) fue molido y la

micotoxina extraída con agua destilada por agitación durante 2 h. El extracto acuoso se filtró con papel de filtro Whatman Nº 4 y posteriormente se centrifugó a 9000 x g. Una alícuota de 500 µL del sobrenadante se diluyó con 500 µL de acetonitrilo. Los extractos se conservaron a –20 ºC hasta ser analizados. La cuantificación de FB_1 se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Shephard et al. (1990). Para ello, una alícuota de 50 µL de cada muestra se derivatiza adicionándole 200 µL de una solución de O-ptaldehído (OPA). La solución derivatizante se prepara disolviendo 40 mg en 1 ml de tetraborato de Na 0,1 M y 50 µL de 2-mercaptoetanol. Las fumonisinas derivatizadas (20 µL de solución) se analizan usando un sistema de detección fluorescencia/HPLC fase reversa. El sistema HPLC consiste de una bomba 2125 LKP (Broma, Sweden) conectado a un detector espectrofluorimétrico Perkin Elmer MPF-44B y a un integrador Perkin Elmer LCI (Perkim Elmer, Norwalk CT). Las separaciones cromatográficas se hicieron en una columna de fase reversa de C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm de tamaño de partícula; Supelcosil LC-ABZ, Supelco) conectada a una precolumna Supelguard LC-ABZ (20 x 4,6 mm, 5 µm de tamaño de partícula, Supelco). Como fase móvil se usó metanol: fosfato de sodio dihidrogenado 0,1 M (75:25) y el pH de la solución fue ajustado a 3,35 con ácido ortofosfórico. El flujo de la fase móvil es de 1,5 mL/min. El rango de excitación y emisión usados fueron 335 nm y 440 nm respectivamente. La cuantificación de FB_1 se basó en la comparación de las áreas con aquellas correspondientes a la de la solución testigo de referencia de FB_1 (Sigma).

II.2.3 Evaluación de la actividad antifúngica, repelente e insecticida del cuminaldehído como componente mayoritario.

La actividad antifúngica sobre el *F. verticillioides* M 3125, así como la acción insecticida y repelente sobre *S. zeamais*, del cuminaldehído, se llevó a cabo como se detalló anteriormente, pero reemplazando en cada ensayo el AE por el cuminaldehído puro.

II.3 Análisis estadístico en general.

Los datos obtenidos fueron sujetos al test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilk y al test de igualdad de varianzas de Levene. Para determinar si existen diferencias significativas entre valores medios de varios grupos cuyos datos se

distribuyen normalmente se aplicó análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de una Prueba de Tukey – Duncan o de Dunnett T3, según corresponda. En el caso de comparar medias de dos grupos se aplicó el test T de Student. A los grupos de datos que no presentaron distribución normal se les aplicó análisis no paramétrico. Para comparar medias de dos grupos cuyos datos no presentan distribución normal se aplicó la prueba U de Mann-Whitney. Para comparar medias de más de dos grupos se aplicó el test de Kruskal-Wallis, seguido del Test de Mann-Whitney. En todos los casos se trabajó con un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

Para los cálculos de concentración letal 50 (CL_{50}) y concentración letal 95 (CL_{95}) se aplicó análisis de regresión Probit.

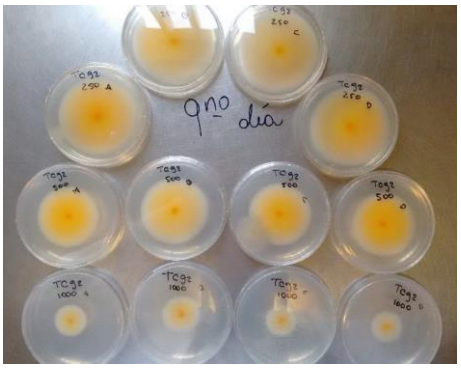
Para determinar diferencias significativas en las pruebas de comportamiento se aplicó la prueba T de muestras pareadas.

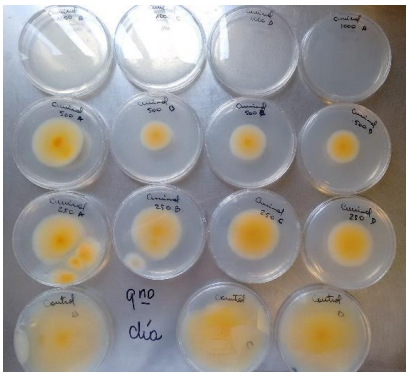
Para análisis de correlación entre variables se aplicó análisis de covarianza y coeficiente de correlación de Pearson. También se realizó análisis de correlación no paramétrica y se determinaron coeficientes de correlación de Kendall's tau_b y de Spearman's rho.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando planillas de cálculo de Microsoft Excel, Infostat y el programa SPSS Statistics 17.0.

Capítulo III

Resultados y Discusión





CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

III. Introducción.

En este capítulo se exponen y discuten los resultados de las observaciones realizadas sobre el comino que produce Catamarca, objeto de estudio de esta Tesis.

Los objetos de conocimiento, y como ya se señaló en el capítulo de Materiales y Métodos, ponen foco sobre características físicas y químicas del fruto semilla de comino y a partir de allí, centra especial atención en la composición química y en la actividad biológica de su AE.

En general, a los datos obtenidos de las distintas mediciones, se les aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk y se les realizó análisis estadístico descriptivo.

Para la determinación de diferencias de medias se aplicaron análisis paramétricos y no paramétricos según correspondió.

Los resultados de las pruebas estadísticas aplicadas a los datos se encuentran disponibles en tablas y gráficos incluidos en Anexo.

III.1 Resultados del estudio del fruto-semilla de comino.

III.1.1 Peso y Tamaño de los frutos-semillas.

Se sabe que el fruto-semilla de comino se comercializa a nivel local, regional, nacional e internacional, principalmente como especia aromática para la producción de aromatizantes y saborizantes y también, para la extracción de su AE.

El aspecto del fruto-semilla, como variable de calidad en el mercado de alimentos, juega un papel importante en la aceptación o rechazo del producto. El peso y el tamaño de las semillas son variables físicas de aspecto, sin embargo, es escaso el conocimiento científico de estas variables para el comino en general, y prácticamente nulo para el comino de Catamarca.

La forma y las dimensiones físicas de frutos y semillas son importantes a nivel de producción y de comercio internacional por cuanto el diseño adecuado de máquinas y procesos para cosechar, manipular y almacenar materiales agrícolas y convertir estos materiales en alimentos y piensos requiere una comprensión de sus propiedades físicas y mecánicas. Los volúmenes y las áreas de superficie de las semillas deben ser conocidos para un modelado preciso del calor y la transferencia de masa durante el enfriamiento y el secado. En vista de esto, Mollazade et al (2009) estudiaron la dependencia de algunas propiedades físicas y mecánicas de las semillas de comino, incluyendo el tamaño, el peso de mil semillas y el área de superficie, respecto de la humedad.

En los apartados del III.1.1.1 y III.1.1.2 se muestran, respectivamente, los resultados del peso medio de 1000 semillas y el tamaño medio expresado como área superficial media del comino que se produce en la provincia de Catamarca. También se comparan estas variables por departamento productor.

III.1.1.1 Peso medio de 1000 semillas (g).

III.1.1.1.1 Departamento Belén.

El comino del departamento Belén presenta variabilidad en cuanto al peso medio de mil semillas, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre muestras

de distintos productores del mismo departamento. Estas diferencias pueden observarse en la Tabla 9.

El comino de Artaza cosechado en el año 2009 (BAg_2-2009) presenta un fruto-semilla significativamente mas liviano que la mayoría de los cominos de Belén cosecha 2015 estudiados. Al no contar con más muestras del año 2009 no se puede arriesgar una comparación por campaña de producción para todo el departamento Belén.

Si se observa la producción de comino del año 2015, el comino proveniente de la localidad Londres (BLg_3-2015), presenta una semilla de menor peso que las provenientes de la Villa de Belén. Sin embargo, un productor del Barrio La Puntilla (BP_1g_2-2015) que pertenece a la Villa de Belén, produjo, para el año 2015, el comino de menor peso del departamento.

Tabla 9. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Belén- Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
BAg_2-2009	5	2,80 ± 0,75	[2,14 - 3,46]	A
BAg_2-2015	5	4,02 ± 0,16	[3,88 - 4,16]	B
BBg_2-2015	5	4,46 ± 0,34	[4,16 - 4,75]	B
BCg_2-2015	5	4,10 ± 0,02	[4,08 - 4,13]	B
BCg_3-2015	5	3,99 ± 0,17	[3,84 - 4,13]	B
$BCMg_2$-2015	5	4,31 ± 0,33	[4,02 - 4,61]	B
BLg_3-2015	5	3,27 ± 0,32	[2,99 - 3,55]	A
BP_1g_2-2015	5	3,12 ± 0,25	[2,90 - 3,35]	A
BP_2g_2-2015	5	4,65 ± 0,41	[4,29 - 5,01]	B
Total Departamento Belén	45	3,86 ± 0,69	[3,66 - 4,06]	

N: número de repeticiones para cada muestra.
Los datos no presentan distribución normal según test de Shapiro-Wilk ($P < 0,05$).
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según pruebas de Kruskal-Wallis Test y Mann-Whitney Test ($P < 0,05$).

Por otro lado, se advierte que entre muestras del mismo departamento, mismo año, mismo barrio, y que en este caso particular corresponde también a un mismo productor,

pero que recibieron distinto grado de limpieza manual (BCg_2-2015; BCg_3-2015), no existen diferencias significativas en el peso de las semillas. El grado de limpieza parece no afectar a esta variable.

III.1.1.1.2 Departamento Capayán.

El comino del departamento Capayán es homogéneo respecto al peso de 1000 semillas por cuanto no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pesos medios de las muestras analizadas. Los valores medios, desvíos estándar, e intervalos de confianza de las medias se presentan en la Tabla 10.

Similar a lo que se observó en muestras de comino de Belén, muestras de comino de Capayán (Cag_1-2014; Cag_4-2014), provenientes de un mismo productor, mismo año, mismo paraje, pero distinto método de limpieza, no presentan diferencias significativas en el peso de las semillas. El método de limpieza parece no afectar a esta variable.

Tabla 10. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Capayán- Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
Cag_1-2013	5	3,12 ± 0,20	[2,94 - 3,30]	A
Cag_1-2014	5	3,53 ± 0,02	[3,51 - 3,55]	A
Cag_4-2014	5	3,37 ± 0,04	[3,34 - 3,40]	A
Cag_4-2015	5	3,42 ± 0,22	[3,23 - 3,61]	A
Total Departamento Capayán	20	3,36 ± 0,21	[3,27 - 3,45]	A

N: número de repeticiones para cada muestra.
Los datos no presentan distribución normal según test de Shapiro-Wilk ($P < 0,05$).
(*) Medias con una letra común no son significativamente diferentes según Kruskal-Wallis Test ($P = 0,392$).

III.1.1.1.3 Departamento Pomán.

El fruto semilla de comino del departamento Pomán, como en el caso del comino de Capayán, también es homogéneo respecto a su peso. Como puede observarse en la Tabla 11, sólo la muestra correspondiente al año de cosecha 2008 presenta un fruto significativamente más liviano según pruebas de Kruskal-Wallis Test ($P = 0,000$) y Mann-Whitney Test ($P < 0,05$).

Tabla 11. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Pomán- Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
PPg_2-2008	11	3,24 ± 0,40	[3,01; 3,48]	A
PPg_2-2009	6	4,33 ± 0,31	[4,08; 4,58]	B
PPg_2-2013	10	4,70 ± 0,81	[4,19; 5,20]	B
PPg_2-2014	6	4,88 ± 0,48	[4,50; 5,27]	B
PPg_2-2015	6	5,02 ± 0,27	[4,81; 5,24]	B
Total Departamento Pomán	39	4,31 ± 0,87	[4,04; 4,58]	

N: número de repeticiones para cada muestra.
Los datos no presentan distribución normal según test de Shapiro-Wilk ($P < 0,05$).
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según pruebas de Kruskal-Wallis Test ($P = 0,000$) y Mann-Whitney Test ($P < 0,05$).

III.1.1.1.4 Departamento Santa María.

Aunque las muestras de comino de Santa María pertenecen a la misma localidad, presentan diferencias significativas en el peso de 1000 semillas según el productor y año de producción, tal como se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Santa María- Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
SMg_2-2008	5	4,35 ± 0,15	[4,23;4,48]	A
SMg_3-2014	5	3,61 ± 0,25	[3,39;3,83]	B
SMg_3-2015	5	3,92 ± 0,33	[3,63;4,21]	AB
Total Departamento Santa María	15	3,97 ± 0,38	[3,77;4,16]	

N: número de repeticiones para cada muestra.
Los datos no presentan distribución normal según test de Shapiro-Wilk ($P = 0,006$).
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según pruebas de Kruskal-Wallis Test ($P = 0,009$) y Mann-Whitney Test ($P < 0,05$)

III.1.1.1.5 Departamento Tinogasta.

Los datos de los pesos de las muestras TSg_2-2008 y $TCSg_2$-2010 no se distribuyen normalmente según las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk (P = 0,000), mientras que en la muestra TCg_2-2015, los datos presentan distribución normal (P = 0,314).

Para comparar las medias de las muestras observadas se sometieron los tres grupos de datos, tanto al análisis paramétrico (ANOVA de un factor), como al no paramétrico (Kruskal-Wallis Test) para un α = 0,05. Ambas pruebas lanzaron diferencias estadísticamente significativas entre los pesos medios de mil semillas de comino para las muestras comparadas. Los valores encontrados y sus diferencias se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del peso de 1000 semillas de comino del departamento Tinogasta- Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
TSg_2-2008	5	2,63 ± 0,17	[2,48; 2,78]	A
$TCSg_2$-2010	5	3,29 ± 0,20	[3,11; 3,46]	B
TCg_2-2015	5	3,62 ± 0,61	[3,08; 4,15]	B
Total Departamento Tinogasta	15	3,18 ± 0,55	[2,90; 3,46]	

N: número de repeticiones para cada muestra.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según ANOVA (P= 0,0047) seguida de la prueba de Tukey y según Kruskal-Wallis Test (P = 0,023) y Mann-Whitney Test (P = 0,032).

III.1.1.1.6 Provincia de Catamarca.

Los datos de esta variable, agrupados por departamento, no se distribuyen normalmente según test de Shapiro-Wilk ($P \leq$ 0,002), al igual que los datos a nivel provincial, y sin agrupar por departamento, según el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (P = 0,000). En el Anexo 1 se muestra la Tabla 2 con los resultados de los test de normalidad.

Los pesos medios de mil semillas de comino obtenidos para cada departamento fueron comparados por Kruskal-Wallis Test y Mann-Whitney Test, obteniéndose

diferencias estadísticamente significativas (P = 0,000). Los pesos medios de mil semillas de los cominos de Belén y Santa María son iguales al peso medio a nivel provincial. El comino de Pomán es el más pesado (4,47 g ± 0,81 g) y es el único que presenta un peso similar a los pesos de mil semillas reportados para diferentes ecotipos de comino de Irán que van desde 4,3 g a 4,9 g (Nezami et. al., 2011). Mollazade et al. (2009) reportaron para comino de Irán pesos de mil semillas de 2,9 g cuando el contenido de humedad es de 7,24 % y de 3,9 g cuando la humedad es máxima (21,38 %). Los cominos de Tinogasta y Capayán, fueron los más livianos, tal como se muestra en la Figura 35.

La media provincial del peso de 1000 semillas (3,88 g ± 0,76 g) encontrada en esta investigación es considerablemente mayor al peso reportado para el comino egipcio, cuyo valor es de 2,33 g (Curioni y Arizio, 1997) y similar al peso medio de 3,51 g declarado para la variedad criolla Sumalao N° 1 al momento de su inscripción, por parte del INTA, en el Instituto Nacional de semillas en 1983 (Curioni y Arizio, 1997; Paunero, 1992; Ratti, 1984; Sánchez, 2012).

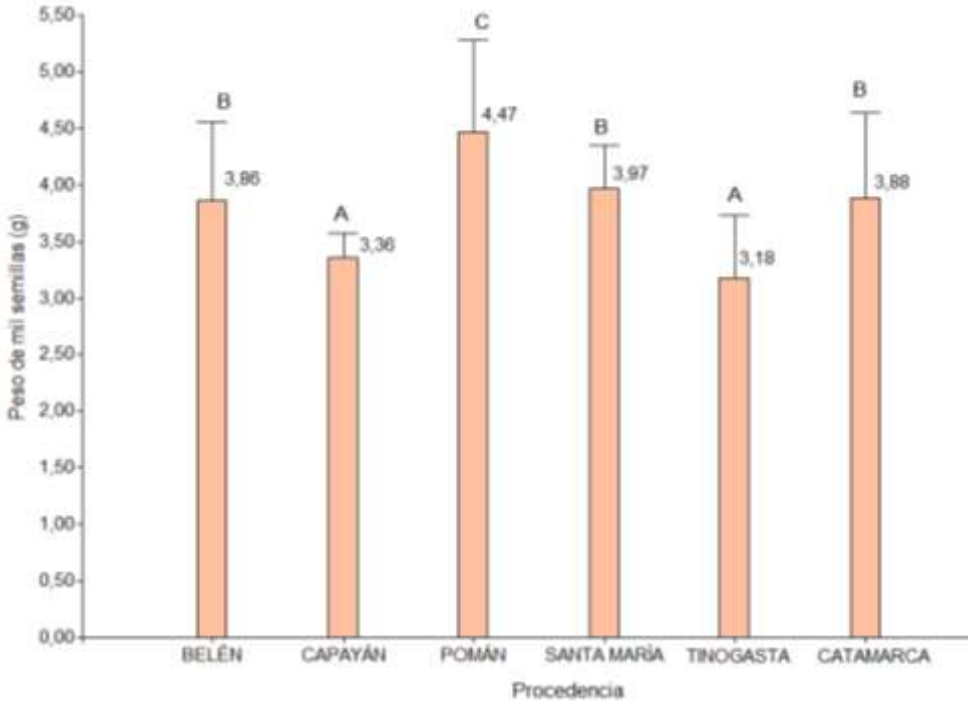


Figura 35. Peso medio (g) de mil semillas de comino de los distintos departamentos productores de Catamarca.

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según Kruskal-Wallis Test, χ^2 = 33,43 significativo a P = 0,000 y Mann-Whitney Test significativo a P < 0,05.

I II.1.1.2 Tamaño de los frutos-semillas.

El tamaño de los frutos-semillas de comino se evaluó como área superficial media Sm (mm^2). El área superficial media se calculó aplicando la ecuación indicada en el apartado I.2.1.2. (Jain y Bal, 1997; Koocheki et al., 2007; Milani et al., 2007) que emplea los valores de largo (L), ancho (A) y espesor (E). Además se calcularon diámetro medio aritmético (Dma, mm) y diámetro medio geométrico (Dmg, mm). Para todas las muestras se realizaron 20 repeticiones y se calcularon medias, desvíos estándar e intervalos de confianza para $\alpha = 0,05$ que se exponen en tablas en sus respectivos apartados por departamento.

Existe vacío de conocimiento en cuanto a las medidas de las semillas de comino según el origen geográfico, mencionándose únicamente y de manera general, el largo que va de 4 a 6 mm y 2 mm de ancho (Divakara Sastry y Muthuswamy Anandaraj, 2013; Rizvi et al., 2015).

III.1.1.2.1 Departamento Belén.

Dentro del mismo departamento Belén se advierte una marcada variabilidad en el tamaño de las semillas de comino.

Considerando la totalidad de los valores obtenidos a nivel departamento para el Sm (mm^2) de los frutos semilla de comino, se observa que no presentan distribución normal según Kolmogorov-Smirnov, $P = 0,001$; mientras que los valores agrupados por muestra presentan distribución normal según la prueba de Shapiro-Wilk ($P \geq 0,05$) y sólo los datos de las muestras 2 y 7 que corresponden respectivamente a los códigos BAg_2-2015 ($P = 0,044$) y BLg_3-2015 ($P = 0,038$), no se distribuyen normalmente.

Todas las medias de área superficial, incluidas las correspondientes a las muestras BAg_2-2015 y BLg_3-2015, fueron comparadas por ANOVA de una vía y se encontró que al menos una media presenta diferencia estadísticamente significativa ($P = 0,000$) y que las varianzas son homogéneas según Levene $P = 0,071$.

En la Tabla 14 se exponen los valores medios de todas las medidas tomadas y calculadas en relación al tamaño de las semillas de comino. También se muestran las diferencias significativas encontradas entre las medias de área superficial.

III.1.1.2.2 Departamento Capayán.

Los datos de las Sm (mm^2) de todas las muestras de semillas de comino del Departamento Capayán se distribuyen normalmente según la prueba de Sapiro-Wilk ($P \geq 0,063$), mientras que si se considera la totalidad de los datos a nivel departamento, la distribución no es normal según Kolmogorov-Sminov, significativo a $P = 0,000$.

La comparación de medias para el área superficial se realizó por ANOVA de una vía y se encontró que al menos una media presenta diferencia estadísticamente significativa, ($P = 0,000$). Considerando que las varianzas no son homogéneas según Test de Levene $P = 0,010$, las comparaciones múltiples se hicieron por Dunnett T3.

En la Tabla 15 se exponen los valores medios por muestra, la media a nivel departamento de las medidas tomadas y calculadas en relación al tamaño de las semillas y las diferencias significativas encontradas.

Tabla 14. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Belén- Catamarca.

Procedencia de las muestras	Resultados	L (mm)	A (mm)	E (mm)	Dma (mm)	Dmg (mm)	Sm (mm^2)	(**)
BAg_2-2009	Media ± DE	6,18 ± 0,64	1,18 ± 0,15	0,78 ± 0,10	2,71 ± 0,25	1,78 ± 0,17	10,13 ± 1,90	A
	IC para α 0,05	[5,90; 6,46]	[1,11; 1,24]	[0,74; 0,83]	[2,60; 2,82]	[1,70; 1,86]	[9,29; 10,96]	
BAg_2-2015	Media ± DE	5,99 ± 0,47	1,62 ± 0,24	0,94 ± 0,18	2,85 ± 0,21	2,07 ± 0,21	12,87 ± 2,30	BC
	IC para α 0,05	[5,78; 6,19]	[1,51; 1,72]	[0,86; 1,01]	[2,76; 2,94]	[1,98; 2,16]	[11,86; 13,8]	
BBg_2-2015	Media ± DE	6,21 ± 0,42	1,57 ± 0,20	1,08 ± 0,20	2,95 ± 0,20	2,18 ± 0,21	14,15 ± 2,44	BC
	IC para α 0,05	[6,02; 6,39]	[1,49; 1,66]	[0,99; 1,16]	[2,87; 3,04]	[2,09; 2,27]	[13,08; 15,2]	
BCg_2-2015	Media ± DE	6,45 ± 0,53	1,56 ± 0,22	1,02 ± 0,22	3,01 ± 0,17	2,16 ± 0,21	14,09 ± 2,18	BC
	IC para α 0,05	[6,22; 6,68]	[1,46; 1,66]	[0,93; 1,12]	[2,94; 3,09]	[2,07; 2,25]	[13,14; 15,0]	
BCg_3-2015	Media ± DE	6,42 ± 0,62	1,62 ± 0,27	0,97 ± 0,20	3,00 ± 0,26	2,14 ± 0,22	13,93 ± 2,63	BC
	IC para α 0,05	[6,15; 6,70]	[1,50; 1,74]	[0,88; 1,06]	[2,89; 3,12]	[2,05; 2,24]	[12,78; 15,0]	
$BCMg_2$-2015	Media ± DE	6,77 ± 0,63	1,48 ± 0,19	1,10 ± 0,16	3,11 ± 0,25	2,22 ± 0,19	14,96 ± 2,32	C
	IC para α 0,05	[6,49; 7,04]	[1,39; 1,56]	[1,03; 1,17]	[3,01; 3,22]	[2,13; 2,30]	[13,94; 15,9]	
BLg_3-2015	Media ± DE	6,18 ± 0,60	1,41 ± 0,24	0,92 ± 0,22	2,84 ± 0,26	1,98 ± 0,26	12,16 ± 2,85	AB
	IC para α 0,05	[5,92; 6,44]	[1,30; 1,51]	[0,82; 1,02]	[2,72; 2,95]	[1,87; 2,10]	[10,92; 13,4]	
BP_1g_2-2015	Media ± DE	5,86 ± 0,63	1,48 ± 0,15	0,94 ± 0,11	2,76 ± 0,23	2,01 ± 0,14	12,10 ± 1,68	AB
	IC para α 0,05	[5,58; 6,13]	[1,42; 1,55]	[0,90; 0,99]	[2,66; 2,86]	[1,95; 2,07]	[11,36; 12,8]	

Continuación Tabla 14.

BP_2g_2-2015	Media ± DE	6,63 ± 0,65	1,58 ± 0,25	1,07 ± 0,14	3,09 ± 0,26	2,23 ± 0,19	15,00 ± 2,50	C
	IC para α 0,05	[6,34; 6,91]	[1,47; 1,69]	[1,01; 1,14]	[2,98; 3,21]	[2,14; 2,31]	[13,90; 16,1]	
Total Depto (*)	Media ± DE	6,30 ± 0,63	1,50 ± 0,25	0,98 ± 0,20	2,93 ± 0,26	2,09 ± 0,24	13,27 ± 2,74	BC
Belén	IC para α 0,05	[6,21; 6,39]	[1,46; 1,54]	[0,95; 1,01]	[2,89; 2,96]	[2,05; 2,12]	[12,87; 13,6]	

(*) Los valores medios de las dimensiones de las semillas para cada muestra se calcularon sobre 20 repeticiones.

(**) Letras diferentes en la columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias de S (mm^2) según ANOVA, $P = 0{,}000$ y según comparaciones múltiples Tukey HSD, $P < 0{,}05$ y subgrupos homogéneos.

Tabla 15. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Capayán- Catamarca.

Procedencia de las muestras	Resultados	L (mm)	A (mm)	E (mm)	Dma (mm)	Dmg (mm)	Sm (mm^2)	(**)
Cag_1-2013	Media ± DE	6,19 ± 0,40	1,71 ± 0,28	0,88 ± 0,21	2,93 ± 0,23	2,09 ± 0,27	13,23 ± 2,96	A
	IC para α 0,05	[6,02; 6,37]	[1,58; 1,83]	[0,79; 0,98]	[2,83; 3,03]	[1,97; 2,21]	[11,94; 14,53]	
Cag_1-2014	Media ± DE	5,82 ± 0,44	1,47 ± 0,14	0,75 ± 0,12	2,68 ± 0,15	1,85 ± 0,12	10,51 ± 1,24	BC
	IC para α 0,05	[5,63; 6,01]	[1,41; 1,53]	[0,70; 0,80]	[2,61; 2,75]	[1,80; 1,90]	[9,96; 11,05]	
Cag_4-2014	Media ± DE	6,09 ± 0,45	1,53 ± 0,16	0,82 ± 0,10	2,81 ± 0,18	1,96 ± 0,13	11,77 ± 1,49	AB
	IC para α 0,05	[5,98; 6,28]	[1,46; 1,60]	[0,78; 0,86]	[2,73; 2,89]	[1,91; 2,02]	[11,11; 12,42]	
Cag_4-2015	Media ± DE	5,34 ± 0,44	1,39 ± 0,24	0,76 ± 0,13	2,50 ± 0,19	1,77 ± 0,20	9,55 ± 1,82	C
	IC para α 0,05	[5,14; 5,53]	[1,20; 1,50]	[0,70; 0,82]	[2,41; 2,58]	[1,69; 1,86]	[8,75; 10,34]	
Total Dpto Capayán (*)	Media ± DE	5,86 ± 0,54	1,52 ± 0,24	0,80 ± 0,15	2,73 ± 0,25	1,92 ± 0,22	11,26 ± 2,39	AB
	IC para α 0,05	[5,74; 5,98]	[1,47; 1,58]	[0,77; 0,84]	[2,68; 2,78]	[1,87; 1,97]	[10,74; 11,79]	

(*) Los valores medios de las dimensiones de las semillas para cada muestra se calcularon sobre 20 repeticiones.

(**) Letras diferentes en la columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias de S (mm^2) según ANOVA, $P = 0{,}000$ y según comparaciones múltiples Dunnett T3, $P < 0{,}008$.

III.1.1.2.3 Departamento Pomán.

Los datos del Sm (mm^2) de las semillas de comino de Pomán se distribuyen normalmente según el Test de normalidad Shapiro-Wilk, salvo las muestras PPg_2-2009 y PPg_2-2015, cuyas distribuciones no son normales, $P < 0,05$. Si se considera la totalidad de los datos a nivel departamento, su distribución no es normal según Kolmogorov-Smirnov, $P = 0,002$.

Los valores medios de las medidas tomadas y calculadas que describen el tamaño de los frutos-semillas del comino de Pomán, y la comparación entre las medias del Sm (mm^2) de las muestras se exponen en la Tabla 16.

No hay evidencia estadística suficiente que indique que las Sm (mm^2) de los frutos semillas de comino de Pomán de diferentes años de cosecha son diferentes entre sí o en comparación con la media a nivel depatamento, según ANOVA, $P = 0,137$ y según Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 8,034$ significativo a $P = 0,154$. Sin embargo, al comparar entre sí por Mann-Whitney las medias de las muestras que no presentan distribución normal, (2009 y 2015), se encuentra diferencia significativa, $P = 0,005$. También se observa que la media de la muestra de 2009 es menor a la media departamental según Mann-Whitney, $P = 0,039$. Las varianzas de los grupos de datos son homogéneas según según Levene, $P = 0,469$.

Tabla 16. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Pomán- Catamarca.

Procedencia de las muestras	Resultados	L (mm)	A (mm)	E (mm)	Dma (mm)	Dmg (mm)	Sm (mm^2)	(**)
PPg_2-2008	Media ± DE	6,22 ± 0,63	1,27 ± 0,17	0,83 ± 0,15	2,78 ± 0,27	1,87 ± 0,20	10,99 ± 2,30	AB
	IC para α 0,05	[5,95; 6,50]	[1,20;1,35]	[0,76; 0,90]	[2,66; 2,89]	[1,78;1,95]	[9,98;12,00]	
PPg_2-2009	Media ± DE	5,86 ± 0,51	1,19 ± 0,18	0,76 ± 0,20	2,60 ± 0,26	1,73 ± 0,27	9,59 ± 2,60	A
	IC para α 0,05	[5,64; 6,08]	[1,11;1,26]	[0,68; 0,85]	[2,49; 2,72]	[1,21;1,25]	[8,44; 10,73]	
PPg_2-2013	Media ± DE	5,77 ± 0,65	1,37 ± 0,19	0,89 ± 0,19	2,68 ± 0,27	1,90 ± 0,24	11,08 ± 2,57	AB
	IC para α 0,05	[5,48; 6,05]	[1,29;1,45]	[0,81; 0,98]	[2,56; 2,79]	[1,80;2,01]	[9,96;12,20]	
PPg_2-2014	Media ± DE	6,03 ± 0,49	1,35 ± 0,18	0,84 ± 0,12	2,74 ± 0,19	1,89 ± 0,16	11,03 ± 1,71	AB
	IC para α 0,05	[5,82; 6,24]	[1,27;1,42]	[0,79; 0,89]	[2,65; 2,82]	[1,82;1,96]	[10,28;11,78]	
PPg_2-2015	Media ± DE	6,03 ± 0,68	1,39 ± 0,14	0,90 ± 0,11	2,77 ± 0,24	1,95 ± 0,14	11,67 ± 1,74	B
	IC para α 0,05	[5,73; 6,33]	[1,33;1,45]	[0,85; 0,95]	[2,67; 2,88]	[1,89;2,02]	[10,91;12,43]	
Total Dpto Pomán (*)	Media ± DE	5,98 ± 0,61	1,31 ± 0,18	0,84 ± 0,16	2,71 ± 0,25	1,87 ± 0,22	10,87 ± 2,28	B
	IC para α 0,05	[5,86; 6,10]	[1,28;1,35]	[0,81; 0,88]	[2,66; 2,76]	[1,83;1,91]	[10,42; 11,32]	

(*) Los valores medios de las dimensiones de las semillas para cada muestra se calcularon sobre 20 repeticiones.

(**) Letras diferentes en la columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias de S (mm^2) según Mann-Whitney, $P \leq 0,039$.

III.1.1.2.4 Departamento Santa María.

De la aplicación del Test de normalidad Shapiro-Wilk se advierte que los datos de Sm (mm^2) de las semillas de la muestra SM_2g_3-2014 y el total a nivel departamento no se distribuyen normalmente ($P \leq 0{,}025$).

La diferencia entre las medias, incluída la media departamental, se evaluó tanto con ANOVA como con Kruskal-Wallis encontrándose que son iguales ($P \geq 0{,}813$), por lo que puede arriesgarse que el comino de Santa María, al menos de lo que se infiere de las muestras analizadas, es homogéneo respecto de esta variable.

Los valores medios de las medidas tomadas y calculadas que describen el tamaño de los frutos-semillas del comino de Santa María, se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Santa María- Catamarca.

Procedencia de las muestras	Resultados	L (mm)	A (mm)	E (mm)	Dma (mm)	Dmg (mm)	Sm (mm^2)**
SMg_3-2014	Media ± DE	6,03 ± 0,55	1,33 ± 0,12	0,84 ± 0,14	2,73 ± 0,21	1,88 ± 0,14	10,95 ± 1,70
	IC para α 0,05	[5,79; 6,28]	[1,28; 1,39]	[0,77; 0,90]	[2,64; 2,83]	[1,82; 1,94]	[10,20; 11,6]
SMg_3-2015	Media ± DE	6,26 ± 0,92	1,34 ± 0,25	0,81 ± 0,17	2,80 ± 0,40	1,88 ± 0,30	11,33 ± 3,44
	IC para α 0,05	[5,86; 6,66]	[1,23; 1,45]	[0,73; 0,88]	[2,63; 2,98]	[1,75; 2,02]	[9,82; 12,84]
Total Depto Santa M. (*)	Media ± DE	6,15 ± 0,76	1,34 ± 0,19	0,82 ± 0,15	2,77 ± 0,32	1,88 ± 0,23	11,14 ± 2,69
	IC para α 0,05	[5,91; 6,38]	[1,28; 1,39]	[0,77; 0,87]	[2,67; 2,87]	[1,81; 1,95]	[10,30; 11,9]

(*) Los valores medios de las dimensiones de las semillas para cada muestra se calcularon sobre 20 repeticiones.

** No existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de S según ANOVA, $P = 0,813$ y Kruskal-Wallis $P = 0,998$

III.1.1.2.5 Departamento Tinogasta.

De la prueba de normalidad Shapiro-Wilk aplicada a los datos de Sm (mm^2) surge que sólo los correspondientes a la muestra TSg_2-2008 se distribuyen normalmente (P = 0,307). Para la comparación de medias se aplicaron pruebas paramétricas y no paramétricas.

Con ambas pruebas estadísticas se obtiene que hay diferencias significativas entre las medias de las Sm (mm2) de las semillas de comino de Tinogasta, encontrándose que el comino producido en 2015 es el de mayor tamaño ($P < 0,05$). Estas diferencias junto a los valores medios de las distintas medidas relacionadas con el tamaño del fruto-semilla de comino del departamento Tinogasta se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del tamaño de semillas de comino del departamento Tinogasta- Catamarca.

Procedencia de las muestras	Resultados	L (mm)	A (mm)	E (mm)	Dma (mm)	Dmg (mm)	Sm (mm^2)	(**)
TSg_2-2008	Media ± DE	5,80 ± 0,64	1,18 ± 0,22	0,82 ± 0,11	2,60 ± 0,24	1,77 ± 0,20	9,98 ± 1,87	B
	IC para α 0,05	[5,52; 6,08]	[1,09; 1,28]	[0,77; 0,87]	[2,50; 2,71]	[1,68; 1,86]	[9,16; 10,80]	
$TCSg_2$-2010	Media ± DE	5,74 ± 0,44	1,14 ± 0,15	0,75 ± 0,09	2,54 ± 0,18	1,69 ± 0,15	9,07 ± 1,42	A
	IC para α 0,05	[5,54; 5,93]	[1,08; 1,21]	[0,71; 0,79]	[2,46; 2,62]	[1,63; 1,76]	[8,45; 9,69]	
TCg_2-2015	Media ± DE	6,53 ± 0,62	1,39 ± 0,17	0,88 ± 0,08	2,93 ± 0,25	1,99 ± 0,17	12,41 ± 2,12	C
	IC para α 0,05	[6,26; 6,80]	[1,31; 1,46]	[0,84; 0,91]	[2,82; 3,04]	[1,92; 2,07]	[11,49; 13,3]	
Total Dpto Tinogasta (*)	Media ± DE	6,02 ± 0,67	1,24 ± 0,21	0,82 ± 0,11	2,69 ± 0,28	1,82 ± 0,21	10,49 ± 2,29	B
	IC para α 0,05	[5,85; 6,19]	[1,19; 1,29]	[0,79; 0,84]	[2,62; 2,76]	[1,77; 1,87]	[9,91; 11,06]	

(*) Los valores medios de las dimensiones de las semillas para cada muestra se calcularon sobre 20 repeticiones.

(**) Letras diferentes en la columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias de S (mm^2) según ANOVA $P = 0{,}000$ y Test-T, $P = 0{,}04$ con igualdad de varianzas asumidas según Levene $P = 0{,}167$, Kruskal-Wallis $\chi^2 = 26{,}676$ significativo a $P = 0{,}000$ y Mann-Whitney $P \leq 0{,}003$

III.1.1.2.6 Tamaño de los frutos-semillas expresado como área superficial media Sm (mm^2). Provincia de Catamarca.

Los datos de las Sm (mm^2) de las semillas de comino agrupados por departamento, no se distribuyen normalmente según los tests de normalidad de Kolmogorov-Smirnov[a] y Shapiro-Wilk ($P \leq 0{,}025$).

La totalidad de los datos para esta variable a nivel provincial son 460 y si se los considera sin agrupar por departamento, al aplicar el test de Kolmogorov-Smirnov[a] se encuentra que tampoco se distribuyen normalmente ($P = 0{,}000$). En el Anexo figuran las tablas con los resultados de los tests de normalidad y se muestran valores medios por departamento productor y para la provincia, considerando todas las mediciones efectuadas a los frutos semillas.

Los valores medios de las S (mm^2) de los frutos-semillas según departamento productor y la media a nivel provincial fueron comparados por Kruskal-Wallis Test, obteniéndose diferencias estadísticamente significativas $\chi^2 = 79{,}074$ significativo a $P= 0{,}000$.

El departamento Belén es el que produce las semillas de mayor tamaño según Mann-Whitney Test ($P = 0{,}000$). Las diferencias en los tamaños de las semillas de comino según la procedencia se muestran en la Figura 36.

En general es escasa o nula la información acerca del tamaño de los frutos-semillas de comino expresadas en términos de área superficial. Se encuentran referencias del largo de las semillas que va de 3 mm a 6 mm (Amin, 2012; Bagchi y Srivastava, 2003), mientras que los largos encontrados en esta tesis para los frutos de comino de Catamarca están comprendidos entre 5,34 mm y 6,77 mm, por lo que se puede decir que este comino presenta un grano particularmente largo. Singh y Goswami (1996), evaluaron las propiedades físicas de la semilla de comino de India como una función del contenido de humedad, reportando para el largo, el ancho y el espesor promedio, 5,61; 1,77 y 1,55 mm respectivamente. Mollazade et al. (2009) también evaluaron las propiedades físicas de la semilla de comino de Irán en función del contenido de humedad y reportaron un

largo de 5,14 mm, ancho de 1,33 mm y espesor de 0,97 mm, para un contenido de humedad de las semillas de 7,24 %. En base a estas medidas los autores calcularon el Dma (2,48 mm), el Dmg, (1,88 mm) y el Sm (10,34 mm^2). Los valores medios de tamaño de semilla encontrados en esta tesis para el comino de Catamarca son: L (6,10 mm), A (1,41 mm), E (0,88 mm), Dma (2,80 mm), Dmg (1,96 mm) y Sm (11,85 mm^2). De la comparación de las medidas expuestas se advierte que los frutos semillas de comino de Catamarca son más largos y más grandes que los cominos de India y de Irán, aunque el comino de Catamarca es más delgado que el comino indio. Esta podría ser una característica distintiva del comino de Catamarca.

Del análisis de correlación entre las variables de tamaño y el peso de mil semillas de comino, se encontró que sólo existe correlación positiva con el espesor de las semillas, siendo el coeficiente de correlación de Pearson 0,43, significativo a *P = 0,036.* Las otras medidas de tamaño, como el largo, el ancho y la superficie de las semillas no presentan correlación significativa con el peso, ver Anexo 1, Tabla 14.

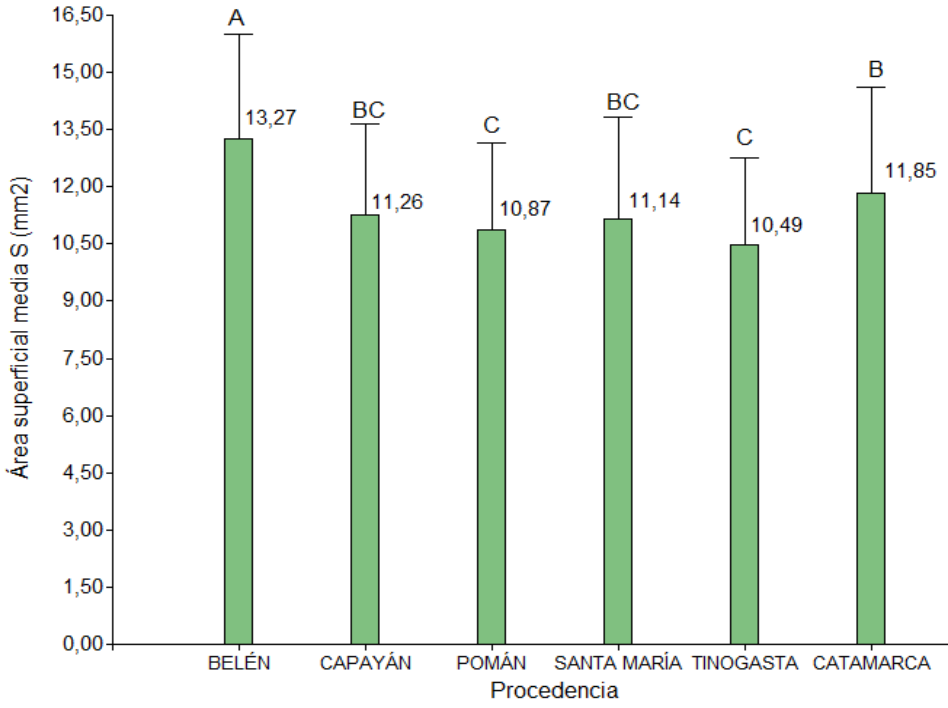


Figura 36. Tamaño de los frutos-semilla de comino de Catamarca expresado como área superficial media S (mm^2).

(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias de Sm (mm^2) por departamento y total Catamarca según Kruskal-Wallis Test, $\chi 2 = 79,074$ significativo a $P = 0,000$ y según Test de Mann-Whitney ($P \leq 0,02$).

III.1.2 Humedad media (% fracción en masa).

La humedad de los frutos semillas de comino es una variable de calidad importante por cuanto está relacionada con la conservabilidad del producto y constituye un requisito químico para la determinación de la categoría. Según la norma ISO 6465:2009, un comino para pertenecer a la Categoría I, entre otros requisitos, debe contener una humedad máxima de 9 %, para la Categoría II, hasta 10 % y para la Categoría III se acepta hasta un 12 % fracción en masa.

La humedad también es una variable de interés desde el punto de vista analítico, dado que al momento de informar el contenido en AE, se lo hace sobre base seca, y para su cálculo, se requiere conocer previamente el contenido de agua de la muestra.

El conocimiento del contenido de humedad de las semillas de comino también es fundamental porque influye en sus propiedades físicas y mecánicas. Actualmente estos aspectos son bien evaluados al momento de diseñar maquinaria agrícola y al planificar el almacenamiento y transporte de las semillas (Mollazade et al., 2009).

III.1.2.1 Departamento Belén.

Según la prueba de Shapiro-Wilk, los datos agrupados por muestra se distribuyen normalmente ($P \geq 0{,}159$), a excepción de los correspondientes a las muestras BCg_3-2015, BP_2g_2-2015 y los totales a nivel departamento, ($P = 0{,}000$). Del Test de Levene surge que las varianzas son homogéneas, ($P = 0{,}091$).

Las muestras del departamento Belén son homogéneas entre sí respecto de la variable humedad, dado que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes medios de contenido de agua en las mismas, según ANOVA ($P = 0{,}745$) y según Kruskal-Wallis, $\chi 2 = 6{,}582$ significativo a $P = 0{,}681$.

En la Tabla 19 se exponen los valores de porcentajes medios de humedad encontrados para las muestras de comino del departamento Belén y se puede observar su homogeneidad en cuanto al contenido de agua. Se advierte que sólo dos muestras superan el máximo permitido para la Categoría I. Si se considera el porcentaje medio de humedad

del comino de todo el departamento, se puede decir que el comino de Belén cumple con la exigencia de la norma para la Categoría I, respecto de esta variable.

Tabla 19. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Belén- Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE (% p/p)	IC; α = 0,05 (% p/p)	(*)
BAg_2-2009	6	7,55 ± 0,51	[7,14 - 7,96]	A
BAg_2-2015	3	8,73 ± 1,43	[7,11 - 10,34]	A
BBg_2-2015	4	8,45 ± 2,04	[6,45 - 10,45]	A
BCg_2-2015	3	7,01 ± 1,03	[5,84 - 8,18]	A
BCg_3-2015	3	8,07 ± 0,83	[7,12 - 9,01]	A
$BCMg_2$-2015	3	8,46 ± 0,55	[7,84 - 9,07]	A
BLg_3-2015	5	9,36 ± 3,22	[6,53 - 12,18]	A
BP_1g_2-2015	4	9,66 ± 3,04	[6,67 - 12,64]	A
BP_2g_2-2015	3	6,70 ± 0,53	[6,10 - 7,29]	A
Total Departamento Belén	34	8,28 ± 1,92	[7,63 - 8,92]	A

N: número de repeticiones analíticas aplicadas a cada muestra.
(*) Letras iguales en la columna indican que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes medios de humedad según ANOVA $P = 0,745$ y según Kruskal-Wallis, $\chi 2 = 6,582$ significativo a $P = 0,681$.

III.1.2.2 Departamento Capayán.

Según la prueba de Shapiro-Wilk, los datos de humedad agrupados por muestra se distribuyen normalmente ($P \geq 0,146$), mientras que la totalidad de los datos sin agrupar no presentan distribución normal ($P = 0,011$).

Los porcentajes medios de humedad encontrados en las distintas muestras del departamento Capayán son iguales entre sí y con respecto a la media departamental según ANOVA ($P = 0,639$).

Sólo una muestra superó el máximo permitido de contenido de agua para la Categoría I. Si se considera el porcentaje medio de humedad del comino de todo el

departamento, se puede decir que, al igual que el comino de Belén, cumple con la exigencia de la norma respecto de esta variable para la Categoría I, Tabla 20.

Tabla 20. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Capayán – Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE (% p/p)	IC; α = 0,05 (% p/p)	(*)
Cag_1-2013	5	8,10 ± 0,55	[7,62 - 8,58]	A
Cag_1-2014	5	8,28 ± 1,11	[7,31 - 9,26]	A
Cag_4-2014	4	9,38 ± 0,75	[8,64 - 10,11]	A
Cag_4-2015	5	8,82 ± 2,00	[7,07 - 10,58]	A
Total Departamento Capayán	19	8,61 ± 1,25	[8,04 - 9,17]	A

N: número de repeticiones analíticas aplicadas a cada muestra.
(*) Letras iguales en la columna indican que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes medios de humedad según ANOVA $P = 0,639$.

III.1.2.3 Departamento Pomán.

Los valores de porcentaje de humedad correspondientes a la muestra PPg2-2009 presentan distribución constante, lo que se evidencia en el bajo desvío estándar. La totalidad del conjunto de datos a nivel departamento y los correspondientes a la muestra PPg_2-2014 no presentan distribución normal según la prueba de Shapiro-Wilk ($P \leq 0,019$). Las muestras restantes de comino de Pomán lanzaron datos de humedad con distribución normal ($P \geq 0,272$).

Existen diferencias significativas entre los porcentajes medios de humedad según los Test de ANOVA y Kruskal-Wallis ya sea que se incluya o no a la media departamental. De la comparación entre las medias surge que la humedad de la muestra de la campaña 2009 tiene menos contenido de agua que la media departamental según Test-T, $P = 0,000$ para igualdad de varianzas no asumidas según Levene, $P = 0,002$ y según Mann-Whitney Test, $P = 0,015$. La muestra de la campaña 2013 supera a la media departamental según Test-T, $P = 0,023$ con igualdad de varianzas asumidas según

Levene, P = 0,347 y Según Test de Mann-Whitney, P = 0,029. Esta muestra además supera también al máximo de porcentaje de humedad permitido por la Norma ISO para la mayor categoría.

En la Tabla 21 se exponen los porcentajes medios de humedad encontrados para las muestras de comino del departamento Pomán y cúales de estas medias difieren significativamente entre sí y con respecto a la media departamental.

Tabla 21. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Pomán – Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE (% p/p)	IC; α = 0,05 (% p/p)	(*)
PPg_2-2008	3	7,47 ± 1,19	[6,12 - 8,82]	AB
PPg_2-2009	5	6,60 ± 0,14	[6,47 - 6,72]	A
PPg_2-2013	4	9,75 ± 0,88	[8,88 - 10,62]	C
PPg_2-2014	4	8,37 ± 0,43	[7,95 - 8,79]	B
PPg_2-2015	4	8,64 ± 0,51	[8,13 - 9,14]	BC
Total Departamento Pomán	20	8,12 ± 1,29	[7,56 - 8,68]	B

N: número de repeticiones analíticas aplicadas a cada muestra.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias muestrales según ANOVA, P = 0,004; Kruskal-Wallis, $\chi 2$ = 15,157 significativo a P = 0,010; Test-T y Mann-Whitney Test, P < 0,05.

Si se considera el porcentaje medio de humedad de todo el departamento, se puede decir que el comino de Pomán cumple con la exigencia de la norma respecto de esta variable para la Categoría I.

III.1.2.4 Departamento Santa María.

Los datos de humedad no se distribuyen normalmente, ni agrupados por muestra, ni tampoco considerando la totalidad de los datos, según test de Shapiro-Wilk ($P \leq 0{,}004$).

La humedad de las muestras estudiadas son iguales entre sí y respecto de la media departamental según Kruskal-Wallis (P = 0,737). El contenido de humedad del comino

de Santa María se muestra en la Tabla 22. La media de humedad cumple con el requisito para ubicarse en la Categoría I, según la ISO 6465:2009.

Tabla 22. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Santa María – Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE (% p/p)	IC; α = 0,05 (% p/p)	(*)
SMg_3-2014	3	9,10 ± 0,66	[8,36 - 9,84]	A
SMg_3-2015	3	8,87 ± 0,15	[8,69 - 9,04]	A
Total Departamento Santa María	6	8,98 ± 0,44	[8,63 - 9,34]	A

N: número de repeticiones analíticas aplicadas a cada muestra.
(*) Letras iguales en la columna indican que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes medios de humedad según Kruskal-Wallis Test, $P = 0,737$.

III.1.2.5 Departamento Tinogasta.

Los datos de humedad analizados por muestra no presentan distribución normal ($P = 0,001$), mientras que el conjunto de la totalidad de los datos sin agrupar se distribuyen normalmente según prueba de Shapiro-Wilk, ($P = 0,100$).

Existen diferencias significativas entre las medias de los porcentajes de humedad de las muestras analizadas según test de Kruskal-Wallis, ($P = 0,008$), significación que disminuye si se incluye a la media departamental en la comparación ($P = 0,018$), Tabla 23.

La humedad de la muestra de $TSCg_2$-2008 es significativamente menor que la de las muestras $TCSg_2$-2010 y TCg_2-2015, según Mann-Whitney Test ($P = 0,015$), y que la media departamental según Test-T, $P = 0,003$ con igualdad de varianzas no asumidas según Levene, $P = 0,026$. La muestra TCg_2-2015 tiene mayor contenido de humedad que las otras muestras y que la media departamental según test de Mann-Whitney y T, $P \leq 0,05$. El comino de la campaña 2015 presenta mayor contenido de agua que el máximo permitido para la categoría de mejor calidad de semilla. Sin embargo la media departamental satisface la mayor exigencia respecto de esta variable.

Tabla 23. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del contenido de agua de semillas de comino del departamento Tinogasta – Catamarca.

Muestra	N	Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
$TSCg_2$-2008	4	6,09 ± 0,09	[6,00 - 6,17]	A
$TCSg_2$-2010	4	8,03 ± 0,45	[7,63 - 8,43]	B
TCg_2-2015	4	9,11 ± 0,26	[8,88 - 9,34]	C
Total Departamento Tinogasta	12	7,74 ± 1,34	[6,89 – 8,59]	B

N: número de repeticiones analíticas aplicadas a cada muestra.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias muestrales según Kruskal-Wallis Test (P = 0,018), Mann-Whitney Test y Test-T, (P < 0,05).

III.1.2.6 Provincia de Catamarca.

De la aplicación de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, surgió que sólo los datos de humedad del comino de Tinogasta se distribuyen normalmente (P = 0,100).

Las varianzas de los datos agrupados por departamento son homogéneas según Test de Levene, P = 0,264.

A nivel provincial, la totalidad de los datos sin agrupar, tampoco se distribuyen normalmente según el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (P = 0,000).

En el Anexo se muestran tablas con los resultados del análisis estadístico descriptivo, los test de normalidad y de homogeneidad de varianzas, como también gráficos de cajas que ilustran las medias y la distribución de los datos por departamento productor y para el total de la provincia.

La humedad media de los frutos de comino de los distintos departamentos productores son iguales entre sí según ANOVA (P = 0,330) y según Kruskal Wallis Test, χ^2 = 7,369; P = 0,118 e iguales a la media provincial, según ANOVA (P = 0,462) y según Kruskal Wallis Test, χ^2 = 7,410; P = 0,192. Esta homogeneidad de los valores medios de humedad se muestra en la Figura 49.

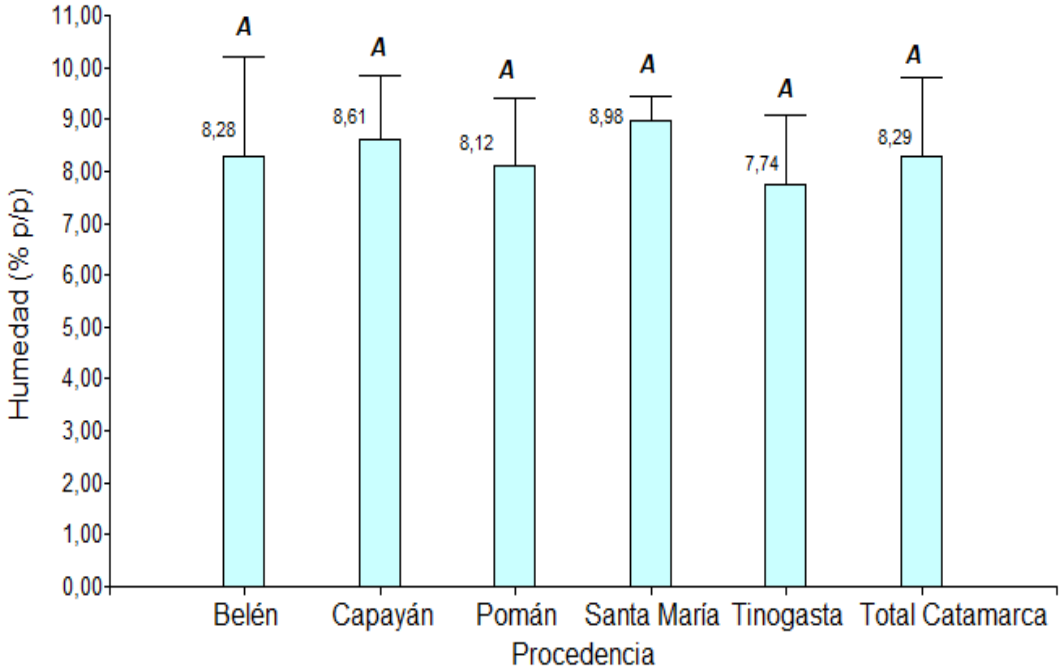


Figura 37. Humedad media de los frutos-semilla de cominos de Catamarca, (% p/p).

(*) Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias, Anova $P = 0{,}462$ y Kruskal-Wallis, $\chi 2 = 7{,}410$ a $P = 0{,}192$.

La media a nivel provincial de 8,29 ± 1,53 % p/p encontrada en esta investigación para el contenido de humedad de las semillas de comino está en concordancia con los valores de humedad de los frutos de comino de distintos países (Gerhardt 1975; Moawad et al., 2015; Rai et al., 2012; Tainer y Grenis, 1993). Dado que la humedad del comino de Catamarca se presenta constante en el tiempo y en el espacio y que su valor medio es inferior al máximo requerido para la Categoría I por la normativa internacional, lo ubica, según esta variable, en condiciones de competir en mercados internacionales.

Del análisis de correlación entre humedad y medidas de tamaño y peso de los frutos semillas, surge que no existe correlación estadísticamente significativa, siendo los coeficientes de correlación de Pearson (CCP) $\leq 0{,}22$ a $P \geq 0{,}30$.

III.1.3 Rendimiento medio en aceite esencial expresados en base húmeda (bh) (ml de AE/100g de muestra húmeda) y en base seca (bs) (ml de AE/100g de muestra seca).

El contenido en aceite volátil, junto a la composición química del AE, es la variable más relevante al momento de evaluar la calidad de una especie aromática.

En este apartado se exponen los resultados de las medias del contenido en AE de los cominos de los departamentos productores de Catamarca y la media a nivel provincial, tanto en base húmeda (bh), como en base seca (bs). Los análisis estadísticos y la discusión de los resultados se hicieron sobre los valores de rendimiento obtenidos en bs.

III.1.3.1 Departamento Belén.

De la aplicación de la prueba de normalidad de Shapiro Wilk, se encontró que los datos de las muestras BAg_2-2009, BAg_2-2015, BBg_2-2015, BCg_3-2015 son considerados constantes por lo que fueron omitidos en la prueba. Los datos de las muestras restantes y el conjunto de la totalidad de los datos a nivel departamento, no presentan distribución normal ($P \leq 0{,}006$).

La comparación de medias de las muestras con la media a nivel departamento se realizó con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, encontrándose diferencias estadísticas $\chi^2 = 37{,}959$ significativas a $P = 0{,}000$. Para determinar cómo difieren las medias entre sí se aplicó sucesivamente la prueba de Mann-Whitney para $\alpha = 0{,}05$.

En la Tabla 24 se exponen los resultados de los rendimientos medios en AE por muestra y el total a nivel departamento.

Existe una gran variabilidad en los rendimientos medios de AE de cominos del departamento Belén, siendo los cominos limpios (g_2) provenientes de los Barrios Chañaral, La Puntilla y de Campo El Medio, los que mostraron un contenido medio en AE significativamente mayor a las demás muestras y a la media departamental según Mann-Whitney, $P \leq 0{,}032$. Sin embargo, otra muestra de comino del Barrio Chañaral y del mismo productor, pero con menor grado de limpieza (g_3), dio un rendimiento significativamente inferior (4,42 ± 0,33 %) a la muestra limpia (6,17 ± 0,39), $P = 0{,}005$ y a la media departamental (5,27 ± 0,78 %), $P = 0{,}040$ según Test de Mann-Whitney.

También, otra muestra de comino limpio de La Puntilla, pero de distinto productor, se encuentra en el grupo de muestras con menor cantidad de aceite.

Tabla 24. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Belén- Catamarca.

Muestra	N		Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
BAg_2-2009	5	bh	4,11 ± 0,17	[3,96 - 4,26]	
		bs	4,45 ± 0,19	[4,28 - 4,61]	C
BAg_2-2015	5	bh	4,39 ± 0,12	[4,29 - 4,49]	
		bs	4,81 ± 0,13	[4,70 - 4,92]	C
BBg_2-2015	5	bh	5,06 ± 0,17	[4,91 - 5,21]	
		bs	5,53 ± 0,18	[5,37 - 5,69]	B
BCg_2-2015	5	bh	5,74 ± 0,36	[5,42 ; 6,06]	
		bs	6,17 ± 0,39	[5,83 ; 6,51]	A
BCg_3-2015	5	bh	4,06 ± 0,31	[3,79 ; 4,33]	
		bs	4,42 ± 0,33	[4,13 - 4,71]	C
$BCMg_2$-2015	5	bh	5,66 ± 0,34	[5,36 ; 5,96]	
		bs	6,18 ± 0,38	[5,85 ; 6,51]	A
BLg_3-2015	5	bh	4,46 ± 0,30	[4,20 - 4,72]	
		bs	4,92 ± 0,33	[4,63 - 5,21]	BC
BP_1g_2-2015	5	bh	4,26 ± 0,46	[3,86 - 4,66]	
		bs	4,72 ± 0,50	[4,27 - 5,16]	C
BP_2g_2-2015	5	bh	5,80 ± 0,25	[5,58 ; 6,01]	
		bs	6,21 ± 0,26	[5,98 ; 6,44]	A
Total Departamento Belén	45	bh	4,84 ± 0,74	[4,62 - 5,05]	
		bs	5,27 ± 0,78	[5,04 - 5,50]	B

Los valores medios de los rendimientos para cada muestra se calcularon sobre 5 repeticiones.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de AE expresados en bs según Kruskal Wallis, $P = 0,000$ y Mann-Whitney, $P < 0,05$.

Si se consideran las muestras de comino correspondientes a la cosecha del año 2015, que provienen todas de una misma área productiva y de una misma calidad de semilla sembrada, no era de esperar encontrar diferencias significativas entre las medias de esta variable. Esto hace pensar que las diferencias observadas no sólo dependen de la

procedencia del comino sino que obedecen a varios factores como al grado de limpieza del grano, a diferencias en ciertas prácticas agrícolas según cada productor o a diferencias en las características del suelo a relativas cortas distancias.

Los valores de rendimiento observados en cominos de Chañaral (BCg_2-2015), (6,17 ± 0,39 %); de La Puntilla (BP_2g_2-2015), (6,21 ± 0,26 %) y de Campo El Medio ($BCMg_2$-2015), (6,18 ± 0,38 %); son elevados y superan a los rendimientos (1,8 % – 5,1 %) reportados en la literatura (Aćimović et al., 2016; Chaudhary et al., 2014; Moraghebi, 2013).

III.1.3.2 Departamento Capayán.

El departamento Capayán es una zona relativamente nueva en el contexto productivo cominero de la provincia, por tanto se carece de conocimiento científico de las características y calidades del comino que se produce en este departamento.

Los datos de rendimiento en AE en bs de las distintas muestras de comino de Capayán como el conjunto de la totalidad de los datos del departamento fueron sometidos a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, encontrándose que no se distribuyen normalmente ($P \leq 0{,}022$).

De la aplicación de la prueba de Kruskal-Wallis, se encontraron diferencias estadísticas entre las medias muestrales, $\chi^2 = 37{,}532$ significativas a $P = 0{,}000$ y entre las medias muestrales con la media departamental, $\chi^2 = 25{,}999$ significativas a $P = 0{,}000$.

El rendimiento medio en AE en bs de la muestra Cag_1-2013 es significativamente superior a los rendimientos medios de las demás muestras y a la media departamental según Mann Whitney, $P = 0{,}000$.

Los rendimientos en AE de los cominos producidos en años 2014 y 2015 son iguales entre sí y a la media departamental. Las medias obtenidas y las diferencias entre las mismas se muestran en la Tabla 25.

Tabla 25. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Capayán-Catamarca.

Muestra	N		Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
Cag_1-2013	10	bh	5,03 ± 0,45	[4,75 - 5,31]	
		bs	5,47 ± 0,49	[5,17 - 5,78]	A
Cag_1-2014	7	bh	2,79 ± 0,46	[2,46 - 3,11]	
		bs	3,04 ± 0,51	[2,69 - 3,39]	B
Cag_4-2014	10	bh	2,73 ± 0,23	[2,59 - 2,87]	
		bs	3,01 ± 0,26	[2,85 - 3,17]	B
Cag_4-2015	9	bh	3,08 ± 0,36	[2,85 - 3,31]	
		bs	3,38 ± 0,39	[3,12 - 3,63]	B
Total Departamento Capayán	36	bh	3,43 ± 1,07	[3,08 - 3,77]	
		bs	3,79 ± 1,14	[3,41 - 4,18]	B

Los valores medios de los rendimientos para cada muestra se calcularon sobre N repeticiones.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de AE expresados en bs según Kruskal Wallis, $P = 0,000$ y Mann-Whitney, $P = 0,000$.

III.1.3.3 Departamento Pomán.

Los datos de rendimiento en AE en bs agrupados por muestra y el grupo de la totalidad de los datos a nivel departamento no presentan distribución normal según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($P \leq 0,004$).

Existen diferencias significativas entre las medias muestrales de rendimiento y entre éstas y la media departamental según Kruskal Wallis, $P \leq 0,0044$.

El rendimiento medio más bajo es 4,32 mL/100g y corresponde a la muestra PPg_2-2008 que difiere significativamente del rendimiento 5,46 mL/100 g de la muestra PPg_2-2013, según Test de Mann-Whitney, $P = 0,0022$ y de la media departamental según prueba de Mann Whitney U, $P = 0,0136$. El rendimiento de la muestra PPg_2-2013 también es superior a la media departamental según prueba de Mann Whitney, $P = 0,0137$.

En la Tabla 26 se presentan los rendimientos medios de AE en bh y en bs, de cominos producidos en diferentes años en la localidad Pajonal del departamento Pomán y las diferencias encontradas.

El comino producido en la localidad Pajonal del departamento Pomán, año 2013 (PPg_2-2013), presentó un rendimiento medio en AE de (5,46 ± 0,41 mL/100 g). Este elevado contenido en AE es sólo comparable con los registrados a nivel internacional por Jirovetz et al. (2005) para comino búlgaro, con rendimientos de 5,3 % y 5,4 %. En general se puede decir que el comino del departamento Pomán tiene un elevado contenido de AE.

Tabla 26. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Pomán- Catamarca.

Muestra	N		Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
PPg_2-2008	6	bh	4,00 ± 0,33	[3,73 - 4,27]	
		bs	4,32 ± 0,36	[4,03 - 4,61]	C
PPg_2-2009	6	bh	4,40 ± 0,19	[4,25 - 4,55]	
		bs	4,71 ± 0,20	[4,55 - 4,87]	C
PPg_2-2013	6	bh	4,93 ± 0,37	[4,63 - 5,22]	
		bs	5,46 ± 0,41	[5,13 - 5,79]	A
PPg_2-2014	6	bh	4,66 ± 0,25	[4,46 - 4,85]	
		bs	5,08 ± 0,27	[4,86 - 5,30]	AB
PPg_2-2015	6	bh	4,55 ± 0,36	[4,26 - 4,84]	
		bs	4,98 ± 0,40	[4,66 - 5,30]	AB
Total Departamento Pomán	30	bh	4,51 ± 0,42	[4,35 - 4,66]	
		bs	4,91 ± 0,50	[4,73 - 5,09]	B

Los valores medios de los rendimientos para cada muestra se calcularon sobre N repeticiones.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de AE expresados en bs según Mann-Whitney U, $P < 0,05$.

III.1.3.4 Departamento Santa María.

Del análisis estadístico del conjunto de datos de rendimiento en AE en bs agrupados por muestra, se advierte que el grupo de datos correspondiente a la muestra

SMg_2-2008 son constantes, por lo que la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk sólo considera a los datos de las muestras SM_2g_3-2014 y SM_1g_3-2015. Del análisis se obtiene que los datos no se distribuyen normalmente (P = 0,000), al igual que el conjunto de la totalidad de los datos del departamento (P = 0,001).

De la prueba de comparación de medias muestrales se obtuvo que hay diferencias estadísticamente significativas según Kruskal Wallis Test (P = 0,009) y cuando se incluye la media departamental la significación es P = 0,021.

El comino de la campaña 2014 contiene menos AE que los de las demás campañas, según Mann-Whitney P= 0,032. En la Tabla 27 se muestran los rendimientos medios de AE en bh y en bs por muestra y el total a nivel departamento y las diferencias encontradas.

Tabla 27. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Santa María-Catamarca.

Muestra	N		Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
SMg_2-2008	5	bh	4,38 ± 0,13	[4,26 – 4,50]	
		bs	4,79 ± 0,14	[4,61 – 4,97]	A
SMg_3-2014	5	bh	3,68 ± 0,41	[3,32 – 4,04]	
		bs	4,04 ± 0,45	[3,48 – 4,61]	B
SMg_3-2015	5	bh	4,29 ± 0,27	[4,05 – 4,53]	
		bs	4,71 ± 0,30	[4,34 – 5,08]	A
Total Departamento Santa María	15	bh	4,12 ± 0,42	[3,88 – 4,35]	
		bs	4,51 ± 0,46	[4,26 – 4,77]	AB

Los valores medios de los rendimientos para cada muestra se calcularon sobre N repeticiones.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de AE en bs según Kruskal Wallis Test (P = 0,009).

A nivel departamento, el rendimiento medio en AE en bs supera ampliamente el mínimo exigido por la normativa internacional ISO 6465:2009, lo que ubica al comino de Santa María en la Categoría I según esta variable.

III.1.3.5 Departamento Tinogasta.

Del análisis estadístico surge que los datos de la muestra de comino correspondiente al año 2008 son constantes, mientras que la distribución de los datos de las muestras restantes, al igual que la totalidad de los datos a nivel departamento, no es normal, según la prueba de Shapiro-Wilk ($P \leq 0{,}003$).

En la Tabla 28 se exponen los resultados de rendimiento en AE en bh y bs por muestra y a nivel departamento, y se indican las diferencias significativas entre las medias.

El comino de Tinogasta, al igual que los cominos de los demás departamentos productores estudiados, contiene una elevada cantidad de AE, lo que lo ubica también, en la mayor categoría de calidad a nivel internacional según esta variable.

Tabla 28. Valores medios ± desvío estándar (DE) e intervalos de confianza (IC) de la media del rendimiento en aceite esencial de comino del departamento Tinogasta-Catamarca.

Muestra	N		Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
$TSCg_2$-2008	5	bh	4,90 ± 0,06	[4,82 - 4,98]	
		bs	5,22 ± 0,07	[5,14 - 5,30]	A
$TCSg_2$-2010	7	bh	3,66 ± 0,43	[3,26 - 4,05]	
		bs	3,98 ± 0,46	[3,55 - 4,41]	C
TCg_2-2015	5	bh	4,39 ± 0,17	[4,18 - 4,59]	
		bs	4,83 ± 0,18	[4,60 - 5,05]	B
Total Departamento Tinogasta	17	bh	4,24 ± 0,61	[3,93 - 4,55]	
		bs	4,59 ± 0,63	[4,27 - 4,91]	B

Los valores medios de los rendimientos para cada muestra se calcularon sobre N repeticiones.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de AE expresados en bs según Kruskal-Wallis $\chi^2 = 12,547$ significativo a $P = 0{,}006$ y Mann-Whitney test, $P \leq 0{,}049$.

III.1.3.6 Provincia de Catamarca.

Los datos de rendimiento en AE en bs del comino de Catamarca agrupados por departamento y el conjunto de la totalidad de los datos de la provincia no se distribuyen normalmente según las pruebas de Shapiro-Wilk ($P \leq 0{,}003$) y Kolmogorov-Smirnov ($P = 0{,}000$).

Según Kruskal-Wallis Test, hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los rendimientos en AE en bs de acuerdo al departamento productor y entre éstas y la media provincial, $\chi^2 = 40{,}607$ significativa a $P = 0{,}000$.

El comino procedente de Pomán contiene mayor cantidad de AE que el procedente de Santa María, según Mann-Whitney U = 132, significativo a $P = 0{,}008$, sin embargo, los cominos procedentes de estos dos departamentos no presentan diferencias estadísticamente significativas con el procedente de Tinogasta y con la media provincial según Mann-Whitney, $P > 0{,}05$ como puede verse en la Figura 38.

El comino con mayor contenido en AE es el proveniente del departamento Belén, mientras que el proveniente del departamento Capayán es el que contiene menor cantidad de aceite según Mann-Whitney U = 269, significativo a $P = 0{,}000$. El rendimiento medio en AE del comino de Belén es significativamente superior, y el de Capayán significativamente inferior a la media provincial según Mann-Whitney, $P = 0{,}000$.

Son notables los elevados rendimientos en AE de los cominos de Belén, particularmente los del Barrio La Puntilla (BP_2g_2-2015) con (6,21 ± 0,26 %), los del Barrio Campo El Medio con (6,18 ± 0,38 %) y los de Chañaral con (6,17± 0,39 %), siendo superiores a los encontrados por Dehaghi y Mollafilabi (2010), (2,1 a 3,5 %), citados por Gohari and Saeidnia (2011); Jirovetz et al., (2005), (5,3 a 5,4 %); Moawad et al. (2015), (3,76 %); El-Ghorab et al. (2010), (2,52 ± 0,11 %) y sólo comparables con valores que van de 2 a 6,1 % mencionados por Teneva et al. (2016). Además, se han registrado variaciones en el rendimiento del AE de *C. cyminum* durante la maduración, que van del 1,9 % para los frutos maduros, al 2,3 % para los completamente maduros (El-Sawi and Mohamed, 2002). Las variaciones en el rendimiento del aceite pueden deberse a factores

genéticos, a etapas de madurez y a factores ambientales, así como a factores ontogénicos y a métodos analíticos (Lawrence, 2002).

Aunque hay diferencias significativas en el rendimiento en AE según la procedencia, todos los cominos de Catamarca tienen un alto contenido en AE y superan ampliamente al contenido mínimo (2 %) exigido por la Organización Internacional de Estándares (ISO: 9301/2003) para la categoría de máxima calidad. Si se comparan los rendimientos obtenidos en este estudio con los reportados para cultivares de diferentes lugares tales como Irán, que van del 1,4 % al 2,2 % (Hashemian et al., 2013), Turquía del 1,4 % al 2,8 % (Beis et al., 2000), Túnez del 1,6 % (Rebey et al., 2012) e India con rendimientos de 1,21 % o 1 % (Bettaieb et al., 2011; Mohammadpour et al., 2012), los cominos de Catamarca, a juzgar por el rendimiento en AE, son competitivos a nivel internacional.

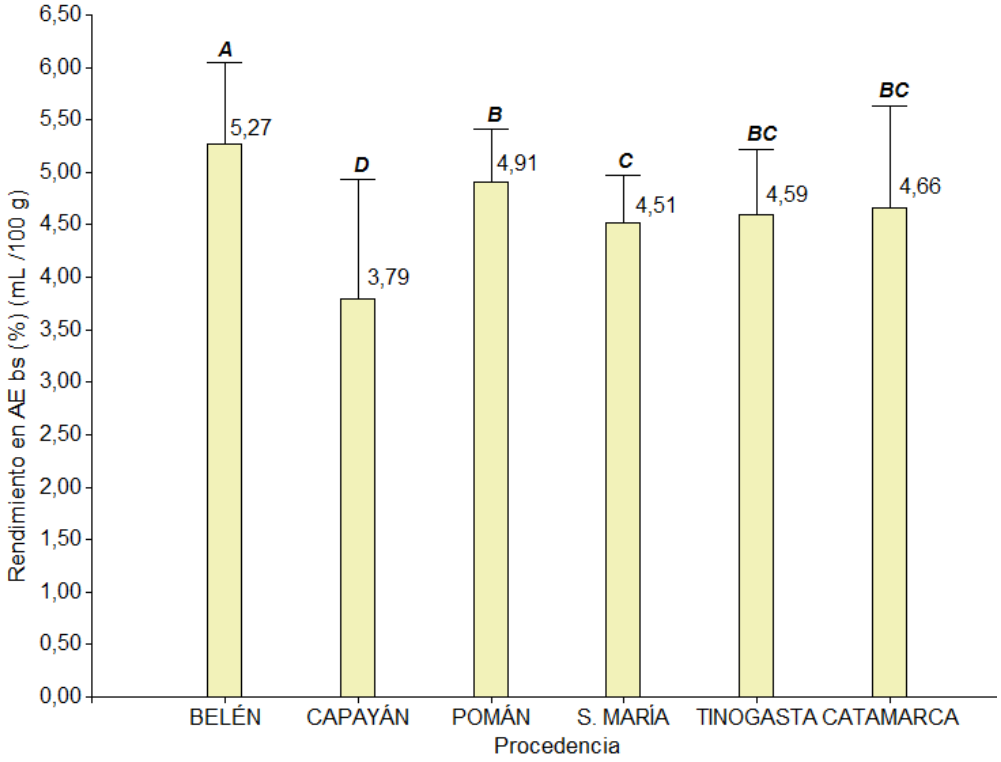


Figura 38. Rendimiento medio, en base seca, de aceite esencial de frutos de comino de Catamarca, (mL/100 g).

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de AE expresados en bs según Kruskal-Wallis Test, $P = 0{,}000$ y Mann-Whitney Test $P < 0{,}05$.

III.2 Resultados del estudio del aceite esencial obtenido del fruto-semilla de comino

III.2.1 Índice de refracción a 20 ºC (n_D^t).

Los índices de refracción se describen primero por departamento y luego se analizan a nivel provincial para establecer comparaciones.

III.2.1.1 Departamento Belén.

En la Tabla 29 se exponen los valores medios de los índices de refracción por muestra de AE de comino del departamento Belén. También figuran, a modo de valores de referencia, los índices de refracción del cuminal y los establecidos por la Norma ISO 9301:2003 (E) para el AE de comino. Todas las muestras de AE de comino de Belén acusaron valores de índice de refracción que se ajustan a la normativa y, como era de esperar, inferiores al índice de refracción del cuminal puro.

Tabla 29. Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Belén, Catamarca.

Referencias/Muestra	N	(n_D^t) AE ± DE
(n_D^t) Cuminal	-	1,529 0
(n_D^t) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín: 1,490 0 Máx: 1,515 0
BAg_2-2009	5	1,4986 ± 0,0010
BAg_2-2015	4	1,4975 ± 0,0010
BBg_2-2015	5	1,4958 ± 0,0002
BCg_2-2015	3	1,4964 ± 0,0007
BCg_3-2015	3	1,4959 ± 0,0002
$BCMg_2$-2015	3	1,4958 ± 0,0027
BLg_3-2015	3	1,4986 ± 0,0001
BP_1g_2-2015	4	1,4973 ± 0,0003
BP_2g_2-2015	3	1,4960 ± 0,0001
Total Belén	34	1,4970 ± 0,0014

III.2.1.2 Departamento Capayán.

Todos los AEs de comino de Capayán presentan índices de refracción que satisfacen los requerimientos establecidos por la Norma ISO 9301:2003 (E), Tabla 30.

Tabla 30. Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Capayán, Catamarca.

Referencias/Muestra	N	(n_D^t) AE ± DE
(n_D^t) Cuminal	-	1,529 0
(n_D^t) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín: 1,490 0 Máx: 1,515 0
Cag_1-2013	5	1,5016 ± 0,0019
Cag_1-2014	5	1,4990 ± 0,0017
Cag_4-2014	4	1,4965 ± 0,0003
Cag_4-2015	5	1,4979 ± 0,0005
Total Capayán	19	1,4989 ± 0,0023

III.2.1.3 Departamento Pomán.

Al igual que los AEs de comino de Belén y Capayán, los AEs de comino de Pomán presentan un índice de refracción medio que satisface las exigencias de la normativa vigente. En la Tabla 31 se exponen los valores medios por muestra y el promedio a nivel departamento.

Tabla 31. Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Pomán, Catamarca.

Referencias/Muestra	N	(n_D^t) AE ± DE
(n_D^t) Cuminal	-	1,529 0
(n_D^t) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín: 1,490 0 Máx: 1,515 0
PPg_2-2008	3	1,4962 ± 0,0003
PPg_2-2009	5	1,4961 ± 0,0002
PPg_2-2013	3	1,4964 ± 0,0019
PPg_2-2014	3	1,4977 ± 0,0005
PPg_2-2015	3	1,4964 ± 0,0008
Total Pomán	17	1,4965 ± 0,0000

III.2.1.4 Departamento Santa María.

Los AEs de comino de Santa María presentan índices de refracción medios que satisfacen la exigencia internacional de calidad establecida por ISO. En la Tabla 32 se muestran las medias de los índices de refracción por muestra y a nivel departamento.

Tabla 32. Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Santa María, Catamarca.

Referencias/Muestra	N	(n_D^t) AE ± DE
(n_D^t) Cuminal	-	1,529 0
(n_D^t) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín: 1,490 0 Máx: 1,515 0
SMg_2-2008	3	1,4970 ± 0,0001
SMg_3-2014	3	1,4975 ± 0,0001
SMg_3-2015	4	1,4966 ± 0,0001
Total Santa María	10	1,4970 ± 0,0004

III.2.1.5 Departamento Tinogasta.

Los AEs de comino de Tinogasta, al igual que los AEs de los demás departamentos productores de la provincia, tienen índices de refracción que satisfacen la exigencia de calidad de la Norma ISO 9301:2003, sin embargo, estos AEs parecen tener los valores más bajos a nivel provincial. En la Tabla 33 se exponen los índices de refracción medios por muestra y a nivel departamento.

Tabla 33. Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Tinogasta, Catamarca.

Referencias/Muestra	N	(n_D^t) AE ± DE
(n_D^t) Cuminal	-	1,529 0
(n_D^t) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín: 1,490 0 Máx: 1,515 0
$TSCg_2$-2008	3	1,4962 ± 0,0003
$TCSg_2$-2010	3	1,4961 ± 0,0004
TCg_2-2015	4	1,4961 ± 0,0005
Total Tinogasta	10	1,4961 ± 0,0004

III.2.1.6 Provincia de Catamarca.

Muchos factores afectan la calidad, cantidad y composición de los AEs, como el tipo de método de extracción utilizado (hidrodestilación, destilación de vapor, fluidos supercríticos, hidrodestilación asistida por microondas) (Staschenko et al., 2004), clima, composición del suelo, órgano de la planta, edad y etapa del ciclo vegetativo (Angioni et al., 2006).

El índice de refracción se utiliza para identificar compuestos, determinar su pureza y analizar la proporción de mezclas binarias homogéneas de componentes conocidos. Esto último ocurre porque el índice de refracción de una solución mixta es un promedio ponderado de los índices de refracción de los componentes de la mezcla. Aunque los AEs son mezclas complejas de composición química variada, generalmente presentan uno o unos pocos componentes principales con índices de refracción

característicos. Se ha encontrado que el índice de refracción es una herramienta práctica para medir la calidad de los AEs de manera rápida y económica (Delgado Ospina et al., 2016).

En el caso particular del AE de comino, se espera que cuando mayor sea la abundancia relativa del cuminal en el AE, su índice de refracción se acerque al valor máximo que figura en la Norma ISO 9301:2003 (E) y que es 1,515 0. Esto se debe a que el índice de refracción del cuminal puro es 1,529 0, mientras que los índices de refracción de los otros componentes usualmente presentes en el AE de comino son menores. En este caso, el índice de refracción es una variable física que se usa como criterio de pureza o de genuinidad, sin embargo, pequeñas diferencias observadas entre las medias de los índices de refracción de dos AEs de comino, al analizarse estadísticamente, no resultan significativas, por lo que se consideran iguales. Por otra parte, la gran variabilidad química de los AEs de una misma especie hace que el intervalo de referencia entre el valor mínimo y el máximo del índice de refracción, sea amplio. Esta amplitud posibilita que valores de índices de refracción de AEs de otras especies se solapen con el del AE de comino. En tal caso, el índice de refracción no resulta un criterio tan confiable para establecer genuinidad de un AE. Por ejemplo, un AE de comino puede tener igual índice de refracción que el AE de patchouli, cuyo intervalo es de 1,5090 – 1,5100 (Roig y Mesa 2017).

Los datos de índice de refracción de los AE de comino de los distintos departamentos productores de Catamarca se distribuyen normalmente según la prueba de Shapiro-Wilks modificado, a excepción de los correspondientes al AE de Capayán (P = 0,037) y al conjunto de la totalidad de los datos que corresponden a la provincia de Catamarca (P = 0,0001).

Del análisis de la varianza se advierte que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los índices de refracción, (P < 0,0001) y de las comparaciones múltiples de Tukey y Duncan surge que el AE de comino de Capayán es el que presenta el índice de refracción más alto que supera incluso a la media provincial.

En la Tabla 34 se resumen los valores medios encontrados para los índices de refracción de los AEs de comino de los distintos departamentos productores de Catamarca.

El índice de refracción del AE de comino de Catamarca se encuentra dentro de los valores establecidos por la Norma ISO 9301:2003 (E).

Tabla 34. Índices de refracción de aceites esenciales de comino de Catamarca.

Referencias/Muestra	N	(n_D^t) AE ± DE	(*)
(n_D^t) Cuminal	-	1,529 0	
(n_D^t) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín: 1,490 0 Máx: 1,515 0	
Belén	34	1,4970 ± 0,0014	B
Capayán	19	1,4989 ± 0,0023	A
Pomán	17	1,4965 ± 0,0000	B
Santa María	10	1,4970 ± 0,0004	B
Tinogasta	10	1,4961 ± 0,0004	B
Total Catamarca	90	1,4972 ± 0,0017	B

(*) Existen diferencias significativas según ANOVA, $P = 0{,}000$.
Medias con una letra común no son significativamente diferentes según comparaciones múltiples de Tukey y Duncan, $P > 0{,}05$.

III.2.2 Densidad relativa al agua a 20 ºC (d_{20}^{20}).

Así como el índice de refracción, la densidad relativa al agua es un criterio importante de calidad y pureza de un AE (Güenther, 1948; Simões y Spitzer, 1999); sin embargo, cabe destacar que el uso de estas técnicas analíticas se aplican generalmente para la evaluación de compuestos puros y pueden extenderse para evaluar AEs que presentan un compuesto principal. Estos métodos clásicos no pueden usarse como métodos independientes, pero son orientativos y deben combinarse con técnicas analíticas modernas como CG. Además, las técnicas analíticas para la determinación de estas dos

propiedades, como los valores de referencia para el AE de comino, están normalizados y constituyen criterios de calidad.

III.2.2.1 Departamento Belén.

Los valores medios de densidad relativa al agua de todas las muestras de AEs de comino del departamento Belén cumplen con la exigencia de la Norma ISO 9301:2003. Se observa una gran variabilidad en las densidades medias de las muestras y diferencias estadísticamente significativas según ANOVA, (P < 0,0003). El comino procedente del barrio Campo El Medio ($BCMg_2$-2015) es el que presenta el AE con mayor densidad relativa, superando la media departamental. En la Tabla 35 se exponen las densidades medias y las diferencias encontradas.

Tabla 35. Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Belén, Catamarca.

Referencias/Muestra	N	(d_{20}^{20}) AE ± DE	(*) (**)
(d_{20}^{20}) Cuminal	-	0,981 g/mL	
(d_{20}^{20}) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)		Mín. 0,900 0 Máx. 0,940 0	
BAg_2-2009	3	0,9101 ± 0,0003	AB
BAg_2-2015	3	0,9040 ± 0,0000	A
BBg_2-2015	3	0,9042 ± 0,0003	A
BCg_2-2015	3	0,9083 ± 0,0004	AB
BCg_3-2015	3	0,9041 ± 0,0003	A
$BCMg_2$-2015	3	0,9224 ± 0,0023	C
BLg_3-2015	3	0,9106 ± 0,0003	AB
BP_1g_2-2015	3	0,9079 ± 0,0001	AB
BP_2g_2-2015	2	0,9154 ± 0,0002	BC
Total Belén	26	0,9094 ± 0,0059	AB

(*) Medias con letras diferentes son significativamente diferentes, según ANOVA, $P \leq 0{,}0003$.
(**) Medias con una letra común no son significativamente diferentes, según Duncan, $P > 0{,}05$.

III.2.2.2 Departamento Capayán.

La densidad relativa de los AEs de comino de Capayán cumple con las exigencias establecidas por la Norma ISO 9301:2003.

Todas las muestras de comino del departamento Capayán corresponden a la misma localidad y productor, sin embargo se presentan diferencias estadísticamente sigificativas entre las medias de densidad de los AEs, incluso cuando las muestras corresponden al mismo año de producción.

En la Tabla 36 se presentan los valores medios de las densidades relativas de los AEs y las diferencias encontradas.

Tabla 36. Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Capayán, Catamarca.

Muestra	N	(d_{20}^{20}) AE ± DE	(*) (**)
(d_{20}^{20}) Cuminal	-	0,981 g/ml	
(d_{20}^{20}) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín. 0,900 0 Máx. 0,940 0	
Cag_1-2013	3	0,9200 ± 0,0094	B
Cag_1-2014	4	0,9181 ± 0,0013	B
Cag_4-2014	4	0,9047 ± 0,0010	A
Cag_4-2015	4	0,9117 ± 0,0035	AB
Total Capayán	15	0,9132 ± 0,0073	AB

(*) Medias con letras diferentes son significativamente diferentes, según ANOVA, $P = 0{,}0233$.
(**) Medias con una letra común no son significativamente diferentes, según Tukey y Duncan, $P > 0{,}05$.

III.2.2.3 Departamento Pomán.

Se observa que los AEs de comino de Pomán de muestras de diferentes años de cosecha presentan igual densidad relativa al agua y en todos los casos cumplen con la normativa vigente. En la Tabla 37 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 37. Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Pomán, Catamarca.

Muestra	N	(d_{20}^{20}) AE ± DE	(*)
(d_{20}^{20}) Cuminal	-	0,981 g/ml	
(d_{20}^{20}) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín. 0,900 0 Máx. 0,940 0	
PPg_2-2008	3	0,9139 ± 0,0006	A
PPg_2-2009	5	0,9042 ± 0,0053	A
PPg_2-2013	3	0,9067 ± 0,0024	A
PPg_2-2014	2	0,9143 ± 0,0016	A
PPg_2-2015	2	0,9082 ± 0,0008	A
Total Pomán	15	0,9085 ± 0,0000	A

(*) Medias con una letra común no son significativamente diferentes, según ANOVA, P = 0,0655 y Tukey, $P > 0,05$.

III.2.2.4 Departamento Santa María.

Así como los AEs de comino de Pomán, los de Santa María también presentan densidades iguales entre sí, pero en este caso, el AE correspondiente a la cosecha 2015 presenta un valor inferior al exigido por la Norma ISO 9301:2003 (E). A nivel departamental, la densidad relativa media del AE satisface la exigencia de la ISO. En la Tabla 38 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 38. Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Santa María, Catamarca.

Muestra	N	(d_{20}^{20}) AE ± DE	(*)
(d_{20}^{20}) Cuminal	-	0,981 g/ml	
(d_{20}^{20}) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín. 0,900 0 Máx. 0,940 0	
SMg_2-2008	3	0,9086 ± 0,0011	A
SMg_3-2014	3	0,9084 ± 0,0007	A
SMg_3-2015	3	0,8904 ± 0,0322	A
Total Santa María	9	0,9025 ± 0,0185	A

(*) Medias con una letra común no son significativamente diferentes, según ANOVA, P = 0,6046 y Tukey-Duncan, P > 0,05.

III.2.2.5 Departamento Tinogasta.

Los AEs de comino de Tinogasta presentan igual densidad relativa al agua según ANOVA, P = 0,1241. Aunque la densidad media del AE a nivel departamento cumple con la exigencia de la Norma ISO 9301:2003 (E), el AE correspondiente a la cosecha 2010 presenta una densidad menor a la exigida. En la Tabla 39 se exponen los resultados obtenidos.

Tabla 39. Densidad relativa al agua, de aceites esenciales de comino de Tinogasta, Catamarca.

Muestra	N	(d_{20}^{20}) AE ± DE	(*)
(d_{20}^{20}) Cuminal	-	0,981 g/ml	
(d_{20}^{20}) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín. 0,900 0 Máx. 0,940 0	
$TSCg_2$-2008	2	0,9006 ± 0,0005	A
$TCSg_2$-2010	2	0,8992 ± 0,0001	A
TCg_2-2015	2	0,9104 ± 0,0012	A
Total Tinogasta	6	0,9034 ± 0,0055	A

(*) Medias con una letra común no son significativamente diferentes, según ANOVA, P = 0,1241 y Tukey, P > 0,05.

III.2.2.6 Provincia de Catamarca.

De la prueba de normalidad de los datos de Shapiro-Wilks surge que sólo los datos de las densidades de los AEs provenientes de Capayán y Pomán se distribuyen normalmente ($P \geq 0{,}1172$). Tanto del análisis de la varianza paramétrica ($P = 0{,}9090$) como de la varianza no paramétrica, por prueba de Kruskal-Wallis ($P = 0{,}1177$), no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las densidades de los AEs de los diferentes departamentos ni con respecto a la media provincial.

Si bien, las medias de las densidades relativas al agua de los AEs de comino de los diferentes departamentos productores de Catamarca cumplen las exigencias de la Norma ISO 9301:2003 (E), se han registrado densidades menores a las exigidas en dos de las veinticuatro muestras analizadas, siendo una muestra proveniente de Tinogasta y la otra de Santa María.

En la Tabla 40 se muestran las densidades medias por departamento, la media provincial y los datos de referencia de la densidad del cuminal y del AE de comino según la Norma ISO 9301:2003(E).

Tabla 40. Densidad relativa al agua de aceites esenciales de comino de Catamarca.

Muestra	N	(d_{20}^{20}) AE ± DE	(*)(**)
(d_{20}^{20}) Cuminal	-	0,981 g/ml	
(d_{20}^{20}) AE de comino según ISO 9301:2003 (E)	-	Mín. 0,900 0 Máx. 0,940 0	
Belén	26	0,9094 ± 0,0059	A
Capayán	15	0,9132 ± 0,0073	A
Pomán	15	0,9085 ± 0,0000	A
Santa María	9	0,9025 ± 0,0185	A
Tinogasta	6	0,9034 ± 0,0055	A
Total Catamarca	71	0,9086 ± 0,0090	A

(*) No existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de densidad según ANOVA, ($P = 0{,}9090$) y según Kruskal Wallis, ($P = 0{,}1177$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes según Tukey y Duncan, ($P > 0{,}05$).

III.2.3 Composición química.

La composición química del AE de comino de distintas regiones del mundo está bien estudiada, sin embargo, es escaso el conocimiento de la composición química del AE de comino de Argentina y en particular de Catamarca. Por otro lado, la amplia variabilidad encontrada, que seguramente depende de una multiplicidad de factores (Gohari and Saeidnia, 2011), hace necesario conocer las composiciones de los AEs del comino que se produce en Catamarca. También es importante destacar que la composición química del AE determina sus propiedades físicas, sus cualidades organolépticas y su actividad biológica.

En los apartados siguientes se exponen en detalle las composiciones químicas de los AEs de comino por departamento productor y finalmente la composición media a nivel provincial.

III.2.3.1 Departamento Belén.

De las muestras de AE de comino procedentes de distintos cultivares del departamento Belén se lograron identificar 28 compuestos de los 29 separados por CG. Entre los tipos de compuestos identificados se encuentran hidrocarburos mono y sesquiterpénicos, compuestos oxigenados como alcoholes, aldehídos, cetonas, éter y epóxido. En todas las muestras se encontraron los mismos compuestos mayoritarios, siendo en orden decreciente de abundancia relativa promedio, γ-terpineno, cuminaldehído, β-pineno, p-cimeno, p-menta-1,4-dien-7-al y 2-caren-10-al. Según la composición media del AE de comino de Belén se podría decir que se trata de un quimiotipo γ-terpineno – cuminaldehído.

A nivel departamento, sobre un total promedio de 97,47 % de compuestos cuantificados, la fracción hidrocarburo terpénico promedio representa el 60,03 % y la fracción aldehídica el 35,26 %, siendo ambas fracciones las mayoritarias, mientras que los alcoholes (0,87 %), cetonas (0,21 %), éteres (0,10 %) y epóxidos (0,19 %) corresponden a fracciones minoritarias.

El AE que presentó menor cantidad de compuestos fue el de Campo El Medio ($BCMg_2$-2015) con 19 compuestos y los que presentaron mayor cantidad fueron, uno de Artaza (BAg_2-2009) y el otro de La Puntilla (BP_1g_2-2015), ambos con 27 compuestos. En cuanto a las fracciones de compuestos, el AE de Londres (BLg_3-2015) es el que contiene la mayor fracción aldehídica y la menor fracción de hidrocarburos terpénicos. En la Tabla 41 se pueden observar las distintas fracciones de compuestos por muestra y las medias a nivel departamento. En la Tabla 42 figuran las composiciones químicas por muestra de AE de comino de Belén, la composición media a nivel departamento y se resaltan los compuestos mayoritarios.

Tabla 41. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Belén.

	Muestras									Belén
	BAg_2-2009	BAg_2-2015	BBg_2-2015	BCg_2-2015	BCg_3-2015	$BCMg_2$-2015	BLg_3-2015	BP_1g_2-2015	BP_2g_2-2015	% media ± DE
Fracción de Compuestos	Abundancia relativa (%)									
Hidrocarburo terpénico	61,45	59,02	62,70	60,27	59,35	60,58	57,87	58,92	60,09	60,03 ± 1,45
Aldehído	35,00	37,05	32,45	34,85	35,96	34,82	37,37	35,60	34,27	35,26 ± 1,48
Alcohol	1,85	0,44	1,19	0,52	0,67	0,80	0,84	0,56	0,99	0,87 ± 0,44
Cetona: sabina cetona	0,08	0,38		0,53				0,59	0,35	0,21 ± 0,25
Éter: 1,8 cineol							0,91			0,10 ± 0,30
Epóxido: óxido de cariofileno	0,28	0,71	0,22				0,14	0,21	0,13	0,19 ± 0,22
No identificado: NI		0,51	0,86	1,02	0,94	0,97	0,91	1,09	0,90	0,80 ± 0,34
Total (%)	98,66	98,11	97,42	97,19	96,92	97,17	98,04	96,97	96,73	97,47 ± 0,65
Nº total de fracciones identificadas	5	5	4	4	3	3	5	5	5	
Nº total de compuestos	27	23	23	19	20	19	25	26	26	
Nº de compuestos mayoritarios	6	6	6	6	6	6	6	6	6	

Tabla 42. Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino de distintas localidades productoras del departamento Belén.

	Muestras									Belén
	BAg_2-2009	BAg_2-2015	BBg_2-2015	BCg_2-2015	BCg_3-2015	$BCMg_2$-2015	BLg_3-2015	BP_1g_2-2015	BP_2g_2-2015	% media ± DE
Compuestos	Abundancia relativa (%)									
α tuyeno	0,17	1,07	0,05		0,05	0,06	0,05	0,16	0,22	0,20 ± 0,31
α pineno	0,64	0,61	1,84	2,11	1,90	1,98	1,80	2,16	0,78	1,54 ± 0,62
sabineno	0,55	0,64	0,88	1,06	0,96	1,01	0,33	0,38	0,87	0,74 ± 0,26
β pineno	**14,00**	**15,39**	**15,19**	**15,86**	**14,21**	**15,53**	**13,89**	**15,08**	**15,59**	**14,97 ± 0,70**
β mirceno	0,79	0,77	0,86	0,89	0,89	0,90	0,86	0,88	0,94	0,86 ± 0,05
NI		0,51	0,86	1,02	0,94	0,97	0,91	1,09	0,90	0,80 ± 0,32
α felandreno	0,11	0,17	0,33		0,33	0,30	0,23	0,15	0,13	0,19 ± 0,11
δ 3 careno	0,59		0,04		0,12	0,12	0,08	0,07	0,35	0,15 ± 0,18
p cimeno	**18,94**	**17,87**	**11,93**	**17,40**	**9,31**	**10,71**	**13,89**	**14,04**	**10,05**	**13,79 ± 3,39**
limoneno	0,64	0,59	0,62	0,28	0,63	0,66	0,86	0,62	0,71	0,62 ± 0,14
1,8 cineol							0,91			0,10 ± 0,29
γ terpineno	**24,26**	**21,33**	**27,43**	**22,24**	**30,22**	**28,96**	**25,41**	**24,66**	**29,76**	**26,03 ± 3,05**
cis sabineno hidrato	0,06	0,07	0,12	0,16	0,14	0,15	0,15	0,16	0,13	0,13 ± 0,04
trans pinocarveol	0,05	0,03	0,65	0,03	0,42	0,56	0,46	0,04	0,42	0,30 ± 0,24
sabina cetona	0,08	0,38		0,53				0,59	0,35	0,21 ± 0,23
2 6 dimetil 3 5 7 octatrieno 2 ol	0,15			0,20						0,04 ± 0,07
terpinen 4 ol	0,99							0,04	0,05	0,12 ± 0,31
1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)	0,03									0,003 ± 0,008
cuminaldehído	**19,87**	**19,42**	**15,05**	**17,32**	**14,61**	**13,85**	**16,93**	**17,51**	**12,49**	**16,34 ± 2,36**
felandral	0,20						0,05	0,07	0,08	0,04 ± 0,06
2-caren-10-al	**6,34**	**7,00**	**6,57**	**6,37**	**6,94**	**7,63**	**9,02**	**7,90**	**5,26**	**7,00 ± 1,02**
p-menta-1,4-dien-7-al	**8,59**	**10,63**	**10,83**	**11,16**	**14,41**	**13,34**	**11,37**	**10,12**	**16,44**	**11,88 ± 2,28**
p-menta-1,4-dien-7-ol	0,45	0,11	0,08	0,13	0,11	0,09	0,09	0,10	0,08	0,14 ± 0,11
β cariofileno	0,03	0,17	0,15	0,03	0,11	0,17	0,07	0,16	0,13	0,11 ± 0,05
β farneseno	0,33	0,18	0,18	0,13	0,17	0,18	0,15	0,13	0,20	0,18 ± 0,06
acoradieno	0,29	0,15	3,06	0,27	0,45		0,23	0,30	0,31	0,56 ± 0,89
β chamigreno	0,11	0,08	0,14				0,02	0,13	0,05	0,06 ± 0,05
óxido de cariofileno	0,28	0,71	0,22				0,14	0,21	0,13	0,19 ± 0,21
carotol	0,14	0,23	0,34				0,14	0,22	0,31	0,15 ± 0,12
Total identificado (%)	**98,07**	**98,11**	**97,42**	**97,19**	**96,92**	**97,17**	**98,04**	**96,97**	**96,73**	**97,47 ± 0,54**

III.2.3.2 Departamento Capayán.

En el AE de comino procedente del departamento Capayán se identificaron 22 compuestos de los 23 separados por CG con un porcentaje medio de resolución del 98,28 %. Sin embargo, los aceites individuales presentan entre 15 y 19 compuestos. Llama la atención que el AE Cag_1-2014 presenta 15 compuestos y el Cag_4-2014, presenta 19 compuestos, siendo ambos cominos provenientes de la misma finca, productor y año de producción y se diferencian en el grado de limpieza de la semilla. Entre los tipos de compuestos identificados se encuentran hidrocarburos mono y sesquiterpénicos, alcoholes y aldehídos monoterpénicos y una cetona bicíclica presente sólo en la muestra de producción 2013. A diferencia del AE de Belén, no se encontró alcohol sesquiterpénico, ni éter, ni epóxido.

Los compuestos mayoritarios son los mismos en todas las muestras, a excepción del p-menta-1,4-dien-7-ol y el β-farneseno que sólo son mayoritarios en el AE de la muestra Cag_1-2014, con una abundancia relativa de 7,06 % y 5,59 % respectivamente. En los otros AEs de comino de Capayán, los compuestos 1,4-p-mentadien-7-ol y el β-farneseno se encuentran con una abundancia relativa $\leq$ 0,15 %. Los compuestos mayoritarios comunes a todos los AEs de Capayán analizados son, en orden decreciente de abundancia relativa promedio, cuminaldehído; γ-terpineno; p-cimeno; β-pineno; p-menta-1,4-dien-7-al; 2-caren-10-al y α-pineno. Teniendo en cuenta la composición media del AE de comino de Capayán se puede decir que presenta quimiotipo cuminaldehído - γ-terpineno.

Considerando la composición media del AE, la fracción de hidrocarburos terpénicos representa el 59,04 % y la fracción de aldehídos monoterpénicos representa el 36,40 % de un total de 98,28 % identificado. La fracción alcohólica es minoritaria (2,71 %) y está constituida sólo por alcoholes monoterpénicos.

El AE correspondiente a la muestra Cag_1-2013 es el más rico en cuminaldehído y el que presenta la mayor fracción aldehídica. En la Tabla 43 se pueden observar las distintas fracciones de compuestos por muestra y las medias a nivel departamento y en la Tabla 44 figuran las composiciones químicas por muestra de AE de comino de Capayán y la composición media a nivel departamento.

Tabla 43. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Capayán.

	Muestras				Capayán
	Cag_1-2013	Cag_1-2014	Cag_4-2014	Cag_4-2015	% media ± DE
Fracción de Compuestos	Abundancia relativa (%)				
Hidrocarburo terpénico	57,68	57,01	61,45	60,03	59,04 ± 2,06
Aldehído	39,63	33,37	35,14	37,45	36,40 ± 2,73
Alcohol	1,25	7,74	1,28	0,55	2,71 ± 3,37
Cetona: sabina cetona	0,07				0,02 ± 0,04
No identificado: NI		0,14	0,20	0,13	0,12 ± 0,08
Total (%)	98,63	98,26	98,07	98,16	97,47 ± 0,65
Nº total de fracciones identificadas	4	3	3	3	
Nº total de compuestos	18	15	23	19	
Nº de compuestos mayoritarios	7	9	7	7	

Tabla 44. Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Capayán.

	Muestras				Capayán
	Cag_1-2013	Cag_1-2014	Cag_4-2014	Cag_4-2015	% media ± DE
Compuestos	Abundancia relativa (%)				
α tuyeno	0,60	0,06	0,04	0,19	0,22 ± 0,26
α pineno	**2,26**	**3,38**	**4,09**	**3,93**	**3,42 ± 0,83**
sabineno	0,61	0,75	0,91	0,88	0,79 ± 0,14
β pineno	**15,11**	**13,42**	**14,93**	**14,51**	**14,49 ± 0,76**
β mirceno	0,51	0,72	0,74	0,78	0,69 ± 0,12
NI		0,14	0,20	0,13	0,12 ± 0,08
p cimeno	**30,41**	**12,5**	**11,9**	**15,76**	**17,64 ± 8,68**
limoneno	0,18	0,26	0,05	0,59	0,27 ± 0,23
γ terpineno	**8,00**	**20,33**	**27,22**	**22,99**	**19,64 ± 8,26**
cis sabineno hidrato	0,15	0,68	0,09	0,03	0,24 ± 0,30
trans pinocarveol	0,24		1,04	0,45	0,43 ± 0,44
sabina cetona	0,07				0,02 ± 0,04
2 6 dimetil 3 5 7 octatrieno 2 ol	0,15				0,04 ± 0,08
terpinen 4 ol	0,55				0,14 ± 0,28
1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)	0,10				0,03 ± 0,05
cuminaldehído	**30,40**	**19,86**	**20,79**	**19,82**	**22,72 ± 5,14**
2-caren-10-al	**3,44**	**5,05**	**5,97**	**5,98**	**5,11 ± 1,20**
p-menta-1,4-dien-7-al	**5,79**	**8,46**	**8,38**	**11,65**	**8,57 ± 2,40**
p-menta-1,4-dien-7-ol	0,06	**7,06**	0,15	0,07	1,84 ± 3,48
β cariofileno			0,10	0,15	0,06 ± 0,08
β farneseno		**5,59**	0,14	0,19	1,48 ± 2,74
acoradieno			1,29	0,06	0,34 ± 0,64
β chamigreno			0,04		0,01 ± 0,02
Total identificado (%)	**98,63**	**98,26**	**98,07**	**98,16**	**98,28 ± 0,25**

III.2.3.3 Departamento Pomán.

En el AE de comino procedente de la localidad Pajonal del departamento Pomán se identificaron 27 compuestos de los 28 encontrados por CG con un porcentaje medio de resolución del 97,80 %. Sin embargo, las muestras individuales presentan entre 19 y 27 compuestos. El AE con mayor cantidad de compuestos (27) es el correspondiente a la producción 2008. Entre los tipos de compuestos identificados se encuentran hidrocarburos mono y sesquiterpénicos, alcoholes mono y sesquiterpénicos, aldehídos monoterpénicos, una cetona bicíclica y un epóxido sesquiterpénico.

Todos los aceites presentan los mismos compuestos mayoritarios, que en orden decreciente de abundancia relativa media a nivel departamento son: γ-terpineno; cuminaldehído; p-cimeno; β-pineno; p-menta-1,4-dien-7-al y 2-caren-10-al. Según la composición química media del AE de comino de Pomán, el quimiotipo es γ-terpineno – cuminaldehído.

Considerando la composición media del AE, la fracción de hidrocarburos terpénicos representa el 59,35 % y la fracción de aldehídos monoterpénicos representa el 36,24 % de un total de 97,80 % identificado. Las fracciones de alcohol (1,30 %), cetona (0,16 %) y epóxido (0,08 %), son minoritarias.

Se advierte que los AEs con fracción hidrocarburo terpénico más elevada son los que presentan la fracción aldehídica más baja. En la Tabla 45 se pueden observar las distintas fracciones de compuestos por muestra y las medias a nivel departamento. En la Tabla 46 figuran las composiciones químicas por muestra de AE de comino de Pomán, la composición media a nivel departamento y se resaltan los compuestos mayoritarios.

Tabla 45. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Pomán.

	Muestras				Pomán
	PPg_2-2008	PPg_2-2013	PPg_2-2014	PPg_2-2015	% media ± DE
Fracción de Compuestos	Abundancia relativa (%)				
Hidrocarburo terpénico	53,87	59,46	62,31	61,75	59,35 ± 3,85
Aldehído	42,68	34,41	33,19	34,67	36,24 ± 4,34
Alcohol	0,59	2,99	0,87	0,74	1,30 ± 1,13
Cetona: sabina cetona	0,11	0,54			0,16 ± 0,26
Epóxido: óxido de cariofileno	0,33				0,08 ± 0,17
No identificado: NI		0,41	1,31	0,96	0,67 ± 0,58
Total (%)	97,58	97,81	97,68	98,12	97,80 ± 0,23
Nº total de fracciones identificadas	5	4	3	3	
Nº total de compuestos	27	21	19	19	
Nº de compuestos mayoritarios	6	6	6	6	

Tabla 46. Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Pomán.

	Muestras				Pomán
	PPg_2-2008	PPg_2-2013	PPg_2-2014	PPg_2-2015	% media ± DE
Compuestos	Abundancia relativa (%)				
α tuyeno	0,29	0,89	0,45	0,99	0,66 ± 0,34
α pineno	0,72	0,50	2,80	2,06	1,52 ± 1,10
sabineno	0,72	0,41	2,58	0,71	1,11 ± 0,99
β pineno	**14,85**	**14,00**	**15,35**	**15,85**	**15,01 ± 0,79**
β mirceno	0,97	0,63	0,76	0,88	0,81 ± 0,15
NI		0,41	1,31	0,96	0,67 ± 0,58
α felandreno	0,13	0,14	1,35	0,17	0,45 ± 0,60
δ 3 careno	0,40		0,13		0,13 ± 0,19
p cimeno	**11,97**	**17,34**	**15,09**	**15,83**	**15,06 ± 2,26**
limoneno	0,71	0,52	0,25	0,63	0,22 ± 0,26
γ terpineno	**22,48**	**21,49**	**22,75**	**24,08**	**22,70 ± 1,07**
cis sabineno hidrato	0,05	0,06	0,20	0,12	0,11 ± 0,07
trans pinocarveol	0,05	0,03	0,61	0,48	0,29 ± 0,30
sabina cetona	0,11	0,54			0,16 ± 0,26
2 6 dimetil 3 5 7 octatrieno 2 ol	0,07	2,11			0,55 ± 1,04
terpinen 4 ol	0,05				0,01 ± 0,03
1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)	0,03				0,01 ± 0,02
cuminaldehído	**20,76**	**22,01**	**17,69**	**18,26**	**19,68 ± 2,05**
felandral	0,14				0,04 ± 0,07
2-caren-10-al	**11,57**	**3,38**	**5,31**	**5,11**	**6,34 ± 3,59**
p-menta-1,4-dien-7-al	**10,21**	**9,02**	**10,19**	**11,3**	**10,18 ± 0,93**
p-menta-1,4-dien-7-ol	0,03	0,79	0,06	0,14	0,26 ± 0,36
β cariofileno	0,01	0,13	0,05	0,16	0,09 ± 0,07
β farneseno	0,20	2,39	0,75	0,08	0,86 ± 1,06
acoradieno	0,22	1,02		0,31	0,39 ± 0,44
β chamigreno	0,20				0,05 ± 0,10
óxido de cariofileno	0,33				0,08 ± 0,17
carotol	0,31				0,08 ± 0,16
Total identificado (%)	**97,58**	**97,81**	**97,68**	**98,12**	**97,80 ± 0,23**

III.2.3.4 Departamento Santa María.

En el AE de comino procedente del departamento Santa María se identificaron 27 compuestos de los 28 encontrados por CG con un porcentaje medio de resolución del 98,00 %. Sin embargo, las muestras individuales presentan entre 19 y 26 compuestos. El AE con mayor cantidad de compuestos (26) es el correspondiente a la producción 2008. Entre los tipos de compuestos identificados se encuentran hidrocarburos mono y sesquiterpénicos, alcoholes mono y sesquiterpénicos, aldehídos monoterpénicos, una cetona bicíclica y un epóxido sesquiterpénico.

Todos los aceites presentan los mismos compuestos mayoritarios, que en orden decreciente de abundancia relativa media a nivel departamento son: γ-terpineno; cuminaldehído; p-cimeno; β-pineno; p-mentha-1,4-dien-7-al y 2-caren-10-al. Al igual que lo encontrado para el AE de comino de Pomán, el quimiotipo del AE de comino de Santa María es γ-terpineno – cuminaldehído.

Considerando la composición media del AE, la fracción de hidrocarburos terpénicos representa el 58,02 % y la fracción de aldehídos monoterpénicos representa el 37,94 % de un total de 98,00 % identificado. Las fracciones de alcohol (1,22 %), cetona (0,14 %) y epóxido (0,03 %), son minoritarias.

Al igual que lo observado en los AEs de comino de Pomán, los AEs de Santa María con fracción hidrocarburo terpénico más elevada son los que presentan la fracción aldehídica más baja. En la Tabla 47 se pueden observar las distintas fracciones de compuestos por muestra y las medias a nivel departamento. En la Tabla 48 figuran las composiciones químicas por muestra de AE de comino de Santa María, la composición media a nivel departamento y se resaltan los compuestos mayoritarios.

Tabla 47. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Santa María.

	Muestras			Santa María
	SMg_2-2008	SMg_3-2014	SMg_3-2015	% media ± DE
Fracción de Compuestos	Abundancia relativa (%)			
Hidrocarburo terpénico	56,34	59,13	58,59	58,02 ± 1,48
Aldehído	39,77	36,37	37,67	37,94 ± 1,72
Alcohol	2,08	0,90	0,68	1,22 ± 0,75
Cetona: sabina cetona	0,41			0,14 ± 0,24
Epóxido: óxido de cariofileno	0,09			0,03 ± 0,05
No identificado: NI		0,94	1,03	0,66 ± 0,57
Total (%)	98,68	97,34	97,97	98,00 ± 0,67
Nº total de fracciones identificadas	5	3	3	
Nº total de compuestos	26	19	19	
Nº de compuestos mayoritarios	6	6	6	

Tabla 48. Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Santa María.

Compuestos	Muestras			Santa María % media ± DE
	SMg_2-2008	SMg_3-2014	SMg_3-2015	
	Abundancia relativa (%)			
α tuyeno	0,10	0,05	0,69	0,28 ± 0,36
α pineno	0,53	1,98	2,06	1,52 ± 0,86
sabineno	0,62	0,99	1,06	0,89 ± 0,24
β pineno	**12,08**	**15,51**	**14,53**	**14,04 ± 1,76**
β mirceno	0,77	0,84	0,88	0,83 ± 0,06
NI		0,94	1,03	0,66 ± 0,57
α felandreno	0,17	0,20	0,16	0,18 ± 0,02
δ 3 careno	0,10			0,03 ± 0,06
p cimeno	**17,29**	**13,91**	**15,00**	**15,40 ± 1,73**
limoneno	0,28	0,31	0,33	0,31 ± 0,03
γ terpineno	**23,82**	**24,15**	**23,47**	**23,81 ± 0,34**
cis sabineno hidrato	0,14	0,14	0,16	0,15 ± 0,01
trans pinocarveol	0,48	0,61	0,41	0,50 ± 0,10
sabina cetona	0,41			0,14 ± 0,24
2 6 dimetil 3 5 7 octatrieno 2 ol	0,27			0,09 ± 0,15
1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)	0,59			0,20 ± 0,34
cuminaldehído	**21,52**	**18,20**	**19,35**	**19,69 ± 1,68**
felandral	0,06			0,02 ± 0,03
2-caren-10-al	**4,05**	**6,19**	**5,91**	**5,38 ± 1,16**
p-menta-1,4-dien-7-al	**14,15**	**11,98**	**12,41**	**12,85 ± 1,15**
p-menta-1,4-dien-7-ol	0,32	0,15	0,11	0,19 ± 0,11
β cariofileno	0,13	0,13	0,20	0,15 ± 0,04
β farneseno	0,31	0,14	0,13	0,19 ± 0,10
acoradieno	0,10	0,93	0,08	0,37 ± 0,48
β chamigreno	0,06			0,02 ± 0,03
óxido de cariofileno	0,09			0,03 ± 0,05
carotol	0,30			0,10 ± 0,17
Total identificado (%)	**98,68**	**97,34**	**97,97**	**98,00 ± 0,67**

III.2.3.5 Departamento Tinogasta.

En el AE de comino procedente del departamento Tinogasta se identificaron 26 compuestos de los 27 encontrados por CG con un porcentaje medio de resolución del 97,14 %. Las muestras individuales analizadas presentan entre 19 y 21 compuestos. El AE con mayor cantidad de compuestos (21), es el correspondiente a la producción 2008. Entre los tipos de compuestos identificados se encuentran hidrocarburos mono y sesquiterpénicos, alcoholes mono y sesquiterpénicos, aldehídos monoterpénicos, una cetona bicíclica y un epóxido sesquiterpénico.

Todos los aceites del departamento Tinogasta analizados presentan los mismos compuestos mayoritarios, salvo el aceite (TCg_2-2015) que presenta además una elevada abundancia relativa de acoradieno (10,64 %), mientras que este compuesto se halla en los demás aceites en proporciones del 0,13 % y 0,42 %. Teniendo en cuenta la composición química media del AE de Tinogasta, los compuestos mayoritarios son, en orden decreciente de abundancia relativa: γ-terpineno; cuminaldehído; p-cimeno; β-pineno; p-mentha-1,4-dien-7-al; 2-caren-10-al y acoradieno. En término medio se puede hablar de un quimiotipo γ-terpineno - cuminaldehído.

Considerando la composición media del AE, la fracción de hidrocarburos terpénicos representa el 64,57 % y la fracción de aldehídos monoterpénicos representa el 29,97 % de un total de 97,14 % identificado. Las fracciones de alcohol (1,53 %), cetona (0,39 %) y epóxido (0,05 %), son minoritarias.

Al igual que lo observado en los AEs de comino de Pomán y de Santa María, los AEs de Tinogasta que presentan fracción hidrocarburo terpénico más elevada son los que presentan la fracción aldehídica más baja. En la Tabla 49 se pueden observar las distintas fracciones de compuestos por muestra y las medias a nivel departamento. En la Tabla 50 figuran las composiciones químicas por muestra de AE de comino de Tinogasta, la composición media a nivel departamento y se resaltan los compuestos mayoritarios.

Tabla 49. Abundancia porcentual relativa de las diferentes fracciones de compuestos, número total de compuestos y compuestos mayoritarios en los AEs de comino de Tinogasta.

	Muestras			Tinogasta
	$TSCg_2$-2008	$TCSg_2$-2010	TCg_2-2015	% media ± DE
Fracción de Compuestos	Abundancia relativa (%)			
Hidrocarburo terpénico	63,20	64,48	66,04	64,57 ± 1,42
Aldehído	30,68	29,81	29,43	29,97 ± 0,64
Alcohol	1,89	1,93	0,78	1,53 ± 0,65
Cetona: sabina cetona	0,90		0,28	0,39 ± 0,46
Epóxido: óxido de cariofileno	0,15			0,05 ± 0,09
No identificado: NI		1,02	0,83	0,62 ± 0,54
Total (%)	96,82	97,24	97,36	97,14 ± 0,28
Nº total de fracciones identificadas	5	3	4	
Nº total de compuestos	21	19	19	
Nº de compuestos mayoritarios	6	6	7	

Tabla 50. Composición relativa porcentual de los aceites esenciales de comino del departamento Tinogasta.

Compuestos	Muestras			Tinogasta % media ± DE
	TSCg$_2$-2008	TCSg$_2$-2010	TCg$_2$-2015	
	Abundancia relativa (%)			
α tuyeno	0,13	0,05	0,05	0,08 ± 0,05
α pineno	0,74	2,15	1,81	1,57 ± 0,74
sabineno		1,06	0,87	0,64 ± 0,57
β pineno	**16,27**	**17,32**	**15,23**	**16,27 ± 1,05**
β mirceno	0,58	0,70	0,92	0,73 ± 0,17
NI		1,02	0,83	0,62 ± 0,54
α felandreno		0,23	0,20	0,14 ± 0,13
p cimeno	**23,34**	**15,35**	**14,44**	**17,71 ± 4,90**
limoneno	0,26	0,31	0,67	0,41 ± 0,22
γ terpineno	**15,79**	**26,73**	**21,09**	**21,20 ± 5,47**
cis sabineno hidrato		0,18	0,14	0,11 ± 0,09
trans pinocarveol		1,59	0,47	0,69 ± 0,82
sabina cetona	0,90		0,28	0,39 ± 0,46
2 6 dimetil 3 5 7 octatrieno 2 ol	0,57			0,19 ± 0,33
terpinen 4 ol	0,13			0,04 ± 0,08
1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)	0,22			0,07 ± 0,13
cuminaldehído	**20,7**	**24,97**	**13,65**	**19,77 ± 5,72**
felandral		0,10		0,03 ± 0,06
2-caren-10-al	**3,28**	**3,09**	**5,85**	**4,07 ± 1,54**
p-menta-1,4-dien-7-al	**6,70**	**1,65**	**9,93**	**6,09 ± 4,17**
p-menta-1,4-dien-7-ol	0,94	0,16	0,17	0,42 ± 0,45
β cariofileno	5,10			1,70 ± 2,94
β farneseno	0,56	0,16	0,12	0,28 ± 0,24
acoradieno	0,13	0,42	**10,64**	3,73 ± 5,99
β chamigreno	0,30			0,10 ± 0,17
óxido de cariofileno	0,15			0,05 ± 0,09
carotol	0,03			0,01 ± 0,02
Total identificado (%)	**96,82**	**97,24**	**97,36**	**97,14 ± 0,28**

III.2.3.6 Provincia de Catamarca.

Del análisis por CG y CG-EM de los AEs de comino de Catamarca, se separaron 29 compuestos y se identificaron 28 con un porcentaje medio de resolución del 97,69 % del total del aceite. Entre los tipos de compuestos identificados se encuentran hidrocarburos mono y sesquiterpénicos alifáticos, cíclicos y aromáticos, alcoholes mono y sesquiterpénicos, aldehídos monoterpénicos y aromáticos, una cetona bicíclica, un éter y un epóxido sesquiterpénico. En comparación con las composiciones de otros aceites de comino descritos en la literatura (Jirovetz et al., 2005), la composición media de este aceite de comino muestra un número menor de componentes.

El perfil cromatográfico medio encontrado para el AE de comino de Catamarca responde, en gran medida, al perfil cromatográfico especificado en la Norma ISO 9301:2003(E) en cuanto a sus compuestos más abundantes. En la Tabla 51 se muestran, por departamento y total provincial, las abundancias relativas medias de todos los compuestos encontrados. Se advierte que los aldehídos p-menta-1,3-dien-7-al y p-menta-3-en-7-al especificados en la Norma ISO 9301:2003(E) con abundancias mínima y máxima respectivas de (2,8-22,0 %) y (0,3-5,0 %) están ausentes en los AEs de cominos de Catamarca. Sin embargo, se han encontrado los aldehídos p-menta-1-en-7-al o felandral y el 2-caren-10-al, con abundancias relativas medias de (0,03 ± 0,05 %) y (5,97 ± 1,96 %) respectivamente. Los hidrocarburos terpénicos α-terpineno (0,1-0,3 %) y β-felandreno (0,2-0,5 %), compuestos minoritarios que figuran en el perfil cromatográfico de la Norma ISO, también están ausentes en los AEs de cominos de Catamarca.

Tanto a nivel departamental como a nivel provincial, la composición química del AE de comino de Catamarca evidencia predominio de las fracciones hidrocarburo terpénico y de aldehídos, lo cual concuerda con el perfil cromatográfico mencionado en la Norma ISO 9301:2003(E). En las Figuras 39 (a y b) se muestran, comparativamente, las abundancias relativas de todas las fracciones de compuestos presentes en los AEs de comino de Catamarca según el departamento de origen. Del análisis de correlación entre estas fracciones se encontró que existe una correlación alta y negativa entre las fracciones hidrocarburo terpénico y aldehído, con coeficiente de correlación de Pearson (CCP) (-0,88) significativo a $P < 0,0001$.

Teniendo en cuenta las composiciones medias de los AEs por departamento, todos los aceites presentaron los mismos compuestos mayoritarios, que en orden decreciente de abundancia relativa media a nivel provincial fueron: γ-terpineno (20,42 ± 4,71 %); cuminaldehído (18,91 ± 3,91 %); p-cimeno (15,40 ± 4,56 %), β-pineno (14,94 ± 1,07 %), p-menta-1,4-dien-7-al (10,38 ± 3,10 %) y 2-caren-10-al (5,97 ± 1,96 %). Si se comparan las abundancias medias de estos compuestos mayoritarios por departamento, se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los contenidos de cuminaldehído, β-pineno y p-menta-1,4-dien-7-al, según comparaciones múltiples de Duncan, P <0,05, Tabla 51. La bibliografía también menciona al cuminaldehído con abundancias que van de 15,7 a 63 %, al p-menta 1,4 dien -7-al (0,3 a 17,4 %), al β-pineno (0,8 a 21 %), al p-cimeno (4,2 a 23,2 %), al γ-terpineno (1,5 a 23,9 %) y al 2-caren-10-al (7,93 a 8,23 %) como compuestos mayoritarios presentes en AEs de comino de diferentes partes del mundo (Aćimović1 et al 2016; Iacobellis et al., 2005; Hajlaoui et al., 2010; Jirovetz et al., 2005; Moghaddam et al., 2015; Mostafa et al., 2015; Teneva et al., 2016). Cabrera et al. (2012) encontraron en AEs de cominos de Catamarca, cosechas 2008-2009, cierta variabilidad en las composiciones químicas, con fracciones de aldehídos comprendidas entre 26,94 % y 38,85 %, siendo el cuminaldehído el más abundante (13,00 % a 22,53 %), seguido del 2-caren-10-al (5,57 % a 16,32 %).

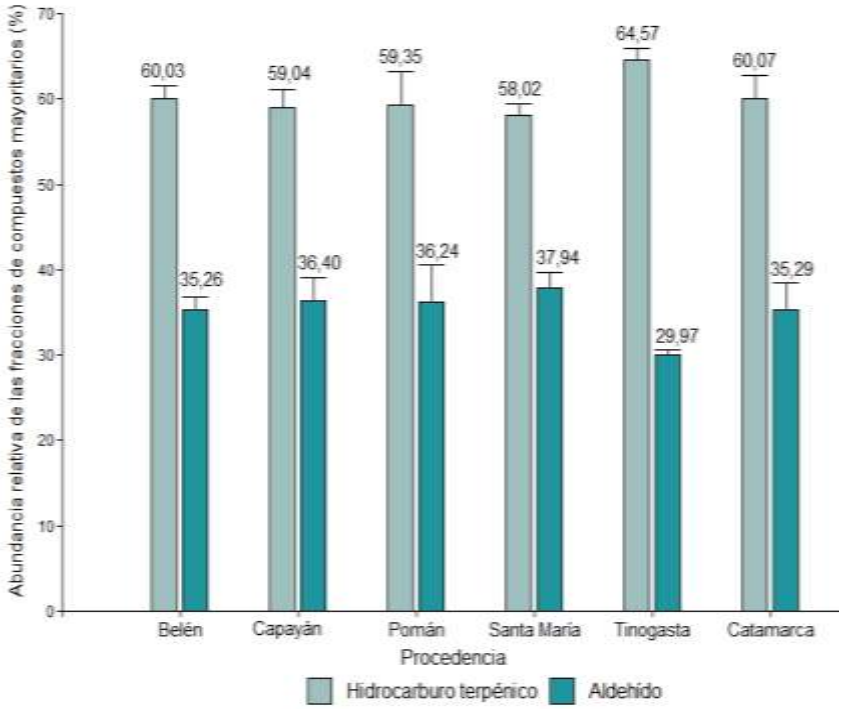
Considerando las abundancias relativas medias de los compuestos mayoritarios presentes en el AE de comino de Catamarca, se podría hablar de un quimiotipo mixto γ-terpineno – cuminaldehído, siendo el γ-terpineno el compuesto más abundante y su abundancia es la misma en todos los departamentos, seguida del cuminaldehído que es significativamente más abundante en el comino de Capayán. En este caso se puede hablar de quimiotipo cuminaldehído – γ-terpineno. En la bibliografía se mencionan distintos quimiotipos para los AE de comino, entre ellos, quimiotipo transdihydrocarvona (31,11 %) para comino de Delhi (Chaudary et al., 2014 b); γ-terpineno (29,1 %), (Borges y Pino, 1993), p-menta-1,4-dien-7-al (27,4 %), (Iacobellis et al, 2005), α-pineno (29,1 %) y limoneno (21,5 %), para el comino iraní (Gachkar et al., 2007), timol (40,65 %) para el comino de la montaña del Kurdistán de Irán (Moghadam, 2015), cuminal (39,48 %) para el comino de Túnez (Hajlaoui et al., 2010), al igual que para cominos de cultivares egipcios (cuminal 35,25 %) (Romeilah et al., 2010). Todos estos antecedentes ponen en

evidencia la variabilidad en la composición química de los AEs de comino, incluso de un mismo país.

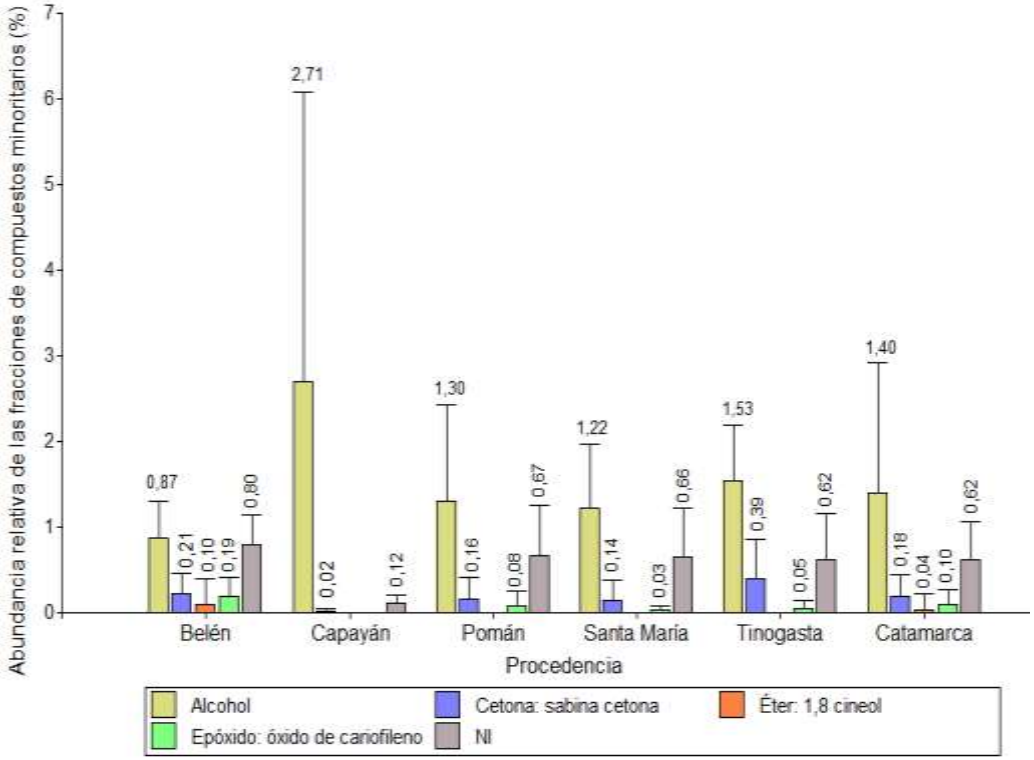
Las diferencias más notables en cuanto a la composición química de los AEs de comino de Catamarca se observan a nivel de los compuestos minoritarios, tal es el caso del α felandreno, el óxido de cariofileno y el carotol, ausentes en los AEs de comino de Capayán. El compuesto δ -3- careno está ausente en los AEs de Capayán y Tinogasta. El AE de comino de Santa María carece de terpinen 4-ol. Por otro lado, si se miran las composiciones químicas de los AEs de cada departamento productor, se advierte que las desviaciones estándar de las abundancias medias son elevadas en comparación con las abundancias medias de estos compuestos minoritarios, por ejemplo, el α tuyeno (0,20 ± 0,31 %) del AE de Belén, lo que da cuenta de que esta variabilidad se presenta no tan sólo a nivel provincial, sino también entre los AEs de un mismo departamento. También destaca el AE de comino de Tinogasta con una elevada abundancia relativa media del hidrocarburo sesquiterpénico acoradieno (3,73 ± 5,99 %), si se compara con el resto de los AEs, cuyas abundancias relativas promedio son ≤ 0,56 %. En cominos de India, el acoradieno también es minoritario (≤ 0,1 %) (Aćimović et al., 2016). Algo similar sucede con el compuesto α-pineno, que en el AE de comino de Capayán está presente con una abundancia relativa media de (3,42 ± 0,83 %) que supera incluso el máximo (2 %) que establece la Norma ISO, mientras que en los otros AEs es ≤ 1,57 %. El compuesto 1,8 cineol sólo se encontró en el AE de comino procedente de la localidad Londres, del departamento Belén con una abundancia relativa de 0,91 %. En cominos de India y de Túnez también se encontró este éter como componente minoritario o traza (Aćimović et al., 2016; Bettaieb et al., 2011). Aunque el 1,8 cineol es un compuesto extraño y minoritario en el AE de comino de Catamarca, es considerado uno de los principales monoterpenos oxigenados de la variedad de comino iraní (17,9 %) (Gachkar et al., 2007).

Respecto de la relación entre las propiedades físicas de los AEs de comino de Catamarca y sus composiciones químicas, no se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre los porcentajes de las fracciones de compuestos y el índice de refracción y la densidad del AE. Sin embargo, al considerar individualmente a los compuestos, se encontraron correlaciones positivas entre el índice de refracción y las abundancias de: terpinen-4-ol, con CCP = 0,54 significativa a P = 0,0074; p-cimeno con

CCP = 0,62 significativa a *P* = 0,0017 y cuminaldehído, con CCP = 0,58 significativa a *P* = 0,0037. Las correlaciones negativas se observaron con: β-mirceno con CCP = -0,52 significativa a *P* = 0,0113 y γ-terpineno con CCP = -0,66 significativa a *P* = 0,0007. No se encontró correlación entre la densidad y las abundancias de los compuestos.



(a) Fracciones de compuestos mayoritarios



(b) Fracciones de compuestos minoritarios

Figura 39 a y b. Abundancias relativas medias de las diferentes fracciones de compuestos presentes en los AEs de cominos de Catamarca.

Tabla 51. Composición porcentual media de los aceites esenciales de semillas de cominos de Catamarca.

TR	TR	Procedencia	Belén	Capayán	Pomán	Santa María	Tinogasta	Catamarca	ISO 9301:2003(E)	
GC	GCMS	Compuestos	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Mín	Máx
1217	1036	α tuyeno	0,20 ± 0,31	0,22 ± 0,26	0,66 ± 0,34	0,28 ± 0,36	0,08 ± 0,05	0,28 ± 0,33		
1263	1069	α pineno	1,54 ± 0,62	**3,42 ± 0,83**	1,52 ± 1,10	1,52 ± 0,86	1,57 ± 0,74	1,86 ± 1,03	0,3	2,0
1429	1214	sabineno	0,74 ± 0,26	0,79 ± 0,14	1,11 ± 0,99	0,89 ± 0,24	0,64 ± 0,57	0,82 ± 0,47		
1450	1244	**β pineno**	**14,97 ± 0,70^{ab}**	**14,49 ± 0,76^{a}**	**15,01 ± 0,79^{ab}**	**14,04 ± 1,76^{a}**	**16,27 ± 1,05^{b}**	**14,94 ± 1,07**	**7,0**	**20,0**
1488	1268	β mirceno	0,86 ± 0,05	0,69 ± 0,12	0,81 ± 0,15	0,83 ± 0,06	0,73 ± 0,17	0,80 ± 0,12	0,1	1,5
		NI	0,80 ± 0,32	0,12 ± 0,08	0,67 ± 0,58	0,66 ± 0,57	0,62 ± 0,54	0,62 ± 0,45		
1606	1337	α felandreno	0,19 ± 0,11		0,45 ± 0,60	0,18 ± 0,02	0,14 ± 0,13	0,20 ± 0,27	Trazas	2,5
	1378	δ 3 careno	0,15 ± 0,18		0,13 ± 0,19	0,03 ± 0,06		0,09 ± 0,15		
1641	1416	**p cimeno**	**13,79 ± 3,39^{a}**	**17,64 ± 8,68^{a}**	**15,06 ± 2,26^{a}**	**15,40 ± 1,73^{a}**	**17,71 ± 4,90^{a}**	**15,40 ± 4,56**	**3,0**	**17,0**
	1428	limoneno	0,62 ± 0,14	0,27 ± 0,23	0,22 ± 0,26	0,31 ± 0,03	0,41 ± 0,22	0,48 ± 0,22	0,2	0,5
		1,8 cineol	0,10 ± 0,29					0,04 ± 0,19		
1783	1542	**γ terpineno**	**26,03 ± 3,05^{a}**	**19,64 ± 8,26^{a}**	**22,70 ± 1,07^{a}**	**23,81 ± 0,34^{a}**	**21,20 ± 5,47^{a}**	**20,42 ± 4,71**	**14,0**	**32,0**
	1694	cis sabineno hidrato	0,13 ± 0,04	0,24 ± 0,30	0,11 ± 0,07	0,15 ± 0,01	0,11 ± 0,09	0,14 ± 0,13		
	1842	trans pinocarveol	0,30 ± 0,24	0,43 ± 0,44	0,29 ± 0,30	0,50 ± 0,10	0,69 ± 0,82	0,40 ± 0,38		
2158	1862	sabina cetona	0,21 ± 0,23	0,02 ± 0,04	0,16 ± 0,26	0,14 ± 0,24	0,39 ± 0,46	0,18 ± 0,26		
2194	1924	2, 6 dimetil 3 5 7 octatrieno 2 ol	0,04 ± 0,07	0,04 ± 0,08	0,55 ± 1,04	0,09 ± 0,15	0,19 ± 0,33	0,15 ± 0,45		
	1974	terpinen 4 ol	0,12 ± 0,31	0,14 ± 0,28	0,01 ± 0,03		0,04 ± 0,08	0,08 ± 0,23		
	2020	1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)-	0,003 ± 0,008	0,03 ± 0,05	0,01 ± 0,02	0,20 ± 0,34	0,07 ± 0,13	0,04 ± 0,13		
2488	2199	**cuminaldehído**	**16,34 ± 2,36^{a}**	**22,72 ± 5,14^{b}**	**19,68 ± 2,05^{ab}**	**19,69 ± 1,68^{ab}**	**19,77 ± 5,72^{ab}**	**18,91 ± 3,91**	**15,0**	**46,0**
	2298	felandral (p-menta-1-en-7-al)	0,04 ± 0,06		0,04 ± 0,07	0,02 ± 0,03	0,03 ± 0,06	0,03 ± 0,05		
2644	2337	**2-caren-10-al**	**7,00 ± 1,02^{a}**	**5,11 ± 1,20^{a}**	**6,34 ± 3,59^{a}**	**5,38 ± 1,16^{a}**	**4,07 ± 1,54^{a}**	**5,97 ± 1,96**		
2663	2354	**p-menta-1,4-dien-7-al**	**11,88 ± 2,28^{bc}**	**8,57 ± 2,40^{ab}**	**10,18 ± 0,93^{bc}**	**12,85 ± 1,15^{c}**	**6,09 ± 4,17^{a}**	**10,38 ± 3,10**	**1,5**	**16,0**
2747	2443	p-menta-1,4-dien-7-ol	0,14 ± 0,11	1,84 ± 3,48	0,26 ± 0,36	0,19 ± 0,11	0,42 ± 0,45	0,50 ± 1,45		
2779	2597	β cariofileno	0,11 ± 0,05	0,06 ± 0,08	0,09 ± 0,07	0,15 ± 0,04	1,70 ± 2,94	0,31 ± 1,05		
3077	2788	β farneseno	0,18 ± 0,06	1,48 ± 2,74	0,86 ± 1,06	0,19 ± 0,10	0,28 ± 0,24	0,54 ± 1,20		
3284	2885	acoradieno	0,56 ± 0,89	0,34 ± 0,64	0,39 ± 0,44	0,37 ± 0,48	**3,73 ± 5,99**	0,88 ± 2,23		
		β chamigreno	0,06 ± 0,05	0,01 ± 0,02	0,05 ± 0,10	0,02 ± 0,03	0,10 ± 0,17	0,05 ± 0,08		
	3176	óxido de cariofileno	0,19 ± 0,21		0,08 ± 0,17	0,03 ± 0,05	0,05 ± 0,09	0,10 ± 0,17		
	3226	carotol	0,15 ± 0,12		0,08 ± 0,16	0,10 ± 0,17	0,01 ± 0,02	0,09 ± 0,13		
		Total identificado (%)	**97,47 ± 0,54**	**98,28 ± 0,25**	**97,80 ± 0,23**	**98,00 ± 0,67**	**97,14 ± 0,28**	**97,69 ± 0,60**		

Medias con una letra común en la fila, no son significativamente diferentes según Duncan, $P > 0,05$.

III.2.4 Actividad biológica.

III.2.4.1 Actividad anti-insecto contra *S. zeamais.*

III.2.4.1.1 Actividad insecticida.

III.2.4.1.1.1 Departamento Belén.

Se probó la actividad insecticida de AEs de comino de Belén sobre el gorgojo adulto del maíz, *S. zeamais*. En la Tabla 52 se exponen los resultados obtenidos de los experimentos de toxicidad por acción fumigante. La menor CL_{50} fue de 14,93 µL/L y se consiguió con el AE de Artaza, cosecha 2015, mientras que la menor CL_{95} fue de 83,85 µL/L y se obtuvo con el AE de comino de La Banda. A nivel general, el AE de comino de La Banda fue el que presentó mayor actividad insecticida dado que también mostró baja CL_{50} (32,02 µL/L de aire). De los resultados expuestos en la tabla se advierte que varios AEs de comino de Belén presentan mayor actividad insecticida que el cuminal puro. Los valores medios de CL_{50} y CL_{95} a nivel departamento fueron, respectivamente, 80,84 µL / L de aire y 244,19 µL / L de aire.

Es de esperar que las abundancias relativas de los compuestos presentes en los AEs de comino de Belén que se correlacionan negativamente con las concentraciones letales CL_{50} y CL_{95} sean los responsables de la actividad insecticida observada o contribuyan sinérgicamente, y que los que presentan correlación positiva actúen como antagonistas. Sin embargo, del análisis de correlación se encontró correlación positiva alta entre la abundancia de γ-terpineno y la CL_{50} con CCP (0,74) significativa a $P = 0,023$, lo que daría a pensar que este compuesto, o no presenta actividad insecticida ante *S. zeamais* o actúa antagónicamente. Esto no concuerda con los antecedentes de actividad insecticida que presenta el γ-terpineno según Yeom et al. (2012). Por otro lado, cuando se analiza la correlación entre la abundancia de cuminaldehído y las CL_{50} y CL_{95}, los CCP son, respectivamente, (-0,55 y -0,24), aunque carecen de significación estadística, $P > 0,05$. Algo similar sucede con el p-cimeno, 2-caren-10-al, β-chamigreno, óxido de cariofileno, 1,8 cineol, α-tuyeno, α-pineno y con el carotol, que presentan correlación negativa con las CL, pero no son estadísticamente significativas. De todos modos existen antecedentes de actividad insecticida de varios de estos compuestos tales como el

cuminaldehído, p-cimeno, α-pineno y del 1,8 cineol (Abdelgaleil et al., 2009; Chu et al., 2012; Clemente et al., 2007; López y Pascual Saad, et al., 2018; Villalobos, 2010; Yeom, et al., 2012) que reforzarían la idea de que la actividad insecticida observada en el AE de comino es debida a la presencia de estos compuestos. Sólo el acoradieno muestra una correlación fuerte y negativa con la CL_{95}, con CCP (-0,74) significativa a P = 0,022. Aunque no se han encontrado antecedentes de actividad insecticida del acoradieno (Oda et al., 1977); es posible que este sesquiterpeno contribuya sinérgicamente a aumentar la toxicidad por acción fumigante.

Tabla 52. Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Belén contra *S. zeamais* M.

Muestra	CL_{50} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	CL_{95} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	$(X^2)^{§}$	Pendiente ± D.E.
Cuminal	59,312	14,49 - 97,87	267,19	197,69 - 445,64	86,49	7,73 ± 0.001
BAg_2-2009	99,99	69,92 – 157,33	235,13	171,83 - 401,83	234,46	10,17 ± 0.001
BAg_2-2015	14,93	-81,98 – 58,76	209,45	136,72 – 535,29	184,81	7,26 ± 0,01
BBg_2-2015	32,02	21,22 – 44,46	83,85	64,12 - 137,93	98,88	7,19 ± 0,004
BCg_2-2015	31,48	-49,29 - 78,82	201,41	129,73 – 585,75	227,47	7,52 ± 0,001
BCg_3-2015	117,08	84,01 – 162,38	282,44	219,33 – 420,75	95,50	9,46 ± 0,001
$BCMg_2$-2015	125,36	90,50 – 172,29	291,72	227,79 – 430,84	103,38	9,86 ± 0,001
BLg_3-2015	66,83	48,69 – 89,84	155,18	122,52 – 225,58	85,38	9,03 ± 0,002
BP_1g_2-2015	100,38	67,90 – 144,61	262,11	199,21 – 412,38	100,55	8,92 ± 0,001
BP_2g_2-2015	139,68	107,89 – 183,78	282,28	226,23 – 394,88	105,59	10,65 ± 0,001
Total Belén	80,84	68,79 – 94,02	244,19	215,17 – 284,42	1608,19	26,44 ± 0,000

§ Valores de Chi cuadrado. Significativo a nivel de $P < 0,05$.

III.2.4.1.1.2 Departamento Capayán.

Los AEs de comino de Capayán mostraron una actividad insecticida contra *S. zeamais* similar a la registrada con los AEs de comino de Belén, aunque menos activos que éstos. En la Tabla 53 se exponen las CL_{50} y CL_{95} de cada AE y las medias a nivel departamento.

El AE que mostró menor CL_{50} fue el correspondiente al año 2013 y el que en su composición química presenta el mayor porcentaje de cuminaldehído y p-cimeno (30,40 % y 30,41 %) respectivamente y el menor porcentaje de γ-terpineno.

Los AEs que mostraron menor CL_{95} fueron Cag_4-2014 y Cag_4-2014 y son los que presentan acoradieno en su composición química, aunque se carece de evidencia estadística para establecer correlación.

Tabla 53. Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Capayán contra *S. zeamais* M.

Muestra	CL_{50} (µl/L aire)	IC; α = 0,05 (µl/L aire)	CL_{95} (µl/L aire)	IC; α = 0,05 (µl/L aire)	$(X^2)^{§}$	Pendiente ± D.E.
Cuminal	59,312	14,49 - 97,87	267,187	197,69 - 445,64	86,49	7,73 ± 0.001
Cag_1-2013	64,33	19,86 – 108,91	223,42	159,54 - 420,72	142,60	8,51 ± 0.001
Cag_1-2014	131,97	110,28 – 160,39	264,67	223,06 – 333,32	56,88	10,36 ± 0,001
Cag_4-2014	93,85	61,54 – 144,50	215,62	159,22 - 367,31	203,25	10,30 ± 0,001
Cag_4-2015	75,96	32,37 - 128,64	219,72	155,70 – 429,98	179,45	9,13 ± 0,001
Total Capayán	92,61	77,36 – 110,16	233,46	201,16 – 281,85	553,75	19,21 ± 0,001

§ Valores de Chi cuadrado. Significativo a nivel de $P < 0.05$.

III.2.4.1.1.3 Departamento Pomán.

Todos los AEs de comino de Pomán mostraron una elevada actividad insecticida contra *S. zeamais* comparada con la observada con el cuminal puro. En la Tabla 54 se exponen las CL_{50} y CL_{95} de cada AE y las medias a nivel departamento. Se advierte que los AEs producidos en los años 2014 y 2015 son los más activos. Estos dos AEs más activos tienen la particularidad de presentar los valores más bajos de cuminaldehído y los más altos de γ-terpineno, β-pineno, α-pineno y sabineno.

Tabla 54. Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Pomán contra *S. zeamais* M.

Muestra	CL_{50} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	CL_{95} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	$(X^2)^{§}$	Pendiente ± D.E.
Cuminal	59,312	14,49 - 97,87	267,187	197,69 - 445,64	86,49	7,73 ± 0.001
PPg_2-2008	40,39	26,20 – 56,17	253,69	148,33 - 813,22	52,18	7,84 ± 0,263
PPg_2-2013	28,69	14,38 – 43,64	112,29	66,50 – 554,01	140,06	8,49 ± 0,327
PPg_2-2014	20,50	11,07 – 28,24	91,52	60,79 – 242,66	50,30	6,47 ± 0,391
PPg_2-2015	27,53	21,44 – 34,98	54,72	44,36 – 78,46	64,20	7,29 ± 0,008
Total Pomán	26,33	20,72 – 32,12	89,06	66,68 – 143,92	653,30	16,80 ± 0,185

§ Valores de Chi cuadrado. Significativo a nivel de P <0,05.

III.2.4.1.1.4 Departamento Santa María

Los AEs de comino de Santa María presentaron elevada actividad insecticida contra *S. zeamais*, resultando el correspondiente al año 2014 el más activo. La composición química de este AE tiene la particularidad de presentar la menor abundancia relativa de cuminaldehído, de p-menta-1,4-dien-7-al y de p-cimeno y la mayor abundancia de γ-terpineno, β-pineno, 2-caren-10-al y acoradieno.

En todos los casos, los AEs fueron más activos que el cuminal puro. En la Tabla 55 se exponen las CL_{50} y CL_{95} de cada AE y las medias a nivel departamento.

Tabla 55. Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Santa María contra *S. zeamais* M.

Muestra	CL_{50} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	CL_{95} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	$(X^2)^{§}$	Pendiente ± D.E.
Cuminal	59,312	14,49 – 97,87	267,19	197,69 – 445,64	86,49	7,73 ± 0.001
SMg_2-2008	44,51	28,61 – 72,48	101,78	73,40 – 187,78	246,39	9,95 ± 0,003
SMg_3-2014	17,71	14,80 – 21,09	31,16	26,57 – 39,52	58,60	8,18 ± 0,015
SMg_3-2015	19,63	17,42 – 21,82	45,62	38,87 – 57,53	38,94	8,92 ± 0,504
Total Santa María	32,01	…	79,03	…	11031,5	13,56 ± 0,003
Trans log	22,35	17,06 – 27,60	77,75	60,09 – 114,21	149,40	12,087 ± 0,251

§ Valores de Chi cuadrado. Significativo a nivel de $P < 0,05$.

III.2.4.1.1.5 Departamento Tinogasta

En la Tabla 56 se exponen las CL_{50} y CL_{95} de cada AE de comino de Tinogasta ensayado frente a *S. zeamais* y las medias a nivel departamento. Se advierten diferencias entre las actividades insecticidas de los AEs de comino de Tinogasta, presentando, el AE correspondiente a la muestra $TCSg_2$-2010, la mayor actividad insecticida. Así como lo observado en el AE más activo de Capayán, y a diferencia de lo advertido en los AEs de comino de Pomán y Santa María, el aceite más activo de Tinogasta es el que presenta mayor contenido en cuminaldehído. Además el AE $TCSg_2$-2010 es el que muestra más abundancia en γ-terpineno, β-pineno, α-pineno y trans-pinocarveol de los AEs de comino de Tinogasta.

Tabla 56. Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Tinogasta contra *S. zeamais* M.

Muestra	CL_{50} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	CL_{95} (µL/L)	IC; α = 0,05 (µL/L)	$(X^2)^{§}$	Pendiente ± D.E.
Cuminal	59,312	14,49 - 97,87	267,19	197,69 - 445,64	86,49	7,73 ± 0.001
$TCSg_2$-2008	184,94	157,33 – 224,02	360,00	303,94 – 449,74	258,77	14,47 ± 0.001
$TCSg_2$-2010	28,98	26,27 – 31,63	44,15	40,26 – 50,31	35,48	7,33 ± 0,015
TCg_2-2015	55,11	41,40 – 75,16	106,31	83,39 – 162,24	140,10	9,38 ± 0,003
Total Tinogasta	111,21	92,32 – 135,49	261,54	220,33 – 327,32	936,06	20,36 ± 0,001

§ Valores de Chi cuadrado. Significativo a nivel de $P < 0,05$.

III.2.4.1.1.6 Provincia de Catamarca.

Las actividades insecticidas por acción fumigante de los AEs de comino de los distintos departamentos productores de Catamarca y la actividad media a nivel provincial sobre el gorgojo adulto del maíz, *S. zeamais*, se muestran en la Tabla 57.

Considerando el promedio de los 23 AEs de comino de Catamarca estudiados, la CL_{50} fue de 74,68 µL/L de aire y la CL_{95} fue de 214,55 µL/L de aire. La menor CL_{50} obtenida fue de 14,93 µL/L y la mostró el AE de Artaza, del departamento Belén, campaña 2015. En general, los AEs de comino con mayor actividad insecticida contra *S. zeamais* fueron los provenientes de Pomán y de Santa María, dado que mostraron los valores medios más bajos de CL_{50}, siendo respectivamente 26,33 µL/L y 32,01 µL/L y también la CL_{95}, siendo 89,06 µL/L y 79,03 µL/L respectivamente.

Tabla 57. Actividad insecticida por toxicidad fumigante de aceites esenciales de comino de Catamarca contra *S. zeamais* M.

Muestra	CL_{50} (µL/L aire)	IC; α = 0,05 (µL/L aire)	CL_{95} (µL/L aire)	IC; α = 0,05 (µL/L aire)	$(X^2)^{§}$	Pendiente ± D.E.
Cuminal	59,31	14,49 - 97,87	267,19	197,69 - 445,64	86,49	7,73 ± 0,001
Belén	80,84	68,79 – 94,02	244,19	215,17 – 284,42	1608,19	26,44 ± 0,000
Capayán	92,61	77,36 – 110,16	233,46	201,16 – 281,85	553,75	19,21 ± 0,001
Pomán	**26,33**	20,72 – 32,12	**89,06**	66,68 – 143,92	653,30	16,80 ± 0,185
Santa María	**32,01**	…	**79,03**	…	11031,5	13,56 ± 0,003
Tinogasta	111,21	92,32 – 135,49	261,54	220,33 – 327,32	936,06	20,36 ± 0,001
Total Catamarca	74,68	66,26 – 83,67	214,55	194,67 – 240,00	6882,31	44,09 ± 0,000

§ Valores de Chi cuadrado, significativos a nivel de $P < 0,05$.

Varios estudios mostraron toxicidad fumigante significativa del AE de comino contra *S. oryzae* y *S. granarius* (Abdelgaleil et al., 2009; Chaubey et al., 2011; Kim et al., 2013), contra adultos y larvas de *Callosobruchus chinensis* L. (Chaubey 2008), actividad fumigante ovicida contra *T. confusum* y *Ephestia kuehniella* Zeller (Tunc¸ et al., 2000) y toxicidad fumigante contra adultos de *B. germanica* (Yeom et al., 2012). Chaubey (2017), reportó, para el aceite de comino de India, toxicidad fumigante contra *S. zeamais* representada por una CL_{50} de 346 µL/L de aire, aunque no indicó composición química del AE. Todavía es escasa la información sobre los efectos del AE de comino en *S. zeamais* y nula si se considera al comino de Argentina y de Catamarca.

El efecto tóxico evaluado a las 48 horas de exposición del AE de comino sobre individuos adultos de *S. oryzae* mostró valores de CL_{50}, 670 µL/L de aire (Chaubey et al., 2011), 4,75 µL/L de aire (Kim et al., 2013), mientras que Ziaee et al. (2014) informaron una mortalidad, a las 24 horas de exposición, del 18 % de *S. granarius* cuando se expuso a 16 µL/L. Los resultados de esta Tesis revelan que el AE de comino de Catamarca es tóxico frente a *S. zeamais* y esta toxicidad aumenta con la concentración. Si se compara la CL_{50} = 74,68 µL/L encontrada en promedio para el AE de comino de Catamarca, Argentina, con la reportada por Chaubey (2017) para el AE de comino de India, (CL_{50} =

346 µL/L), y en ambos casos evaluadas a las 24 horas de exposición, se advierte que los cominos de Catamarca contienen un AE con mayor actividad insecticida que el reportado por este autor. Por otro lado, en la metodología de los trabajos citados como antecedentes se hace referencia a bioensayos con una muestra de AE extraída por hidrodestilación. En esta Tesis se trabajó con un total de 23 muestras de AEs obtenidas a partir de diferentes productores de distintos departamentos y de diferentes campañas de producción.

Por otro lado, contraria a la CL_{50} encontrada a nivel provincial, la CL_{95} tanto a nivel provincial (214,55 µL/L), como a nivel departamental (79,03 a 261,54 µL/L), encontrada para el AE de comino de Catamarca frente a *S. zeamais* fue menor a la encontrada para el cuminaldehído puro (267,19 µL/L), lo que revela que a concentraciones más altas, el aceite presenta mayor actividad insecticida que este compuesto puro. Esto hace pensar en la probabilidad de cierta sinergia entre el cuminaldehído y otros compuestos minoritarios presentes en el AE que, cuando se trabaja a concentraciones bajas como las requeridas para lograr el 50 % de letalidad fumigante, estos compuestos minoritarios prácticamente resultan inexistentes en el aceite, y por consiguiente, no pueden operar sinérgicamente. Para poner a prueba esta hipótesis interpretativa, sería adecuado continuar el estudio con pruebas de mezclas de compuestos que conforman al AE de comino de Catamarca (Kim et al., 2013; Novato et al., 2015).

Rajendran y Sriranjini (2008) señalaron que los AEs y constituyentes más prometedores que se han aplicado como fumigantes para el control de plagas de productos almacenados pertenecen a las familias Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae y Myrtaceae. Yeom et al., (2012) informaron la actividad insecticida y de inhibición de AChE del AE de *C. cyminum*, con más del 90 % de toxicidad fumigante contra cucarachas alemanas macho adultas a una concentración de 5 mg / papel de filtro. Los compuestos de prueba, 1,8-cineol, cuminaldehído, p-cimeno y γ-terpineno demostraron una fuerte toxicidad fumigante contra adultos de *B. germanica*. La toxicidad de las mezclas de constituyentes identificados en el aceite indicó que el cuminaldehído fue el principal contribuyente a la actividad fumigante de la mezcla artificial. El efecto tóxico del cuminal en *S. oryzae* mostró valores de CL_{50} de 72,783 µL/L de aire (Abdelgaleil et al., 2009). Kim et al. (2013) también demostraron la elevada actividad insecticida del cuminaldehído frente a *S. oryzae* (CL_{50} = 1,14 µL/L) señalándolo como el mayor contribuyente a la toxicidad fumigante

del AE de comino. De todos modos, en esta Tesis, tanto el AE de comino (LC_{50} = 74,68 μL/L), como el cuminaldehído puro (LC_{50} = 59,312 μL/L) mostraron menor actividad insecticida frente a *S. zeamais* que las reportadas por Kim et al., (2013) frente a *S. oryzae*. Zunino et al. (2015) estudiaron la actividad insecticida contra *S. zeamais*, de un grupo de aldehídos, alcoholes y cetonas que se producen en la mezcla de compuestos volátiles emitidos por varios granos de cereal y mostraron que todos estos grupos de compuestos presentan actividad insecticida, aunque las cetonas fueron las más activas.

Considerando la totalidad de los AEs de comino de Catamarca estudiados, no se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre las actividades insecticidas (CL_{50} - CL_{95}) y los porcentajes de las fracciones de compuestos presentes en el aceite y tampoco con los compuestos mayoritarios, cuando se los analiza individualmente. Sin embargo, se encontraron correlaciones entre la CL_{50} y las abundancias relativas de algunos compuestos minoritarios, tal es el caso del α-tuyeno, CCP (-0,43), *P* = 0,039 y del β-cariofileno, CCP (0,53), *P* = 0,0093. También se encontraron correlaciones entre la $CL_{95,}$ y las abundancias relativas de los compuestos minoritarios tales como el compuesto NI, CCP (-0,41), *P* = 0,05; el trans pinocarveol, CCP (-0,49), *P* = 0,017; el β-cariofileno, CCP (0,40), *P* = 0,056; y el β-chamigreno, CCP (0,46), *P* = 0,028. Parece ser que cuando mayor es la abundancia de α-tuyeno, de trans pinocarveol y de NI en el AE, mayor es la actividad insecticida. Cada uno de estos compuestos minoritarios presenta una abundancia relativa media, en el AE de comino de Catamarca, menor al 1%. Pinto et al. (2016) también han atribuido a compuestos minoritarios la actividad insecticida del AE de *Cryptocarya alba* sobre *S. zeamais.*

La correlación de la actividad insecticida de los AEs estudiados por Papachristos et al., (2004) y su composición química reveló que la misma estaba dada de forma directa por los monoterpenoides oxigenados y que era inversamente proporcional con los monoterpenoides hidrocarbonados. De manera similar, la fuerte actividad de los AEs que contenían monoterpenoides oxigenados en comparación con aquellos ricos en hidrocarburos fue reportado por Regnault-Roger y Hamraoui (1995) para *A. obtectus* y por Shaaya et al. (1991) para *Rhyzoperta dominica*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* y *S. oryzae*.

Por otro lado, se ha demostrado que los AEs que contienen monoterpenos como compuestos principales inhiben la actividad de AChE (Anderson y Coats, 2012; Kim et al., 2013) aisladas de *S. oryzae* y *T. castaneum* (Abdelgaleil et al., 2016; AbouTaleb et al., 2016). Además, Miyazawa y Yamafuji (2005) encontraron que los hidrocarburos bicíclicos con un grupo metilo alílico tales como los α y β-pinenos ejercen una potente inhibición de la AChE con efecto insecticida. En concordancia, Seo et al. (2015) encontraron que los componentes α-pineno y β-pineno inhibieron la actividad de AChE en *Ae. albopictus* con valores IC_{50} de 0,062 y 0,190 mg/mL, respectivamente. Yeom et al. (2012) determinaron que la IC_{50} del α-pineno frente a AChE de insectos hembra de *B. germanica* fue 0,28 mg/mL. El α-pineno se encuentra en el AE de comino de Catamarca con una abundancia media de 1,86 % y el β-pineno con 14,94 %, siendo éste uno de los compuestos mayoritarios del AE. En este estudio, algunos AEs de comino de Catamarca (BAg_2-2009; Cag_1-2013; PPg_2-2008; SMg_2-2008; $TCSg_2$-2008) fueron evaluados por sus actividades inhibitorias de AChE aislada de los insectos. En promedio, el AE de *C. cyminum* de Catamarca, Argentina, mostró una alta tasa de inhibición de AChE de individuos adultos de *S. zeamais*, (88,39 % y 47,75 %) para concentraciones de 9,2 y 2,3 mg/L respectivamente (Tabla 58). La toxicidad de los aceites de comino sobre la actividad de AChE de *S. oryzae* reportada por numerosos autores (Chaubey et al., 2011; Kim et al., 2013), fue similar a los resultados obtenidos en esta Tesis, aunque la inhibición de actividad de AChE por efecto del aceite de comino puede cambiar según la especie del insecto (Abdelgaleil et al., 2009).

Tabla 58. Inhibición de acetilcolinesterasa (AChE) de individuos adultos de *S. zeamais* M. por el aceite esencial de comino de Catamarca.

Actividad anti-AChE	**Concentración** (mg/L)	
	2,3	**9,2**
Porcentaje de Inhibición (%)	$47,75 \pm 25,19^{A}$	$88,39 \pm 15,45^{B}$

Valores que tienen letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes entre sí según la prueba de rango múltiple de Duncan en $P \leq 0,05$.

Los monoterpenoides, compuestos mayoritarios en el AE de comino, son compuestos volátiles y lipofílicos que pueden penetrar rápidamente en los insectos e

interferir con sus funciones fisiológicas (Lee et al., 2003), inhibiendo los receptores AChE y ácido gamma-aminobutírico (GABA), además de otros efectos (Enan, 2001; Garcia et al., 2005). Estudios de Chaubey (2012; 2014), también demostraron la interferencia de monoterpenos con la actividad de la AChE en *S. oryzae* y *T. castaneum*. Esto explicaría por qué los AEs, también lipofílicos, al inhalarse o ingerirse producen interferencia con el neuromodulador octopamina, produciendo acción neurotóxica contra los insectos plaga (Enan, 2005) o los canales de cloro regulados por GABA (Priestley, 2006). Estos resultados indican que los compuestos tóxicos presentes en los AEs de comino entran al cuerpo del insecto a través del sistema respiratorio (veneno fumigante). Además, otros estudios indican que las toxicidades de los monoterpenos fumigantes son más altas que sus toxicidades de contacto y/u orales (Saad et al., 2018).

Chaubey (2017) afirmó que el aceite de comino tiene la capacidad de inhibir la AChE, de reducir el potencial de oviposición, la velocidad de eclosión del huevo, la formación de pupas y la emergencia de adultos de la progenie F (1) del insecto cuando se fumiga con concentración subletal.

Aunque la actividad insecticida puede ser más compleja que la simple inhibición de AChE, a menudo la capacidad de los terpenos de inhibir la AChE se convierte en una medida de la potencia insecticida de estos productos naturales (López y Villalobos, 2010; Lopez et al., 2015).

La alta toxicidad puesta de manifiesto por los AEs de comino de Catamarca frente al *S. zeamais*, lo muestran muy promisorio para el control de esta plaga en los granos de maíz almacenados. Si bien es lógico pensar que esta toxicidad puede serlo también para otros insectos u organismos no objetivo, el hecho de acotar su uso a sistemas en el que el maíz y los insectos plaga estan confinados, como sucede en los silos bolsa o silos tanque, el efecto tóxico a otras especies animales estaría restringido y en cierta manera, impedido. De todos modos, para llegar al empleo de este AE como bioplaguicida falta camino por recorrer en investigación, desarrollo e innovación.

III.2.4.1.2 Pruebas de atracción-repelencia por olfatometría. Cálculo de Índice de Respuesta.

Existen muchos antecedentes de acción repelente ejercida por los AEs sobre diversos insectos plaga y en general atribuyen esta propiedad repelente a la presencia de monoterpenos en la composición de los aceites (Mossa, 2016). Para tener un panorama más completo de la actividad anti-insecto del AE de comino de Catamarca, se evaluó el comportamiento del *S. zeamais* frente al estímulo experimental y se expresó como índice de respuesta (IR). Un IR negativo indica que el AE produce rechazo o repele al insecto, mientras que un IR positivo indica atracción. Sin embargo, un valor de IR negativo no es concluyente para establecer repelencia, por lo que la respuesta debe analizarse estadísticamente mediante la prueba T de muestras pareadas.

III.2.4.1.2.1 Departamento Belén.

En la Tabla 59 se presentan los resultados de los bioenyasos de atracción-repelencia efectuados con el cuminal y con los AEs de comino de Belén frente a *S. zeamais*. Se advierte que, a igual tratamiento, los IR medios obtenidos con cuminal y con AE de comino de Belén, son iguales entre sí y esto se representa en la tabla con números iguales en la misma columna. Sin embargo, esto no significa que las repelencias sean iguales, dado que según la prueba T de muestras pareadas aplicada a los valores de índice de respuesta obtenidos para el cuminal puro y para el conjunto de datos del AE a nivel departamento, se advierte que el cuminal ejerce repelencia significativa sólo a la máxima concentración ensayada, mientras que el AE de comino de Belén la ejerce a todas las concentraciones y es máxima a 4,0 µL/L. Esto se indica en la Tabla 59 con los asteriscos que acompañan a los resultados.

Tabla 59. Acción atracción-repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Belén contra *S. zeamais* M.

	Concentraciones ensayadas		
	0,05 (µL/L aire)	0,4 (µL/L aire)	4,0 (µL/L aire)
Muestra	IR Medio ± D.E. (%)		
Cuminal	0,18 ± 47,83^{A1}	-22,49 ± 49,25^{AB1}	-51,86 ± 29,40^{**B1}
BAg_2-2009	-20,73 ± 37,28	-23,23 ± 46,52	-51,35 ± 30,49
BAg_2-2015	-12,35 ± 71,08	-23,20 ± 46,52	-47,60 ± 29,79
BBg_2-2015	-35,97 ± 36,88	-22,88 ± 17,17	-44,06 ± 24,74
BCg_2-2015	-7,86 ± 34,60	-19,04 ± 47,64	-59,78 ± 13,25
BCg_3-2015	-38,22 ± 38,95	4,69 ± 27,50	-48,45 ± 39,76
$BCMg_2$-2015	9,68 ± 40,36	-52,10 ± 16,66	-42,32 ± 38,74
BLg_3-2015	-7,89 ± 20,80	-22,41 ± 14,67	-68,53 ± 20,42
BP_1g_2-2015	-22,76 ± 29,77	-35,23 ± 25,29	-15,08 ± 10,56
BP_2g_2-2015	-32,92 ± 30,65	-32,43 ± 33,67	-48,61 ± 28,45
Total Belén	-18,78 ± 39,17^{*A1}	-25,09 ± 33,30^{**A1}	-47,31 ± 29,27^{**B1}

En respuestas de comportamiento (repelencia) * $P \leq 0{,}002$ ** $P \leq 0{,}001$ (respuesta significativa al estímulo experimental, prueba T de muestras pareadas).
En respuestas de comportamiento los valores que tienen letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes entre sí según las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey HSD- LSD-Duncan a $P \leq 0{,}05$. Los valores que tienen igual número en la misma columna son iguales según Test –T, $P \geq 0{,}205$. Test de igualdad de varianza de Levene $P \geq 0{,}056$.

III.2.4.1.2.2 Departamento Capayán

La acción repelente de los AEs de comino Capayán frente a *S. zeamais*, se evaluó, por olfatometría, a las concentraciones de 0,05 µL/L aire, 0,4 µL/L aire y 4 µL/L aire y se comparó con la acción ejercida por el cuminal puro a iguales concentraciones. De la aplicación de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, se encontró que los datos se distribuyen normalmente ($P \geq 0{,}161$), salvo los correspondientes al AE de Capayán a las concentraciones de 0,05 µL/L ($P = 0{,}039$) y 4 µL/L ($P = 0{,}036$) y de la prueba de igualdad de varianzas de Levene, se encontró que las varianzas son iguales, ($P \geq 0{,}086$).

En la Tabla 60 se presentan los resultados de los bioenyasos con los AEs de comino y con cuminaldehído puro.

Los IR medios obtenidos con el AE a las tres concentraciones ensayadas son iguales a los obtenidos con el cuminaldehído puro, $P \geq 0{,}396$; sin embargo, se observa que el AE ejerce repelencia significativa sobre el *S. zeamais* a 0,4 µL/L y a 4 µL/L y esta respuesta es dependiente de la concentración, mientras que el cuminal sólo ejerce repelencia significativa al estímulo experimental a la concentración 4 µL/L.

Tabla 60. Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Capayán contra *S. zeamais* M.

	Concentraciones ensayadas		
	0,05 (µL/L aire)	0,4 (µL/L aire)	4,0 (µL/L aire)
Muestra	IR Medio ± D.E. (%)		
Cuminal	$0{,}18 \pm 47{,}83^{A1}$	$-22{,}49 \pm 49{,}25^{AB1}$	$-51{,}86 \pm 29{,}40^{**B1}$
Cag_1-2013	12,67 ± 27,00	-36,67 ± 59,98	-71,92 ± 19,82
Cag_1-2014	-8,93 ± 24,52	-22,24 ± 55,51	-56,28 ± 28,24
Cag_4-2014	-15,82 ± 47,73	-2,46 ± 21,01	-43,12 ± 49,61
Cag_4-2015	-1,70 ± 31,95	-36,37 ± 24,34	-52,97 ± 29,72
Total Capayán	$-1{,}77 \pm 33{,}06^{A1}$	$-27{,}68 \pm 46{,}12^{*B1}$	$-58{,}37 \pm 32{,}81^{**C1}$

En respuestas de comportamiento (repelencia) * $P \leq 0{,}01$ ** $P \leq 0{,}001$ (respuesta significativa al estímulo experimental, prueba T de muestras pareadas).
En respuestas de comportamiento los valores que tienen letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes entre sí según las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey HSD-LSD-Duncan a $P \leq 0{,}05$.
Los valores que tienen igual número en la misma columna son iguales según Test –T, $P \geq 0{,}565$ y Test de Mann-Whitney, $P \geq 0{,}396$. Test de igualdad de varianza de Levene, $P \geq 0{,}086$.

III.2.4.1.2.3 Departamento Pomán

Al igual que con el cuminaldehído, sólo a la mayor concentración de AE de comino de Pomán ensayada, la respuesta fue significativa al estímulo experimental según la prueba T de muestras pareadas ($P \leq 0{,}001$). Si bien, el valor absoluto del IR aumenta con la concentración del AE, únicamente a 4,0 µL/L, la diferencia es estadísticamente significativa ($P < 0{,}05$) según comparaciones múltiples de Tukey LSD-Duncan. Los IR

medios encontrados para cada concentración ensayada con AE de comino de Pomán son iguales a los IR medios observados con el cuminal a igual concentración, según prueba T de comparación de medias de muestras independientes, $P \geq 0{,}563$. Se advierte que el AE de comino de Pomán ejerce sobre el *S. zeamais* igual efecto repelente que el cuminal.

En la Tabla 61 se exponen los resultados de los ensayos de olfatometría.

Tabla 61. Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Pomán contra *S. zeamais* M.

	Concentraciones ensayadas		
	0,05 (µL/L aire)	0,4 (µL/L aire)	4,0 (µL/L aire)
Muestra	IR Medio ± D.E. (%)		
Cuminal	0,18 ± 47,83^{A1}	-22,49 ± 49,25^{AB1}	-51,86 ± 29,40^{**B1}
PPg_2-2013	-12,12 ± 12,42	-1,97 ± 20,87	-49,83 ± 24,04
PPg_2-2014	-15,82 ± 45,53	-18,64 ± 28,56	-40,37 ± 40,45
PPg_2-2015	-4,55 ± 42,25	-16,00 ± 38,62	-25,99 ± 48,22
Total Pomán	-9,16 ± 33,71^{A1}	-13,74 – 28,69^{A1}	-38,83 ± 37,63^{**B1}

En respuestas de comportamiento (repelencia) ** $P \leq 0{,}001$ (respuesta significativa al estímulo experimental, prueba T de muestras pareadas).
Números iguales en la columna indica que los IR son iguales según prueba T de muestras independientes, $P \geq 0{,}563$.
En respuestas de comportamiento los valores que tienen letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes entre sí según las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey HSD-LSD-Duncan a $P \leq 0{,}05$.

III.2.4.1.2.4 Departamento Santa María.

Los AEs de comino de Santa María mostraron, en las pruebas de olfatometría, un comportamiento similar al observado con los AEs de comino de Capayán. En la Tabla 62 se exponen los resultados de los bioenyasos con los AEs de comino y con cuminaldehído puro. Se observa que el comportamiento de los insectos es dependiente de la concentración del AE de comino de Santa María, aumentando el IR a medida que aumenta la concentración, según ANOVA y pruebas de comparaciones múltiples. Sin embargo, la repelencia observada a la menor concentración de AE no es estadísticamente significativa según prueba T de muestras pareadas. Si se comparan para cada concentración, los IR obtenidos con el cuminal y con el AE, éstos son iguales según

pruebas T de muestras independientes y se representan en la misma columna con igual número. Sin embargo, el aceite ejerció mayor repelencia que el cuminal puro porque la respuesta fue significativa a 0,4 µL/L y a 4,0 µL/L según pruebas T de muestras pareadas, mientras que el cuminal sólo lo fue a la mayor concentración ensayada.

Tabla 62. Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Santa María contra *S. zeamais* M.

	Concentraciones ensayadas		
	0,05 (µL/L aire)	0,4 (µL/L aire)	4,0 (µL/L aire)
Muestra	IR Medio ± D.E. (%)		
Cuminal	$0,18 \pm 47,83^{A1}$	$-22,49 \pm 49,25^{AB1}$	$-51,86 \pm 29,40^{**B1}$
SMg_3-2009	-5,06 ± 11,67	-42,54 ± 25,7	-75,58 ± 9,03
SMg_3-2014	0,51 ± 46,87	-30,14 ± 19,47	-47,81 ± 21,49
SMg_3-2015	-2,53 ± 22,70	-34,26 ± 39,15	-74,83 ± 18,93
Total Santa María	$-2,02 \pm 31,50^{A1}$	$-35,65 \pm 28,01^{**B1}$	$-66,07 \pm 20,89^{**C1}$

En respuestas de comportamiento (repelencia) ** $P \leq 0,001$ (respuesta significativa al estímulo experimental, prueba T de muestras pareadas).
Números iguales en la columna indica que los IR son iguales según prueba T de muestras independientes, $P > 0,05$.
En respuestas de comportamiento los valores que tienen letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes entre sí según las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey HSD- LSD- a $P \leq 0,05$ y subgrupos homogéneos de Tukey HSD y Duncan $P = 1$.

III.2.4.1.2.5 Departamento Tinogasta.

Los resultados de aplicar la prueba T de muestras pareadas a los valores de comportamiento mostrados por el insecto frente a los distintos tratamientos con AE de comino de Tinogasta, indican que el AE ejerce repelencia significativa tanto a 0,05 µL/L como a 4,0 µL/L, $P \leq 0,001$; mientras que a la concentración de 0,4 µL/L el comportamiento mostrado por el insecto en cuanto a su preferencia por el tratamiento o por el control, fue el mismo, $P = 0,107$, aunque el IR en este caso también fue negativo.

De la comparación entre los IR medios obtenidos con el cuminal puro y con el AE de comino de Tinogasta, para cada concentración ensayada, se encontró que son iguales, según prueba T de muestras independientes, $P > 0,05$.

En la Tabla 63 se presentan los resultados obtenidos de los bioensayos.

Tabla 63. Acción atracción/repelencia del cuminal y de aceites esenciales de comino de Tinogasta contra *S. zeamais* M.

	Concentraciones ensayadas		
	0,05 (µL/L aire)	0,4 (µL/L aire)	4,0 (µL/L aire)
Muestra	IR Medio ± D.E. (%)		
Cuminal	$0,18 \pm 47,83^{A1}$	$-22,49 \pm 49,25^{AB1}$	$-51,86 \pm 29,40^{**B1}$
$TCSg_3$-2008	-12,19 ± 6,83	-20,35 ± 23,21	-64,84 ± 26,15
$TCSg_3$-2014	-19,17 ± 12,93	-26,95 ± 20,16	-68,73 ± 27,93
TCg_3-2015	-12,91 ± 19,90	-6,90 ± 35,44	-53,58 ± 39,09
Total Tinogasta	$-14,76 \pm 13,59^{**A1}$	$-12,16 - 27,83^{A1}$	$-62,38 \pm 29,99^{**B1}$

En respuestas de comportamiento (repelencia) ** $P \leq 0,001$ (respuesta significativa al estímulo experimental, prueba T de muestras pareadas).
Números iguales en la columna indica que los IR son iguales según prueba T de muestras independientes, $P \geq 0,059$.
En respuestas de comportamiento los valores que tienen letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes entre sí según las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey HSD-LSD-Duncan a $P \leq 0,05$.

III.2.4.1.2.6 Provincia de Catamarca.

Como se puede apreciar en la Figura 40, al tomar en consideración todos los AEs de comino de Catamarca estudiados, se encontró que los IR medios a nivel provincial son negativos a las tres concentraciones ensayadas y dependientes de la misma, por lo que en la Figura, las barras de este clúster se muestran con letras diferentes. La acción repelente es estadísticamente significativa a las tres concentraciones ensayadas según prueba T de muestras pareadas, por lo que el asterisco acompaña a las tres barras del clúster. Al comparar, para una misma concentración, los IR del cuminal con los del AE de Catamarca, no se encontraron diferencias significativas, por lo que las barras de ambos clústers presentan los mismos números. Sin embargo, según la prueba T de muestras pareadas, el cuminaldehído sólo ejerce repelencia significativa a la máxima concentración ensayada.

Al comparar los IR medios obtenidos con los AEs de cada departamento, con los IR obtenidos con cuminal, para cada concentración ensayada, se encontró, en todos los casos, que las medias son iguales, (ANOVA, $P \geq 0{,}064$). Sin embargo, cuando se aplican las pruebas de Duncan y Waller-Duncan de subconjuntos homogéneos, se encuentra que para la concentración de 4 µL/L hay dos subconjuntos. Los subconjuntos diferentes se designan con números diferentes, Figura 40.

En resumen, analizando todas las comparaciones realizadas, se puede decir que sólo el AE de Belén y el AE a nivel provincial, ejercen repelencia significativa a todas las concentraciones del estímulo experimental. Por otro lado, a la máxima concentración ensayada (4 µL/L), todos los AEs de comino de Catamarca y el cuminal presentan respuesta significativa al estímulo experimental. También se advierte, para cada concentración, que los AEs presentan igual IR que el cuminal puro, aunque esto no significa que el efecto repelente sea el mismo.

Los AEs de Capayán y Santa María presentaron similar efecto frente a las pruebas de comportamiento, observándose que los valores de IR son dependientes de la concentración, mientras que los AEs de Belén, Pomán, Tinogasta y el cuminaldehído muestran un aumento significativo en el valor absoluto del IR recién a la concentración de 4 µL/L. Sin embargo, el AE de Belén produjo repelencia significativa, según prueba T de muestras pareadas, a las tres concentraciones ensayadas, Figura 40. Estos resultados son similares a los obtenidos por Lashgari et al. (2013), quienes ensayaron sobre *T. castaneum* y *S. oryzae* con diferentes concentraciones de AE de *C. cyminum* y obtuvieron efectos de repelencia diferentes y dependientes de la concentración, siendo el mayor efecto obtenido con la concentración más alta (5 µL/L), que causó una repelencia de 66,4 % en *T. castaneum* y 60,4 % sobre *S. oryzae*. Otros trabajos realizados por Lee et al. (2001), Papachristos y Stamopoulos (2002), Pérez y Villalobos (1999) y Sarac y Tunc (1995) reportaron resultados similares. Existen algunas diferencias entre los efectos de los AEs sobre los insectos plaga y parecen ser el resultado de la especie, de la etapa de desarrollo del insecto y del origen vegetal del AE (Lashgari et al., 2013; Tunc et al., 2000; Negahban et al., 2007).

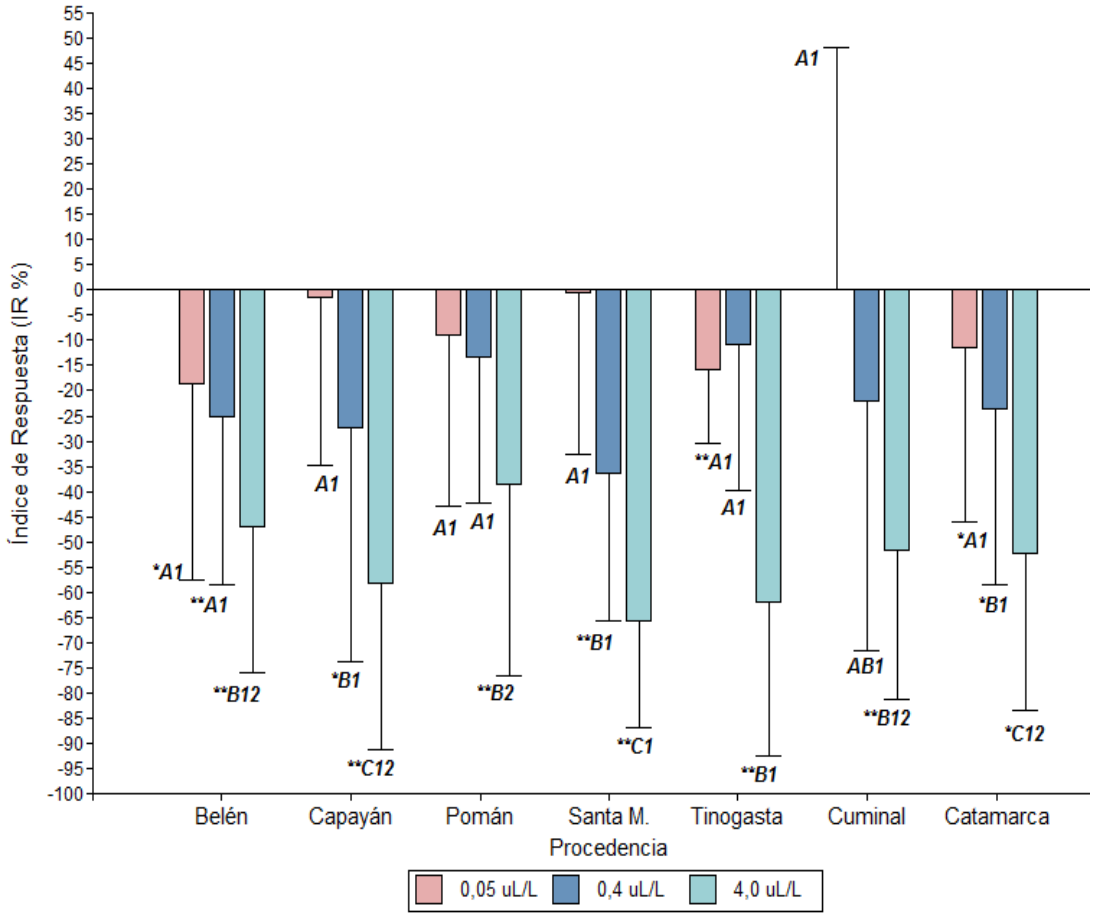


Figura 40. Respuestas de comportamiento de *S. zeamais* M. adulto a los AEs de comino de Catamarca y al cuminaldehído.

En respuestas de comportamiento (repelencia) * $P \leq 0{,}002$ ** $P \leq 0{,}001$ (respuesta significativa al estímulo experimental; prueba T de muestras pareadas).
Valores con letras diferentes en el mismo clúster son significativamente diferentes entre sí según la prueba de rango múltiple de Duncan en $P = 0{,}000$.
Valores (+) de IR indican atracción. Valores (-) de IR indican repelencia.
De la comparación entre departamentos, para cada concentración, números iguales indican subconjuntos homogéneos entre sí según Duncan, $P \geq 0{,}072$.

Los AEs de comino de Catamarca estudiados presentaron un porcentaje mínimo de cuminaldehído de 12,50 % y un máximo de 30,40 % de abundancia relativa, entonces otros compuestos presentes en los aceites también debieron contribuir a la acción repelente, para que en su conjunto, hayan igualado la acción ejercida por el cuminal puro. Según Conti et al. (2010) el efecto repelente está directamente relacionado con la concentración de monoterpenos que son los compuestos más abundantes en los AEs. Sin embargo, en esta tesis, no se encontró correlación entre la concentración de monoterpenos totales que va de 86,32 % a 98,56 % con los IR a la concentración de 4 µL/L, CCP = -0,04; $P = 0{,}8605$. Al analizar los compuestos individualmente se encontró correlación

negativa entre el IR y la abundancia relativa de cuminaldehído CCP = -0,44, *P* = 0,0407 y con el 1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)- CCP = -0,44, *P* = 0,0401. Algo similar sucede con el p-cimeno con CCP = -0,40, pero con menor significación estadística, *P* = 0,0629. Como el IR con signo negativo indica repelencia, cuanto más bajo es el IR, es decir más negativo es, más repelencia existe y se corresponde con valores más altos de cuminaldehído y 1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)-, de allí la correlación inversa observada. El p-cimeno, identificado como un componente principal en el AE de comino de catamarca, exhibió una actividad repelente de insectos contra las moscas domésticas *M. domestica* (Maganga, Gries y Gries, 1996). También se ha sugerido que el 1,8 cineol ejerce acción repelente (Pinto et al., 2016) y es uno de los monoterpenos más promisorios con actividad fumigante contra el control de plagas de insectos en productos almacenados, (Lee et al., 2004). En síntesis, prácticamente todos los monoterpenos que constituyen el AE de comino de Catamarca y que también forman parte de otros AEs, han sido reportados en numerosos estudios como los responsables de la actividad insecticida y repelente frente a diferentes insectos (Abdelgaleil, 2012; Mossa 2016; Yildirim et al., 2013), por lo que la actividad anti-insecto observada en este estudio está ampliamente justificada.

Los resultados de actividad insecticida expresados como CL_{50} y CL_{95} y los resultados de acción repelente expresados por los IR obtenidos en este estudio, fueron sometidos a análisis de correlación de Pearson y a análisis de correlación no paramétrica. Para las pruebas estadísticas de correlación se tuvieron en cuenta los valores medios de los IR a las distintas concentraciones y las CL_{50} y CL_{95} obtenidas con todas las muestras de AEs de comino de Catamarca. En ningún caso se encontró correlación entre la acción repelente de los AEs de comino de Catamarca y la actividad insecticida (ver Anexo 3, Tablas 13 a 18). Esto significa que la acción insectífuga de los AEs de comino de Catamarca frente al *S. zeamais* es independiente de la actividad insecticida. Esto concuerda con los resultados encontrados por Deletre et al. (2015) a partir de ensayos de electroantenografía (EAG) en los que las respuestas de EAG no se correlacionaron de manera consistente con los resultados de los ensayos conductuales. En estudios conductuales y de toxicidad, varios de los compuestos individuales mostraron repelencia, irritación o toxicidad en *An. gambiae*; sin embargo, la actividad de los AEs no siempre se correlacionó con la actividad esperada de los componentes principales. La actividad

biológica de los AEs parecía compleja, lo que sugiere interacciones entre los compuestos individuales y el insecto. Los datos también indicaron que los tres efectos aparecieron independientes, lo que sugiere que el (los) mecanismo (s) de repelencia pueden diferir de los mecanismos de irritación y toxicidad.

Por otro lado, si se piensa en un futuro emplear el AE de comino o alguno de sus componentes para el control integrado de plagas de granos u otros productos almacenados, se debería considerar la necesidad de realizar estudios toxicológicos frente a humanos, para conocer su modo de acción y en caso de toxicidad, establecer cómo proteger la salud de los operarios encargados de manipular el aceite o sus componentes.

En cuanto a la ecotoxicidad, debido a la volatilidad y simplicidad de las moléculas que constituyen los AEs, tienen poca persistencia en el ambiente y en su mayoría no son tóxicos para mamíferos, aves y peces (Stroh et al., 1998), lo cual los hace buenos candidatos para catalogarlos como insecticidas amigables con el ambiente (Koul et al., 2008). Dado a que se carece de estudios de ecotocicidad específicos del AE de comino, antes de avanzar en aplicaciones a escala productiva, se deberían hacer estudios para evaluar el impacto sobre el ambiente.

III.2.4.2 Actividad anti-fúngica frente a *F. verticillioides*.

III.2.4.2.1 Porcentaje de inhibición del AE de *C. cyminum* frente al crecimiento fúngico de *F. verticillioides M3125*.

III.2.4.2.1.1 Departamento Belén.

En las comparaciones de los porcentajes de inhibición de crecimiento de *F. verticillioides* ejercidos por el cuminaldehído y el AE de Belén, para cada concentración ensayada, se tuvo en cuenta la distribución de los datos y la igualdad o no de las varianzas; es por ello que en algunas comparaciones se empleó tanto test paramétrico como no paramétrico. En la Tabla 64 se exponen los resultados por muestra y totales, de la inhibición que ejercen los AEs de comino de Belén y el cuminaldehído puro, según el tratamiento ensayado.

La actividad inhibitoria del crecimiento fúngico que ejerce el AE de comino del departamento Belén sobre el *F. verticillioides* es dependiente de la concentración, y en

todos los tratamientos ensayados es menor que la que ejerce el cuminaldehído puro en iguales condiciones. El porcentaje medio de inhibición mostrado por el AE de comino a la concentración de 1000 ppm es igual al que mostró el cuminaldehído puro a 250 ppm, según Test-T, t = -0,53, *P* = 0,607, con igualdad de varianzas no asumidas según Levene´s, *P*= 0,096. Esto pone de manifiesto la elevada actividad antifúngica de este compuesto característico del AE de comino. Además, si se tiene en cuenta que la abundancia relativa media de cuminal en este AE es (16,34 ± 2,36) %, otros compuestos, además del cuminal, debieron contribuir a la actividad observada en el AE.

Tabla 64. Inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Belén y cuminal.

Tratamiento	Inhibición crecimiento *F. verticillioides* **(%)**[*]		
	250 (ppm)(*)	**500** (ppm)(**)	**1000** (ppm)(***)
Cuminal	$74,33 \pm 2,63^{A1}$	$86,85 \pm 8,82^{B1}$	$100,00 \pm 0,00^{C1}$
BAg_2-2009	32,84 ± 3.06	56,12 ± 6.45	91,38 ± 8.50
BAg_2-2015	18,80 ± 5,84	35,73 ± 1,75	69,97 ± 4,27
BBg_2-2015	28,19 ± 13,89	44,71 ± 6,19	71,48 ± 4,31
BCg_2-2015	15,57 ± 5,90	45,81 ± 4,15	77,04 ± 6,20
BCg_3-2015	21,48 ± 5,63	32,34 ± 2,64	69,17 ± 6,45
$BCMg_2$-2015	26,41 ± 4,01	46,50 ± 3,83	75,29 ± 7,53
BLg_3-2015	21,55 ± 1,67	48,85 ± 2,63	77,39 ± 8,91
BP_1g_2-2015	30,31 ± 6,51	46,47 ± 5,00	76,57 ± 4,16
BP_2g_2-2015	19,46 ± 0,84	38,73 ± 2,82	75,14 ± 9,58
Total Belén	$23,69 \pm 7,69^{A2}$	$43,22 \pm 7,42^{B2}$	$75,49 \pm 8,34^{C2}$

*Determinado el día 6 de crecimiento fúngico. Letras diferentes en la fila (Total Belén) indican diferencias significativas según ANOVA *P* = 0,000 y comparaciones múltiples Dunnett T3, *P* = 0,000.
(*) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, *P* = 0,000 con igualdad de varianzas asumidas, Test de Levene *P*=0,183 y Mann-Whitney Test, *P* = 0,000.
(**) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, *P* = 0,000 con igualdad de varianzas asumidas, Test de Levene *P* = 0,834.
(***) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, *P* = 0,000 con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene *P* = 0,017.

Según análisis de correlación entre la abundancia relativa de cada compuesto del AE y el porcentaje de inhibición de crecimiento registrado, sólo se encontró correlación

alta y positiva a la concentración de 1000 ppm de AE, con los alcoholes terpinen-4-ol, (CCP = 0,89 significativo a *P* = 0,0013); p-menta-1,4-dien-7-ol, (CCP = 0,87, significativo a *P* = 0,0022) y 1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)- (CCP = 0,88 significativo a *P* = 0,0016), con el aldehído felandral (CCP = 0,89 significativo a *P* = 0,0012) y con el hidrocarburo sesquiterpénico β-farneseno (CCP = 0,71 significativo a *P* =0,0320).

Se observa que el aceite más activo de Belén es el de Artaza, año 2009 y es el que presenta la mayor concentración de cuminaldehído y de los compuestos minoritarios que presentaron fuerte correlación positiva con el porcentaje de inhibición.

Aunque con los experimentos de esta investigación se demostró que el cuminaldehído inhibe más que el AE de comino el crecimiento de *F. verticillioides,* en ningún caso se encontró correlación significativa entre la abundancia de cuminal en el AE y la capacidad del AE de inhibir el crecimiento del hongo.

III.2.4.2.1.2 Departamento Capayán.

La actividad inhibitoria del crecimiento fúngico que ejerce el AE de comino del departamento Capayán sobre el *F. verticillioides* es dependiente de la concentración, y en todos los tratamientos es menor que la que ejerce el cuminal puro en iguales condiciones. El AE a la concentración de 1000 ppm ejerce igual porcentaje medio de inhibición que el cuminaldehído puro a la concentración de 500 ppm según Test-T, t = 0,223, *P* = 0,826 con igualdad de varianzas asumidas según Levene´s, *P*= 0,363. También se observa que el AE más activo es el correspondiente al año 2015 (Cag_4-2015) y curiosamente es el aceite que menor abundancia relativa de cuminal presenta (19,82 %), además, el AE que menor inhibición ejerció fue el (Cag1-2013) y es el que mayor porcentaje de cuminal tiene en su composición (30,40 %).

En la Tabla 65 se exponen los resultados por muestra y totales, de la inhibición que ejercen los AEs de comino del departamento Capayán frente al crecimiento fúngico de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado. También se expone, a los efectos de poder comparar, la actividad ejercida por el cuminaldehído puro.

Tabla 65. Inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Capayán y cuminal.

Tratamiento	Inhibición crecimiento *F. verticillioides* **(%)**[*]		
	250 (ppm)(*)	**500** (ppm)(**)	**1000** (ppm)(***)
Cuminal	$74{,}33 \pm 2{,}63^{A1}$	$86{,}85 \pm 8{,}82^{B1}$	$100{,}00 \pm 0{,}00^{C1}$
Cag_1-2013	$21{,}79 \pm 2.50$	$44{,}66 \pm 4{,}23$	$78{,}61 \pm 0{,}99$
Cag_1-2014	$34{,}58 \pm 5{,}02$	$62{,}79 \pm 4{,}32$	$90{,}74 \pm 3{,}45$
Cag_4-2014	$34{,}62 \pm 3{,}55$	$56{,}89 \pm 4{,}02$	$75{,}14 \pm 5{,}04$
Cag_4-2015	$36{,}49 \pm 3{,}86$	$64{,}78 \pm 8{,}64$	$97{,}52 \pm 1{,}81$
Total Capayán	$32{,}54 \pm 6{,}62^{A2}$	$58{,}12 \pm 9{,}17^{B2}$	$85{,}96 \pm 9{,}93^{C2}$

*Determinado el día 6 de crecimiento fúngico. Letras diferentes en la fila (Total Capayán) indican diferencias significativas según ANOVA, $P = 0{,}000$ con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene $P = 0{,}000$ y comparaciones múltiples Dunnett T3, $P = 0{,}000$.
(*) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, $P = 0{,}000$, con igualdad de varianzas asumidas, Test de Levene $P = 0{,}111$.
(**) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, $P = 0{,}000$ con igualdad de varianzas asumidas, Test de Levene $P = 0{,}682$.
(***) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, $P = 0{,}000$ con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene $P = 0{,}001$.

III.2.4.2.1.3 Departamento Pomán.

La actividad inhibitoria del crecimiento fúngico que ejerce el AE de comino del departamento Pomán sobre el *F. verticillioides* es dependiente de la concentración y en todos los tratamientos es menor que la que ejerce el cuminal puro. El AE a la concentración de 1000 ppm ejerce igual porcentaje medio de inhibición que el cuminaldehído puro a la concentración de 500 ppm según Test-T, $t = 0{,}133$, $P = 0{,}896$, con igualdad de varianzas asumidas según Levene´s, $P = 0{,}652$.

En la Tabla 66 se exponen los resultados por muestra y totales, de la inhibición que ejercen los AEs de comino del departamento Pomán frente al crecimiento fúngico de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado. También se expone, a los efectos de poder comparar, la actividad ejercida por el cuminaldehído.

Tabla 66. Inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Pomán y cuminal.

Tratamiento	Inhibición crecimiento *F. verticillioides* **(%)**[*]		
	250 (ppm)(*)	**500** (ppm)(**)	**1000** (ppm)(***)
Cuminal	$74{,}33 \pm 2{,}63^{A1}$	$86{,}85 \pm 8{,}82^{B1}$	$100{,}00 \pm 0{,}00^{C1}$
PPg_2-2008	$33{,}40 \pm 7{,}08$	$50{,}51 \pm 24{,}36$	$69{,}89 \pm 31{,}19$
PPg_2-2013	$33{,}03 \pm 6{,}16$	$67{,}70 \pm 4{,}91$	$90{,}99 \pm 4{,}93$
PPg_2-2014	$32{,}33 \pm 3{,}16$	$62{,}84 \pm 2{,}95$	$85{,}63 \pm 3{,}34$
PPg_2-2015	$13{,}03 \pm 1{,}74$	$66{,}70 \pm 3{,}73$	$94{,}20 \pm 6{,}21$
Total Pomán	$27{,}58 \pm 10{,}04^{A2}$	$62{,}70 \pm 11{,}76^{B2}$	$86{,}20 \pm 15{,}39^{C2}$

*Determinado el día 6 de crecimiento fúngico. Letras diferentes en la fila (Total Pomán) indican diferencias significativas según ANOVA, $P = 0{,}000$ y comparaciones múltiples Tukey HSD y LSD $P = 0{,}000$ y Duncan. Las diferencias también son significativas según Kruskal Walis Test $X^2=53{,}795$, significativo a $P = 0{,}000$ y Mann-Whitney Test, $P = 0{,}000$.
(*) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, $t = -15{,}887$ significativo a $P = 0{,}000$, con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene $P = 0{,}040$.
(**) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, $t = -3{,}833$ significativo a $P = 0{,}001$, con igualdad de varianzas asumidas según Test de Levene $P=0{,}753$. Mann-Whitney Test, $P = 0{,}001$.
(***) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-Mann-Whitney, $P = 0{,}002$.

III.2.4.2.1.4 Departamento Santa María.

La inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* por parte del AE de comino de Santa María es dependiente de la concentración y es menor a la inhibición que produce el cuminaldehído puro a iguales concentraciones.

El AE a la concentración de 1000 ppm ejerce igual porcentaje medio de inhibición que el cuminaldehído puro a la concentración de 500 ppm según Test-T, $t = 1{,}444$, $P = 0{,}172$ con igualdad de varianzas asumidas según Levene´s, $P = 0{,}887$.

En la Tabla 67 se exponen los resultados por muestra y totales, de la inhibición que ejercen los AEs de comino del departamento Santa María frente al crecimiento fúngico de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado. Para comparar, se muestra también la actividad ejercida por el cuminaldehído.

Tabla 67. Inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Santa María y cuminal.

Tratamiento	Inhibición crecimiento *F. verticillioides* **(%)***		
	250 (ppm)(*)	**500** (ppm)(**)	**1000** (ppm)(***)
Cuminal	$74{,}33 \pm 2{,}63^{A1}$	$86{,}85 \pm 8{,}82^{B1}$	$100{,}00 \pm 0{,}00^{C1}$
SMg_2-2008	$58{,}59 \pm 13{,}91$	$61{,}75 \pm 16{,}04$	$84{,}38 \pm 12{,}67$
SMg_2-2014	$20{,}71 \pm 2{,}35$	$41{,}65 \pm 1{,}42$	$79{,}44 \pm 8{,}99$
SMg_2-2015	$28{,}79 \pm 4{,}42$	$46{,}52 \pm 3{,}16$	$78{,}02 \pm 1{,}43$
Total Santa María	$33{,}98 \pm 17{,}58^{A2}$	$48{,}90 \pm 11{,}31^{B2}$	$80{,}27 \pm 8{,}02^{C2}$

*Determinado el día 6 de crecimiento fúngico. Letras diferentes en la fila (Total Santa María) indican diferencias significativas según ANOVA, F = 96,880 significativo a P = 0,000 y comparaciones múltiples de Dunnett T3 P = 0,000, con igualdad de varianzas no asumidas según Levene, P = 0,001. Las diferencias entre 250 y 500 ppm son significativas según Test de Kruskal Walis, X^2 = 37,027, significativo a P = 0,000 y Test de Mann Whitney, $P \leq 0{,}019$.
(*) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test de Mann-Whitney, P = 0,006 y Test –T, t = -7,421, significativo a P = 0,000 con igualdad de varianzas no asumidas según Levene P = 0,043.
(**) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test de Mann-Whitney, P = 0,003 y Test –T, t = -6,092, significativo a P = 0,000 con igualdad de varianzas asumidas según Levene P = 0,0767.
(***) Números diferentes en la misma columna indican diferencias significativas según Test-T, t = -8,343 significativo a P = 0,000, con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene P = 0,038.

III.2.4.2.1.5 Departamento Tinogasta.

La acción inhibitoria que ejercen los AEs de comino del departamento Tinogasta sobre *F. verticillioides* es dependiente de la concentración. En todos los casos la actividad que presentan los AEs es menor que la mostrada por el cuminal puro a iguales concentraciones. Se advierte que el AE más activo es el correspondiente al año 2015, (TCg_2-2015) y es el que presenta menor abundancia relativa de cuminaldehído en su composición (13,65%), mientras que el AE menos activo fue ($TCSg_2$-2010) con la mayor abundancia en cuminal (24,97%). En la Tabla 68 se exponen los resultados por muestra y totales, de la inhibición que ejercen los AEs de comino del departamento Tinogasta y el cuminal frente al crecimiento fúngico de *F. verticillioides.*

Tal como se observó con el AE de comino de Belén, el AE de comino de Tinogasta, a la concentración de 1000 ppm, ejerce igual porcentaje medio de inhibición que el cuminaldehído puro a la concentración de 250 ppm según Test-T, t = -0,016, P = 0,988, con igualdad de varianzas no asumidas según Levene´s, P = 0,002.

Tabla 68. Inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* M3125 por aceites esenciales de comino del Departamento Tinogasta y cuminal.

Tratamiento	Inhibición crecimiento *F. verticillioides* **(%)**[*]		
	250 (ppm)(*)	**500** (ppm)(**)	**1000** (ppm)(***)
Cuminal	$74{,}33 \pm 2{,}63^{A1}$	$86{,}85 \pm 8{,}82^{B1}$	$100{,}00 \pm 0{,}00^{C1}$
TSg_2-2008	$34{,}14 \pm 4{,}14$	$52{,}90 \pm 5{,}44$	$64{,}86 \pm 3{,}61$
$TCSg_2$-2010	$17{,}25 \pm 6{,}47$	$30{,}02 \pm 1{,}50$	$59{,}69 \pm 8{,}08$
TCg_2-2015	$37{,}20 \pm 5{,}03$	$68{,}31 \pm 3{,}44$	$97{,}10 \pm 0{,}94$
Total Tinogasta	$29{,}11 \pm 10{,}66^{A2}$	$50{,}18 \pm 17{,}50^{B2}$	$74{,}71 \pm 18{,}50^{C2}$

*Determinado el día 6 de crecimiento fúngico. Letras diferentes en la fila (Total Tinogasta) indican diferencias significativas según ANOVA, F = 56,666 significativo a P = 0,000 y comparaciones múltiples de Dunnett T3 $P \leq 0{,}028$, con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene P = 0,000. Las diferencias también son significativas según Test de Kruskal Walis, X^2 = 34,718, significativo a P = 0,000 y Mann-Whitney Test, $P \leq 0{,}023$.
(*) Números diferentes en la misma columna indican diferencias significativas según Test-T, t= -13,019 significativo a P = 0,000, con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene P = 0,042.
(**) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test-T, t = -5,355 significativo a P = 0,000, con igualdad de varianzas no asumidas, Test de Levene P = 0,034.
(***) Números diferentes en la misma columna indican diferencias sigificativas según Test de Mann Whitney, P = 0,001.

III.2.4.2.1.6 Provincia de Catamarca.

Si se analiza el conjunto de datos por concentración ensayada, a los efectos de comparar las actividades del cuminal con la de los AEs de los distintos departamentos y con el total a nivel provincia, se observa que a 250 ppm los datos presentan distribución normal a excepción de los correspondientes a Belén, Santa María y Total Catamarca, $P \leq$ 0,038, según Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. La comparación entre medias se hizo por ANOVA, encontrándose diferencias significativas a P = 0,000; con varianzas no homogéneas según Levene´s, significativo a P = 0,003. Las comparaciones múltiples se hicieron por Dunnett T3.

A 500 ppm, todos los grupos de datos de los departamentos se distribuyen normalmente según Shapiro-Wilk, a excepción de los correspondientes a Pomán y Santa María, $P \leq 0{,}005$. A nivel provincial, para este tratamiento, los datos no presentan distribución normal. La comparación entre medias se hizo por ANOVA, encontrándose

diferencias significativas a $P = 0{,}000$, con homogeneidad de varianzas no asumidas según Levene´s, significativo a $P = 0{,}000$. Las comparaciones múltiples se hicieron por Dunnett T3.

A la concentración de 1000 ppm, sólo los datos correspondientes a Pomán y Tinogasta no presentan distribución normal según Shapiro-Wilk, $P \leq 0{,}017$. La comparación entre medias se hizo por ANOVA, encontrándose diferencias significativas a $P = 0{,}000$, con homogeneidad de varianzas no asumidas según Levene´s, significativo a $P = 0{,}001$, por lo que las comparaciones múltiples se hicieron por Dunnett T3.

El cuminaldehído ejerce, a todas las concentraciones ensayadas, mayor inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* que el AE de comino de Catamarca a igual concentración. El AE de comino de Capayán es el que presentó mayor actividad inhibitoria frente al crecimiento del hongo y el AE de comino de Belén el que resultó menos activo.

El porcentaje medio de inhibición que produjo el AE de comino de Catamarca a la concentración de 1000 ppm (79,99 ± 12,16 %) fue superior al que produjo el cuminaldehído a la concentración de 250 ppm (74,33 ± 2,63 %), según Test-T, t = -0,664 significativo a $P = 0{,}023$ con igualdad de varianzas no asumidas según Levene´s, significativo a $P = 0{,}042$; aunque, según Test de Mann-Whitney, el efecto fue igual, $P = 0{,}323$. Cuando se compara la inhibición que produjo el AE a 1000 ppm (79,99 ± 12,16 %) con la que produjo el cuminal a 500 ppm (86,85 ± 8,82 %) se encuentra que los efectos son iguales según Test-T, t = 1,205 con $P = 0{,}232$ y según Test de Mann-Whitney, con $P = 0{,}215$ y con igualdad de varianzas asumidas según Levene´s, $P = 0{,}370$. Se puede decir entonces, que el porcentaje de inhibición ejercida por la concentración de 1000 ppm de AE de comino de Catamarca fue del 80 % del crecimiento radial respecto del control e igual a la inhibición que produjo el cuminaldehído puro a la concentración de 500 ppm. Este resultado es similar a lo reportado para el AE de comino de India contra *F. oxysporum*, que a 1000 ppm inhibió un 83,20 % del crecimiento micelial. El AE de India con un 61,72 % de cuminaldehído, probó actividad antifúngica, especialmente contra los dermatofitos como el *Trichophyton rubrum*. Por otro lado, también es muy activo contra el *Amaranthus quitensis* presentando la mayor inhibición desde la dosis de 666 ppm,

mientras que contra el *Ampelozizyphus amazonicus* no alcanza el 100 % de inhibición incluso a dosis más alta (1333 ppm) (Romagnoli et al, 2010).

Los resultados de la actividad inhibitoria que ejercieron los AEs de comino de Catamarca y su comparación con la actividad ejercida por el cuminaldehído se exponen en la Figura 41. Se observa que la inhibición del crecimiento de *F. verticillioides* en todos los casos es dependiente de la concentración, tanto para el cuminaldehído como para los AEs de comino de Catamarca ensayados.

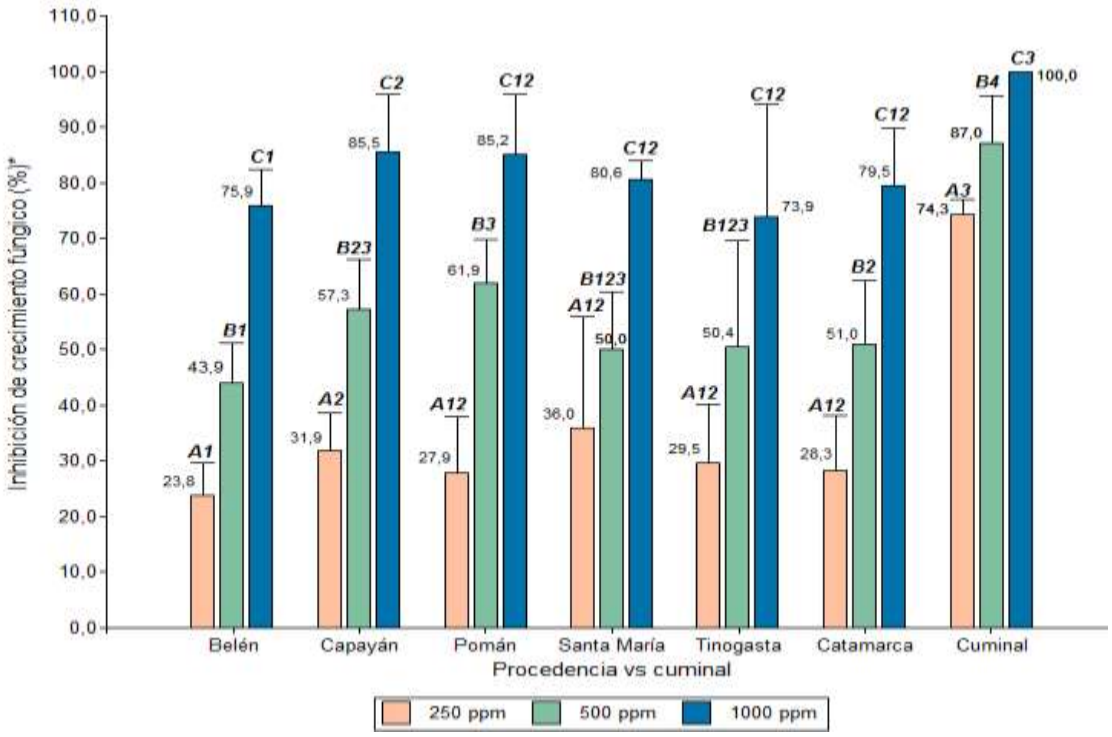


Figura 41. Medias ± DE (%) de inhibición de crecimiento fúngico de *F. verticillioides* M3125 en función del tratamiento y el origen de los AEs de comino de Catamarca y su comparación con el cuminaldehído.

* Determinado el día 6 de crecimiento fúngico. Letras diferentes en el clúster indican diferencias significativas de acuerdo al tratamiento según test de Kruskal Wallis, (X^2) = 198,220, significativo a *P* = 0,000 y según Mann-Whitney, significativo a *P* = 0,000.
Números diferentes para igual tratamiento de clústeres distintos indican diferencias significativas según procedencia vs cuminal, ANOVA *P*<0,05 y (*) Dunnett T3, *P*<0,007. (**) Dunnett T3, *P*<0,05. (***) Dunnett T3, *P*<0,05.

Para analizar el comportamiento del AE de comino como inhibidor del crecimiento de *F. verticillioides* se buscó correlación tanto con las fracciones de compuestos como con la totalidad de los compuestos individuales presentes en el AE. No

se encontró correlación entre los porcentajes de inhibición observados y las abundancias relativas de ninguna de las fracciones (hidrocarburo terpénico, monoterpenos totales, aldehído, alcohol y cetona). Del análisis de correlación con las abundancias relativas de cada uno de los compuestos presentes en el AE, surge que el porcentaje de inhibición ejercida por el AE de comino de Catamarca a la concentración de 250 ppm presenta una correlación media/alta negativa con el β-pineno CCP = -0,66, significativa a P = 0,0006 y media con el compuesto no identificado (NI), CCP = -0,53, significativa a P = 0,0087. Además, se observa una correlación positiva media/alta con el compuesto 1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)- CCP = 0,67, significativa a P = 0,0005. A la concentración de 500 ppm de AE sólo se observa correlación negativa media/baja con el β-pineno, CCP = -0,41, significativa a P = 0,0499. A la concentración de 1000 ppm de AE sólo se encontró correlación negativa media/baja con el β-pineno, CCP = -0,45, significativa a P = 0,0304 y con el β-chamigreno, CCP = -0,42, significativa a P = 0,0486. Según estos resultados de correlación se podría pensar que el β-pineno actúa antagónicamente respecto de la inhibición del hongo. Por otro lado, Rivas da Silva et al. (2012) mostraron que sólo el enantiómero positivo del β-pineno tiene actividad antimicrobiana contra *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans* y *Rhizopus oryzae* y que combinado con antimicrobianos comerciales presenta efectos aditivo y sinérgico importantes ya que reducen la CIM de las sustancias combinadas, mantienen la actividad antimicrobiana y disminuyen la toxicidad. Aligiannis et al. (2001) también atribuyeron la actividad antimicrobiana de algunos aceites esenciales al β-pineno entre otros monoterpenos. Sin embargo, otros autores (Angioni et al., 2003; Koutsoudaki et al., 2005; Tabanca et al., 2007) han informado que el β-pineno no muestra actividad antifúngica o bien, en AEs ricos en β-pineno, no le atribuyeron a este compuesto las actividades fungistáticas ni fungicidas observadas (Dambolena et al., 2016; Galves et al., 2018; Sampietro et al., 2014). Se advierte falta de consenso sobre la actividad antimicrobiana de los pinenos, posiblemente debido a la falta de identificación de enantiómeros y a la diversidad de acción que presentan los monoterpenos según el microorganismo del que se trate, por lo cual una acción antagónica también es posible. Esto hace pensar en la necesidad de estudios específicos.

Dado a que en esta investigación el cuminaldehído puro ha expuesto una elevada acción inhibitoria del crecimiento de *F. verticillioides*, y ésta, es mayor que la expuesta

por el AE de comino de Catamarca, se puede decir que el cuminaldehído, uno de los compuestos mayoritarios de este aceite, es también uno de los principales responsables de la actividad antifúngica observada en el mismo. Sin embargo, no se encontró correlación positiva estadísticamente significativa entre las abundancias de cuminaldehído de los AEs de comino de Catamarca y los porcentajes de inhibición del crecimiento fúngico observados.

Se ha demostrado que los componentes fenólicos, aldehídicos y alcohólicos de los AEs inhiben notablemente los hongos filamentosos y de levadura (Bruni et al., 2004), siendo los compuestos más volátiles los principales responsables de la actividad antifúngica (Romagnoli et al., 2010). Por otro lado, Sampietro et al. (2014) informaron que los componentes (α-tuyeno, α-terpineno, p-cimeno, γ-terpineno, terpinoleno, 1-terpineol, α-calacoreno, α-felandreno y terpinen 4-ol) serían los responsables del efecto inhibidor del AE de frutos de *Schinus fasciculatus* (Sff) sobre *F. verticillioides* y *F. graminearum*. La mayoría de estos componentes se encontraron en el Sff con contenidos inferiores al 5 %, excepto el α-felandreno (18,7 ± 0,3 %) y el terpinen-4-ol (5,2 ± 0,1 %). También se cree que el p-cimeno puede modificar la estructura y la permeabilidad de las membranas celulares (Sikkema et al., 1995). Entonces, los compuestos α-tuyeno, p-cimeno, γ-terpineno, α-felandreno y terpinen 4-ol presentes en los AEs de comino de Catamarca, podrían estar contribuyendo junto con el cuminaldehído a la actividad antifúngica observada.

Como el AE de comino de Catamarca, con sus 29 compuestos, es una mezcla compleja de hidrocarburos, alcoholes y aldehídos monoterpénicos y aromáticos y algunos compuestos sesquiterpénicos, se hace difícil dilucidar cuál o cuáles de éstos contribuyen a la actividad antifúngica. Probablemente la actividad antifúngica observada contra el *F. verticillioides* se deba a acciones aditivas y sinérgicas de varios de estos compuestos y a acciones antagónicas de otros.

La actividad biológica de los AEs a menudo se explica como la acción conjunta de varios de sus constituyentes ya sean mayoritarios y/o minoritarios (Hyldgaard et al., 2012).

III.2.4.2.2 Efecto de AEs de comino sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

III.2.4.2.2.1 Departamento Belén.

La tasa de crecimiento fúngico del *F. verticillioides* es dependiente de la concentración del cuminal según Kruskal-Wallis Test, X^2= 14,299 significativo a *P* = 0,003. En los ensayos realizados con AE de comino de Belén, sólo a la concentración de 1000 ppm se observa disminución significativa de la tasa de crecimiento fúngico comparada con el control, según Kruskal-Wallis Test, χ^2= 49,846, significativo a *P* = 0,000 y Mann-Whitney Test, *P* = 0,000.

Si se comparan los resultados de las pruebas entre los tratamientos con cuminal y con AE de comino de Belén, para cada concentración, se advierte que en todos los casos el cuminal es significativamente más activo que el AE.

En la Tabla 69 se exponen los resultados de la tasa de crecimiento fúngico de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado con cada muestra de AE de comino del departamento Belén y los valores medios a nivel departamento.

Tabla 69. Efecto de AEs de comino del departamento Belén y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

	Tasa de Crecimiento (mm/día).			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal(*)	4,92 ± 0,10^{A}	3,57 ± 0,12^{B1}	2,87 ± 0,48^{C1}	0,00 ± 0,00^{D1}
BAg_2-2009	4,74 ± 0,01	5,54 ± 0,46	5,93 ± 0,10	5,04 ± 0,75
BAg_2-2015	4,92 ± 0,10	4,78 ± 0,08	4,47 ± 0,05	3,96 ± 0,12
BBg_2-2015	4,92 ± 0,10	4,98 ± 0,04	4,62 ± 0,10	4,02 ± 0,21
BCg_2-2015	4,92 ± 0,10	4,78 ± 0,02	4,40 ± 0,13	3,69 ± 0,29
BCg_3-2015	4,92 ± 0,10	4,83 ± 0,03	4,73 ± 0,05	4,02 ± 0,18
$BCMg_2$-2015	4,92 ± 0,10	4,69 ± 0,03	4,38 ± 0,04	3,93 ± 0,29
BLg_3-2015	4,92 ± 0,10	4,73 ± 0,08	4,51 ± 0,04	3,82 ± 0,32
BP_1g_2-2015	4,92 ± 0,10	4,66 ± 0,04	4,44 ± 0,16	3,72 ± 0,19
BP_2g_2-2015	4,92 ± 0,10	4,89 ± 0,04	4,71 ± 0,13	3,90 ± 0,37
Total Belén (**)	4,90 ± 0,10^{A}	4,86 ± 0,27^{A2}	4,65 ± 0,42^{A2}	3,98 ± 0,45^{B2}

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 14,299, significativo a P = 0,003 y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,04$.
(**) Letras diferentes indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 49,846; significativo a P = 0,000 y según Mann-Whitney, significativo a P = 0,000.
Números diferentes en la columna indican diferencias sigificativas entre la acción del cuminal y la acción media del AE, según Mann-Whitney, significativo a P = 0,000.

III.2.4.2.2.2 Departamento Capayán.

La disminución de la tasa de crecimiento fúngico es claramente dependiente de la concentración del cuminal, esto no se cumple cuando se emplea AE de comino de Capayán, pues se observa una disminución significativa recién a la concentración de 1000 ppm.

En la Tabla 70 se exponen los resultados de la tasa de crecimiento fúngico de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado para cada muestra de AE de comino del departamento Capayán y los valores medios a nivel departamento.

Si se comparan los resultados de las pruebas entre los tratamientos con cuminal y con AE, para cada concentración, se advierte que en todos los casos el cuminal es significativamente más activo que el AE según Prueba de Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0{,}001$.

Tabla 70. Efecto de AEs de comino del departamento Capayán y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

	Tasa de Crecimiento (mm/día).			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal(*)	4,92 ± 0,10^{A}	3,57 ± 0,12^{B1}	2,87 ± 0,48^{C1}	0,00 ± 0,00^{D1}
Cag_1-2013	4,74 ± 0,01	5,74 ± 0,02	6,22 ± 0,03	4,45 ± 1,55
Cag_1M_2-2014	4,92 ± 0,10	4,84 ± 0,13	4,42 ± 0,13	2,97 ± 0,35
Cag_4M_5-2014	4,92 ± 0,10	4,67 ± 0,09	4,52 ± 0,10	3,92 ± 0,11
Cag_4M_1-2015	4,92 ± 0,10	4,73 ± 0,10	4,27 ± 0,33	2,10 ± 0,40
Total Capayán (**)	4,88 ± 0,11^{A}	4,95 ± 0,43^{A2}	4,75 ± 0,79^{A2}	3,26 ± 1,10^{B2}

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 14,299, significativo a P = 0,003 y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0{,}04$.
(**) Letras diferentes indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 28,61, significativo a P = 0,000 y según Mann-Whitney, significativo a P = 0,000.
Números diferentes en la columna indican diferencias sigificativas entre la acción del cuminal y la acción media del AE, según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0{,}001$.

III.2.4.2.2.3 Departamento Pomán.

La disminución de la tasa de crecimiento fúngico es dependiente de la concentración del cuminal, en cambio, cuando se emplea AE, se observa disminución significativa recién a la concentración de 1000 ppm.

En la Tabla 71 se exponen los resultados de la tasa de crecimiento fúngico de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado para cada muestra de AE de comino del departamento Pomán y los valores medios a nivel departamento.

Para cada concentración ensayada, el cuminal es significativamente más activo que este AE según Prueba de Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0{,}002$.

Tabla 71. Efecto de AEs de comino del departamento Pomán y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

	Tasa de Crecimiento (mm/día).			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal(*)	4,92 ± 0,10^{A}	3,57 ± 0,12^{B1}	2,87 ± 0,48^{C1}	0,00 ± 0,00^{D1}
PPg_2-2008	4,74 ± 0,01	6,64 ± 0.04	6,36 ± 0.51	4,65 ± 2.86
PPg_2-2013	4,92 ± 0,10	4,82 ± 0,12	4,37 ± 0,11	3,18 ± 0,44
PPg_2-2014	4,92 ± 0,10	4,78 ± 0,04	4,35 ± 0,05	3,51 ± 0,18
PPg_2-2015	4,92 ± 0,10	4,88 ± 0,10	4,17 ± 0,13	2,63 ± 0,93
Total Pomán (**)	4,88 ± 0,11^{A}	5,04 ± 0,44^{A2}	4,60 ± 0,64^{A2}	3,32 ± 1,33^{B2}

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 14,299, significativo a P = 0,003 y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0{,}04$.
(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento con AE según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 23,206, significativo a P = 0,000 y según Mann-Whitney, significativo a P = 0,000.
Números diferentes en la columna indican diferencias sigificativas entre la acción del cuminal y la acción media del AE, según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0{,}002$.

III.2.4.2.2.4 Departamento Santa María.

Mientras la disminución de la tasa de crecimiento fúngico es dependiente de la concentración del cuminal, cuando se emplea AE, esto no se cumple, pues se observa una disminución significativa en la tasa de crecimiento del hongo recién a la concentración de 1000 ppm.

Según prueba de Mann-Whitney, a igual concentración, el cuminaldehído afecta más que el AE de comino de Santa María, a la tasa de crecimiento fúngico ($P \leq 0{,}002$).

En la Tabla 72 se exponen los resultados de la tasa de crecimiento fúngico de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado para cada muestra de AE de comino del departamento Santa María, los valores medios a nivel departamento y los resultados obtenidos con el cuminaldehído.

Tabla 72. Efecto de AEs de comino del departamento Santa María y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

	Tasa de Crecimiento (mm/día).			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal$^{(*)}$	4,92 ± 0,10^{A}	3,57 ± 0,12^{B1}	2,87 ± 0,48^{C1}	0,00 ± 0,00^{D1}
SMg_2-2008	4,74 ± 0,01	5,99 ± 0,07	6,18 ± 0,17	4,78 ± 0,99
SMg_2-2014	4,92 ± 0,10	4,82 ± 0,05	4,45 ± 0,05	3,55 ± 0,41
SMg_2-2015	4,92 ± 0,10	4,85 ± 0,04	4,52 ± 0,15	3,64 ± 0,06
Total Santa María (**)	4,87 ± 0,11^{A}	5,15 ± 0,54^{A2}	4,95 ± 0,80^{A2}	3,92 ± 0,74^{B2}

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 14,299, significativo a P = 0,003 y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,04$.
(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento con AE según test de Kruskal Wallis, (χ^2) = 16,665, significativo a P = 0,001 y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,005$.
Números diferentes en la columna indican diferencias sigificativas entre la acción del cuminal y la acción media del AE, según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,002$.

III.2.4.2.2.5 Departamento Tinogasta.

Los datos de las tasas de crecimiento fúngico sólo presentan distribución normal a la concentración de 1000 ppm. Cuando se aplica ANOVA, se obtiene que al menos una media es diferente, significativo a P = 0,037 y con varianzas desiguales según test de Levene, significativo a P = 0,000; sin embargo, al aplicar Dunnett T3 surge que todas las tasas de crecimiento fúngico son iguales para los distintos tratamientos y respecto del control. Tampoco se encuentran diferencias significativas entre las tasas de crecimiento fúngico para los distintos tratamientos con el AE, según Kruskal Wallis Test, χ^2 = 3,803, P = 0,284.

Como ya se mostró en apartados anteriores, el cuminal ejerce efecto sobre la tasa de crecimiento del hongo a todas las concentraciones ensayadas, por lo que se comporta de manera diferente a todos los AEs de comino probados.

A diferencia de los AEs de comino de los otros departamentos, que mostraron efecto sobre la tasa de crecimiento del hongo a 1000 ppm, el AE de comino de Tinogasta no mostró efecto a ninguna concentración.

En la Tabla 73 se resumen los resultados obtenidos con el AE y con el cuminal para cada tratamiento.

Tabla 73. Efecto de AEs de comino del departamento Tinogasta y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

	Tasa de Crecimiento (mm/día).			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal(*)	$4,92 \pm 0,10^{A}$	$3,57 \pm 0,12^{B1}$	$2,87 \pm 0,48^{C1}$	$0,00 \pm 0,00^{D1}$
TSg_2-2008	$4,74 \pm 0,01$	$5,53 \pm 0,05$	$5,12 \pm 0,08$	$5,26 \pm 0,12$
$TCSg_2$-2010	$4,92 \pm 0,10$	$4,88 \pm 0,09$	$4,74 \pm 0,04$	$4,09 \pm 0,22$
TCg_2-2015	$4,92 \pm 0,10$	$4,75 \pm 0,10$	$4,10 \pm 0,15$	$2,03 \pm 0,03$
Total Tinogasta	$4,87 \pm 0,11^{A}$	$5,01 \pm 0,35^{A2}$	$4,61 \pm 0,44^{A2}$	$3,66 \pm 1,38^{A2}$

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 14,299$, significativo a $P = 0,003$ y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,04$.
Números diferentes en la columna indican diferencias sigificativas entre la acción del cuminal y la acción media del AE, según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,003$ y según Test-T, $t = 7,783$, significativo a $P = 0,000$.

III.2.4.2.2.6 Provincia de Catamarca.

De las observaciones realizadas para cada departamento ya se había advertido que el efecto del AE sobre la tasa de crecimiento fúngico era sólo significativo a la concentración de 1000 ppm, aunque significativamente menor que el mostrado por el cuminal, que a esta concentración, inhibió el 100 % del desarrollo fúngico por lo que la tasa de crecimiento fue 0,00 mm/día. Las tasas de crecimiento medias a nivel provincial presentaron igual comportamiento al observado para cada departamento.

Considerando el tratamiento a 250 ppm, de las comparaciones surge que sólo el cuminal tiene efecto sobre la tasa de crecimiento fúngico con respecto al control. Los valores medios de las tasas de crecimiento fúngico a nivel departamento y a nivel provincial son iguales entre sí según Kruskal-Wallis Test, $X^2 = 3{,}981$, significativo a $P = 0{,}552$ y diferentes a la tasa debido al cuminal según Kruskal-Wallis Test, $X^2 = 25{,}082$, significativo a $P = 0{,}000$ y Mann-Whitney Test, $P = 0{,}000$.

La tasa de crecimiento fúngico para el tratamiento a 500 ppm, presenta el mismo comportamiento que el descrito para 250 ppm.

En cuanto al tratamiento de 1000 ppm, se observan diferencias significativas en las tasas de crecimiento fúngico según la procedencia del AE. A esta concentración, igual a lo que se observó para el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo, el AE más activo fue el de Capayán y el menos activo el de Belén.

En la Tabla 74 se presenta un resumen de los resultados del efecto de los AEs de comino de los distintos departamentos de la provincia de Catamarca sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides*, los valores medios a nivel provincial y las comparaciones con el cuminaldehído para los distintos tratamientos.

Tabla 74. Efecto de los AEs de comino de Catamarca y del cuminal sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

	Tasa de Crecimiento (mm/día).			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000(***)
	ppm			
Cuminal(*)	4,92 ± 0,10^{A}	3,57 ± 0,12^{B1}	2,87 ± 0,48^{C1}	0,00 ± 0,00^{D1}
Belén	4,90 ± 0,10^{A}	4,86 ± 0,27^{A2}	4,65 ± 0,42^{A2}	3,98 ± 0,45^{B4}
Capayán	4,88 ± 0,11^{A}	4,95 ± 0,43^{A2}	4,75 ± 0,79^{A2}	3,26 ± 1,10^{B2}
Pomán	4,88 ± 0,11^{A}	5,04 ± 0,44^{A2}	4,60 ± 0,64^{A2}	3,32 ± 1,33^{B23}
Santa maría	4,87 ± 0,11^{A}	5,15 ± 0,54^{A2}	4,95 ± 0,80^{A2}	3,92 ± 0,74^{B34}
Tinogasta	4,87 ± 0,11^{A}	5,01 ± 0,35^{A2}	4,61 ± 0,44^{A2}	3,66 ± 1,38^{A234}
Total (**) Catamarca	4,89 ± 0,10^{A}	4,96 ± 0,38^{A2}	4,69 ± 0,59^{A2}	3,69 ± 0,97^{B34}

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de Kruskal Wallis, (X^2) = 14,299, significativo a P = 0,003 y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,04$.
(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la tasa de crecimiento de acuerdo al tratamiento con AE de comino de Catamarca según test de Kruskal Wallis, (X^2) = 113,835, significativo a P = 0,000 y según Mann-Whitney, significativo a P = 0,000.
(***) Números diferentes en la columna indican diferencias significativas entre las tasas de crecimiento fúngico comparadas con el cuminal según test de Kruskal Wallis, (X^2) = 24,719, significativo a P = 0,000 y comparadas entre departamentos, Kruskal Wallis, (X^2) = 12,124, significativo a P = 0,032, y Mann-Whitney $P \leq 0,047$.

Considerando la totalidad de los AE de comino de Catamarca sin clasificar por procedencia y en búsqueda de un mayor entendimiento acerca del comportamiento de los AEs en cuanto al efecto que ejercen en la tasa de crecimiento fúngico, y si este efecto guarda relación con las abundancias relativas de las fracciones de compuestos o con los compuestos individuales, tanto mayoritarios como minoritarios, se realizó un análisis de correlación de Pearson entre los valores obtenidos de tasas de crecimiento para el tratamiento de 1000 ppm de AE y las abundancias relativas de los compuestos y fracciones de compuestos que forman al AE. No se encontró correlación con las fracciones de compuestos, pero sí correlaciones medias y positivas con los compuestos δ-3-careno; terpinen-4-ol; 1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil)-; felandral; β-chamigreno y carotol con CCP ≥ 0,41 significativas a $P \leq 0,0501$. La correlación negativa se observó con: α-pineno con CCP = -0,52 significativo a P = 0,0116 y con el acoradieno

con CCP = -0,44 significativo a $P = 0,0334$. Contrario a las expectativas, no se encontró correlación negativa con el cuminaldehído. Zhang et al (2018), encontraron que el cuminaldehído es el compuesto más activo de 20 monoterpenos probados contra *Botryosphaeria dothidea* y al ensayar mezclas de a pares de los compuestos más activos (cuminaldehído, geraniol y β-citronelol) encontraron efectos aditivos, salvo con el par (geraniol/citronelol; 1:2) que presentó efecto antagonista. Otros trabajos atribuyeron las propiedades antifúngicas de los AEs a los monoterpenos oxigenados (Sampietro et al., 2016) y particularmente a aldehídos y alcoholes monoterpénicos (Barrera Necha y García Barrera 2008).

Las tres concentraciones de AE ensayadas (250 ppm, 500 ppm y 1000 ppm) resultaron subletales para *F. verticillioides*, lo que podría explicar que las correlaciones obtenidas fueran contrarias a lo que se esperaba según los antecedentes. Aunque se demostró que el cuminaldehído puro disminuye significativamente la tasa de crecimiento del hongo y esta disminución es dependiente de la concentración del compuesto, cuando el cuminaldehído forma parte del AE, y el aceite está a concentraciones bajas (250 ppm o 500 ppm), no se observa una correlación alta y negativa con la tasa de crecimiento fúngico como era de esperar, sino una correlación media y positiva con CCP = 0,44 y 0,53 respectivamente, y significativas a $P \leq 0,0338$. Esta observación está de acuerdo con lo reportado por Zunino et al., (2015) cuando exponen que a concentraciones subletales algunos compuestos orgánicos volátiles (COVs) estimulan el crecimiento del *F. verticillioides* en lugar de inhibirlo. Existen antecedentes de diferentes mecanismos de respuesta que activan los hongos frente a diversos factores de estrés (Ponts, 2015). Si se considera que el porcentaje medio del cuminaldehído en el AE de comino de Catamarca es del 18,91 %, aunque se use una concentración de AE de 500 ppm, la dosis de cuminaldehído que se suministra es cinco veces menor que la suministrada con un tratamiento de 500 ppm de cuminal puro. Estas dosis bajas de cuminaldehído que se suministran a través de los tratamientos de 250 ppm y 500 ppm de AE, y que no son letales, probablemente generan un estrés químico al hongo, lo que estimula su crecimiento, de allí la correlación positiva encontrada entre la tasa de crecimiento y la abundancia relativa del cuminaldehído en el AE. Sin embargo, también existe la posibilidad de un efecto antagonista debido a la combinación entre los monoterpenos presentes en el AE (Novato et al., 2015; Zhang et al., 2018).

III.2.4.2.3 Efecto de AEs de comino sobre la Fase Lag de *F. verticillioides* M3125.

III.2.4.2.3.1 Departamento Belén.

En la Tabla 75 se exponen los resultados de la fase Lag de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado para cada muestra de AE de comino del departamento Belén y los valores medios a nivel departamento. En esta tabla también se muestran los resultados frente al cuminal y el control.

Tabla 75. Efecto de AEs de comino del departamento Belén y del cuminal sobre la fase Lag de *F. verticillioides* M3125.

Tratamiento	Fase Lag (h)			
	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal (*)	$64,71 \pm 1,24^{A}$	$104,26 \pm 3,88^{B1}$	$124,88 \pm 14,37^{C1}$	$>250^{D1}$
BAg_2-2009	22,40 ± 0,73	63,01 ± 6,53	83,46 ± 4,67	118,40 ± 11,53
BAg_2-2015	64,71 ± 1,24	74,10 ± 2,90	81,08 ± 0,50	104,49 ± 2,18
BBg_2-2015	64,71 ± 1,24	82,91 ± 2,36	91,33 ± 1,54	109,05 ± 3,07
BCg_2-2015	64,71 ± 1,24	75,97 ± 1,54	87,81 ± 4,38	111,33 ± 3,95
BCg_3-2015	64,71 ± 1,24	79,39 ± 1,20	84,64 ± 0,78	104,35 ± 5,91
$BCMg_2$-2015	64,71 ± 1,24	79,89 ± 1,71	87,98 ± 3,37	109,82 ± 8,28
BLg_3-2015	64,71 ± 1,24	77,64 ± 0,97	89,80 ± 1,56	114,07 ± 8,54
BP_1g_2-2015	64,71 ± 1,24	81,00 ± 1,93	90,17 ± 6,66	110,69 ± 3,02
BP_2g_2-2015	64,71 ± 1,24	80,81 ± 0,30	89,31 ± 1,21	111,85 ± 7,01
Total Belén (**)	$62,19 \pm 10,26^{A}$	$77,99 \pm 5,46^{B2}$	$87,64 \pm 4,23^{C2}$	$110,34 \pm 6,95^{D2}$

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de ANOVA F = 217,275 significativo a $P = 0,000$ y según comparaciones múltiples de Tukey HSD, Duncan y Test T, significativo a $P \leq 0,030$.

(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 125,572$; significativo a $P = 0,000$ y según Mann-Whitney, significativo a $P = 0,000$. Test de ANOVA con comparaciones múltiples de Tukey HSD, LSD y Duncan señalan diferencias según tratamiento y respecto del control, $P = 0,000$.

Números diferentes en la columna indican diferencias significativas entre las fases Lag del hongo tratado con AE, comparadas con el tratamiento con cuminal a igual concentración, según ANOVA, con comparaciones múltiples de Tukey HSD, $P = 0,000$, test de Kruskal Wallis, $(X^2) \geq 52,211$, significativo a $P = 0,000$ y Mann-Whitney, $P = 0,000$.

La fase Lag del hongo es dependiente de la concentración del cuminal. De las comparaciones múltiples de Tukey DHS surge que las fases Lag a 250 y 500 ppm son iguales, sin embargo cuando se comparan ambos grupos de datos por el Test-T, las medias difieren significativamente, t = -2,820 significativo a P = 0,030, por lo que se asume que en todos los casos la fase Lag aumenta con la concentración del cuminal.

Los AEs de comino de Belén prolongan la fase Lag del hongo y este efecto es dependiente de la concentración. El cuminaldehído, para todas las concentraciones ensayadas, prolonga más el período de latencia del hongo que el AE de comino de Belén.

III.2.4.2.3.2 Departamento Capayán.

En el apartado anterior se describió que el cuminal prolonga la fase Lag del hongo y que este efecto es dependiente de la concentración del cuminal. Del mismo modo sucede con el AE de comino de Capayán, aunque en todos los tratamientos, la actividad del aceite fue menor que la evidenciada por el cuminal.

En la Tabla 76 se exponen los resultados de la fase Lag del hongo según el tratamiento ensayado para cada muestra de AE de comino del departamento Capayán y para el cuminal, en comparación con el control.

Tomando en cuenta los valores medios de fases Lag obtenidos con el AE, se advierte que 500 ppm y 1000 ppm de AE producen similares efectos que 250 ppm y 500 ppm de cuminal puro respectivamente. Dado que la abundancia media de cuminal en el AE de Capayán es 22,72 ± 5,14 %, 500 ppm de AE aportan 114 ppm de cuminal. Esto significa que 114 ppm de cuminal contenidos en el AE produce similar efecto que 250 ppm de cuminal puro. De igual modo se puede decir que 228 ppm de cuminal contenidos en el AE cuando se trabaja a 1000 ppm producen similar efecto que 500 ppm de cuminal puro. Entonces en el AE, otros compuestos, además del cuminal, estarían contribuyendo a prolongar la fase Lag del hongo.

Tabla 76. Efecto de AEs de comino del departamento Capayán y del cuminal sobre la fase Lag de *F. verticillioides* M3125.

Tratamiento	Fase Lag (h)			
	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal (*)	$64,71 \pm 1,24^{A}$	$104,26 \pm 3,88^{B1}$	$124,88 \pm 14,37^{C1}$	$>250^{D1}$
Cag_1-2013	$35,28 \pm 0,72$	$62,31 \pm 0,39$	$94,32 \pm 1,37$	$122,34 \pm 22,70$
Cag_1M_2-2014	$64,71 \pm 1,24$	$87,06 \pm 5,37$	$104,94 \pm 3,36$	$128,90 \pm 6,17$
Cag_4M_5-2014	$64,71 \pm 1,24$	$84,32 \pm 0,82$	$97,31 \pm 4,49$	$110,52 \pm 5,34$
Cag_4M_1-2015	$64,71 \pm 1,24$	$86,44 \pm 1,12$	$104,20 \pm 3,68$	$151,53 \pm 12,74$
Total Capayán (**)	$56,24 \pm 17,55^{A}$	$81,21 \pm 10,18^{B2}$	$100,50 \pm 5,46^{C2}$	$128,59 \pm 19,49^{D2}$

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de ANOVA F = 237,349 significativo a $P = 0,000$ y según comparaciones múltiples de Tukey HSD, Duncan y Test T, significativo a $P \leq 0,030$.

(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con AE según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 51,089$, significativo a $P = 0,000$ y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,001$ y según ANOVA, F = 68,022 significativo a $P = 0,000$ y según comparaciones múltiples de Dunnett T3 significativo a $P \leq 0,001$, con homogeneidad de varianzas no asumidas según Levene, $P = 0,004$. Números diferentes en la columna indican diferencias significativas entre las fases Lag del hongo tratado con AE, comparadas con el tratamiento con cuminal a igual concentración, según Test-T, $P \leq 0,039$ y Mann-Whitney Test, $P = 0,001$.

III.2.4.2.3.3 Departamento Pomán.

Tal como sucede con el cuminal, la fase Lag del hongo es dependiente de la concentración del AE de comino de Pomán, aunque el período de latencia que produce el AE es menor que el provocado por el cuminal puro. El efecto de este AE sobre la fase Lag del hongo es similar al descrito con el AE de comino de Capayán.

En la Tabla 77 se exponen los resultados de la fase Lag del hongo según el tratamiento ensayado para cada muestra de AE de comino del departamento Pomán. También se muestran las comparaciones de los valores medios a nivel departamento entre sí, con el control y con la actividad del cuminal para cada concentración.

Tabla 77. Efecto de AEs de comino del departamento Pomán y del cuminal sobre la fase Lag de *F. verticillioides* M3125.

	Fase Lag (h)			
	Muestra control	Muestras experimentales		
Tratamiento	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal (*)	$64,71 \pm 1,24^{A}$	$104,26 \pm 3,88^{B1}$	$124,88 \pm 14,37^{C1}$	$>250^{D1}$
PPg_2-2008	35,28 ± 0,72	66,89 ± 5,51	80,01 ± 18,78	132,15 ± 92,25
PPg_2-2013	64,71 ± 1,24	86,00 ± 2,17	109,26 ± 3,21	129,17 ± 9,73
PPg_2-2014	64,71 ± 1,24	85,30 ± 1,91	102,90 ± 2,48	122,41 ± 2,93
PPg_2-2015	64,71 ± 1,24	73,20 ± 0,36	103,82 ± 1,26	149,73 ± 37,22
Total Pomán (**)	$56,24 \pm 17,55^{A}$	$79,41 \pm 8,88^{B2}$	$100,26 \pm 13,07^{C2}$	$133,45 \pm 40,63^{D2}$

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de ANOVA F = 237,349 significativo a $P = 0,000$ y según comparaciones múltiples de Tukey HSD, Duncan y Test T, significativo a $P \leq 0,030$.
(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con AE según test de Kruskal Wallis, (X^2) = 41,831, significativo a $P = 0,000$ y según Mann-Whitney, significativo a $P = 0,000$.
Números diferentes en la columna indican diferencias significativas entre las fases Lag del hongo tratado con AE, comparadas con el tratamiento con cuminal a igual concentración, según Test-T, $P \leq 0,004$ y Mann-Whitney Test, $P \leq 0,027$.

III.2.4.2.3.4 Departamento Santa María.

Los AEs de comino de Santa María prolongan la fase Lag del hongo y este efecto es dependiente de la concentración y menor que el producido por el cuminal puro.

En la Tabla 78 se exponen los resultados de la fase Lag de *F. verticillioides* según el tratamiento ensayado para cada muestra de AE de comino del departamento Santa María y los valores medios a nivel departamento. También se muestran los resultados frente al cuminal y al control.

Tabla 78. Efecto de AEs de comino del departamento Santa María y del cuminal sobre la fase Lag de *F. verticillioides* M3125.

	Fase Lag (h)			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal (*)	$64,71 \pm 1,24^{A}$	$104,26 \pm 3,88^{B1}$	$124,88 \pm 14,37^{C1}$	$>250^{D1}$
SMg_3-2008	35,28 ± 0,72	87,21 ± 11,42	93,24 ± 10,54	115,18 ± 12,81
SMg_3-2014	64,71 ± 1,24	77,86 ± 0,89	88,23 ± 1,17	115,79 ± 8,63
SMg_3-2015	64,71 ± 1,24	84,99 ± 3,02	93,10 ± 4,22	116,06 ± 2,58
Total Santa María (**)	$53,17 \pm 19,79^{A}$	$83,00 \pm 6,82^{B2}$	$91,37 \pm 5,84^{C2}$	$115,72 \pm 7,57^{D2}$

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de ANOVA F = 237,349 significativo a $P = 0,000$ y según comparaciones múltiples de Tukey HSD, Duncan y Test T, significativo a $P \leq 0,030$.

(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con AE según test de Kruskal Wallis, (X^2) = 38,442, significativo a $P = 0,000$ y según Mann-Whitney, significativo a $P \leq 0,002$.

Números diferentes en la columna indican diferencias significativas entre las fases Lag del hongo tratado con AE, comparadas con el tratamiento con cuminal a igual concentración, según Test-T, $P = 0,000$ y Mann-Whitney Test, $P = 0,001$.

III.2.4.2.3.5 Departamento Tinogasta.

En la Tabla 79 figuran los resultados de la fase Lag del hongo según tratamientos con AEs de cominos de Tinogasta y su comparación frente al cuminal. La fase Lag del hongo fue dependiente de la concentración del AE y del cuminal, siendo el cuminal más activo.

Este AE parece ser el que menos prolongó la fase Lag del hongo, dado que a 1000 ppm de AE se observó un efecto (104,62 ± 38,76 h) similar al producido por 250 ppm de cuminaldehído (104,26 ± 3,88 h).

Tabla 79. Efecto de AEs de comino del departamento Tinogasta y del cuminal sobre la fase Lag de *F. verticillioides* M3125.

	Fase Lag (h)			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal (*)	$64,71 \pm 1,24^{A}$	$104,26 \pm 3,88^{B1}$	$124,88 \pm 14,37^{C1}$	$>250^{D1}$
TSg_2-2008	$35,28 \pm 0,72$	$35,31 \pm 2,75$	$43,96 \pm 6,22$	$58,28 \pm 2,20$
$TCSg_2$-2010	$64,71 \pm 1,24$	$78,26 \pm 1,59$	$83,25 \pm 0,44$	$94,61 \pm 6,52$
TCg_2-2015	$64,71 \pm 1,24$	$87,09 \pm 1,58$	$105,99 \pm 3,37$	$149,39 \pm 2,93$
Total Tinogasta (**)	$53,17 \pm 19,79^{A}$	$69,76 \pm 22,54^{B2}$	$80,80 \pm 25,97^{BC2}$	$104,62 \pm 38,76^{C2}$

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento según test de ANOVA F = 237,349 significativo a $P = 0,000$ y según comparaciones múltiples de Tukey HSD, Duncan y Test T, significativo a $P \leq 0,030$.
(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con AE según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 12,408$, significativo a $P = 0,006$ y según Mann-Whitney, significativo a $P = 0,016$.
Números diferentes en la columna indican diferencias significativas entre las fases Lag del hongo tratado con AE, comparadas con el tratamiento con cuminal a igual concentración, según Test-T, $P \leq 0,007$ y Mann-Whitney Test, $P = 0,001$.

III.2.4.2.3.6 Provincia de Catamarca.

Comparando las medias de las fases Lag a nivel provincial entre los tratamientos, se observa que dependen de la concentración del AE de comino de Catamarca según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 251,946$, significativo a $P = 0,000$ y según pruebas de Mann-Whitney, significativas a $P = 0,000$.

Si se comparan las fases Lag entre los departamentos, el cuminal y el total a nivel provincial, se advierte que a 250 ppm las medias difieren según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 21,179$, significativo a $P = 0,002$ y que el cuminal, a 250 ppm, prolonga más la fase Lag del hongo que la media a nivel provincial según test de Mann-Whitney, $P = 0,000$.

A 250 ppm, el AE de comino de Belén es el que menor efecto ejerció sobre la fase Lag del hongo, según Test de Mann-Whitney, $P=0,039$, mientras que entre los AEs de los restantes departamentos no existen diferencias significativas a esta concentración, Mann-Whitney, $P \geq 0,357$.

De las comparaciones realizadas en los apartados anteriores, se sabe que a 500 ppm, el cuminal prolonga más la fase Lag del hongo que los efectos medios observados a nivel departamental con los AEs. Lo mismo se observa cuando se compara con la media a nivel provincial, según Mann-Whitney, $P = 0{,}000$ y según Test-T, t = 4,954 significativa a $P = 0{,}000$ con igualdad de varianzas asumidas según test de Levene, F = 0,045, $P = 0{,}832$.

Si se comparan las fases Lag entre el cuminal, el total a nivel provincial y las correspondientes de los departamentos, se advierte que en el tratamiento a 500 ppm las medias difieren según ANOVA, F = 9,353 significativa a $P = 0{,}000$ y según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 43{,}405$, significativo a $P = 0{,}000$. Si en la comparación no se incluye el cuminal, las fases Lag de los departamentos difieren entre sí según Kruskal Wallis, $(X^2) = 34{,}176$, significativo a $P = 0{,}000$. Como se muestra en la Tabla 80, los AEs de comino de Pomán y de Capayán son los que más prolongan la fase Lag del hongo según Mann-Whitney $P \leq 0{,}002$ y según Test-T, $P \leq 0{,}011$.

Si se comparan las medias de las fases Lag de los departamentos con el total Catamarca y el cuminal, se advierte que en el tratamiento a 1000 ppm éstas difieren según test de Kruskal Wallis, $(X^2) = 30{,}377$, significativo a $P = 0{,}000$. Si la comparación se hace sin incluir el cuminal, también se observan diferencias significativas según Kruskal Wallis, $(X^2) = 19{,}567$, significativo a $P = 0{,}002$. Para el tratamiento a 1000 ppm, los AEs de comino de Pomán y de Capayán son los que más prolongan la fase Lag del hongo, según Test T, $P \leq 0{,}045$ y Mann-Whitney, $P \leq 0{,}031$.

Se observa que, tanto a nivel departamento, como a nivel provincia, al igual que con el cuminal, la fase Lag de *F. verticillioides* depende de la concentración del AE de comino. En todos los tratamientos, el cuminal puro ejerce mayor efecto sobre la fase Lag del hongo que los AEs de comino de Catamarca.

En la Tabla 80 se muestran los resultados de los efectos de los AEs de comino de Catamarca sobre la fase Lag del *F. verticillioides* y las comparaciones descritas.

Tabla 80. Efecto de AEs de comino de la provincia de Catamarca y del cuminal sobre la fase Lag de *F. verticillioides* M3125.

	Fase Lag (h)			
Tratamiento	Muestra control	Muestras experimentales		
	0	250	500	1000
	ppm			
Cuminal (*)	64,71 ± 1,24^{A}	104,26 ± 3,88^{B1}	124,88 ± 14,37^{C1}	>250^{D1}
Belén	62,19 ± 10,26^{A}	77,99 ± 5,46^{B3}	87,64 ± 4,23^{C3}	110,34 ± 6,95^{D3}
Capayán	56,24 ± 17,55^{A}	81,21 ± 10,18^{B2}	100,50 ± 5,46^{C2}	128,59 ± 19,49^{D2}
Pomán	56,24 ± 17,55^{A}	79,41 ± 8,88^{B2}	100,26 ± 13,07^{C2}	133,45 ± 40,63^{D2}
Santa María	53,17 ± 19,79^{A}	83,00 ± 6,82^{B2}	91,37 ± 5,84^{C3}	115,72 ± 7,57^{D3}
Tinogasta	53,17 ± 19,79^{A}	69,76 ± 22,54^{B2}	80,80 ± 25,97^{BC3}	104,62 ± 38,76^{C3}
(**) Total Catamarca	57,41 ± 16,11^{A}	78,22 ± 11,10^{B2}	91,54 ± 13,11^{C3}	117,38 ± 25,29^{D3}

(*) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag de acuerdo al tratamiento con cuminal según test de ANOVA F = 237,349 significativo a $P = 0,000$ y según comparaciones múltiples de Tukey HSD, Duncan y Test T, significativo a $P \leq 0,030$.

(**) Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas en la fase Lag entre tratamientos con AE según test de Kruskal Wallis, (X^2) = 251,946, significativo a $P = 0,000$ y según test de Mann-Whitney, $P = 0,000$.

A 250 ppm, números diferentes por columna indican diferencias significativas según Kruskal Wallis, (X2) = 21,179, significativo a $P = 0,002$ y Mann-Whitney, $P \leq 0,039$.

A 500 ppm números diferentes por columna indican diferencias significativas según ANOVA, F = 9,353, significativo a $P = 0,000$, Test-T, $P \leq 0,032$; Kruskal Wallis, (X2) = 43,405, significativo a $P = 0,000$ y Mann-Whitney, $P \leq 0,002$.

A 1000 ppm números diferentes por columna indican diferencias significativas según Kruskal Wallis, (X^2) = 30,377, significativo a $P = 0,000$, Test-T, $P \leq 0,045$ y Mann-Whitney $P \leq 0,031$.

Al considerar la totalidad de los datos obtenidos de fases Lag y composiciones químicas de los AEs de comino de Catamarca, no se encontró correlación significativa entre las fases Lag del hongo y las abundancias relativas de las fracciones de compuestos. Considerando los compuestos de forma individual, para el tratamiento de 250 ppm, se encontraron correlaciones significativas medias y positivas con los compuestos sabineno y γ-terpineno con CCP ≥ 0,45 significativas a $P \leq 0,0320$. Las correlaciones negativas se encontraron con las abundancias de los compuestos p-cimeno CCP = -0,58 significativa a $P = 0,0036$; sabina cetona CCP = -0,42 significativa a $P = 0,0475$; terpinen-4-ol con

CCP = -0,47 significativa a *P* = 0,0229; β-cariofileno con CCP = -0,77 significativa a *P* < 0,0001 y β-chamigreno CCP = -0,69 significativa a *P* = 0,0002. Para el tratamiento de 500 ppm sólo se encontró correlación media positiva con la abundancia del compuesto α-pineno, con CCP = 0,44 significativa a *P* = 0,0343. Las correlaciones negativas se dieron con: sabina cetona con CCP = -0,46 significativa a *P* = 0,0279 y con β-cariofileno y β-chamigreno, ambas correlaciones con CCP = -0,76 significativas a *P* < 0,0001. A 1000 ppm, se observaron correlaciones negativas con: sabina cetona con CCP = -0,44 significativa a *P* = 0,0370; β-cariofileno CCP = -0,66 significativa a *P* = 0,0007 y β-chamigreno con CCP = -0,53 significativas a *P* = 0,0095. Como puede advertirse, a nivel provincia, tampoco se encontró correlación positiva entre la fase Lag del hongo y la abundancia relativa del cuminaldehído del AE de comino de Catamarca, sin embargo, la actividad antifúgica de este compuesto puro frente al *F. verticillioides* quedó probada con los resultados de los bioensayos *in vitro*.

III.2.4.3 Actividad antimicotoxicogénica ante FB_1.

Los datos de producción de la micotoxina FB_1 tanto en el control, como en los tratamientos, presentan distribución normal y varianzas homogéneas, por lo que las medias fueron comparadas por ANOVA de un factor.

A simple vista, como puede observarse en la Figura 42, parece que la concentración subletal de 500 ppm de AE de comino estimula la producción de FB_1 respecto del control, sin embargo, del análisis estadístico surge que estas diferencias no son significativas, salvo entre el control y el AE de comino de Capayán. Se observa que concentraciones bajas o subletatles de AE de comino no ejercen efecto inhibitorio sobre la producción de micotoxina, más bien, parecen estimularla, aunque a esa concentración de AE se haya registrado algo de inhibición en el crecimiento y/o aumento del tiempo de latencia del hongo. Esto es similar a lo observado por Reynoso et al., (2002) quienes reportaron que con bajas concentraciones de mezclas de antioxidantes, la producción de FB_1 por parte de *F. verticillioides*, se vio estimulada, mientras que a concentraciones altas, se reduce significativamente. Los resultados obtenidos por Zunino et al., (2015) también muestran que a medida que aumentan las concentraciones ensayadas de los compuestos 1-pentanol; 3-metil-1-butanol; 2-decanona y 3-decanona, pero éstas son subletales, la

producción de FB_1 por parte de *F. verticillioides* aumenta, aunque haya aumentado el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico.

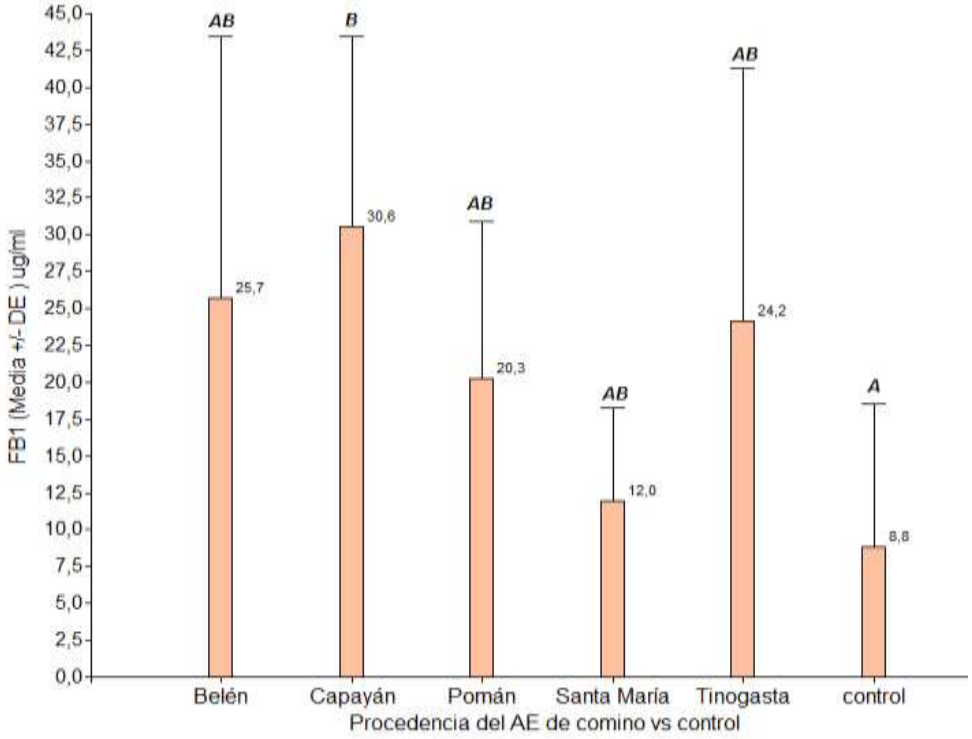


Figura 42. Acción de concentración subletal (500 ppm) de aceites esenciales de cominos de Catamarca sobre la producción de Fumonisina B_1 por *Fusarium verticillioides*.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes según Duncan, (*P > 0,05*)
Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según Test-T, (*P = 0,036*)

Factores de estrés, como los fungicidas (Ellner, 2005) o conservantes (Schmidt-Heydt et al., 2007), pueden motivar la biosíntesis de micotoxinas. Doohan (1999) también describió un aumento en la expresión del gen tri5, un gen clave de la vía de biosíntesis del tricoteceno, después de la aplicación de fungicidas. Distintos factores de estrés estimulan al hongo a producir micotoxina como un mecanismo de respuesta (Ponts, 2015) ligado a la influencia que dichos factores tienen en la expresión de los genes de biosíntesis de micotoxinas (Schmidt-Heydt et al., 2008). Jurado (2008), demostró que el estrés osmótico influye en la inducción del nivel de transcripción del gen fum1, aunque el crecimiento de *F. verticillioides* se haya visto retrasado, lo que nuevamente indica la correlación entre el estrés y la biosíntesis de micotoxinas. Estos antecedentes permiten explicar los resultados obtenidos en este estudio y son importantes de tener en cuenta al

momento de dosificar el AE, dado que una dosis insuficiente, lejos de generar el efecto deseado de inhibir el crecimiento total del hongo y la producción de micotoxina, podría estimular su producción.

III.2.4.4 Síntesis de la actividad antifúngica del AE de comino de Catamarca contra el *F. verticillioides*.

El AE de comino presenta actividad antifúngica contra *F. verticillioides* con una inhibición del 80 % del crecimiento fúngico a 1000 ppm, prolonga significativamente la fase Lag a las tres concentraciones ensayadas y afecta a la tasa de crecimiento del hongo recién a 1000 ppm. Aunque se han probado efectos de inhibición del crecimiento y prolongación del tiempo de latencia del hongo a la concentración subletal de 500 ppm, no se ha observado efecto de inhibición de la producción de la micotoxina, sino mas bien una leve estimulación.

Del análisis de correlación entre los parámetros de crecimiento fúngico se encontró que existe correlación fuerte y positiva entre la fase Lag y el porcentaje de inhibición y de mediano valor y negativa, entre la fase Lag y la tasa de crecimiento. La correlación más débil, que también es negativa, se encontró entre el porcentaje de inhibición y la tasa de crecimiento. A mayor porcentaje de inhibición, menor es la tasa de crecimiento y mayor es la fase Lag.

Los resultados de esta Tesis muestran que tanto la fase Lag de *F. verticillioides* como el porcentaje de inhibición se vieron críticamente afectados por el aumento de la concentración de aceite de comino, aunque a la máxima concentración ensayada no se haya observado una inhibición total. La fase de adaptación fue un poco más de dos días, mientras que al aumentar la concentración de aceite de 250 ppm a 1000 ppm, esta fase de latencia se extendió a 4,9 días para comenzar el crecimiento del moho. La tasa de crecimiento del moho se redujo un 25 % recién a 1000 ppm, Figura 43.

Estos resultados están de acuerdo con el hallazgo de Hashem et al. (2010), quienes informaron que los aceites esenciales de *C. cyminum* mostraron un efecto antifúngico contra diferentes especies de *Fusarium*. Por otra parte, Mohammadpour et al. (2012) y Yooussef et al. (2016), demostraron una actividad biológica contra especies de

Aspergillus. La actividad antimicrobiana del aceite de comino ha sido reportada contra diversos microorganismos. Gachkar et al. (2007) informaron el efecto inhibidor sobre el crecimiento de *E. coli*, *S. aureus* y *L. monocytogenes*. Sharifzadeh et al. (2016) demostraron que el AE de *C. cyminum* de distintas regiones de Irán presenta acción antifúngica frente a especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, encontrando valores de CIM (concentración inhibitoria mínima) que oscilaron entre 1000 y 2000 µg / mL y de CFM (concentraciones fungicidas mínimas) que fueron de 1500 a 2500 µg / mL.

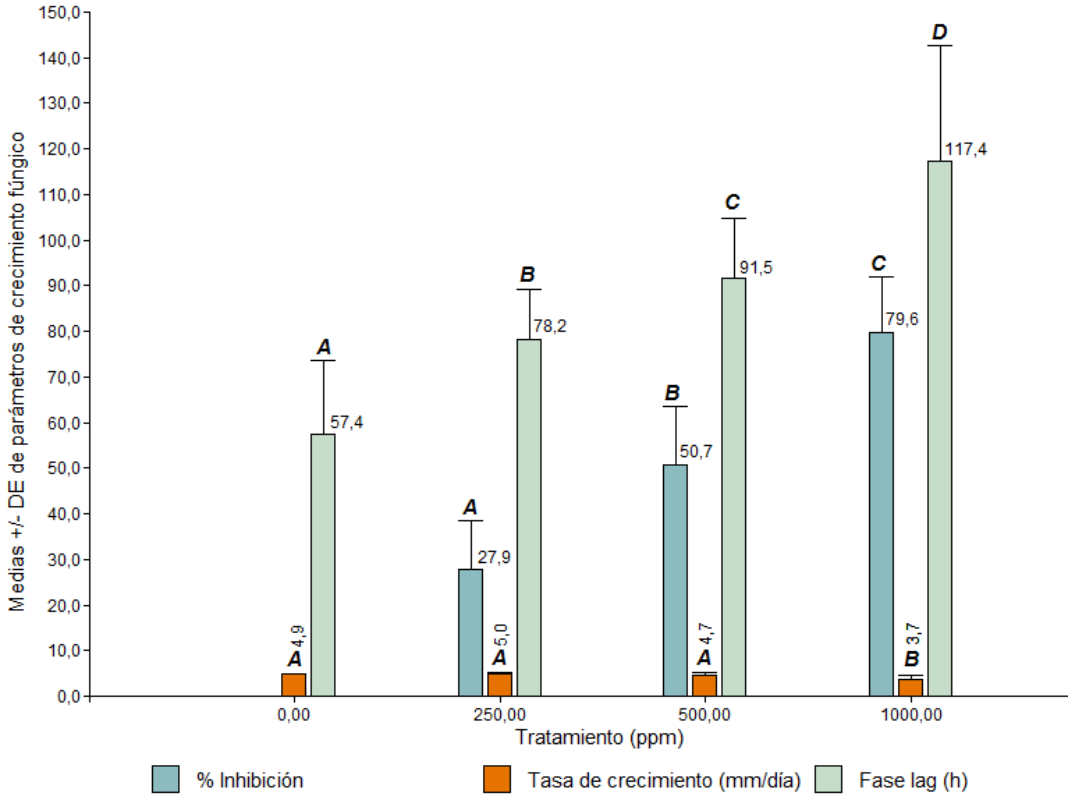


Figura 43. Parámetros de crecimiento fúngico de *F. verticillioides* tratado con AE de comino de Catamarca a distintas concentraciones.

Letras diferentes en barras de igual color indican diferencias significativas a $P \leq 0,05$

El-Said and El-Hady (2014) evaluaron, por el método de difusión en agar, la actividad antifúngica del aceite de comino sobre el crecimiento de micelios de 90 aislamientos fúngicos de diversos géneros y especies. El aceite de comino fue altamente eficaz contra todos los aislamientos de hongos ensayados. Khosravi et al. (2015) estudiaron el efecto del AE de *C. cyminum* en el crecimiento de cepas de *F. verticillioides*, productoras de fumonisina, aisladas del maíz. Los valores mínimos de concentración

inhibitoria (CMI) variaron de 195 a 781 ppm (valor medio de la CMI: 461 ppm) indicando que el 54,5 % de las cepas fúngicas se inhibían a 390 ppm.

Como se ha probado en este estudio, el cuminaldehído es altamente activo frente a *F. verticillioides* y podría atribuirse la actividad observada en el AE de comino a la presencia de este compuesto. Por otro lado, como las composiciones químicas de los AEs y en particular las de los AEs de comino presentan variaciones que pueden deberse a múltiples factores, la abundancia relativa de cuminal en los AEs de comino de Catamarca estudiados también fue variable. Esta variabilidad química se pudo apreciar atendiendo a las abundancias relativas máximas y mínimas tanto de compuestos mayoritarios como minoritarios. Estas variaciones se observaron entre las medias departamentales, pero también entre los valores muestrales dentro de cada departamento. Considerando al cuminaldehído, las abundancias máximas y mínimas por departamento fueron: Belén (12,49 % - 19,87%), Capayán (19,82 % - 30,40 %), Pomán (17,69 % - 22,01 %), Santa María (18,20 % - 21,52 %) y Tinogasta (13,65 % - 24,97 %). Se esperaba que las diferencias en la abundancia de este compuesto en los AEs de comino de Catamarca, explicaran las diferencias observadas en la actividad antifúngica de los AEs de comino de distintas procedencias y años de producción, sin embargo, no se encontró correlación entre los parámetros de crecimiento fúngico y la abundancia relativa del cuminal en los AEs de comino de Catamarca. No obstante, el AE de comino de Capayán fue el que presentó mayor abundancia de cuminal y el que a su vez resultó más activo frente *F. verticillioides* y contrariamente, el AE de comino de Belén fue el que menor contenido de cuminal tenía y el que resultó menos activo. Si se tiene en cuenta que la abundancia media de cuminaldehído en el AE de comino de Catamarca es del 19 %, al ensayar con 1000 ppm de AE de comino, se aporta 190 ppm de cuminal; no obstante la actividad del AE fue equivalente a la ejercida por 250 a 500 ppm de cuminal. Esto sugiere que un sistema complejo, como lo es el AE de comino, debe sus actividades biológicas tanto a compuestos mayoritarios como a minoritarios y a su diversidad estructural, que hacen posible interacciones de efectos aditivos, sinérgicos y antagónicos (Delaquis et al., 2002; Hyldgaard et al., 2012; Tchabong et al., 2018; Vila et al., 2010). Esta idea se refuerza con la correlación encontrada entre las abundancias relativas de algunos compuestos minoritarios y los parámetros de crecimiento fúngico.

III.3 Resumen de resultados para el *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina.

Tabla 81. Medias ± DE e IC de la media de variables físicas, químicas y bioactivas de semillas y AEs de semillas de comino de Catamarca.

Variables estudiadas	Media ± DE	IC; α = 0,05
Peso de 1000 semillas (g)	3,88 ± 0,76	[3,72; 3,98]
Largo del fruto (mm)	6,10 ± 0,65	[6,04; 6,16]
Ancho del fruto (mm)	1,41 ± 0,25	[1,39;1,44]
Espesor del fruto (mm)	0,88 ± 0,18	[0,87; 0,90]
Área superficial media (mm^2)	11,85 ± 0,86	[11,77 - 11,93]
% Humedad (g H_2O/100g comino)	8,29 ± 1,53	[7,97 – 8,61]
% AE bh (ml de AE/100 g comino en bh)	4,28 ± 0,91	[4,13 - 4,43]
% AE bs (ml de AE/100 g comino en bs)	4,66 ± 0,97	[4,50 - 4,82]
Índice de refracción del AE a 20 ºC	1,4972 ± 0,0017	--
Densidad relativa del AE a 20 ºC	0,9086 ± 0,0090	--
Antividad insecticida (CL_{50})	74,68	[66,26 – 83,67]
Antividad insecticida (CL_{95})	214,55	[194,67 – 240,00]
Acción repelente.		
IR a 0,05 µL de AE/L aire	$-11,81 \pm 34,13^{A}$	[-11,81 ± 6,20]
IR a 0,40 µL de AE/L aire	$-23,98 \pm 34,68^{B}$	[-23,98 ± 6,35]
IR a 4,00 µL de AE/L aire	$-52,48 \pm 31,00^{C}$	[-52,48 ± 5,65]
Actividad anti-AchE		
Porcentaje de Inhibición (%) a 2,3 µg/L	$47,75 \pm 25.19^{A}$	
Porcentaje de Inhibición (%) a 9,2 µg/L	$88,39 \pm 15.45^{B}$	
Actividad antifúngica		
% Inhibición crec. a 250 ppm	$28,08 \pm 10,75^{A}$	[25,79 – 30,37]
% Inhibición crec. a 500 ppm	$50,89 \pm 13,10^{B}$	[48,10 – 53,68]
% Inhibición crec. a 1000 ppm	$79,99 \pm 12,16^{C}$	[77,40 – 82,58]
Tasa de crec a 0 ppm (control)	$4,89 \pm 0,10^{A}$	[4,87 – 4,91]
Tasa de crec (mm/d) a 250 ppm	$4,96 \pm 0,38^{A}$	[4,88 – 5,04]
Tasa de crec (mm/d) a 500 ppm	$4,69 \pm 0,59^{A}$	[4,56 – 4,82]
Tasa de crec (mm/d) a 1000 ppm	$3,69 \pm 0,97^{B}$	[3,48 – 3,90]
Fase Lag (h) a 0 ppm (control)	$57,41 \pm 16,11^{A}$	[53,98 – 60,84]
Fase Lag (h) a 250 ppm	$78,22 \pm 11,10^{B}$	[70,81 – 75,63]
Fase Lag (h) a 500 ppm	$91,54 \pm 13,11^{C}$	[88,61 – 94,19]
Fase Lag (h) a 1000 ppm	$117,38 \pm 25,29^{D}$	[111,99 – 122,77]
Produc. de FB_1 (µg/mL) a 500 ppm de AE	Mín: 11,98 Máx: 30,56	
Producción de FB_1 (µg/mL) del control	8,80	

Los resultados obtenidos de los análisis de CG-EM aplicados a los AEs en el presente estudio indican que, en promedio, el AE obtenido a partir de frutos secos y maduros de *C. cyminum* L. producido en Catamarca, Argentina, es rico en: γ-terpineno (20,42 ± 4,71 %); cuminaldehído (18,91 ± 3,91 %); p-cimeno (15,40 ± 4,56 %); β-pineno (14,94 ± 1,07 %); p-mentha-1,4-dien-7-al (10,38 ± 3,10 %); 2-caren-10-al (5,97 ± 1,96 %) y α-pineno (1,86 ± 1,03 %). También presenta otros compuestos que en orden decreciente de abundancia relativa media son: α-pineno; acoradieno; sabineno; β-mirceno; un compuesto no identificado (NI); β-farneseno; p-menta-1,4-dien-7-ol; limoneno; transpinocarveol; β-cariofileno; α-tuyeno; α-felandreno; sabina cetona; 2,6-dimetil-3,5,7- octatrieno-2-ol; cis-sabineno hidrato; óxido de cariofileno; δ-3-careno; carotol; terpinen-4-ol; β-chamigreno; 1,3-ciclohexadieno-1-metanol, 4-(1-metiletil); 1,8-cineol y felandral. Estos compuestos corresponden al 97,69 ± 0,60 % del total del AE de comino de Catamarca analizado.

Estos resultados muestran que el aceite esencial de comino de Catamarca, Argentina, presenta actividad biológica contra *S. zeamais* y *F. verticillioides* y sugieren que podría usarse como fuente de compuestos bioactivos contra estas plagas del maíz almacenado, encontrando aplicaciones en la agroindustria.

III.4 Proyecciones futuras

Los resultados de esta tesis contribuyen a llenar vacíos de conocimiento en cuanto a características físicas y químicas básicas que hacen a la calidad del fruto-semilla y del AE de *C. cyminum* que se produce en Catamarca y su diferenciación según el departamento de producción.

Por primera vez se tiene información científica acerca de la actividad biológica del aceite esencial de comino de Catamarca sobre el insecto *S. zeamais* y el hongo *F. verticillioides.* Sin embargo, para comprender mejor las propiedades biológicas puestas de manifiesto en este estudio, es preciso seguir investigando.

Surge la necesidad de realizar nuevos bioensayos con concentraciones mayores de AE para poder determinar CIM y CFM y su efecto en la producción de FB_1.

Se debería estudiar la actividad biológica de los otros compuestos mayoritarios del aceite y también de los compuestos minoritarios que presentaron correlación con los parámetros de crecimiento fúngico y con la actividad anti-insecto. Estos ensayos se deberían hacer con los compuestos puros y con mezclas diseñadas para evaluar efectos aditivos, sinérgicos y antagónicos.

Para un mayor conocimiento de la actividad del AE sobre el *F. verticillioides* en su sustrato natural, sería conveniente realizar bioensayos in vivo para evaluar el comportamiento del sistema maíz-hongo-aceite.

Sería interesante idear un diseño experimental a escala laboratorio y/o piloto que ensaye con maiz almacenado en silo bolsa y en silo tanque para estudiar las dosis adecuadas y las formas de aplicación del AE de comino que aseguren la conservación del maíz. A partir de este diseño también se podría estudiar el efecto residual del AE y el efecto sobre aspectos organolépticos del maíz. Conocer el efecto residual del aceite es fundamental por cuanto el maíz sirve como alimento directo para animales y humanos y como materia prima en diferentes cadenas industriales de producción de alimentos.

Para considerar la producción de AE de comino a escala industrial y su aplicación como bioplaguicida, se advierte la necesidad de profundizar en estudios ecotoxicológicos que contemplen la evaluación de impacto ambiental y los efectos directos sobre la salud humana. En este sentido, se debe tener en cuenta las condiciones de trabajo de los oprerarios que obtienen y manipulan el AE para establecer regulaciones y normativas.

En complemento a la evaluación de impacto ambiental, también se debería realizar un estudio económico y de mercado para evaluar la factibilidad, rentabilidad, sostenibilidad y sustentabilidad de la producción de AE con fines agroindustriales.

Capítulo IV

Conclusiones

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES.

IV.I. Conclusiones Generales.

- El comino, *Cuminum cyminum* L., que se produce en la provincia de Catamarca presenta frutos-semillas de buen peso y tamaño, con valores de humedad que cumplen con las exigencias de la normativa internacional vigente y con rendimientos en aceite esencial que superan ampliamente al mínimo establecido para la más alta categoría de calidad según las Normativas.
- El peso de mil semillas de comino de Catamarca varía según el departamento productor, siendo las semillas de comino del departamento Pomán las de mayor peso.
- La humedad contenida en los frutos-semillas de comino es independiente del departamento productor, mientras que el tamaño, peso de los granos y rendimiento en aceite esencial varían según el departamento de origen.
- El comino de Catamarca presenta diferentes rendimientos medios de AE (bs) según el departamento productor, siendo el comino proveniente de Belén el que tiene el mayor rendimiento en AE (5,27 ± 0,78 %) y el de Capayán, el menor (3,79 ± 1,14 %).
- La densidad e índice de refracción del AE de comino de Catamarca responden a las exigencias dadas por la Normativa internacional.
- El índice de refracción del aceite se correlaciona positivamente con las abundancias relativas del cuminaldehído, del p-cimeno y del terpinen-4-ol.
- Los AEs de comino de los distintos departamentos de Catamarca presentan los mismos seis compuestos mayoritarios. Considerando las composiciones medias de los AEs por departamento productor, el compuesto más abundante es el γ-terpineno, a excepción del AE de comino de Capayán, en el que el cuminaldehído es el compuesto más abundante. En general, los cominos de Catamarca presentan quimiotipo γ-terpineno-cuminaldehído.
- La relación entre las abundancias de los compuestos β-pineno/p-cimeno varía según el departamento de procedencia, mientras que la relación 2-caren-10-al/p-menta-1,4-dien-7-al, en todos los casos es menor a la unidad.
- Las composiciones químicas de los AEs de comino de los diferentes departamentos presentan diferencias cualitativas y cuantitativas con repecto a los compuestos minoritarios.

- Los AEs de comino de Catamarca presentan propiedad insecticida y repelente contra *Sitophilus zeamais*.
- El AE de comino presenta mayor actividad insecticida y repelente que el cuminaldehído puro, uno de sus principales componentes, por lo que otros constituyentes del aceite estarían contribuyendo a la actividad anti-insecto contra el *S. zeamais.*
- Los AEs de comino de Catamarca inhiben la AChE y esta acción es la responsable de la acción insecticida. Existe una relación entre efectividad e inhibición enzimática.
- No hay correlación entre la actividad insecticida y la acción repelente que ejercen los AEs de comino de Catamarca frente a *S. zeamais*. Por lo que un aceite de comino que se comporta como un eficaz insecticida, no necesariamente debe funcionar bien como repelente y a la inversa.
- Los AEs de comino de Catamarca presentan actividad antifúngica contra *Fusarium verticillioides*, llegando a un 80 % de inhibición del crecimiento fúngico a la concentración de 1000 ppm de AE. La fase de latencia del hongo también es dependiente de la concentración del AE y se prolonga hasta aproximadamente 120 horas a la concentración de 1000 ppm de AE. La tasa de crecimiento sólo se vió afectada a la mayor concentración ensayada.
- Los AEs de comino de Catamarca, a la concentración subletal de 500 ppm, no ejercen efecto antimicotoxicogénico en la producción de FB_1 por parte de *Fusarium verticillioides*, y en el caso del AE procedente de Capayán, a esta concentración produjo estimulación de la producción de micotoxina.
- El cuminaldehído puro ejerce mayor actividad antifúngica que el AE de comino, por lo que la bioactividad observada en el aceite se atribuye, principalmente, a la presencia del cuminal, aunque no se encontró correlación entre la concentración del cuminaldehído en el aceite y la efectividad antifúngica del mismo. La correlación contraria a la esperada entre el porcentaje del cuminaldehído en el AE, que a las tres concentraciones ensayadas fue subletal para el hongo, y los parámetros de crecimiento fúngico, se pueden explicar como mecanismos de defensa del hongo ante el estrés generado por los compuestos activos del aceite.
- Existe correlación positiva entre la inhibición que ejerce el AE de comino sobre el crecimiento del *F. verticillioides* y la prolongación de la fase Lag del hongo y correlación negativa, aunque menos marcada, con la tasa de crecimiento.

Dado a que el comino de Catamarca tiene un elevado rendimiento en AE y éste es rico en cuminaldehído, constituye una fuente valiosa para el aislamiento de este compuesto que ha evidenciado alta actividad antifúngica. Si se piensa emplear el AE como fungicida, hay que determinar previamente la concentración letal para evitar resultados contrarios a los que se buscan.

El AE de comino de Catamarca ha probado ser un eficaz insecticida y repelente contra *Z. seamais* por lo que este aceite podría ser considerado como una buena alternativa para el control integrado de esta plaga del grano de maíz almacenado. Dada la volatilidad de los AEs y para prevenir nuevas infestaciones, se recomienda su uso en recipientes herméticos o silos, teniendo en cuenta que las toxicidades de los monoterpenos contra los insectos son de acción rápida y muestran una baja persistencia (Saad et al., 2018). La prometedora actividad insecticida del AE de comino sobre el *S. zeamais* reportada en este estudio, respalda su uso como agente alternativo para el control de plagas de insectos y como fuente de compuestos bioactivos para el desarrollo de nuevos insecticidas y repelentes.

Entre las principales ventajas que se le atribuyen en general a los AEs con efecto insecticida es el menor riesgo que implica para el medio ambiente frente a los pesticidas sintéticos actuales. Las poblaciones de insectos depredadores, parasitoides y polinizadores se verán menos afectadas debido a la actividad residual mínima, lo que hace que los plaguicidas a base de AEs sean compatibles con los programas integrados de manejo de plagas. Además, debido a la composición compleja de los AEs, será mas difícil para las plagas desarrollar resistencia (Lashgari et al., 2014).

En cuanto a restricciones, la aplicación comercial de pesticidas a base de AEs implica un importante desafío. Se debe tener en cuenta la disponibilidad de cantidades suficientes de material vegetal, la estandarización y el refinamiento de productos pesticidas. Si bien, la aplicación de pesticidas a base de AEs puede ser más costosa que con pesticidas sintéticos, los beneficios pueden cambiar las preferencias hacia el uso de productos "naturales" por sobre los sintéticos (Isman 2005). Si se tiene en cuenta que Catamarca posee un gran potencial para aumentar la producción de comino, la restricción de la disponibilidad mencionada por Isman, (2005) podría estar resuelta.

Bibliografía citada.

25th International Symposium on Essential Oils, Aromatherapy Research: Studies on the Biological Effects of Fragrance Compounds and Essential Oils upon Inhalation, Grasse, France, 1994.

Abbaszadegan, A., Gholami, A., Ghahramani, Y., Ghareghan, R., Ghareghan, M., Kazemi, A., Iraji, A., Ghasemi, Y. (2016). Antimicrobial and Cytotoxic Activity of *Cuminum cyminum* as an Intracanal Medicament Compared to Chlorhexidine Gel. *Iranian Endodontic Journal*, 11 (1), 44-50.

Abbaszadeh, B., Valadabadi, H.A.F.S.A., Moaveni, P. (2009). Investigation of variations of the morphological values and flowering shoot yield in different mint species at Iran. *Journal of Horticulture and Forestry*, 1 (7), 109-112.

Abdel Halim, A.S., Morsy, T.A. (2005). The insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* oil on the development of *Musca domestica* third stage larvae. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 35 (2), 631-636.

Abdelgaleil, S.A.M., Badawy, M.E.I., Mohamed, M.I.E., Shawir, M.S. (2012). Chemical composition and fumigant toxicity of essential oils isolated from Egyptian plants against stored product insects *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). In: Navarro S, Banks HJ, Jayas DS, Bell CH, Noyes RT, Ferizli AG, Emekci M, Isikber AA, Alagusundaram K, [Eds.] Proc 9th. Int. Conf. on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Antalya, Turkey. 15 – 19 October 2012, ARBER Professional Congress Services, Turkey pp: 50-57

Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Badawy, M.E.I., El-arami, S.A.A. (2009). Fumigant and Contact Toxicities of Monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity. *Journal of Chemical Ecology*, 35 (5), 518-525. doi:10.1007/s10886-009-9635-3.

Abdollahi, M., Salehnia, A., Mortazavi, S.H., Ebrahimi, M., Shafiee, A., Fouladian, F., Keshavarz, K., Sorouri, S., Khorasani, R., Kazemi, A. (2003). Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidaemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of Satureja khuzestanica in rat in vivo: A oxicopharmacological study. *Medical Science Monitor*, 9, 331-335.

Abou-Taleb, H.K., Mohamed, M.I.E., Shawir, M.S., Abdelgaleil, S.A.M. (2016). Insecticidal properties of essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases, *Natural Product Research*, 30:6, 710-714, doi: 10.1080/14786419.2015.1038999 To link to this article: http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2015.1038999.

Abramson, C.I., Aldana, E., Sulbaran, E. (2007). Exposure to Citral, Cinnamon and Ruda Disrupts the Life Cycle of a Vector of Chagas Disease. *American Journal of Environmental Sciences*, 3 (1), 7-8.

Aćimović, M.G., Tešević, V., Mara, D., Cvetković, M., Stanković, J., Filipović, V. (2016). The analysis of cumin seeds essential oil and total polyphenols from postdestillation waste material. *Advanced technologies*, 5 (1), 23-30.

Adam, K.P., Zapp, J. (1998). Biosynthesis of the isoprene units of chamomile sesquiterpenes. *Phytochemistry*, 48 (6), 953-959.

Adams, R.P. (1969). Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy, Ac. Press NY, 1-200.

Adlard, E. R. (2010). *Handbook of Essential Oils. Science, Technology and Applications. Chromatographia*, 72 (9-10), 1021–1021. doi:10.1365/s10337-010-1680-0

Ajayi, E.O., Sadimenko, A.P., Afolayan, A.J. (2016). Data showing chemical compositions of the essential oils of the leaves of *Cymbopogon citratus* obtained by varying pH of the extraction medium. *Food Chemistry*, 209, 262-266. https://doi.org/10.1016/j.dib.2016.06.019

Alexandrovich, I., Rakovitskaya, O., Kolmo, E., Sidorova, E., Shushunov, S. (2003). The effect of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed oil emulsion in infantile colic: A randomised, placebo-controlled study. *Altern Ther Health Med*., 9 (4), 58-61

Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Chinou, I.B., Mitakou, S. (2001). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Five Taxa of Sideritis from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 811−815

Alinian, S., Razmjoo, J. (2014). Phenological, yield, essential oil yield and oil content of cumin accessions as affected by irrigation regimes. *Industrial Crops and Products*, 54, 167-174.

Alizadeh, A., Khoshkhui, M., Javidnia, K., Firuzi, O., Tafazoli, E., Khalighi, A. (2010). Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (1), 33-40.

Al-Mosawi, A.J. (2005). A possible role of essential oil terpenes in the management of childhood urolithiasis. *Therap*y, 2, 243-247.

Al-Snafi, A.E. (2016). The pharmacological activities of *Cuminum cyminum* - A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6 (2), 46-65.

Al-Yahya, M., Collpharm, A. (1986). Phytochemical studies of plant used in traditional medicine in Saudi Arabia. *Fitoterapia*, 57, 179-182.

Amanlou, M., Babaee, N., Saheb-Jamee, M., Salehnia, A., Farsam, H., Tohidast Akrad, Z. (2007). Efficacy of Satureja khuzistanica extract and essential oil preparations in the management of recurrent aphthous stomatitis. *Daru-Journal of Faculty of Pharmacy*, 15 (4), 231-235.

Amariei, S., Gutt, G., Hretcanu, C.E., Leahu, AOroian, M.A., Poroch-Seriţan, M., Roşu, A.I. (2016). How properties of edible oils are improved by essential oils. *Scientific Study & Research Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 16, 17 (3), 227-238.

Amer, A., Mehlhorn, H. (2006a). Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex larvae* (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*, 99, 466-472.

Amer, A., Mehlhorn, H. (2006b). Persistency of larvicidal effects of plant oil extracts under different storage conditions. *Parasitology Research*, 99, 473-477.

Amin, Gh. (2012). *Handbook of Herbs and Spices* (Second Edition), Volume 1. Recuperado de https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/cuminum-cyminum el 11/03/2019.

Amzallag, G., Larkov, O., Hur, M.B., Dudai, N. (2005). Soil microvariation as a source of variability in the wild: the case of secondary metabolism in *Origanum dayi* Post. *Journal of Chemical Ecology*, 31 (6), 1235-1254.

Andersen, F.A. (2001). Final report on the safety assessment of *Mentha Piperita* (Peppermint) Oil, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Extract, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf, and *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Water," *International Journal of Toxicology*, 20 (3), 61-73.

Anderson J.A., Coats J.R. (2012). Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102, 124-128.

Anderson, R.A., Broadhurst, C.L., Polansky, M.M., Schmidt, W.F., Khan, A., Flanagan, V.P., Schoene, N.W., Graves, D.J. (2004). Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (1), 65-70.

Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. stoechas essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (12), 4364-4370.

Angioni, A., Barra, A., Russo, A.T., Coroneo, A., Dessiä, S., Cabras, P. (2003). Chemical composition of the essential oils of Juniperus from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3073–3078.

Antal, T., Figiel, A., Kerekes, B., Sikolya, L. (2011). Effect of drying methods on the quality of the essential oil of spearmint leaves (*Mentha spicata* L.). Dry. Technol., 29 (15), 1836-1844.

Argyropoulos, D., Müller, J. (2014). Changes of essential oil content and composition during convective drying of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Industrial Crops and Products*, 52, 118-124.

Armstrong, J.S. (2006). Mitochondrial membrane permeabilization: the sine qua non for cell death. *Bio Essays*, 28, 253-260.

Arnal-Schnebelen, B., Hadji-Minaglou, F., Peroteau, J.F., Ribeyre, F., de Billerbeck, V.G. (2004). Essential oils in infectious gynaecological disease: a statistical study of 658 cases. *International Journal of Aromatherapy*, 14, 192-197.

Arnodou, J.F. (1991). The taste of nature; industrial methods of natural products extraction. Presented at a conference organized by the Royal Society of Chemistry in Canterbury, 16-19.

Asao, T., Kuwano, H., Ide, M., Hirayama, I., Nakamura, J.I., Fujita, K.I., Horiuti, R. (2003). Spasmolytic effect of peppermint oil in barium during double- contrast barium enema compared with buscopan. *Clinical Radiology*, 58, 301-305.

Attia, S., Grissa, K.L., Ghrabi, Z.G., Mailleux, A.C., Lognay, G., Hance, T. (2012). Acaricidal activity of 31 essential oils extracted from plants collected in Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 24 (3), 279-288.

Avila-Sosa, R., Hernández-Zamora, E., López-Mendoza, I., Palou, E., Jiménez Munguía, M.T., Nevárez-Moorillón, G.V., López-Malo, A. (2010b). Fungal inactivation by Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Journal of Food Science*, 75, 127-133.

Ayala-Zavala, J.F., González-Aguilar, G.A., del-Toro-Sánchez, L. (2009). Enhancing Safety and Aroma Appealing of Fresh-Cut Fruits and Vegetables Using the Antimicrobial and Aromatic Power of Essential Oils. *Journal of Food Science*, 74 (7), 84–91. doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01294.x

Azeez, S. (2008). Cumin. In: Parthasarathy, V.A., Champakam, B. y Zachariah, T.J., eds.: *Chemistry of Spices*. CABI International, Wallingford, UK [This review article deals with botany, distribution and medicinal properties of cumin, and with the chemistry of cumin oil.

Azizi, A., Yan, F., Honermeier, B. (2009). Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Industrial Crops and Products*, 29 (2), 554-561.

Azizi, K., Kahrizi, D. (2008). Effect of nitrogen levels, plant density and climate on yield quantity and quality in cumin (*Cuminum cyminum* L.) under the conditions of Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, 7 (8), 710-716. doi: 10.3923/ajps.2008.710.716

Babar, A., Al-Wabel, N.A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S.A., Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: a systemic review. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 5, 601-611.

Babushok, V., Zenkevich, I. (2009). Retention Indices for Most Frequently Reported Essential Oil Compounds in GC. *Chromatographia*, 69 (3-4), 257-269.

Bagchi, G.D.; Srivastava, G.N. (2003). Spices and Flavoring (Flavouring) Crops | Fruits and Seeds. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 5465-5477. (2nd Ed). Recuperado de https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/cuminum-cyminum el 11/03/2019.

Baghalian, K., Abdoshah, S., Khalighi-Sigaroodi, F., Paknejad, F. (2011). Physiological and phytochemical response to drought stress of German chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*., 49 (2), 201-207.

Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M., Bagher Rezaii, M. (2002). The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavour and Fragance Journal*, 17 (4), 275-277.

Baibars, M., Eng, S., Shaheen, K., Alraiyes, a.H., Alraies, Ch. (2012). Case Report Menthol Toxicity: An Unusual Cause of Coma Motaz. Hindawi Publishing Corporation Case Reports in Medicine, Article ID 187039, doi:10.1155/2012/187039

Bak, C.W., Yoon, S.J., Chung, H. (2007). Effects of an a-blocker and terpene mixture for pain control and spontaneous expulsion of ureter stone. *Korean Journal of Urology*, 48, 517-521.

Bakkali, F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446-475. Available from: recuperado el 10/05/2017. doi: 10.1016/j. fct.2007.09.106.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Zhiri, A., Idaomar, M. (2005). Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res*., 585, 1-13.

Bandoni, A.L. (2003). *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*. CYTED. Capítulo II. 2a. ed. Buenos Aires. Argentina.

Bandoni, A.L. y Flores Martínez, H. (2003). *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*. CYTED. Capítulo IX. 2a. ed. Buenos Aires. Argentina.

Baratta, T., Dorman, D., Deans, G., Biondi, D., Ruberto, G. (1998). Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary,

orégano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 10, 618-627.

Barbehenn, R., Cheek, S., Gasperut, A., Lister, E., Maben, R. (2005). Phenolic compounds in red oak and sugar maple leaves have prooxidant activities in the midgut fluids of *Malacosoma disstria* and *Orgyia leucostigma* caterpillars. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 969-988.

Barcelo D. (1993). Elsevier – Environmental Analysis. Techniques, Applications, and Quality Assurance. Amsterdam. p250.

Barrera Necha, L.L., García Barrera, L.J. (2008). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium sp*. aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista UDO Agrícola*, 8 (1), 33-41.

Barry, A.L. (1976). The Antimicrobial Susceptibility Test: Principles and Practices. Lea & Febiger. Filadelfia. p335.

Başer, K.H.C., Buchbauer, G. (2015). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*, second ed. CRC Press, Boca Raton, FL.

Başer, K.H.C., Buchbauer, G. Editors (2010). Schmidt E. Chapter 4. Production of Essential Oils. *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. United States of America.

Başer, K.H.C., Kürkcüoglu, M., Özek, T. (1992). Composition of the Turkish cumin seed oil. *Journal of Essential Oil Research*, 4 (2), 133-138.

Basile, A., Senatore, F., Gargano, R., Sorbo, S., Del Pezzo, M., Lavitola, A., Ritieni, A., Bruno, M., Spatuzzi, D., Rigano, D., Vuotto, M.L. (2006). Antibacterial and antioxidant activities in Sideritis itálica (Miller) Greuter et Burdet essential oils. *Journal Ethnopharmacology*, 107, 240-248.

Basilico, M.Z., Basilico, J.C., (1999). Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Letters in Applied Microbiology*, 24 (4), 238-241.

Batish, D., Singh, H., Kohli, R., Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256, 2166-2174.

Behera, S., Nagarajan, S., Jagan Mohan Rao, L. (2004). Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical composition of volatiles. *Food Chemistry*, 87 (1), 25-29. doi:10.1016/j.foodchem.2003.10.012

Beis, S.H., Azcan, N., Ozek, T., Kara, M., Baser, K.H. (2000). Production of Essential Oil from Cumin Seeds. *Journal Chemistry of Natural Compounds*, 36, 265-268. doi.org/10.1007/BF02238331

Belitz, H., Grosch, W., Schieberle, P. (2004). *Food Chemistry*. Tercera edición. Springer, Alemania, p.1070.

Bell, .GD., Bradshaw, J.P., Burgess, A., Ellis, W., Hattonm J., Middleton, A., Middleton, B., Orchard, T., White, D.A. (1980). Elevation of serum high density lipoprotein cholesterol by Rowachol, a proprietary mixture of six pure monoterpenes. *Atherosclerosis*, 36, 47-54.

Bellakhdar, J. (1997). *Pharmacopée marocaine traditionnelle*, Ibis Press, Paris, p.764.

Benner, J.P. (1993). Pesticidal compounds from higher plants. *Pest Management Science*, 39(2), 95-192.

Bernstein, N., Chaimovitch, D., Dudai, N. (2009). Effect of irrigation with secondary treated effluent on essential oil, antioxidant activity, and phenolic compounds in oregano and rosemary. *Agronomy Journal*, 10 (1), 1-10.

Bettaieb, I., Bourgou, S., Sriti, J., Msaada, K., Limam, F., Marzouk, B. (2011b). Essential Oils and Fatty Acids Composition of Tunisian and Indian Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds: A Comparative Study. *Journal Science Food and Agriculture*, 91, 2100-2107. doi.org/10.1002/jsfa.4513.

Bettaieb, I., Bourgou, S., Wannes, W., HamrounI, I., Limam, F., MarzouK, B. (2010). Essential Oils, Phenolics, and Antioxidant Activities of Different Parts of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10410-10418.

Bettaieb, I., Knioua, S., Hamrouni, I., Limam, F., Marzouk, B. (2011a). Water-Deficit Impact on Fatty Acid and Essential Oil Composition and Antioxidant Activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Aerial Parts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 328-334. doi:10.1021/jf1037618.

Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W.A., Kchouk, M., Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120 (2), 271-275.

Biasi, L.A., Machado, E.M., Kowalski, A.P.D.J., Signor, D., Alves, M.A., de Lima, F.I., Deschamps, C., Côcco, L.C., Scheer, A.D.P. (2009). Organic fertilization in the production, yield and chemical composition of basil chemotype eugenol. *Horticultura Brasileira*, 27 (1), 35-39.

Bischof, L.J., Enan, E.E. (2004). Cloning, expression and functional analysis of an octopamine receptor from *Periplaneta americana*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(6), 511-521.

Blanch, J.S., Peñuelas, J., Llusià, J. (2007). Sensitivity of terpene emissions to drought and fertilization in terpenestoring *Pinus halepensis* and non-storing Quercus ilex. *Physiologia Plantarum*, 131 (2), 211-225.

Block, E. (1985). The Chemistry of garlic and onions. *Scientific American*: 114-120.

Bob Harris, B. (2010). Chapter 11. Phytotherapeutic Uses of Essential Oils. En Başer, K.H.C. and Buchbauer, G. (Ed.), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications* (pp.100-121). United States of America.

Borges, P., Pino, J. (1993). The isolation of volatile oil from cumin seeds by steam distillation. Food / Nahrung, 37 (2), 123-126.

Bosart, L.W. (1937). Perfumery Essential Oil Record, 28, 95.

Bowles, E.J. (2003). Chemistry of Aromatherapeutic Oils. Allen and Unwin, Australia.

Boyraz, N., Özcan, M. (2005). Antifungal effect of some spice hydrosols. Fitoterapia, 76 (7-8), 661- 665.

Brako, L., Rossman, A.Y., Farr, D.F. (1995). Scientific and Common Names of 7,000 Vascular Plants in the United States, 1-294.

Bråred-Christensson J., Forsström P., Wennberg A-M., Karlberg A-T., Matura, M. (2009). Air oxidation increases skin irritation from fragrance terpenes. Contact Dermatitis, 60,32-40.

Bremness, L. (1996). "Les plantes aromatiques et médicinales", Bordas, Paris, p. 303.

Browne, L. (1977). Host-related responses and their suppression: some behavioral considerations, pp. 117-127. In: Shorey, H. H. & J.J. McKelvey, Jr. (Eds.), Chemical control of insect behavior. John Wiley & Sons, NY.

Brühlmann, C., Marston, A., Hostettmann, K., Carrupt, P.-A., Testa, B. (2004). Screening of non-alkaloidal natural compounds as acetylcholinesterase inhibitors. Chemistry & Biodiversity, 1 (6), 819-29. http://doi.org/10.1002/cbdv.200490064

Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli M., Dehesa, M., Romagnoli, C., Sacchetti, G. (2003). Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. Food Chemistry, 85, 415-421.

Buchaillot, A., Caffin, N., Bhandari, B. (2009). Drying of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaves: retention of volatiles and color. Dry. Technol., 27 (3), 445-450.

Buckle, J. (2015). Essential Oil Toxicity and Contraindications. Clinical Aromatherapy, 73-94. doi:10.1016/b978-0-7020-5440-2.00004-8

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.

Cabrera, L., Quiroga, V., Fiad, S. (2012). Caracterización físico química del aceite esencial de comino que produce Catamarca. Trabajo completo publicado en Memorias de Congreso CLICAP. San Rafael. Mendoza 2012.

Cáceres, L.M. (2014). Implementación de herramientas de gestión de calidad para el estudio del efecto del solvente en la obtención de terpineol por hidratación catalítica del limoneno. Tesis de Maestría, Universidad Nacional, Facultad Regional Resistencia, Chaco, Argentina. Recuperado de http://ria.utn.edu.ar /bitstream/handle/123456789/1487/TESIS%20MARIEL%20CACERES.pdf?Seq uence= 1&isallowed=y

Cáceres, L.M., Zambón, S.N., Velasco, G.A., Chamorro, E.R. (2018). Efecto del solvente en la reacción de obtención de α-terpineol a partir de aceite de pomelo. Revista Tecnología y Ciencia, Universidad Tecnológica Nacional, 31:30-37. Recuperado de http://frre.utn.edu.ar/quimobi/clean/files/get/item/9887

Cal, K. (2006). Skin penetration of terpenes from essential oils and topical vehicles. Planta Medica, 72, 311-316.

Callan, N.W., Johnson, D.L., Westcott, M.P., Welty, L.E. (2007). Herb and oil composition of dill (*Anethum graveolens* L.): effects of crop maturity and plant density. Industrial Crops and Products, 25 (3), 282-287.

Cameroni, M.G. (2012). Ficha del "comino". Cuminum cyminum L. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Subsecretaría de Valor Agregado y Nuevas Tecnologías. http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/ aromaticas /productos/Comino_ 2012_10Oct_11.pdf. Recuperada el 01/07/2019.

Cannon, J.B., Cantrell, C.L., Astatkie, T., Zheljazkov, V.D. (2013). Modification of yield and composition of essential oils by distillation time. Industrial Crops and Products, 41, 214-220.

Cappello, G., Spezzaferro, M., Grossi, L., Manzoli, L., Marzio, L. (2007). Peppermint oil (Mintol®) in the treatment of irritable bowel syndrome: A prospective double blind placebo-controlled randomized trial. Dig. Liver Dis., 39, 530-536.

Cárdenas Castro, E., Riveros Toledo, I., Lugo Vargas, L. (2013). Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales. Entomotropica, 28 (1), 1-10.

Carson, C.F., Hammer, K.A., Riley, T.V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. Clinical Microbiology Reviews., 19, 50-62.

Carson, C.F., Mee, B.J., Riley, T.V. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, 1914–1920.

Castro, L., Deschamps, C., Biasi, L., Scheer, A., Bona, C., Gilkes, R. (2010). Development and essential oil yield and composition of mint chemotypes under nitrogen fertilization and radiation levels. In: Proceedings of the Nineteenth World Congress of Soil Science: Soil Solutions for a Changing World. Symposium 3.3.2 Molecular Biology and Optimizing Crop Nutrition, 1–6 August 2010, Brisbane, Australia.

Cavaleiro, C., Pinto, E., Goncalves, M.J., Salgueiro, L. (2006). Antifungal activity of Juniperus essential oils against dermatophyte, Aspergillus and Candida strains. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 1333-1338.

Ćavar Zeljkovic´, S., Šolic´, M.E., Maksimovic´, M. (2015). Volatiles of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don from Croatia. *Natural Product Research*, 29 (19), 1874-1877.

Celikel, N., Kavas, G. (2008). Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech Journal Food Science*, 26, 174-181.

Charles, S. (2010). Chemistry of Essential Oils. Chapter 5. En K.H.C., Baser and G., Buchbauer, (Eds.). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. United States of America.

Chaubey, M.K. (2008). Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal Oleo Sciences*, 57 (3), 171-179.

Chaubey, M.K. (2011). Fumigant Toxicity of Essential Oils Against Rice Weevil Sitophilus oryzae L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Biological Sciences*, 11 (6), 411-416.

Chaubey, M.K. (2012). Responses of Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae) and Sitophilus oryzae (Coleoptera: Curculionidae) against essential oils and pure compounds. *Herba Polonica Journal*, 58, 33-45.

Chaubey, M.K. (2014). Biological activities of Allium sativum essential oil against pulse beetle, Callosobruchus chinensis (Coleoptera: Bruchidae). *Herba Polonica Journal*, 60, 41-55.

Chaubey, M.K. (2017). Evaluation of Insecticidal Properties of *Cuminum cyminum* and Piper nigrum Essential Oils against *Sitophilus zeamais. Journal of Entomology*, 14 (4), 148-154.

Chaudhary, N., Husain, S.S., Ali, M. (2014 b). Chemical composition and antimicrobial activity of cumin oil (*Cuminum cyminum*, Apiaceae). *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (7), 1428-1441.

Chaudhary, N., Husain, S.S., Ali, M. (2014). New phenolic, triterpenic and steroidal constituents from the fruits of *Cuminum cyminum* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3 (1), 149-154.

Cheng, S.S., Chang, H.T., Wu, C.L., Chang, S.T. (2007). Anti-termitic activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. *Bioresour. Technology*, 98, 456-459.

Choochote, W., Chaithong, U., Kamsuk, K., Jitpakdi, A., Tippawangkosol, P., Tuetun, B., Champakaew, D., Pitasawat, B. (2007). Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. *Fitoterapi*a, 78 (5), 359-364.

Chu, S., Liu, Z., Du, S., Deng, Z. (2012). Chemical composition and insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* of the essential oils derived from *Artemisia giraldii* and *Artemisia subdigitata*. *Molecule*s, 17, 7255-7265.

Clark, L. (1998). Dermal contact repellants for starlings: foot exposure to natural plant products. *Journal of Wilderness Management*, 61 (4), 1352-1358.

Clegg, R.J., Middleton, B., Bell, G.D., White, D.A. (1980). Inhibition of hepatic cholesterol synthesis and S-3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase by mono and bicyclic monoterpenes administered in vivo. *Biochemical Pharmacology Journal*, 29, 2125-2127.

Clemente, S., Mareggiani, G., Broussalis, A., Ferraro, G. (2007). Actividad insecticida de 1,8-cineol sobre mosca de los frutos *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae). *Dominguezia*, 23, 29-34.

Código Alimentario Argentino Actualizado. C.A.A.

Coelho, J., Kohut, B.E., Mankodi, S., Parikh, R., Wu, M.-M. (2000). Essential oils in an antiplaque and antigingivitis dentifrice: A 6-month study. *American Journal of Dentistry*, 13, 5C–10C.

Conti, B., Canale, A., Bertoli, A., Gozzini, F., Pistelli, L. (2010). Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito Aedes albopictus (Diptera: Culicidaae). *Parasitology Research*, 107, 1455-1461.

Copolovici, L., Kännaste, A., Pazouki, L., Niinemets, Ü. (2012). Emissions of green leaf volatiles and terpenoids from *Solanum lycopersicum* are quantitatively related to the severity of cold and heat shock treatments. *Journal of Plant Physiology*, 169 (7), 664-672.

Copolovici, L., Kännaste, A., Remmel, T., Niinemets, Ü. (2014). Volatile organic compound emissions from *Alnus glutinosa* under interacting drought and herbivory stresses. *Environmental and Experimental Botany Journal*, 100, 55–63.

Corell, M., Castillo García, M., Cermeño, P. (2007). Effect of the deficit watering in the production and quality of the essential oil, in the cultivation of *Salvia officinalis* L. *Acta Horticulturae*, 826, 281-288.

Coutinho, D.F., Dias, C.S., Barbosa-Filho, J.M., Agra, M.F., Martins, R.M., Silva, T.M.S., da-Cunha, E.V.L., Silva, M.S., Craveiro, A.A. (2007). Composition and Molluscicidal Activity of the Essential Oil from the Stem Bark of Ocotea bracteosa (Meisn.) Mez. *Journal of Essential Oil Research*, 19, 482-484.

Cowan, M.M., (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 564–582.

Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R., Wyllie, S.G. (2000). The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88, 170-175.

Cristiani, M., D´Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M., Micieli, D., Venuti, V., Bisignano, G., Saija, A., Trombetta, D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oil with model membranes: implications of their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6300-6308.

Curioni, A., Arizio, O. (1997). *Plantas aromáticas y medicinales Umbeliferas: Coriandro, Anís, Comino, Hinojo, Eneldo y Alcaravea (Cultivo, economía y mercado)*. 1ra ed., Buenos Aires, Argentina: Ed. Hemisferio Sur, 148 p.

Czaran, T., Hoekstra, R.F. (2009). Microbial communication, cooperation and cheating: quorum sensing drives the evolution of cooperation in bacteria. PLoS One. 4 (8):e6655.

Da Porto, C., Decorti, D., Kikic, I. (2009). Flavour compounds of Lavandula angustifilia L. to use in fiid manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*, 112, 1072-1078.

Daferera, D., Ziogas, B., Polissiou, G. (2000). GC-MS Analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2576-2581.

Dambolena, J.S., Gallucci, M.N., Luna, A., Gonzalez, S.B., Guerra, P.E., Zunino, M.P. (2016). Composition, Antifungal and Antifumonisin Activity of *Pinus wallichiana*, *Pinus monticola* and *Pinus strobus* Essential Oils from Patagonia Argentina, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19 (7), 1769-1775.

Dambolena, J.S., Meriles, J.M., López, A.G., Gallucci, M.N., González, S.B., Guerra, P.E. Bruno, A., Zunino, M.P. (2011). Actividad antifúngica del aceite esencial de cinco especies de Juniperus de Argentina [Antifungal activities of the essential oil

of five species of Juniperus from Argentina]. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10 (2), 104-115.

Dambolena, J.S., Zunino, M.P., Herrera, J.M., Pizzolitto, R.P., VanessaA.Areco, V.A., Zygadlo, J.A. (2016). Terpenes: Natural Products for Controlling Insects of Importance to Human Health—A Structure-Activity Relationship Study. Review Article. *Hindawi Publishing Corporation Psyche* Volume 2016, Article ID 4595823, doi.org/10.1155/2016/4595823.

Davies, M.J., Atkinson, C.J., Burns, C., Woolley, J.G., Hipps, N.A., Arroo, R.R., Dungey, N., Robinson, T., Brown, P., Flockart, I. (2009). Enhancement of artemisinin concentration and yield in response to optimization of nitrogen and potassium supply to *Artemisia annua*. *Annals of Botany*, 104 (2), 315-323.

De Logu, A., Loy, G., Pellerano, M.L., Bonsignore, L., Schivo, M.L. (2000). Inactivation of HSV-1 and HSV-2 and prevention of cell-tocell virus spread by *Santolina insularis* essential oil. *Antiviral Research Journal*, 48, 177-185.

Dehaghi, M.A., Mollafilabi, A. (2010). Production technology for Cumin (*Cuminum cyminum*) on the basis of research findings. *Acta Horticulturae* (ISHS), 853, 83-92.

Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. and Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fraction of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 74 (1–2), 101-110.

Deletre E., Chandre, F., Williams, L., Duménil, C., Menut, C., Martin, T. (2015). Electro-physiological and behavioral characterization of bioactive compounds of the *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon winterianus*, *Cuminum cyminum* and *Cinnamomum zeylanicum* essential oils against *Anopheles gambiae* and prospects for their use as bednet treatments. *Parasit Vectors*, 8, 316.

Delgado Ospina, J., Grande Tovar, C.D., Menjívar Flores, J.C., Sánchez Orozco, M.S. (2016). Nota científica. Relación entre el índice de refracción y la concentración de timol en aceites esenciales de *Lippia origanoides* Kunth. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science, ex Agro-Ciencia*, 32 (2), 127-133.

Demuner, A.J., Almeida Barbosa, L.C., Gonçalves Magalhaes, C., Da Silva, C.J., Alvares Maltha, C.R., Lelis Pinheiro, A. (2011). Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of Leptospermum (Myrtaceae) grown in Brazil. *Molecules*, 16 (2), 1181-1191.

Derakhshan, S., Sattari, M. Bigdeli, M. (2010). Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid Integrity of *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacognosy Magazine*, 6 (21), 57-61

Derwich, E., Benziane, Z., Chabir, R. (2011). Aromatic and medicinal plants of Morocco: chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Juniperus*

phoenicea. *International Journal of Applied Biologycal and Pharmacautical Technology*, 2 (1), 145-153.

Dethier, V.G. (1956). Repellents. *Annual Review of Entomology*, 1, 181-202.

Dhandapani, S., Subramanian, V.R., Rajagopal, S., Namasivayam, N. (2002). Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacology Research*, 46 (3), 251-255.

Dhouioui, M., Boulila, A., Chaabane, H., Zina, M.S., Casabianca, H. (2016). Seasonal changes in essential oil composition of *Aristolochia longa* L. ssp. paucinervis Batt. (Aristolochiaceae) roots and its antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 83, 301-306.

Di Paola M.M. (?). Un modelo de producción de aromáticas. *Apuntes Agroeconómicos*, Año 4-N° 5. https://www.agro.uba.ar/apuntes/no_5/aromaticas.htm#_ftn1

Di Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D., Mauriello, G. (2007). Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4863-4870.

Di Pasqua, R., Hoskins, N., Betts, G., Mauriello, G. (2006). Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addiction of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2745-2749.

Dimitri, M.J. (1988). *Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería. Descripción de las plantas cultivadas*. 3era ed., Buenos Aires, Argentina. Tomo I, 2: 843-850.

Dipentène ou d,l-Limonène Fiche toxicologique synthétique n° 227 - Edition Mise à jour (2010). Base de données fiches toxicologiques. http://www.inrs.fr/publications /bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_227.

Dirección Nacional de Alimentos (2006): "Informe Sectorial Aromas y Esencias" Nº 6. Marzo 2006. SAGPyA. www.alimentosargentinos.gov.ar.

Divakara Sastry, E.V. y Muthuswamy Anandaraj (2013*). Cumin, Fennel and Fenugreek. Soils, Plant Growth and Crop Production*. ©Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). https://www.pdfsearch.io/donugreek. Acceso 04-02-2019.

Djouahri, A., Boualem, S., Boudarene, L., Baaliouamer, A. (2015). Geographic's variation impact on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils from wood and leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products*, 63, 138-146.

Doohan, FM., Weston, G., Rezanoor, H.N., Parry, D.W., Nicholson, P. (1999). Development and use of a reverse transcription-PCR assay to study expression of

tri5 by Fusarium species in vitro and in planta. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3850-3854.

Doran, J., Bell, G.D. (1979). Gallstone dissolution in man using an essential oil preparation. *British Medical Journal*, 1, 24.

Dorman, H.J.D. y Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agent from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.

dos Santos Sales, V., Monteiro, A.B., de Araújo Delmondes, G., do Nascimento, E.P., de Figuêiredo, F.R.S.D.N., de Souza Rodrigues, C.K., de Lacerda, J.F.E., Fernandes, C.N., de Oliveira Barbosa, M., Brasil, A.X., Tintino, S.R., Vega Gomez, M.C., Coronel, C., Melo Coutinho, H.D., da Costa, J.G.M., Bezerra Felipe, C.F., de Menezes, I.R.A., Kerntopf, M.R. (2018). Antiparasitic Activity and Essential Oil Chemical Analysis of the Piper Tuberculatum Jacq Fruit. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17 (1), 268-275.

Duarte, M.C., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L.G., Delarmelina, C. (2005). Activity of Brazilian medicinal plants. Journal *Ethnopharmacology*, 97, 305-311.

Dudai, N. (2005). Factors affecting content and composition of essential oils in aromatic plants. In: Dris, R. (Ed.), *Crops Growth, Quality and Biotechnology*. WFL Publisher, Helsinki, Finland, 77-90.

Dunford, N.T., Silva-Vázquez, R. (2005). Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions. *Journal of Applied Horticulture*, 7, 20-22.

Duschatzky, C.B., Possetto, M.L., Talarico, L.B., Garcia, C.C., Michis, F., Almeida, N.V., De Lampasona, M.P., Schuff, C., Damonte, E.B. (2005). Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 16, 247-251

Dwivedi, S.K., Dubey, N.K. (1993). Potential use of the essential oil of Trachyspermum ammi against seedborne fungi of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub). *Mycopathologia*, 121 (2), 101-104.

Ebadollahi, A., Mahboubi, M. (2011). Insecticidal Activity of the essential oil isolated from *Azilia eryngioides* (PAU) hedge et lamond against two beetle pests. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71 (3), 406-411.

Ebihara, T., Ebihara, S., Maruyama, M., Kobayashi, M., Itou, A., Arai, H., Sasaki, H. (2006a). A randomised trial of olfactory stimulation using black pepper oil in older people with swallowing dysfunction. *Journal of the American Geriatrics Society*, 54, 1401-1406.

Ebihara, T., Ebihara, S., Watando, A., Okazaki, T., Asada, M., Ohrui, T., Yamaya, M., Arai, H. (2006b). Effects of menthol on the triggering of the swallowing refl ex in

elderly patients with dysphagia. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 62 (3), 369-371. doi:10.1111/j.1365-2125.2006.02666.x

El Bouzidi, L., Jamali, C.A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. *Industrial Crops and Products*, 43, 450-456.doi:10.1016/j.indcrop.2012.07.063

El-Gendy, S., Hosni, A., Omer, E., Sabri, R. (2001). Variation in herbage yield, essential oil yield and oil comosition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) var. Grande Verde grown organically in a newly reclaimed land in Egypt. *Arab Universities Journal of Agricultural Science*, 9, 915-933.

El-Ghorab, A.H., Nauman, M., Anjum, M.F., Hussain, S. and Nadeem, M. (2010). A Comparative Study on Chemical Composition and Antioxidant Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) and Cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8231-8237. doi.org/10.1021/jf101202x

Eliopoulos, G.M., Moellering, R.C. (1991). Antimicrobial combinations. En: V. Lorian (Ed). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Tercera Edición. Williams & Wilkins. Baltimore. 406-432.

Ellis, W.R., Bell, G.D. (1981). Treatment of biliary duct stones with a terpene preparation. *British Medical Journal*, 282, 611.

Ellis, W.R., Bell, G.D., Middleton, B., White, D.A. (1981). An adjunct to bile acid therapy for gallstone dissolution—combination of low dose chenodeoxycholic acid with a terpene preparation. *British Medical Journal*, 1, 611–612.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Valentino, A., Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.

Ellner, F.M. (2005). Results of long-term field studies into the effect of strobilur in containing fungicides on the production of mycotoxins in several winter wheat varieties. *Mycology Research*, 21, 112-115.

El-Said, A.H.M. and El-Hady, G. (2014). Antifungal activities of *Cuminum cyminum* and *Pimpinella anisum* essential oils. *International Journal of Current Microbiology Applied Science*, 3 (3), 937-944.

El-Sawi Salma A., Mohamed M. A. (2002). Cumin herb as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some microelements. *Food Chem*istry, 77, 75-80.

El-Waekil, F., Morsi, M.K.S., Farag, R.S., Shihata, A.A., Badei, A.Z. (1989). *Food Science Technology. Abstr*. 21 (4), 4T32.

El-Zaeddi, H., Calín-Sánchez, Á., Martínez-Tomé, J., Noguera-Artiaga, L., Burló, F., Carbonell-Barrachina, Á.A. (2016). Irrigation dose and plant density affect the essential oil content and sensory quality of parsley (*Petroselinum sativum*). *Scientia Horticulturae,* 206, 1–6.

El-Zemity, S., Rezk, H., Farok, S., Zaitoon, A. (2006). Acaricidal activities of some essential oils and their monoterpenoidal constituents against house dust mite, dermatophagoides pteronyssinus (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Zhejiang University Science B,* 7, 957–962.

Emam, O.A. (2001). The Quality of Cumin Treated with Gamma and Microwave Irradiation. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor Journal*, 39, 1601-1614.

Emongor, V., Chweya, J., Keya, S., Munavu, R. (1990). Effect of nitrogen and phosphorus on the essential oil yield and quality of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) flowers. *East African Agricultural Forestry Journal*, 55 (4), 261–264.

Enan, E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: *Toxicology & Pharmacology*, 130 (3), 325-337.

Enan, E.E. (2005). Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 59, 161-171.

Engelstein, D., Kahan, E. and Servadio, C. (1992). Rowatinex for the treatment of ureterolithiasis. *Journal d'Urologie*, 98, 98–100.

Enshaieh, S., Jooya, A., Hossein Siadat, A., Iraji, F. (2007). The efficacy of 5% topical tea tree oil gel in mild to moderate acne vulgaris: A randomized, double-blind placebo-controlled study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 73 (1), 22-5.

Essential Oils Academy. (2010). *History of essential oils*. Recuperado de https://essentialoilsacademy.com/history/

Europian Food Safety Authority, (¿?, b). http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/ doc/ 1733.pdf).

Europian Food Safety Authority, (¿?, a). http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/ doc /070828. pdf

Evans, P. (1980). Biogenic amines in the insect nervous system. *Advances in Insect Physiology,* 15, 317-473.

Fakoor, M.H.; Rasooli, I. (2008). Pathogen control by antioxidative characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Acta Horticulturae*, 786, 125-136.

FAO, 1974. Boletín Fitosanitario de la FAO. Método provisional para gorgojos adultos importantes en cereales almacenados con malation o lindano. *Método Nº 15 de la FAO*, 22, 127-137.

Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Baroty, G.S.A. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52 (9), 665-667.

Farhath, K., Sudarshanakrishna, K.R., Semwal, A.D., Vishwanathan, K.R. (2001). Proximate Composition and Mineral Contents of Spices. *Indian Journal of Nutrition and Dietetics*, 38, 93-97.

Filipson, A.F. (1996). Short term inhalation exposure to turpentine: toxicokinetics and acute effects in men. *Occupational and Environmental Medicine*, 53, 100-5.

Filiptsova, O.V., Gazzavi-Rogozina, L.V., Timoshyna, I.A., Naboka, O.I., Dyomina, Ye.V., Ochkur, A.V. (2018). The effect of the essential oils of lavender and rosemary on the human short-term memory. *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 41–44.

Fincke A., Maurer R. (1974). Verhalten von Citronenöl bei der Herstellung und Lagerung citronenölhaltiger Zuckerwaren. 2. Mitteilung: Lager- und Herstellungsversuche. Dtsch Lebensm Rdsch 70:100–4.

Fine, D.H., Markowitz, K., Furgang, D., Goldsmith, D., Ricci-Nittel, D., Charles, C.H., Peng, P., Lynch, M.C. (2007). Effect of rinsing with an essential oil-containing mouthrinse on subgingival periodontopathogens. *Journal of Periodontology*, 78, 1935–1942.

Formisano, C., Delfine, S., Oliviero, F., Tenore, G.C., Rigano, D., Senatore, F. (2015). Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). *Industrial Crops and Products Journal*, 63, 256–263.

Franzios, G., Mirotsou, M., Hatziapostolou, E., Kral, J., Scouras, Z.G., Mavragani-Tsipidou, P. (1997). Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *Journal of Agricultual and Food Chemistry*, 45, 2690–2694.

Fuentes S., Romero E., Quiroga V. (2008). Rendimiento y composición química del aceite esencial de comino de Sumalao. R. *Aportes a la Ciencias Químicas*, 1 (1-2), 121-129.

Fukumoto, L.R., Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3597–3604.

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosemarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102 (3), 898–904.

Galvez, C.E., Jimenez, C.M., Gomez, A.de los A., Lizarraga, E.F., Sampietro, D.A. (2018). Chemical composition and antifungal activity of essential oils from *Senecio nutans*, *Senecio viridis*, *Tagetes terniflora* and *Aloysia gratissima* against toxigenic Aspergillus and Fusarium species, *Natural Product Research*, doi: 10.1080/14786419.2018.1511555.

García, R.M. (2005). *Agentes bactericidas / bacteriostáticos a partir de sorbato de potasio, carvacrol y timol*. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas Puebla, México.

Gazim, Z.C., Amorim, A.C.L., Hovell, A.M.C., Rezende, C.M., Nascimento, I.A., Ferreira, G.A., Cortez, D.A.G. (2010). Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. *Molecules*, 15 (8), 5509–5524.

Gerhardt, U. (1975). *Especias y Condimentos*, Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Ghani, A., Saharkhiz, M., Hassanzadeh, M., Msaada, K. (2009). Changes in the essential oil content and chemical compositions of *Echinophora platyloba* DC. during three different growth and developmental stages. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12 (2), 162–171.

Gilligan, N.P. (2005). The palliation of nausea in hospice and palliative care patients with essential oils of *Pimpinella anisum* (aniseed), *Foeniculum vulgare* var. dulce (sweet fennel), *Anthemis nobilis* (Roman chamomile) and *Mentha piperita* (peppermint). *International Journal Aromatherapy*, 15, 163–167.

Gillij, Y., Gleiser, R., Zygadlo, J. (2008). Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology*, 99, 2507-2515.

Giraud-Robert, A.M. (2005). The role of aromatherapy in the treatment of viral hepatitis *International Journal of Aromatherapy*, 15, 183–192.

Göbel, H., Schmidt, G., Dworschak, M., Stolze, H., Heuss, D. (1995a.). Essential plant oils and headache mechanisms. *Phytomedicine*, 2 (2), 93–102.

Goerg, K.J., Spilker, T. (1996). Simultane sonographische Messung der Magen-und Gallenblasenentleerung mit gleichzeitiger Bestimmung der orozökalen Transitzeit

mittels H2-Atemtest. In: *Phytopharmaka II*, D. Low and N. Rietbrock, eds. Forschung und klinische Anwendung. Damstadt: Steinkopff.

Goerg, K.J., Spilker, T. (2003). Effect of peppermint oil and caraway oil on gastrointestinal motility in healthy volunteers: A pharmacodynamic study using simultaneous determination of gastric and gallbladder emptying and orocaecal transit time. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 17, 445–451.

Gohari, A.R., and Saeidnia, S.A. (2011). Review on phytochemistry of *Cuminum cyminum* seeds and its standards from field to market. *Pharmacognosy Journal*, 3 (25), 1-5.

Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapor phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116, 982-989.

Gopalan, C., Rama Sastri, B.V., Balasubramanian, S.C. (1989). Nutritive Value of Indian Foods. *National Institute of Nutrition, ICMR, Hyderabad*, 59-93.

Gopanraj, G., Dan, M., Shiburaj, S., Sethuraman, M.G., George, V. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of rhizome oil of *Hedychium larsenii*. *Acta Pharmaceutica*, 55, 315-320.

Gordon, W.P., Forte, A.J., Mac Murtry, R.J., Gal, J., Nelson, S.D. (1982). Hepatotoxicity and pulmonary toxicity of Pennyroyal oil and its constituent terpenes in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 65, 413-24.

Gouin, S., Patel, H. (1996). Unusual cause of seizure. Pediatr Emerg Care 1996; 12: 298-300.

Grant, D.W. (1996). Capillary Gas Chromatography. Chichester: John Wiley & Sons.

Gray, D., Ward, J.A., Steckel, J.R.A. (1984). Endosperm and embryo development in Daucus carota L. *Journal of Experimental Botany, Oxford*, 35 (153), 459-465.

Greenway, F.L., Frome, B.M., Engels, T.M., McLellan, A. (2003). Temporary relief of postherpetic neuralgia pain with topical geranium oil [letter]. *The American Journa of Medicine*, 115, 586–587.

Grigoleit, H.G., Grigoleit, P. (2005). Peppermint oil in irritable bowel syndrome. *Phytomedicine*, 12, 601–606.

Grob, R.L. (1995*). Moderm Practice of Gas Chromatography*. New York: John Wiley & Sons.

Grosch, W. (2007). Key odorants of food identified by aroma analysis. In: Ziegler H, editor. *Flavourings*. 2nd ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH. p 704–43.

Grundy, D., Still, C. (1985). Inhibition of acetylcholinesterase by pulegone 1, 2-epoxide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 23, 383-388.

Guan, W., Li, S., Yan, R., Thang, S., Quan, C. (2007). Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbón dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101, 1558-1564.

Güenther E. (1948). *The Essential Oils*. Printed in The United States Of America by Lancaster Press, Inc., Lancaster, PA. Vol. 1, London.

Güenther, E. (1972). *The Essential Oils*—Vol. 1: History—Origin in Plants Production—Analysis, reprint of 1st ed. (1948). Florida: Krieger Publishing Company.

Gunstone, F.D. (1967). *An introduction to the chemistry and biochemistry of fatty acids and their glycerides*. 2nd edition, Chapman and Hall, 11. New Fette Lane BC.

Gurusaravanan, P., Pandiyarajan, V., Jayabalan, N. (2010). Effect of the seaweed liquid fertilizer on growth and productivity of Vigna radiata (L.) Wilczek. *Green Farm*, 1 (2), 138–140.

Gustafson, J.E., Liew, Y.C., Chew, S., Markham, J.L., Bell, H.C., Wyllie, S.G., Warmington, J.R. (1998). Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiol*, 26, 194–198.

Gutiérrez, M.C., Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Identificación de compuestos volátiles por CG-MS. Boletín INTEXTER (U.P.C.) 2002. Nº 122

Haddi, K., Faroni, L., Oliveira E. (2017). Cinnamon Oil. https://www.researchgate.net/publication/317752931. Consultada 12/12/2018.

Hadian, J., Ghasemnezhad, M., Ranjbar, H., Frazane, M., Ghorbanpour. M. (2008). Antifungal potency of some essential oils in control of postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 11(5), 553-562.

Hajlaoui H., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R., Bakhrouf A. (2010). Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against Vibrio spp. Strains. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2186–2192.

Hamad, O., Al-Obaidi, S., Ezzat, M.O., Mordi, M.N. (2012). Isolation and Biological Activity Study of Some Active Substances and Elements Quantification of the Water, Alcoholic and Oil Extracts of *Cuminum cyminum*. *Science International (Lahore)*, 24, 27-29.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV. (2004). Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and

Saccharomyces cerevisiae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 1081-1085.

Hammer, K.A., Carson, C.F. (2011). *Antibacterial and antifungal activities of essential oils.* John Wiley and Sons, Chichester, (pp. 255–306).

Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (2002). In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against dermatophytes snd other filamentous fungi. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50, 195-199.

Han, S.-H., Hur, M.-H., Buckle, J., Choi, J., Lee, M.S. (2006). Effect of aromatherapy on symptoms of dysmenorrhea in college students: A randomised placebo-controlled clinical trial. *Journal of Alternative and Complementary Med*icine, 12, 535–541.

Hao, C.-W., Lai, W.-S., Ho, C.-T., Sheen, L.-Y. (2013). Antidepressant-like effect of lemon essential oil is through a modulation in the levels of norepinephrine, dopamine, and serotonin in mice: Use of the tail suspension test. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 370–379. doi:10.1016/j.jff.2012.11.008

Harris, R. (2002). Progress with superficial mycoses using essential oils. *International Journal of Aromatherapy*, 12, 83-91.

Hashem, M., Moharam, A.M., Zaied, A.A., Saleh, F.E.M. (2010). Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. *Crop Protection*, 29, 1111-1117.

Hashemian, N., Pirbalouti, A.G., Hashemi, M., Golparvar, A., Hamedi, B. (2013) Diversity in Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Diverse from Northeast of Iran. *Australian Journal of Crop Sciences*, 7, 1752-1760.

Hashum, F., Al-Hashemi, Y. (2014). Chromatographic separation and identification of some volatile oils, organic acids and phenols from the seeds of *Cuminum cyminum* growing in Iraq. *IJRRAS*. 19(1), 80-90.

Hassanpouraghdam, M., Gohari, G., Tabatabaei, S., Dadpour, M., Shirdel, M. (2011). NaCl salinity and Zn foliar application influence essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Acta Agriculturae Slovenica*, 97 (2), 93.

Hay, R.K.M.; Svoboda, K.P. (1993). In Hay R.K.M, Waterman, P.G. editors. *Volatile Oil Crops: their Biology, Biochemistry and Production*. Longman Scientific & Technical, Harlow, UK; p. 5-22.

Hayashi, K., Kamiya, M., Hayashi, T. (1995). Virucidal effects of steam distillate from *Houttuynia cordata* and its components on HSV-1, influenza virus, and HIV. *Planta Medica*, 61,237-241.

Hayes, A.J., Markovic, B. (2003). Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (lemon myrtle). Part 2. Absorption and histopathology following application to human skin. Food and Chemical Toxicology, 41, 1409-16.

Hayward, D., Wong, J. (2009). Organohalogen and Organophosphorous Pesticide Method for Ginseng Roots A Comparison of Gas Chromatography-Single Quadrupole Mass Spectrometry with High Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 81, 5716-5723.

Heidari Zolleh, H., Bahraminejad, S., Maleki, G. and Papzan, A.H. (2009). Response of cumin (*Cuminum cyminum* L.) to sowing date and plant density. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(4), 597-602.

Helander, I. M., Alakomi, H-L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I. Smid, E. J., Gorris, L. G. M. y Wright, A. V. (1998) Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3590-3595.

Hendawy, S.F., Khalid, K.A. (2011). Effect of chemical and organic fertilizers on yield and essential oil of chamomile flower heads. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5 (1), 43–48.

Hierro, I., Valero, A., Pérez, P., González, P., Cabo, M.M., Montilla, M.P., Navarro, M.C. (2004). Action of different monoterpenic compounds against *Anisakis simplex* s.I. L3 larvae. *Phytomedicine*, 11, 77-82.

Hoet, S., Stevigny, C., Herent, M.F., Quetin-Leclercq, J. (2006). Antitrypanosomal compounds from leaf essential oil of Strychnos spinosa. *Planta Medica*, 72, 480-482.

Hold, K.M., Sirisoma, N.S., Ikeda, T., Narahashi, T., Casida, J.E. (2000). α-Thujone (the active component of absinthe): g-aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. *Proceedings of the National Academy of Science*, 97(8), 3826–3831.

Holley, R. y Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essentials oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22, 273-292.

Holtmann, G., Haag, S., Adam, B., Funk, P., Wieland, V., Heydenreich, C.-J. (2003). Effects of a fi xed combination of peppermint oil and caraway oil on symptoms and quality of life in patients suffering from functional dyspepsia. *Phytomedicine*, 10, 56–57.

Hong, Y. K., Foreman, K., Shin, J. W., Hirakawa, S., Curry, C. L., Sage, D. R., Libermann, T., Dezube, B. J., Fingeroth, J. D., Detmar, M. (2004). Lymphatic reprogramming of blood vascular endothelium by Kaposi sarcoma-associated herpesvirus. *Nature Genetics*, 36, 683-685.

Hordinsky B.Z., Hordinsky, W. (1979). Rowachol—its use in hyperlipidemia. *Arch. Arzneither*, 1, 45–51.

Horváth, G., Szabó, L. G., Héthelyi, É., Lemberkovics, É. (2006). Essential Oil Composition of Three Cultivated Thymus Chemotypes from Hungary. *Journal of Essential Oil Research*, 18(3), 315–317. doi:10.1080/10412905.2006.9699101.

Houghton P., Ren, Y., Howes, M. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*, 23, 181-199.

Hu, L., Chen, C., Yi, X., Feng, J., Zhang, X. (2008). Inhibition of p-isopropyl benzaldehyde and p-isopropyl benzoic acid extracted from *Cuminum cyminum* against plant pathogens. *Acta Botanica Boreali Occidentalia Sinica*, 28(11), 2349-2354.

Huang, B., Wang, G., Chu, Z., Qin, L. (2012). Effect of oven drying, microwave drying, and silica gel drying methods on the volatile components of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by HS-SPME-GC-MS. *Drying Technology*, 30 (3), 248–255.

Huang, Y., Hee, S., Ho, S. (1998). Antifeedant and growth inhibitory effects of α-pinene on the stored-product insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *International Pest Control*. 40, 18-20.

Hunter, M. (2009). *Essential Oils: Art, Agriculture, Science, Industry and Entrepreneurship: a Focus on the Asia-pacific Region*. Nova Science Publishers, Hauppauge, NY.

Hüsnü Can Baser, K., Demirci, B., Iscan, G., Hashimoto, T., Demirci, F., Norma, Y., Asakawa, Y. (2006). The essential oil constituents and antimicrobial activity of *Anthemis aciphylla* BOISS. var. discoidea BOISS. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, (Tokyo). 54, 222-225.

Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H., Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108 (3), 986–995.

Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, L.R. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1-12.

Iacobellis, N. S., Lo Cantore, P., Capasso, F., Senatore, F. (2005). Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 53(1), 57-61.

Igimi, H., Histasugo, T., Nishimura, M. (1976). The use of d-limonene preparation as a dissolving agent of gallstones. *The American Journal Digestive Diseases,* 21, 926–939.

Igimi, H., Tamura, R., Toraishi, K., Yamamoto, F., Kataoka, A., Ikejiri, Y., Hisatsugu, T., Shimura, H. (1991). Medical dissolution of gallstones. Clinical experience of d-limonene as a simple, safe and effective solvent. *Digestive Diseases and Science*, 36, 329–332.

Inouye, S. (2003). Laboratory evaluation of gaseous essential oil (Part 1). *International Journal of Aromatherapy*, 13, 95-107.

Inouye, S., Takizawa, T., Yamaguchi, H. (2001). Antibacterial activity of essential oil and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47, 565-573.

Inouye, S., Uchida, K., Maruyama, N., Yamaguchi, H., Abe, S. (2006). A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. *Japanese Journal of Medical Mycology*, 47, 91-98.

INTA, 2011. http://intainforma.inta.gov.ar/?p=5520.

Ipek, E., H. Zeytinoglu, S. Okay, B. A. Tuylu, M. Kurkcuoglu, K. H. C. Baser (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/ microsomal test. *Food Chemistry*, 93, 551-556.

IRAM 15 501. Sistema de Muestreo para la inspeccion por atributos.

IRAM-SAIPA Nº 18 504:2002. Productos aromatizantes. Determinación de la densidad relativa a 20 °C. Métodos de referencia.

IRAM-SAIPA Nº 18 505:2002. Productos aromatizantes. Determinación del índice de refracción.

IRAM-SAIPA Nº 18 571:1990. Productos aromatizantes: Aceite de comino.

Ishikawa, T., Takayanagi, T., Kitazima, J. (2002). Water-soluble constituents of cumin: Monoterpenoid glucosides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50,1471–1478.

Islam, M. T., da Mata, A. M. O. F., de Aguiar, R. P. S., Paz, M. F. C. J., de Alencar, M. V. O. B., Ferreira, P. M. P., de Carvalho Melo-Cavalcante, A. A. (2016). Therapeutic Potential of Essential Oils Focusing on Diterpenes. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1420–1444. doi:10.1002/ptr.5652

Isman, M. (1999). Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide Outlook*, 10, 68-72.

Isman, M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19, 603–608.

Isman, MB. (2005). Problems and opportunities for the commercialization of botanical insecticides. In: Regnault-Roger C, Philoge` ne BJR, Vincent C, editors. *Biopesticides of plant origin* QA :1. Paris, France: Lavoisier, pp. 283–291.

ISO 6465:2009. Spices. Cumin (*Cuminum cyminum* L.). Specification.

ISO 6571:2008. Spices, condiments and herbs. Determination of volatile oil contente (hydrodistillation method).

ISO 6579. Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Método horizontal para la detección de *Salmonela spp*.

ISO 9235:2013 (en). Aromatic natural raw materials — Vocabulary. https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:en:term:2.11. Consultada el 17/01/2019.

ISO 927. Especias y condimentos. Determinación de contenido de materias extrañas.

ISO 9301:2003. Oil of cumin seed (*Cuminum cyminum* L.)

ISO 939:1980. Spices and condiments -- Determination of moisture contente – Entrainment method.

ISO/DIS 9235.2: 1997. Aromatic Natural Raw Materials—Vocabulary. Geneva: International Standard Organisation.

Iyer, S., Thomas R.R., Portell, F.R., Dunham, L.D., Quigley, C.K., Bennet, J.P., Jr. (2009). Recombinant mitochondrial transcription factor A with N-terminal michotondrial transduction domain increases respiration and mitocondrial gene expression. *Mitochondrion*, 9, 196-203.

Jahromi, B.N., Tartifi zadeh A., Khabnadideh, S. (2003). Comparison of fennel and mefenamic acid for the treatment of primary dysmenorrhea. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 80, 153–157.

Jain, R.K., Bal, S. (1997). Physical properties of pearl millet. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 66(2), 85-91.

Jalali-Heravi M., Zekavat, B. Sereshti, H. (2007). Use of gas chromatography-mass spectrometry combined with resolution methods to characterize the essential oil components of Iranian cumin and caraway. *Journal of Chromatography A.* 1143, 215-226.

Jamali, C.A., Kasrati, A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A. (2014). Cultivation and the application of inorganic fertilizer modifies essential oil composition in two Moroccan species of *Thymus*. *Industrial Crops and Products*, 62, 113–118.

Janahmadi, M., Niazi, F., Danyali, S., Kamalinejad, M. (2006). Effects of the fruit essential oil of *Cuminum cyminum* Linn. (Apiaceae) on pentylenetetrazol induced epileptiform activity in F1 neurones of Helix aspersa. *Journal of Ethnopharmacology,* 104, 278-282.

Jaramillo, B. E., Duarte, E., Delgado, W. (2012). Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(1), 54-64.

Jassim, S.A., Naji, M.A. (2003). Novel antiviral agents: A medicinal plant perspective. *Journal of Appied Microbiology*, 95, 412-427.

Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A.S., Georgiev, E.V., Stanka, T., Damianova, S.T. (2005). Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds from Bulgaria that had been stored for up to 36 years. *International Journal of Food Science and Technology,* 40, 305–310. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00915.x.

Juliano, C., Mattana, A., Usai, M. (2000). Composition an in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-baroma* Loisel growing wild in Sardinia. *Journal of Essential Oil Ressearch*, 12, 516-522.

Jurado, M., Marín, P., Magan, N., González-Jaén, M.T. (2008). Relationship between solute and matric potential stress, temperature, growth and FUM1 gene expression in two *Fusarium verticillioides* strains from Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 2032-2036. doi:10.1128/AEM.02337-07.

Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., Weissolowics, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oils and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*, 76, 626-631.

Kaanta, B.; Chen, H., Zhang, X. (2010). A Monolithically Fabricated Gas Chromatography Separation Column with an Integrated High Sensitivity Thermal Conductivity Detector. *Journal of Micromechanics Microengineering*, 20(5), 1-6.

Kafi, M. (2002). *Cumin (Cuminum cyminum) Production and Processing*. Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad.

Kafi, M.; Rashed Mohassel, M.H.; Koocheki, A., Nassiri, M. (2006). *Cumin (Cuminum cyminum L.) Production and processing*. United States of America, Science Publishers, 168 p.

Karamanos, A.J., Sotiropoulou, D.E. (2013). Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. hirtum (Link) letswaart) essential oil during two cultivation seasons. *Industrial Crops and Products*, 46, 246–252.

Karamzadeh, S., (2003). Drought and production of second metabolites in medicinal and aromatic plants. *Drought Journal*, 7, 90–95.

Karbin, S., Rad, A.B., Arouiee, H., Jafarn, S. (2009). Antifungal activities of the essential oils on post-harvest disease agent *Aspergillus flavus*. *Advances in Environmental Biology*, 3(3), 219-225.

Kedia, A., Prakash, B., Mishra, P.K., Dubey, N.K. (2014). Antifungal and antiaflatoxigenic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities. *International Journal of Food Microbiology*, 168-169, 1-7.

Keefover-Ring, K., Thompson, J.D., Linhart, Y.B. (2009). Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, 24(3), 117–122.

Kenia, P., Houghton, T. and Beardsmore, C. (2008). Does inhaling menthol affect nasal patency or cough? *Pediatric Pulmonology,* 43, 532–537.

Khazaie, H.R., Nadjafi, F., Bannayan, M. (2008). Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (*Thymus vulgaris*) and hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Industrial Crops Products*, 27 (3), 315–321.

Khorshidi, N., Ostad, S.N., Mopsaddegh, M., Soodi, M. (2003). Clinical effects of fennel essential oil on primary dysmenorrhea. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 89–93.

Khosravi, A.R., Eslami, A.R., Shokri, H., Kashanian, M. (2008). *Zataria multiflora* cream for the treatment of acute vaginal candidiasis. *International Journal of Gynecology & Obstet*rics, 101, 201–202.

Khosravi, A.R., Shokri, H., Minooeianhaghighi, M. (2011). Inhibition of aflatoxin production and growth of Aspergillus parasiticus by *Cuminum cyminum*, *Ziziphora clinopodioides,* and *Nigella sativa* essential oils. *Foodborne Pathogens and Disease,* 8(12), 1275-1280.

Khosravi, A.R., Shokri, H., Mokhtari, A.R. (2015). Efficacy of *Cuminum cyminum* essential oil on FUM1 gene expression of fumonisin-producing *Fusarium verticillioides* strains. *Avicenna Journal of Phytomedicine,* 5(1), 34-42.

Kim, J.T., Ren, C.J., Fielding, G.A., Pitti, A., Kasumi, T., Wajda, M., Lebovits, A., Bekker, A. (2007). Treatment with lavender aromatherapy in the post-anaesthesia care unit reduces opioid requirements of morbidly obese patients undergoing laparoscopic adjustable gastric banding. *Obesity Surgery*, 17, 920-925.

Kim, J.T., Wadja, M., Cuff, G., Serota, D., Schlame, M., Axelrod, D.M., Guth, A.A., Bekker, A.Y. (2006). Evaluation of aromatherapy in treating postoperative pain: Pilot study. *Pain Practice*, 6, 273-277.

Kim, S-W., Kang, J., Park, I-K. (2013). Fumigant toxicity of Apiaceae essential oils and their constituents against *Sitophilus oryzae* and their acetilcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 16, 443-448.

Kirov, M., Burkova, T., Kapurdov, V. and Spasovski, M. (1988). Rose oil. Lipotropic effect in modelled fatty dystrophy of the liver. *Medicine and Biology Information*, 3, 18–22.

Knio, K.M., Usta, J., Dagher, S., Zournajian, H., Kreydiyyeh, S. (2007). Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito *Ochlerotatus caspius*. *Bioresourse Technology,* 99, 763-768.

Knobloch, K.A., Pauli, A., Iberl, B.H., Weigand, H., Weis, N. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, 1, 119-189.

Konstantinova, L., Kirov, M., Petrova, M., Ortova, M., Marinova, V. (1988). Girosital. Continuous administration in hyperlipoproteinemia and chronic alcoholic lesions. *Medicine and Biology Information*, 3, 35–38.

Koocheki, A., Razavi, S.M.A., Milani, E., Moghadam, T.M., Abedini, M., Alamatiyan, S., Izadkhah. S. (2007). Physical properties of watermelon seed as a function of moisture content and variety. *International Agrophysics*, 21(4), 349-359.

Koroch, A., Juliani, H.R., Zygadlo, J.A. (2007). Chapter 5. Bioactivity of essential oils and their components. En R. G. Berger (Ed.), *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (pp. 87-115). Berlin, Alemania: Springer-Verlag.

Kosalec, I., Pepeljnjak, S., Kstrak, D. (2005). Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharmaceutica,* 55, 377-385.

Kostyukovsky, M., Rafaeli, A, Gileadi, C., Demchenko, N., Shaaya, E. (2002). Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science*, 58, 1101-1106.

Koul, O., Walia, S., Dhaliwal, G.S. (2008). Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopesticides International*, 4(1), 63–84.

Kounink, H., Hance, T., Noudjou, F.A., Lognay, G., Malaisse, F., Ngassoum, M.B., Mapongmetsem, P.M., Ngamo, L.S.T., Haubruge, E. (2007). Toxicity of some terpenoids of essential oils of *Xylopia aethiopica* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Journal of Applied Entomology*, 131, 269-274.

Koutsoudaki, C., Krsek, M., Rodger, A. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. chia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7681–7685.

Kovàts, E. (1958). Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Helvetica Chimica Acta*, 41, 1915-1932.

Kovàts, E. (1965). Gas Chromatographic Characterization of Organic Substances in the Retention Index System. *Advances in Chromatography*, 1, 229-247.

Kubeczka K-H. (1979). Possibilities of quality determination of essential oils which are used in medicine. In: K. H. Kubeczka (Ed.), *Vorkommen und Analytik ätherischer Öle* (pp. 60-71). Stuttgart, Germany: Thieme.

Kubeczka K-H. (1993). Möglichkeiten und Grenzen der Qualitätsbeurteilung arzneilich verwendeter ätherischer Öle. In: R. Carle (Ed.), *Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit* (pp.85-102). Stuttgart, Germany: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.

Kumar, A., Baitha, U., Aggarwal, P., Jamshed, N. (2016). A fatal case of menthol poisoning. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 6, 137-9.

Kumar, R., Sharma, S., Sharma, S., Kumar, N. (2016). Drying methods and distillation time affects essential oil content and chemical compositions of *Acorus calamus* L. in the western Himalayas. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(3), 136–141.

Lake, B. (1999). Synthesis & pharmacological investigation of 4- hydroxy coumarin derivatives & shown as anti-coagulant. *Food and Chemical Toxicology*, 3, 412-423

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., Nychas, G.J.E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 453-462.

Lamy, J. (1967). Essais cliniques de dérivés terpeniques en therapeutique hépato-biliare. L'Information Therapeutique., 5: 39–45.

Laribi, B., Kouki, K., Bettaieb, T., Mougou, A., Marzouk, B. (2013). Essential oils and fatty acids composition of Tunisian, German and Egyptian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes: a comparative study. Industrial Crops and Products, 41, 312–318.

Laribie`re, A., Miremont-Salame´, G., Bertrand, S. (2005). Terpènes dans les cosmétiques: 2 cas d'épilepsie. *Therapie*, 60, 607-9.

Lashgari, A., Mashayekhi, S., Javadzadeh, M., Rasoul Marzban, R. (2014). Effect of Mentha piperita and *Cuminum cyminum* essential oil on *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae. Archives of Phytopathology And Plant Protection*, 47,3, 324-329.

Laurent, D., Vilaseca, L., Chantraine J. (1997). Insecticidal activity of essential oils on Triatoma infestans. *Phytoterapy Research*, 11, 285-290.

Lawrence, B.M. (1985). A review of the world production of essential oils. *Perfumer Flavorist*, 10(5), 1.

Lawrence, B.M. (2002). From the sensation to the synthesis. En S. Kad (Ed.). *Advances in Flavours and Fragrances* (Special Publication 277) (pp.57–83). Cambridge: Royal Society of Chemistry.

De la sensación a la síntesis. En en Avances en sabores y fragancias (Publicación especial 277), ed. por Swift KAD. Real Sociedad de Química, Cambridge, pp.57–83.

Le Faou, M., Beghe, T., Bourguignon, E., Tos, S., Dupre, T., Saunier, M., Scaravelli, J. (2005). The effects of the application of Dermasport plus Solution Cryo in physiotherapy. *International Journal of Aromatherapy*, 15(3), 123–128. doi:10.1016/j.ijat.2005.03.015.

Lee, B.H., Annis, P.C., Tumaalii, F., Choi, W. (2004). Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1-8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40, 553-564.

Lee, BH., Choi, WS., Lee, SE., Park, BS. (2001). Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*, 20, 317–320.

Lee, C.B., Ha, U-S., Lee, S.J., Kim, S.W., Cho, Y.-H. (2006). Preliminary experience with a terpene mixture versus ibuprofen for treatment of category III chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *World Journal of Urology*, 24, 55–60.

Lee, H. (2005). Cuminaldehyde: aldose reductase and α-glucosidase inhibitor derived from *Cuminum cyminum* L. seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (7), 2446-2450.

Lee, S., Peterson, C.J., Coats, J.R. (2003). Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *Journal Stored Products Research*, 39, 77-85.

Lee, S.J., Han, J.I., Lee, G.S., Park, M.J., Choi, I.G., Na, K.J., Jeung, E.B. (2007b). Antifungal effect of eugenol and nerolidol against *Microsporum gypseum* in a guinea pig model. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30, 184-188.

León, R. (2002). *Espectro de acción de mezclas ternarias de agentes antimicrobianos*. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas Puebla. México.

Leopold, J., Buchbauer, G., Stoyanova, A.S., Georgiev, E.V., Damianova, S.T. (2005). Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds from Bulgaria that had been stored for up to 36 years. *International Journal of Food Science & Technology*, 40(3), 305-310.

Lewis K. (2007). Persister cells, dormancy and infectious disease. Nature Reviews Microbiology, 5(1), 48-56.

Lewis, C.; Hamilton, J.; Rhodes, C.; Halliday, J.; Bartle, K.; Homewood, P.; Grenfell, R.; Goodye, B.; Harlinge, A.; Brewer, P.; Varghae, G., Milton, M. (2010). Microfabricated Planar Glass Gas Chromatography with Photoionization Detection. *Journal of Chromatography A*, 1217, 768-774.

Leyva, M., Marquetti, M. del C., Tacoronte, J.E., Scull, R., Tiomno, O., Mesa, A., Montada, D. (2009). Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Revista Biomedica,* 20(1), 5-13.

Leyva, M., Tacoronte J.E., Marquetti, M.C., Scull R., Montada, D., Rodríguez, Y., Bruzón, R.Y. (2008). Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas en larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 60, 78-82.

Li, R., y Jiang, Z.-T. (2004). Chemical composition of the essential oil *Cuminum cyminum* L. from China. *Flavour and Fragance Journal*, 19, 311-313.

Liu, C.H., Mishra, A.K., Tan, R.X., Tang, C., Yang, H., Shen, Y.F. (2006). Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effects on seed germination of wheat and broad bean. *Bioresour Technology*, 97, 1969–1973.

López Belchi, M.D. (2008). *Toxicidad volátil de monoterpenoides y mecanismos bioquímicos en insectos plaga del arroz almacenado*. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.

Lopez, M.D., Campoy, F.J., Pascual-Villalobos, M.J., Munoz-Delgado, E., Vidal, C.J. (2015). Acetylcholinesterase activity of electric eel is increased or decreased by selected monoterpenoids and phenylpropanoids in a concentration-dependent manner. *Chemico-Biological Interactions*, 229, 36-43.

López, M.D., Pascual-Villalobos, M.J. (2010). Mode in inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implication for pest control. *Industrial Crops and Products*, 31, 284-288.

López, P., Sánchez, C., Battle, R., Nerin, C. (2005). Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacteria and fungal strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 6939-6946.

López, P., Sánchez, C., Battle, R., Nerin, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4348-4356.

Lorca, M.A., Fernández Rocca, P., Faundez Curiante, B., Zagal Montecinos, A.M., Gordon Martí, J., Valenzuela Zambrano, B. (2011). Fitoaromaterapia como complemento para mejorar la salud laboral. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(3). *Versión on-line*, disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000300008

Lucia, A., Audino, P.G., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., Masuh, H. (2007). Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(3), 299– 303.

Maganga, M.E., Gries, G., Gries, R. (1996). Repellency of various oils and pine oil constituents to house flies (Diptera: Muscidae). *Environmental Entomology*, 25, 1182–1187.

Mahmoudabadi, A.Z., Dabbagh, M.A., Fouladi, Z. (2006). In vitro anti-candida activity of *Zataria multiflora* Boiss. *Evidence Based Complementary Alternative Medicine*, 4, 351–353.

Mahmoudi, H., Rahnama, K., Arabkhani, M.A. (2010). Antibacterial effect essential oil and extracts of medicinal plant on the causal agents of bacterial canker and leaf spot on the stone fruit tree. *Journal of Medicinal Plants*, 9(36), 34-42.

Mann, A. (2011). Biopotency role of culinary spices and herbs and their chemical constituents in health and commonly used spices in Nigerian dishes and snacks. *African Journal of Food Science*, 5 (3), 111-124

Manohar, V., Ingram, C., Gray, J., Talpur, N.A., Echard, B.W., Bagchi, D., Preuss, H.G. (2001). Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and Cellular Biochemistry,* 228, 111-118.

Mansoori, P., Hadjiakhondi, A., Ghavami, R., Shafiee, A. (2002). Clinical evaluation of *Zataria multiflora* essential oil mouthwash in the management of recurrent aphthous stomatitis. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences,* 10, 74–77.

Mansouri, A., Mirzabe, A.H., Raúfi, A. (2017). Physical properties and mathematical modeling melón (*Cucumis melo* L.) sedes and kernels. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences,* 16, 218-226.

Manuel, V., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A. (2008). Antibacterial activity of different essential oils obtained from spices widely used in Mediterranean diet. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(3), 526-531.

Manukyan, A. (2011). Effect of growing factors on productivity and quality of lemon catmint, lemon balm and sage under soilless greenhouse production: I. Drought stress. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5, 119–125.

Marjanlo, A.A., Mostofi, Y., Shoeibi, S., Fattahi, M. (2009). Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. *Journal of Medicinal Plants*, 8(31), 25-43.

Martínez de Montiel, S.; Quiroga de Dal Bon, V.; Luna de Mamani, G.; De la Quintana, L.; Vergara, A., Fiad, S. (2004). Estudio comparativo de valores físico químicos en *Cuminum cyminum* L. que produce la provincia de Catamarca. *Revista Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Catamarca*, 9 (11), 13-23.

Maruyama, N., Ishibashi, H., Hu, W., Morofuji, S., Inouye, S., Yamaguchi, H., Abe, S. (2006). Suppression of carrageenan- and collagen II-induced infl ammation in mice by geranium oil. *Mediators of Inflammation*, Article ID 62537, 1–7. doi 10.1155/MI/2006/62537.

Maxia, A., Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Tuveri, E., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. (2009). Chemical characterization and biological activity of essential oils from *Daucus carota* L. subsp. carota growing wild on the Mediterranean coast and on the Atlantic coast. *Fitoterapia*, 80 (1), 57–61.

May, B., Kuntz, H.-D., Kieser, M., KÖhler, S. (1996). Efficacy of a fixed peppermint oil/caraway oil combination in non-ulcer dyspepsia. *Arzneimittel Forschung*, 46, 1149–1153.

Medina-Martínez, M.S., Martínez, A.J. (2000). Mold occurrence and aflatoxin B1 and fumonisin B1 determination in corn samples in Venezuela. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2833-2836.

Melito, S., Petretto, G., Podani, J., Foddai, M., Maldini, M., Chessa, M., Pintore, G. (2016). Altitude and climate influence *Helichrysum italicum* subsp. microphyllum essential oils composition. *Industrial Crops and Products*, 80, 242–250.

Melli, M.S., Rashidi, M.R., Delazar, A., et al., (2007). Effect of peppermint water on prevention of nipple cracks in lactating primiparous women: A randomised controlled trial. *Internationa Breastfeeding Journal*, 2, 7. http://international breastfeedingjournal.com/content/2/1/7.

Meriles, J.M., Vargas Gil, S., Haro, G.J., Guzman, C.A. (2006). Glyphosate and Previous Crop Residue Effect on Deleterious and Beneficial Soil-borne Fungi from a Peanut–Corn–Soybean Rotations. *Journal of phytopathology*, 154, 309-316.

Mhaskar, K.S., Blatter, E., Caius, J.F. (2000). Editors. In Kiritikar and Basu's Illustrated Indian Medicinal Plants. New Delhi: Satguru Publications, 5.

Mickelfi eld, G., Greving, I., May, B. (2000). Effects of peppermint oil and caraway oil on gastroduodenal motility. *Phytotherapy Research*, 14, 20–23.

Micklefi eld, G., Jung, O., Greving, I., May, B. (2003). Effects of intraduodenal application of peppermint oil (WS® 1340) and caraway oil (WS® 1520) on gastrointestinal motility in healthy volunteers. *Phytotherapy Research*, 17, 135–140.

Middleton, B., Hui, K.-P. (1982). Inhibition of hepatic S-3-hydrox-3-methylglutaryl-CoA redsuctase and in vivo rates of lipogenesis by a mixture of pure cyclic monoterpenes. *Biochemical Pharmacol*ogy, 31, 2897–2901.

Milan, K.S.M., Dholakia, H., Tiku, P.K., Vishveshwaraiah, P. (2008). Enhancement of Digestive Enzymatic Activity by Cumin (*Cuminum cyminum* L.) and Role of Spent Cumin as a Bionutrient. *Food Chemistry*, 110, 678-683. doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.062.

Milani, E., Seyed, M., Razabi, A., Koocheki, A., Nikzadeh, V. Vahedi, N., Moein Fard, M., Gholamhossein Pour, A. (2007). Moisture dependent physical properties of cucurbit sedes. *International Agrophysics*, 21(2), 157.

Millet, Y., Jouglard, J., Steinmetz, M.D., Tognetti, P., Joanny, P., Arditti, J. (1981). Toxicity of some essential plant oils-clinical and experimental study. *Clinical Toxicol*ogy, 18, 1485-98.

Misra, G., Pavlostathis, S.G. (1997). Biodegradation kinetics of monoterpenes in liquid and soil-slurry systems. Review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47 (5), 572–577.

Mitch Medical Healthcare. Essential Oils. (2016). *Middle Ages Use of Aromatics and Quacks*. Recuperado de https://www.mitchmedical.us/essential-oils/middle-ages-use-of-aromatics-and-quacks.html

Miyazawa, M., Yamafuji, C. (2005). Inhibition of Acetylcholinesterase Activity by Bicyclic Monoterpenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1765–1768. doi:10.1021/jf040019b.

Mnif, S., Aifa, S. (2015). Cumin (*Cuminum cyminum* L.) from Traditional Uses to Potential Biomedical Applications. Review. *Chemistry & Biodiversity*, 12, 733-742

Moawad, S.A., El-Ghorab, A.H., Hassan, M., Nour-Eldin, H., El-Gharabli, M.M. (2015). Chemical and microbiological characterization of Egyptian cultivars for some spices and herbs commonly exported abroad. *Food and Nutrition Sciences*, 6, 643-659.

Moghaddam, M., Farhadi, N. (2015). Influence of environmental and genetic factors on resin yield, essential oil content and chemical composition of *Ferula asafoetida*

L. populations. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2 (3), 69–76.

Moghaddam, M., Mehdizadeh, L. (2017). Chemistry of Essential Oils and Factors Influencing Their Constituents. *Soft Chemistry and Food Fermentation*, 13, 379-419. doi.org/10.1016/B978-0-12-811412-4.00013-8

Moghaddam, M., Miran, S.N.K., Pirbalouti, A.G., Mehdizadeh, L., Ghaderi, Y. (2015b). Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products*, 70, 163–169.

Moghaddam, M., Omidbiagi, R., Sefidkon, F. (2007a). Changes in content and chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various harvest times. *Journal Essential Oil Research*, 19(1), 18–20.

Moghaddam, M., Pirbalouti, A.G., Mehdizadeh, L., Pirmoradi, M.R. (2015c). Changes in composition and essential oil yield of *Ocimum ciliatum* at different phenological stages. *European Food Research and Technol*ogy, 240(1), 199–204.

Moghaddam, P.R., Moradi, R., Mansoori, H. (2014). Influence of planting date, intercropping and plant growth promoting rhizobacteria on cumin (*Cuminum cyminum* L.) with particular respect to disease infestation in Iran. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1, 134-143.

Mohammadpour, H., Moghimipour, E., Rasooli, I., Fakoor, M.H., Astaneh, S.A., Sara, S.S., Zeynab, J. (2012). Chemical Composition and Antifungal Activity of *Cuminum cyminum* L. Essential Oil from Alborz Mountain against Aspergillus Species. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 7, 50-55.

Mohsenin, N.N. (1986). *Physical properties of food and agricultural materials: a Teaching Manual*. New York: Gordon and Breach Science Publishers. p. 147.

Moleyar, V., Narasimham, P. (1992). Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, 16, 337-342.

Mollazade, K., Ahmadi1, H., Khorshidi, J., Rajabipour, A., Mohtasebi, S.S. (2009). Moisture-dependent physical and mechanical properties of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed. *International Journal of Agricultural & Biological Engineering*, 2(2), 49-56. (IJABE, http: //www.ijabe.org.)

Mondal, M., Khalequzzaman, M. (2010). Toxicity of Naturally Occurring Compounds of Plant Essential Oil Against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Biological Sciences*, 10 (1), 10-17.

Monzote, L., Montalvo, A.M., Almanonni, S., Scull, R., Miranda, M., Abreu, J. (2006). Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy*, 52, 130–136.

Moon, T., Wilkinson, J.M., Cavanagh, H.M. (2006). Antiparasitic activity of two Lavandula essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas* vaginalis and Hexamita inflata. *Parasitology Research*, 99, 722–728.

Moore, S., Debboun M. (2007). History of insect repellents, chapter 1. En: M. Debboun, S.P. Frances y D. Strickman (Eds.), *Insect Repellents: Principles, Methods and Uses* (pp. 3-30). CRC press, Boca Raton, FL.

Moore, S.J., Hill. N., Ruiz, C., Cameron, M.M. (2007). Field evaluation of traditionally used plant-based insect repellents and fumigants against the malaria vector *Anopheles darling* in Riberalta, Bolivian Amazon. *Journal of Medical Entomology*, 44, 624-630.

Moraghebi, F. (2013). Introduction of mirtenal as an indicator component in essential oil of *Cuminum cyminum* Isfahan variety. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 3, 112-117.

Mossa, A-T. H. (2016). Review Article Green Pesticides: Essential Oils as Biopesticides in Insect-pest Management. *Journal of Environmental Science and Technology*, 9(5), 354-378.

Mostafa, D. M., Kassem, A. A., Asfour, M. H., Al Okbi, S. Y., Mohamed, D. A., Hamed, T. E. (2015). Transdermal cumin essential oil nanoemulsions with potent antioxidant and hepatoprotective activities: In-vitro and in-vivo evaluation. *Journal of Molecular Liquids*, 212, 6-15.

Msaada, K., Hosni, K., Taarit, M.B., Chahed, T., Kchouk, M.E., Marzouk, B. (2007). Changes on essential oil composition of coriander (Coriandrum sativum L.) fruits during three stages of maturity. *Food Chemistry*, 102 (4), 1131–1134.

Mukamel, E., Engelstein, D., Simon, D., Servadio, C. (1987). The value of Rowatinex in the treatment of ureterolithiasis. *The Journal of Urology*, 93, 31–33.

Muñoz, F. (1996). *Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio, Cultura y Procedencia*. España, Edit. Aedos S.A. pp 137-139.

Murray, R.D.H., Mendez, J., Brown, S.A. (1982). Coumarin activity in plants and bioorganism aspects. *John Wiley*, 2, 45-55.

Murúa Carrizo, F. (2012). Efecto de la época y densidad de siembra de comino (*Cuminum cyminum* L.) sobre el rendimiento, sus componentes y la calidad de la semilla. *Horticultura Argentina*, 30(73), 9-17.

Naeini A, Ziglari, T., Shokri, H., Khosravi, A.R. (2010). Assessment of growth-inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium isolates*. *Journal Mycologie Medicale*, 20, 174-178. doi:10.1016/j.mycmed.2010.05.005

Naeini, A., Naderi, N.J., Shokri, H. (2014). Analysis and in vitro anti-Candida antifungal activity of *Cuminum cyminum* and Salvadora persica herbs extracts against pathogenic Candida strains. *Journal Mycologie Medicale*, 24(1), 13-18.

Nardelli, A., D'Hooghe, E., Drieghe, J., Dooms, M., Goossens, A. (2009). Allergic contact dermatitis from fragrance components in specific topical pharmaceutical products in Belgium. *Contact Dermatitis*, 60, 303-13.

Negahban, M., Moharramipour, S., Sefidkon, F. (2007). Insecticidal activity of essential oil from *Artemisia sieberi* Beser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43, 123-128.

Nell, M., Voetsch, M., Vierheilig, H., Steinkellner, S., Zitterl-Eglseer, K., Franz, C., Novak, J. (2009). Effect of phosphorus uptake on growth and secondary metabolites of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(6), 1090–1096.

Newall, C.A., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. (1996). *Herbal Medicines. A Guide for Healthcare Professionals*. London: The Pharmaceutical Press, p. 231-2.

Nezami, A., Eyshi Rezaei, E., Khorasani, Z., Khorramdel, S., Bannayan, M. (2011). Evaluation of the Impacts of Fall Sowing Dates on Different Ecotypes of Cumin (*Cuminum cyminum*, Apiaceae L.) Productivity in Northeast of Iran. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(4), 123-128.

Nieves, E., Fernández Méndez, J., Lias, J., Rondón, M., Briceño, B. (2010). Actividad repelente de aceites esenciales contra las picaduras de *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). *Revista de Biología Tropical*, 58(4), 1549-1560.

Novák, J. (1988). *Quantitative Analysis by Gas Chromatography*, 2d Ed., Marcel Dekker, New York.

Novato, T. P. L., Araújo, L. X., de Monteiro, C. M. O., Maturano, R., Senra, T. de O. S., da Silva Matos, R., Daemon, E. (2015). Evaluation of the combined effect of thymol, carvacrol and (E)-cinnamaldehyde on Amblyomma sculptum (Acari: Ixodidae) and Dermacentor nitens (Acari: Ixodidae) larvae. *Veterinary Parasitology*, 212(3-4), 331–335. doi:10.1016/j.vetpar.2015.08.021

Novgorodov, S.A., Gudz, T.I. (1996). Permeability transition pore of the inner mitochondrial membrane can operate in two open states with different selectivities. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 28, 139–146.

Nowak, M., Kleinwächter, M., Manderscheid, R., Weigel, H.-J., Selmar, D. (2012). Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. *Journal of Applied Botani and Food Quality*. 83(2), 133–136.

Nowak, M., Kurnatowski, P. (2009). Biofilm caused by fungistructure, quorum sensing, morphogenetic changes, resistance to drugs. *Wiadomości Parazytologiczne*, 55(1), 19-25.

Nurzyńska-Wierdak, R. (2012). *Ocimum basilicum* L.–wartościowa roślina przyprawowa, lecznicza i olejkodajna. Praca przegla˛dowa. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. Sectio EEE: Hort. 22(1), s.20–s.30.

Nurzyńska-Wierdak, R., Bogucka-Kocka, A., Sowa, I., Szymczak, G. (2012). The composition of essential oil from three ecotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. vulgare cultivated in Poland. *Farmacia*, 60, 571–577.

Oates, J. (1989). *Babilonia, Colección enigmas de la historia*. Ediciones Martínez Roca S.A., Barcelona.

Oda J., Ando N., Nakajima Y., Inouye, Y. (1977). Studies on insecticidal constituents of Juniperus recurva Buch. *Agricultural and Biological Chemistry,* 41, 201-204.

Oladimeji, F.A., Orafi diya, L.O., Ogunniyi, T.A.B., Adewunmi, T.A., Onayemi, O. (2005). A comparative study of the scabicidal activities of formulations of essential oil of *Lippia multiflora* Moldenke and benzyl benzoate emulsion BP. *International Journal of Aromatherapy,* 15, 87–93.

Oliva, R.N.; Tissaoui, T., Bradford, K.J. (1988). Relationships of plant density and Harvest index to seed yield and quality in carrot. *American Society for Horticultural Science Journal, Alexandria*, 113(4), 532-537.

Olivarez-Cruz, M.A., López-Malo, A. (2013). Potencial antimicrobiano de mezclas que incluyen aceites esenciales o sus componentes en fase vapor. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 78-86.

Omer, E.A., Hussein, E.A., Hendawy, S., Azza, E., Gendy, A. (2014). Effect of nitrogen and potassium fertilizers on growth, yield, essential oil and artemisinin of *Artemisia annua* L. plant. *International Research Journal of Horticulture,* 2, 11–20.

Oosterhaven, K., Chambel Leitao, A., Gorris, L.G.M., Smid, E.J. (1996). Comparative study on the action of s- (+) -carvone, in situ, on the potato storage fungi *Fusarium solani* var. corruleum and *F. sulphureum*. *Journal of Applied Bacteriology,* 80, 535-539.

Opdyke, D.L.J. (1976). *Alantroot oil*. Monographs on fragrance raw materials. Food and Cosmetics Toxicology, 14(4), 307–308.doi.org/10.1016/S0015-6264(76)80295-7

Orafi diya, L.O., Agbani, E.O., Oyedele, A.O., Babalola, O.O., Onayemi, O. (2002). Preliminary clinical tests on topical preparations of *Ocimum gratissimum* Linn. leaf essential oil for the treatment of acne vulgaris. *Clinical Drug Investigation,* 22(5), 313–319.

Orchard, L. (1982). Octopamine in insects: neurotransmitter, neurohormone and neuromodulator. *Canadian Journal of Zoology*, 60, 659-669.

Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., Bassami, M.R. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chemistry*, 120, 765–770.

Oussalah, M., Caillet, S., Lacroix, M. (2006). Mechanism of action of Spanish oregano, *Chinese cinnamon*, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 69, 1046–1055.

Özgüven, M., S¸ener, B., Orhan, I., S¸ekerog˘lu, N., Kirpik, M., Kartal, M., Pes¸in, I., Kaya, Z. (2008). Effects of varying nitrogen doses on yield, yield components and artemisinin content of *Artemisia annua* L. *Industrial Crops and Products*, 27(1), 60–64.

Panda H, (2010). *Handbook on Spices and Condiments (Cultivation, Processing and Extraction)*. Asia Pacific Business Press Inc. p. 640.

Papachristos, D.P., Karamanoli, K.I., Stamopoulos, D.C., Menkissoglu Spiroudi, U. (2004). The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Management Science*, 60, 514-520.

Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. (2002). Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38, 117–128

Park, I.K., Choi, K.S., Kim, D.H., Choi, I.H., Kim, L.S., Bak, W.C., Choi, J.W., Shim, S.C. (2006). Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Management Science*, 62, 723-728.

Parthasarathy, V.A., Chempakam, B., Zachariah, T.J. (2008). *Chemistry of spices*. CAB International, pp. 211-226.

Parveen, M., Hasan, K., Takahashi, J., Murata, Y., Kitagawa, E., Kodama, O., Iwahashi, H. (2004). Response of *Saccharomyces cerevisiae* to a monoterpene: evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54 (1), 46-55.

Pascual-Villalobos M.J., Ballesta-Acosta, M.C. (2003). Chemical variation in an *Ocimun basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculates*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 673-679.

Pauli, A. (2006). Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. *Medicinal Research. Reviews,* 26, 223-268.

Paunero, I.E. (1992). *Evaluación de especies aromáticas y medicinales, introducidas y autóctonas, de valor comercial*. Informe Anual Plan INTA N° 430065, Estación Experimental Agropecuaria Sumalao, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Catamarca, Argentina.

Paunero, I.E. (1995). *Evaluación de especies aromáticas en la EEA Catamarca*. Informe técnico INTA.

Pawar, V.C., Thaker, V.S. (2006). In vitro efficacy of oils against *Aspergillus niger*. *Mycosis*, 49 (4), 316-323.

Perczak, A., Jus, K., Marchwinska, K., Gwiazdowska, D., Waskiewicz, A., Golinski, P. (2016). Degradation of Zearalenone by Essential Oils under in vitro Conditions. *Frontiers in Microbiology,* 7, 1224. doi:10.3389/fmicb.2016.01224.

Peredo Luna, H.A., Palou García, E., López Malo, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3 (1), 24-32. Recuperada de https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf.

Pérez MP, Pascual-Villalobos MJ, (1999). Efectos del aceite esencial de inflorescencias de *Chrysanthemum coronarium* L. en mosca blanca y plagas de almacén. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetal*, 14, 249–58.

Pérez, O. (2006). Producción de anís y comino en la provincia de Catamarca. In: *Simposio Latinoamericano en Producción de Plantas Aromáticas, Medicinales y Condimentarias* 3º, San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina. p. 86-87.

Perineau, F., Ganou, L., Bessiere, J. M. (1991). Hydrodistillation du fruit de coriandre (*Coriandrum sativum* L.) *Parfums, cosmétiques, arômes*, 98, 79-84.

Peschiutta, M.L., Arena, J.S., Ramirez Sanchez, A., Gomez Torres, E., Pizzolitto, R.P., Merlo, C., Zunino, M.P., Omarini, A.B., Dambolena, J.S., Zygadlo, J.A. (2016). Effectiveness of Mexican oregano essential oil from the Dominican Republic (*Lippia graveolens*) against maize pests (*Sitophilus zeamais* and *Fusarium verticillioides*). *Agriscientia*, 33(2), 89-97.

Petropoulos, S., Daferera, D., Akoumianakis, C., Passam, H., Polissiou, M. (2004). The effect of sowing date and growth stage on the essential oil composition of three types of parsley (Petroselinum crispum). *Journal of the Science de Food and Agriculture*, 84(12), 1606–1610.

Petropoulos, S., Daferera, D., Polissiou, M., Passam, H. (2008). The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Scientia Horticulturae*, 115(4), 393–397.

Pickett, J., Birkett, M., Logan, J. (2008). DEET repels ORNery mosquitoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 13195-13196.

Pinto, J.J., Silva1, G., Figueroa, I., Tapia, M., Urbina, A., Rodríguez, J.C., Lagunes, A. (2016). Insecticidal activity of powder and essential oil of *Cryptocarya alba* (Molina) Looser against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 76(1), 48-54.

Pirbalouti, A.G., Fatahi-Vanani, M., Craker, L., Shirmardi, H. (2014). Chemical composition and bioactivity of essential oils of *Hypericum helianthemoides*, *Hypericum perforatum* and *Hypericum scabrum*. *Pharmaceutical Biology*, 52 (2), 175–181.

Pirbalouti, A.G., Ghahfarokhi, B.B., Ghahfarokhi, S.A.M., Malekpoor, F. (2015). Chemical composition of essential oils from the aerial parts and underground parts of Iranian valerian collected from different natural habitats. *Industrial Crops and Products*, 63, 147–151.

Pirbalouti, A.G., Hashemi, M., Ghahfarokhi, F.T. (2013a). Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43–48.

Pirbalouti, A.G., Hossayni, I., Shirmardi, H.-A. (2013b). Essential oil variation, antioxidant and antibacterial activity of mountain fennel (*Zaravschanica membranacea* (Boiss.) M. Pimen.). *Industrial Crops and Products*, 50, 443–448.

Pitarokili, D., Couladis, M., Petsikos-Panayotarou, N., Tzakou, O. (2002). Composition and antifungal activity on soil-borne pathogens of the essential oil of *Salvia sclarea* from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:6688-6691.

EcuRed. Plantas medicinales. Recuperado de https://www.ecured.cu/Plantas_Medicinales

Ponts, N. (2015). Mycotoxins are a component of *Fusarium graminearum* stress-response system. *Frontiers in Microbiology*, 6. doi:10.3389/fmicb.2015.01234

Porter, N.G., Lammerink, J.P. (1994). Effect of Temperature on the Relative Densities of Essential Oils and Water, *Journal of Essential Oil Research*, 6 (3), 269-277, doi: 10.1080/10412905.1994.9698375

Prajapati, N.D., Purohit, S.S., Sharma, A.K., Kumar, T. (2003). *A Hand Book of Medicinal plants*, Agrobios (India), Jodhpur p. 373.

Prates HT, Santos JP, Waquil JM, Fabris JD, Oliveira AB, Foster JE. (1998). Insecticidal activity of monoterpens against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbs). *Journal of Stored Products Research*, 34(4), 243-249.

Priestley, C.M., Burgess, I.F., Williamson, E.M. (2006). Lethality of essential oil constituents towards the human louse, *Pediculus humanus* and its eggs. *Fitoterapia*, 77, 303-309.

Prieto, M. (2018). *Aromacología o psicología de los aromas. La mente es maravillosa*. https://lamenteesmaravillosa.com/aromacologia-o-psicologia-de-los-aromas/. Recuperada el 02/05/2019.

Pritchard, A.J.N. (2004). The use of essential oils to treat snoring. Phytother. Res. 18: 696–699; *Psychoneuroendocrinology*, 33: 328–339.

Pruthi, J. S. (1976). *Spices and Condiments*. National Book Trust India, New Delhi, India.

Quiroga V., Uñates J., Soriano E., Fiad S., Falagüerra T. (2016). Robustez de la técnica de hidrodestilación y condiciones óptimas para la determinación del contenido en aceite esencial de comino. VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Análisis Físico-químicos y sensoriales, Córdoba, Argentina, pp 369-378.

Quiroga, V., Favore, L. (2015). Influencia del tiempo de almacenamiento en la calidad físico química del comino. Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA. Trabajo completo de las X Jornadas de Facultades de Ingeniería del NOA, con arbitraje, pp 916-923.

Quiroga, V., Luna, G. (1999) Parámetros físico-químicos en comino molido que produce Catamarca. Trabajo Final de Licenciatura en química. Inédita. FCEyN-UNCa.

Quiroga, V., Soriano, E.M., Leiva, A., Montivero, L. (2017). Características físicas y químicas de los granos de comino (*Cumnium cyminum* L.) de Capayán, Catamarca. Libro de resúmenes XII Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA, Catamarca, Argentina. p 114.

Quiroga, V.; Luna, G.; De La Quintana, L.; Vergara, A.; Fiad, S.; Amaya, S., Altamirano, S.; Martínez, S. (2003). Valor Condimenticio de Semillas de Comino Procedentes de Pomán, Ennegrecidas por Lluvia Previa a la Cosecha. *Ciencia*, 1(1), 283-300.

Rabadia, A. G., Kamat, S. D., Kamat, D. V. (2011). Antifungal activity of essential oils against Fluconazole resistant fungi. *International Journal of Phytomedicine*, 3 (4), 506.

Rafii, F., Shahverdi, A.R. (2007). Comparison of essential oils from three plants for enhancement of antimicrobial activity of nitrofurantoin against enterobacteria. *Chemotherapy*, 53, 21-25.

Raghavenra H, Diwakr BT, Lokesh BR, Naidu KA. (2006). Eugenol--The active principle from cloves inhibits 5- lipoxygenase activity and leukotriene- C4 in human PMNL cells. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 74, 23-27.

Rai, N., Yadav, S., Verma, A.K., Tiwari, L., Sharma, R.K. (2012). A monographic profile on quality specifications for a herbal drug and spice of commerce- *Cuminum cyminum* L. *International Journal of Advanced Herbal Science and Technology*, 1(1), 1-12.

Rajendran, S.; Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, 44, 126-135

Ramadan, W., Mourad, B., Ibrahim, S., Sonbol, F. (1996). Oil of bitter orange: New topical antifungal agent. *International Journal of Dermatology*, 35, 448–449.

Ramezani, S., Rezaei, M.R., Sotoudehnia, P. (2009). Improved growth, yield and essential oil content of basil grown under different levels of phosphorus sprays in the field. *Journal Applied Biologycal Science*, 3 (2), 96–101.

Randrianarivelo R., Sarter S., Odoux E., Brat P., Lebrun M., Romestand B., Menut C., Andrianoeliso H.S., Raherimandimby M., Danthu P. (2009). Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cinnamosma fragrans*. *Food Chemistry*, 114, 680–4.

Rapposelli, E., Melito, S., Barmina, G.G., Foddai, M., Azara, E., Scarpa, G.M. (2015). Relationship between soil and essential oil profiles in *Salvia desoleana* populations: preliminary results. *Natural Product Communications*, 10 (9), 1615–1618.

Ratti, H. (1984). *El cultivo del comino*. Publicación de la Estación Experimental Agropecuaria Sumalao, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Catamarca, Argentina, 12 p.

Ray, D.P., Srivastava, S. (2006). Curry leaf (*Murraya koenigii*): the aromatic biopesticide. *Journal of Interacademicia*, 10, 231-235.

Rebey, I.B., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F., Marzouk, B. (2012). Effect of Drought on the Biochemical Composition and Antioxidant Activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds. *Industrial Crops and Products*, 36, 238-245.

Rebey, I.B., Kefi, S., Bourgou, S., Ouerghemmi, I., Ksouri, R., Tounsi, M.S., Marzouk, B. (2014). Ripening stage and extraction method effects on physical properties, polyphenol composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(4), 358-364.

Regnault Roger, C., Hamraoui, A. (1995) a. Comparison of the insecticidal effects of water extracted and intact aromatic plants on *Acanthoscelides obtectus*, a bruchid beetle pest of kidney beans. *Chemoecology*, 5(1), 1-5.

Regnault-Roger, C., Hamraoui, A. (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*, 31, 291-299.

Rehman, R., Hanif, M.A., Mushtaq, Z., Al-Sadi, A.M. (2016). Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: a review. *Food Reviews International*, 32 (2), 117–160.

Reichling, S., Khaled, W., Bruhns, O.T., Ermert, H. (2005). *Shear modulus* identification in soft tissue-like materials. *Proceeding in Applied Mathematics and Mechanics*, 5(1), 511-512.

Reiter, M., Brandt, W. (1985). Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea pig. *Arzneimittel Forschung*, 35, 408–414.

ReLaQ (2019). Red Latinoamericana de Química. http://www.relaq.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/Gas.htm.

Rice, J. P., Coats, R. C. (1994). Insecticidal properties of several monoterpenoids to the housefly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) y southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 87, 1172-1179.

Richter, C., Schlegel, J. (1993). Mitocondrial Ca2+ release induced by prooxidants. *Toxicology Letters*, 67, 119-127.

Rihawy, M.S., Bakraji, E.H., Odeh, A. (2014). PIXE and GC-MS investigation for the determination of the chemical composition of Syrian *Cuminum cyminum* L. *Applied Radiation and Isotopes*, 86, 118-125.

Rioba, N.B., Itulya, F.M., Saidi, M., Dudai, N., Bernstein, N. (2015). Effects of nitrogen, phosphorus and irrigation frequency on essential oil content and composition of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(1), 21–29.

Rivas da Silva, A. C., Monteiro Lopes, P., Barros de Azevedo, M. M., Machado Costa, D. C., Sales Alviano, C., Sales Alviano, D. (2012). Biological Activities of a-Pinene and β-Pinene Enantiomers. *Molecules*, 17(6), 6305–6316. doi:10.3390/molecules17066305.

Rizvi, A.; Mishra, A.; Mahdi, A.A.; Wahab, Sh.; Kaleem, S. (2015). Pharmacognostic evaluation and establishment of quality parameters of sedes of *Cuminum cyminum* L. *Indian Journal of Natural Products and Resourses*, 6 (2), 138-142.

Rocha, P. (2012). Synergist antibacterial activity of the essential oil of Aguribay (*Schinus molle* L.). *Molecules*, 17, 12023-12036.

Rogoff, W. (1952). The Repellency of Chlordane, DDT, and Other Residual Insecticides to Greenhouse Thrips. *Journal of Economic Entomology*, 45, 1065-1071.

Roig y Mesa, J.T. (2017). *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. Tomo II. Barcelona: Editorial Científica Técnica.

Rojas Barahona, A.F. (2010). *Caracterización físico-mecánica de la semilla de vitabosa* (*Mucuna deeringiana*). Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia Medellín. p 30.

Romagnoli, C., Andreotti, E., Maietti, S., Rai, M., Mares, D. (2010). Antifungal activity of essential oil from fruits of Indian *Cuminum cyminum*. *Pharmaceutical Biology*, 48(7), 834-838.

Román Ramos, R.; Flores Saenz, J., and Alarcón Aguilar, F. (1995). Antihyperglycemic effect of some edible plants. *Journal Ethnopharmacol*, 48(1), 25-32.

Romeilah, R.M., Fayed, S.A., Mahmoud, G.I. (2010). Chemical compositions, antiviral and antioxidant activities of seven essential oils. *Journal of Applied Sciences Research*, 6 (1), 50-62.

Romero E., Fuentes S., Quiroga V., Garcia V., Iriarte A., Saravia L. (2007). Obtención de aceite esencial de comino utilizando concentradores solares. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, 11(02), 17-22.

Romero E., Iriarte A., Quiroga V., Fiad S. (2012). Algunos factores extrínsecos que influyen en la composición y rendimiento del aceite esencial de comino. VIII Jornadas de Ciencia y tecnología NOA. Tucumán 2012.

Romero E., Quiroga V. (2014). Condiciones de destilación que influyen en el rendimiento extractivo y composición química del aceite esencial de comino. *Revista de Divulgación Técnica Nº 55*. FCA (UNCa).

Romero Márquez, M. D. (2004). *Plantas Aromáticas. Tratado de Aromaterapia Científica*. Bs. As. Argentina. 1º Ed. Edit. Kier.

Romeu Carballo, C.R., Veitía Rubio, M. (2012). Efecto antialimentario de aceites esenciales de plantas aromáticas sobre *Heliothis virescens* y *Spodoptera frugiperda*. *Fitosanidad*, 16(3), 155-159.

Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., Antonietta Milillo, M. (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine*, 14, 727-732.

Rossini, C., Castillo, L., González, A. (2008). Plant extracts and their components as potential control agents against human head lice. *Phytochemistry Reviews*, 7, 51–63. doi 10.1007/s11101-006-9026-0.

Rota, C., Carramiñana, J.J., Burillo, J., Herrera, A. (2004). In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 67(6), 1252-1256.

Rouzet, M. (1984). The new concept of the chromatographic profile and the quality level of essential oils. *Anales de la Real Academia de Farmacia*, 50, 465-477.

Rubinson K.A., Rubinson, J.F. (2001). *Anális Instrumental*.. Madrid. España: Pearson Educación, S.A.

Russo, M. Galleti, G., Bocchini, P., Carnacini, A. (1998). Essential oil chemical composition of wild populations of Italiano regano spice (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their uso in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. Inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3741-3746.

Saad, M.M.G., Abou-Taleb, H.K., Abdelgaleil, S.A.M. (2018). Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against Sitophilus oryzae and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Applied Entomology and Zoology*, 53 (2), 173-181. doi:10.1007/s13355-017-0532-x

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91, 621-632.

SADC, 2014. www.fas.usda.gov/itp/ofsts/us.html, http://www.arms.usda.gov.nop and www.ioia.net.

Sadeghi, H., Robati, Z., Saharkhiz, M.J. (2015). Variability in *Zataria multiflora* Bioss. Essential oil of twelve populations from Fars province. Iran. *Industrial Crops and Products*, 67, 221–226.

SAGPyA, 2009. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Agricultura, Estimaciones Agrícolas, Campaña 2008-2009.

Saharkhiz, M., Omidbaigi, R. (2008). The effect phosphorus on the productivity of feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip). *Advances in Natural and Applied Sciences*, 2(2), 63–68.

Said-Al Ahl, H., Ayad, H.S., Hendawy, S. (2009). Effect of potassium humate and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano under different irrigation intervals. *Ozean Journal of Applied Science*, 2 (3), 319-323.

Saini, S. C., Tyagi Shri, K. (2015). Studies about *Murraya koenigii* (Quality Estimation and Antibacterial and Antifungal Properties). *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 4, 19-24.

Sakagami, H.; Satoh, K.; Hatano, T.; Yoshida, T.; Okuda, T. (1997). Possible role of radical intensity and oxidation potential for gallic acid-induced apoptosis. *Anticancer Research*, 17, 377

Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C., Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177, 67-80.

Saksena, NK; Saksena, S. (1984). Enhancement in the antifungal activity of some essential oils in combination against some dermatophytes. *Indian Perfumer*, 28, 42-45.

Sampietro, D. A., Gomez, A. de los A., Jimenez, C. M., Lizarraga, E. F., Ibatayev, Z. A., Suleimen, Y. M., Catalán, C. A. (2016). Chemical composition and antifungal activity of essential oils from medicinal plants of Kazakhstan. *Natural Product Research*, 31(12), 1464–1467. doi:10.1080/14786419.2016.1258560.

Sampietro, D.A., Belizana, M.M.E., Terán Baptistaa, Z.P., Vattuonea, M.A., Catalán, C.A.N. (2014). Essential Oils from Schinus Species of Northwest Argentina: Composition and Antifungal Activity. *Natural Product Communications*, 9(7), 1019-1022.

Sampietro, D.A. *Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia*. Cátedra de Fitoquímica. Instituto de Estudios Vegetales. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nac. de Tucumán. Disponible en https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Sampietro-.doc. recuperado el 01 marzo de 2019.

Sánchez, H.H. (2012). *El cultivo de comino. Aspectos a considerar para la producción de comino*. Ediciones INTA. Catamarca, Argentina.

Sánchez, H.H., Bistoni, S.N., Iriarte, A.A., Luque, V.H. (2010). Manejo de cultivo y proceso post cosecha del pimiento para pimentón en el Valle Central de Catamarca. *Revista del CIZAS*, 11(1), 7-16.

Santana-Rios, G., Orner, G.A., Amantana, A., Provost, C., Wu, S.Y., Dashwood, R.H. (2001). Potent antimutagenic activity of White tea in comparison with Green tea in the Salmonella assay. *Mutation Research*, 495, 61-74.

Santiesteban- López, A. Palou, E., López-Malo, A. (2007). Susceptibility of food-borne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected a_w and pH. *Journal of Applied Microbioloy*, 102 (2), 486-497.

Santoro, G.F., Cardoso, M.G., Guimaraes, L.G., Mendonca, L.Z., Soarez, M.J. (2007a). *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimun basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Experimental Parasitology*, 116, 283-290.

Santoro, G.F., das Gracas Cardoso, M., Guimaraes, L.G., Salgado, A.P., Menna-Barreto, R.F., Soarez, M.J. (2007b). Effect of Oregano (*Origanum vulgare* L.) and Thyme (*Tymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitology Research*, 100, 783-790.

Sarac, A., Tunc, I. (1995). Toxicity of essential oil vapours to stored-product insects. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 102, 429-434.

Sasamoto, K., Ochiai, N. (2010). Selectable One-Dimensional or Two-Dimensional Gas Chromatography-Mass Spectrometry with Simultaneous Olfactometry or Element-Specific Detection. *Journal of Chromatography* A, 1217, 2903-2910.

Scanni, G., Bonifazi, E. (2006). Effi cacy of a single application of a new natural lice removal product. Preliminary data. European *Journal of Pediatric Dermatology*, 16, 231–234.

Schmidt E. (2010). Production of Essential Oils. Chapter 4. En K.H.C. Baser and G. Buchbauer, (Ed.), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications* (pp. 83-120). United States of America.

Schmidt-Heydt, M., Magan, N., Geisen, R. (2008). Stress induction of mycotoxin biosynthesis genes by abiotic factors. *FEMS Microbiology Letters*, 284(2), 142–149.doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01182.x

Schnitzler P., Koch C., Reichling J. (2007). Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus rype 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(5), 1859-62.

Sefidkon, F., Abbasi, K., Khaniki, G. B. (2006). Influence of drying and extraction methods on ngibre (*Zingiber officinale*), *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1 (1), 38 – 42.

Sefidkon, F., Abdoli, M. (2005). Essential oil composition of *Chaerophyllum macrospermum* from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 17 (3), 249–250.

Segvic-Klaric, M., Kosalec, I., Mastelic, J., Pieckova, E., Pepeljnak, S., (2007). Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology*, 44, 36-42.

Sehgal, C.B. (1966). Studies relating to seed-set and germination in Umbellifers. Department of Botany, University of Delhi, India, 34(1), 60-70.

Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W.A., Kchouk, M.E., Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products - Journal*, 30(3), 395–402.

Sellami, I.H., Wannes, W.A., Bettaieb, I., Berrima, S., Chahed, T., Marzouk, B., Limam, F. (2011). Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 126 (2), 691–697.

Seo, S.M., Jung, C.S., Kang, J., Lee, H.R., Kim, S.W., Hyun, J., Park, I.K. (2015). Larvicidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of apiaceae plant essential oils and their constituents against *Aedes albopictus* and formulation development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(45), 9977-86. doi: 10.1021/acs.jafc.5b03586.

Sertkaya, E., Kaya, K., Soylu, S. (2010). Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 31, 107–112.

Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U., Pissarev, V. (1991). Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *Journal of Chemical Ecology*, 17 (3), 499-501. doi.org/10.1007/BF00982120

Shahhoseini, R., Ghorbani, H., Karimi, S.R., Estaji, A., Moghaddam, M. (2013). Qualitative and quantitative changes in the essential oil of lemon verbena (*Lippia citriodora*) as affected by drying condition. *Drying Technology*, 31 (9), 1020–1028.

Shahnaz, H., Hifza, A., Bushra, K., Khan, J.I. (2004). Lipid Studies of *Cuminum cyminum* fixed oil. *Pakistan of Journal Botany*, 36(2), 395-401.

Sharafzadeh, S., Esmaeili, M., Mohammadi, A.H. (2011). Interaction effects of nitrogen, phosphorus and potassium on growth, essential oil and total phenolic content of Sweet basil. *Advances Environmental Biology*, 1285–1290.

Sharifzadeh, A., Jebeli Javan, A., Shokri, H., Abbaszadeh, S., Keykhosravy, K. (2016). Evaluation of antioxidant and antifungal properties of the traditional plants against foodborne fungal pathogens. *Journal de Mycologie Médicale*, 26, e11-e17.

Sharma, S., Kumar, R. (2012). Effect of nitrogen on growth, biomass and oil composition of clary sage (*Salvia sclarea* Linn.) under mid hills of north western Himalayas. Indian J. *Natural Product Research*, 3(1), 79–83.

Shayegh, S., Rasooli, I., Taghizadeh, M., Astaneh, S.D. (2008). Phytotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque. *Natural Product Research*, 22 (5), 428-439.

Shephard, G. S; Sydenham, E. W; Thiel, P. G., Gelderblom, W. C. A. (1990), Quantitative Determination of Fumonisin B1 and B by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Journal of Liquid Chromatography*, 13(10), 2077-2087

Sherry, E., Sivananthan, S., Warnke, P., Eslick, G.D. (2003). Topical phytochemicals used to salvage the gangrenous lower limbs of type I diabetic patients [letter]. *Diabetes Research and Clinical Practice-Journal*, 62, 65–66.

Shivakumar, S.I., Shahapurkar, A.A., Kalmath, K.V., Shivakumar, B. (2010). Antiinflammatory activity of fruits of *Cuminum cyminum* Linn. *Der Pharmacia Lettre*, 2(1), 22–24.

Si W., Gong J., Tsao R., Zhou, Yu H., Poppe C., Johnson R., Du Z. (2006). Antimicrobial activity of essential oils and structally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 296-305.

Sigma- Aldrich. Product Specification. Sassafras oil. www.sigmaaldrich. com/catalog/product/aldrich/w510483, consultada 12/12/2018.

Sikkema, J., de Bont, J.A., Poolman, B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 59, 201-222.

Siller, G., Kottasz, S., Palfi, Z. (1998). Effect of Rowatinex on expulsion of post ESWL residual calculi. *Magyar Urologia*, 10, 139–146.

Silva-Vázquez, R., Dunford, N.T. (2005). Bioactive components of Mexican oregano as affected by moisture and plant maturity. *Journal of Essential Research*, 17, 668-671.

Simões, C.M.O., Spitzer, V. (1999). *Óleos voláteis. In Farmacognosia: da planta ao medicamento,* C.M.O. Simões, et al. (Eds).

Simonetti, G. (1990). *Guía de hierbas y especias*. Ediciones Grijalbo, S. A. Barcelona.

Singh, V.B, Singh, K. Spices. (1996). New Age International (P) Limited Publishers, Delhi.

Singh, K.K., Goswami, T.K. (1996). Physical Properties of Cumin Seed. Journal of *Agricultural Engineering Research*, 64(2), 93-98

Singh, M., Guleria, N. (2013). Influence of harvesting stage and inorganic and organic fertilizers on yield and oil composition of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in a semi-arid tropical climate. *Industrial Crops and Products- Journal*, 42, 37–40.

Sirousmehr, A., Arbabi, J., Asgharipour, M.R. (2014). Effect of drought stress levels and organic manures on yield, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum*). Adv. Environ. Biol., 880–886.

Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Aesenakis, M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 1202-1205.

Sloan, A., De Cort, S.C., Eccles, R. (1993). Prolongation of breath-hold time following treatment with an l-menthol lozenge in healthy man. *Journal of Physiology*, 473, 53.

Smallfield, B.M., van Klink, J.W., Perry, N.B., Dodds, K.G. (2001). Coriander spice oil: effects of fruit crushing and distillation time on yiel and composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 118-123.

Soriano, E.M., Leiva, A., Montivero, L., Quiroga, V., (2017). Características físicas y químicas de los granos de comino de Capayán, Catamarca, producidos en 2014, bajo diferentes condiciones de cultivo. Libro de resúmenes XII Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA, Catamarca, Argentina. p 115.

Souza, A. & Andrade, J. (2009). Development, Validation and Application of A SDME/GC-FID Methodology for the Multiresidue Determination of Organophosphate and Pyrethroid Pesticides in Water. *Talanta*, 79, 1354- 1359.

Soylu, E.M., Soylu, S., Kurt, S. (2006). Antimicrobial activity of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, 161, 119-128.

Spindler, P., Madsen, C. (1992). "Subchronic toxicity study of peppermint oil in rats," *Toxicology Letters*, 62(2-3), 215–220.

Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E., Martinez, J.R. (2004). Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 1025, 93-103.

Stashenko, E.E., René Martínez, J. (2012). GC-MS Analysis of Volatile Plant Secondary Metabolites, Gas Chromatography. En Dr. Bekir Salih (Ed.). *Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications*, Available from: http://www.intechopen.com/books/gaschromatography-in-plant-science-wine-technology-toxicology-and-some-specific-applications/gc-ms-analysisof-volatile-plant-secondary-metabolites.

Stefanini, M.B., Figueiredo, R.O., Ming, L.C., Junior, A.F. (2003). Antimicrobial activity of the essential oils of some spice herbs. *Acta Horticulturae*, 597, 215-216.

Steinegger, E., Hansel, R. (1972). *Lehrbuch der Pharmacognosie auf Phytochemischer Grundlage.* Berlin: Springer Verlag. p. 348-82.

Stotz, S.C., Vtiens, J., Martyn, D., Clardy, J., Clapham, D.E. (2008). Citral sensing by transient receptor potential channels in dorsal root ganglions. *PLoS ONE,* 3:e2082. doi:10.1371/journal.pone.0002082.

Stroh, J., Wan, M.T., Isman, M.B., Moul, D.J. (1998). Evaluation of the acute toxicity to juvenile Pacific coho salmon and rainbow trout of some plant essential oils, a formulated product, and the carrier. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,* 60(6), 923–930.

Sudekum, M., Poppenga, R.H., Raju, N., Braselton, W.E. (1992). Pennyroyal oil toxicosis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 200, 817-8.

Syed, Z., Leal, W. (2008). Mosquitoes smell and avoid the insect repellent DEET. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 105, 13598-13603.

Tabanca, N., Demirci, B., Crockett, S. L., Başer, K. H. C., Wedge, D. E. (2007). Chemical Composition and Antifungal Activity of *Arnica longifolia, Aster hesperius,* and *Chrysothamnus nauseosus* Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 55(21), 8430–8435.doi:10.1021/jf071379c

Tabrizi, L., Koocheki, A., Moghaddam, P.R., Mahallati, M.N., Bannayan, M. (2011). Effect of irrigation and organic manure on Khorasan thyme (*Thymus transcaspicus* Klokov). *Archives of Agronomy and Soil Science,* 57 (3), 317–326.

Tainter, D.R., Grenis, A.T. (1993). *Especies y aromatizantes alimentarios.* Editorial Acribia S.A.

Takarada, K., Kimizuka, R., Takahashi, N., Honma, K., Okuda, K. and Kato, T. (2004). A comparison of the antibacterial effi cacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiology and Immunology,* 19, 61–64.

Tawfeeq, A., Culham, A., Davis, F., Reeves, M. (2016). Does fertilizer type and method of application cause significant differences in essential oil yield and composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) *Industrial Crops and Products- Journal,* 88, 17–22.

Taylor, B.A., Duthie, H.L., Luscombe, D.K. (1985). Calcium antagonist activity of menthol on gastrointestinal smooth muscle. *British Journal of Clinical Pharmacology,* 20, 293–294.

Taylor, B.A., Luscombe, D.K., Duthie, H.L. (1984). Inhibitory effects of peppermint oil and menthol on human isolated coli. *Gut,* 25, A1168–A1169.

Tchabong, S.R., Sameza, M.L., Tchameni, N.S., Mounbain, F., Mouelle, S.A., Jazet, D.P.M., Menut, C., Tchoumbougnang, F. (2018). Chemical Composition, Free Radical Scavenging And Antifungal Activity of *Zanthoxylum leprieurii* Essential Oils Against *Epidermophyton floccosum* and *Microsporum gypseum*, two Most Prevalent Cutaneous Mycosis. *Journal of Pharmacy*, 8(1), 13-19

Teneva D., Denkova Z., Denkova R., Atanasova T., Nenov N., Merdzhanov P. (2015). Antimicrobial Activity of essential oils and extracts from black pepper, cumin, coriander and cardamom against some pathogenic and saprophytic microorganisms. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 18(4), 373–377.

Teneva, D., Denkova, Z., Goranov, B., Denkova, R., Kostov, G., Atanasova, T., Merdzhanov, P. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from black pepper, cumin, coriander and cardamom against some pathogenic microorganisms. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology*, XX (2), 39-52.

Thippeswamy, N.B., Akhilender Naidu, K. (2005). Antioxidant potency of cumin varieties - cumin, black cumin and bitter cumin - on antioxidant systems. *European Food Research and Technology*, 220(5), 472-476

Thoroski, J., Blank, G., Biliarderis, C. (1989). Eugenol Induced Inhibition of Extracelular Enzyme Production by *Bacillus subtilis*. *Journal of Food Protection*, 52(6), 399-403.

Tisserand, R., Balazs, T. (1995). *Essential Oil Safety. A Guide for Health Care Professionals*. Elsevier Health Sciences.

Tisserand, R., Young, R. (2013). *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Elsevier Health Sciences, United Kingdom.

Tolosa, A.C. (2010). *Bioactividad y toxicidad de componentes de aceites esenciales vegetales, en Pediculus humanus capitis (Phthiraptera: Pediculidae) resistentes a insecticidas piretroides*. Tesis Doctoral. Buenos Aires, Argentina.

Torres Lamas, M. E.; Velasco-Negueruela, A.; Pérez-Alonso, M. J., Gil Pinilla, M. (1997). Volatile Constituents of two Salvia species grown wild in Spain. *Journal of Essential Oil Research*, 9, 27-33.

Torres Ruíz J.J., Martín Nares E., López Íñiguez, A. (2016). Síndrome autoinmune/autoinflamatorio inducido por adyuvantes (Asia). *Revista Médica Md*, 7(3).

Tovey, E.R., McDonald, L.G. (1997). A simple washing procedure with eucalyptus oil for controlling house dust mites and their allergens in clothing and bedding. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 100, 464–466.

Trease G. E., W. C. Evans (1976). Pharmacognosy, 10th edition.*The Journal of clinical Pharmacology*, 16, 526-527.

Treibs, W., Merkel, D. (1960). E. Gildemeister / Fr. Hoffmann: Die ätherischen Öle Band IIIa. 4th ed. Berlin, Germany: Akademie-Verlag.

Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S. (2000). Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, 93, 43-47.

Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal, K.K., Kumar, S. (2001). Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-cineole fron *Artemisia annua* on progeny of *Tribulium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, 94, 979-983.

Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., Komalamisra, N., Apiwathnasorn, C. (2005). Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, 19(4), 303–309.doi:10.1002/ptr.1637

Tufekci, E., Casagrande, Z.A., Lindauer, S.J., Fowler, C.E., Williams, K.T. (2008). Effectiveness of an essential oil mouthrinse in improving oral health in orthodontic patients. *Angle Orthodonist*, 78, 294–98.

Tunc, I, Berger, B.M., Erler, F., Dagli, F. (2000). Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored product insects. *Journal of Stored Product Research*, 36, 161–168.

Tunçtürk, R., Tunçtürk, M. (2006). Effects of different phosphorus levels on the yield and quality components of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Science*, 2(6), 336-340.

Turek, C., Stintzing, F.C. (2013). Stability of Essential Oils: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1), 40–53. doi:10.1111/1541-4337.12006

Turina, M., Zhang, L., Van Alfen, N.K. (2006). Effect of *Cryphonectria hypovirus* 1 (CHV1) infection on Cpkk1, a mitogen-activated protein kinase kinase of the filamentous fungus *Cryphonectria parasitica*. *Fungal Genetics and Biology*, 43, 764-774.

Tyagi, A.K., Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoling microorganisms. *Food Control*, 22, 1707-1714.

Ultee, A., Bennink, M.H.J., Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(4), 1561-1568.

Ultee, A., Kets, E.P.K., Alberda, M., Hoekstra F.A., Smid, E.J. (2000). Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. *Archives of Microbiology*, 174, 233-238.

Umezu, T. (2009). Evidence for dopamine involvement in ambulation promoted by menthone in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 91(3), 315–320.

UNE 34-096-81. Parte 7. ISO 939. Norma Española. Métodos de Análisis para especias. Determinación del contenido de agua. Método por arrastre.

UNE-EN ISO 6571:2008. Norma Española. Especias, condimentos y hierbas. Determinación del contenido en aceite volátil (método por hidrodestilación). ISO 6571:2008. Spices, condiments and herbs. Determination of volatile oil contente (hydrodistillation method).

Vahidipour, T.H., Vahidipour, H.R., Baradaran, R., Seqhatoleslami, M.J. (2013). Effect of irrigation and nitrogen fertilizer on grain yield and essential oil percentage of medicinal plant Ajowan. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(5), 1013–1022.

Valderrama, X., Robinson, G., Attygalle, B., Eisner, T. (2000). Seasonal anointment with millipedes in a wild primate: a chemical defense against insects?. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 2781-2790.

Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Martínez-Huélamo, M., Rinaldi Alvarenga, J.F., Leal, L.N., Lamuela Raventos, R.M. (2014). A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay. *Food Chemistry*, 154, 299-307.

Van den Dool, H., Kratz, P. (1963). A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. *Journal of Chromatography*, 11, 463-471.

Veldhuizen, E., Bokhoven, J., Zweijtzer, C., Burt, S., Haagsman, H. (2006). Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1874-1879.

Velluti Velluti, A., Marín, S., Gonzalez, P., Ramos, A.J., Sanchis, V. (2004). Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of Fusarium verticillioides, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. *Journal of Food Microbiology,* 21, 649-656. doi:10.1016/j.fm.2004.03.009.

Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Egido. J., Marín, S. (2003). Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International Journal of Food Microbiology,* 89, 145-154. doi:10.1016/S0168-1605(03)00116-8.

Vercesi, A.E., Kowaltowski, A.J., Grijalba, M.T., Meinicke, A.R., Castilho, R.F. (1997). The role of reactive oxygen species in mitochondrial permeability transition. *Bioscience Reports*, 17, 43-52.

Verma, N., Shukla, S. (2015). Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants,* 2(4), 105–113.

Verma, R.S., Padalia, R.C., Chauhan, A. (2013). Introduction of Cymbopogon distans (Nees ex Steud.) Wats to the sub-tropical India: evaluation of essential-oil yield and chemical composition during annual growth. *Industrial Crops and Products-Journal*, 49, 858–863.

Verma, R.S., Padalia, R.C., Chauhan, A. (2014). Chemical composition variability of essential oil during ontogenesis of *Daucus carota* L. subsp. sativus (Hoffm.) Arcang. *Industrial Crops and Products- Journal*, 52, 809–814.

Vican P. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*, Larousse. Paris, p.355.

Vidic, D., Maksimovic´, M., C´avar, S., Siljak-Yakovlev, S. (2010). Influence of the continental climatic conditions on the essential-oil composition of *Salvia brachyodon* Vandas transferred from Adriatic coast. *Chemistry & Biodiversity*, 7(5), 1208–1216.

Vigan, M. (2010). Essential oils: renewal of interest and toxicity. *European Journal of Dermatology*, 20 (6), 685–692.

Vila, R., Santana, A. I., Pérez-Rosés, R., Valderrama, A., Castelli, V., Mendonca, S., et al. (2010). Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampanensis*, a new source of a bisabolol. Bioresour. Technol. *International Journal of Food Microbiology*, 153 (1-2), 183–191

Vilela, G.R., de Almeida, G.S., D'arce, A.B.R., Moraes, M.H.D., Brito, J.O., da Silva, M.F.G.F., Silva, S.C., Piedale, S.M. de S., Calori-Domingues, M.A., da Gloria, E.M. (2009). Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill, against the storege fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare, *Journal of Stored Products Research*, 45, 108-111.

Villar Del Fresno Ángel. (1999). *Farmacognosia General*. Proyecto Editorial Síntesis Farmacia. Ed. Síntesis S.A. Madrid. España.

Villar, D., Knight, M.J., Hansen, S.R., Buck, W.B. (1994).Toxicity of melaleuca oil and related essential oils applied topically on dogs and cats. *Veterinary and Human Toxicology*, 36, 139-42.

Viuda-Martos, M., Ruíz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Pérez- Álvarez, J.A. (2007). Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in Mediterranean region. *Acta Chimica Slovenica*, 54, 921–926.

von Bergmann, K., Beck, A., Engel, C., Leiß, O. (1987). Administration of a terpene mixture inhibits cholesterol nucleation in bile from patients with cholesterol gallstones. *Journal of Molecular Medicine*, 65, 1432–1440.

Walton, S.F., McKinnon, M., Pizzutto, S., Dougall, A., Williams, E., Currie, B.J. (2004). Acaricidal activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: In vitro sensitivity of *Sarcoptes scabiei* var hominis to terpinen-4-ol. Arch. *Dermatology*, 140, 563–566.

Wang, F., Edwards, K. (2007). Separation of C2-Naphthalenes by Gas Chromatography× Fourier Transform Infrared Spectroscopy (GC × FT-IR): Two-Dimensional Separation Approach. *Analytical Chemistry*, 79, 106–112

Wankat, P.C. (1988). Equilibrium Staged Separations. Separations in Chemical yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, 99, 19-23.

Wanner, J., Bail, S., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Schmidt, E., Gochev, V., Girova, T., Atanasova, T., Stoyanova, A. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of cumin oil (*Cuminum cyminum*, Apiaceae). *Natural Product Communications*, 5(9), 1355-1358.

Warnke, P., Terheyden, H., Açil, Y., Springer, I.N. (2004). Tumor smell reduction with antibacterial essential oils [letter]. *Cancer*, 100, 879–880.

Warnke, P.H., Sherry, E., Russo, P.A.J., Açil, Y., Wiltfang, J., Sivananthan, S., Sprengel, M., Roldàn, J.C., Schubert, S., Bredee, J.P., Springer, I.N. (2006). Antibacterial essential oils in malodorous cancer patients: Clinical observations in 30 patients. *Phytomedicine*, 13, 463–467.

Wendakoon, C.N., Sakaguchi, M. (1995). Inhibition af aminoacid decarboxylase activity of Enterobacter aerogenes by active components in spices. *Journal of Food Protection*, 58, 280-283.

Wilkins, J. (2002). Method for treating gastrointestinal disorder. U.S. Patent 642045.

Willatgamuwa, S.; Patel, K., Saraswati, G., Srinivasan, K. (1998). Antidiabetic influence of dietary cumin seeds (*Cuminum cyminum*) in strepto zotocin induced diabetic rats. *Nutrition Research*, 18(1), 131-142.

Williamson, E.M., Priestley, C.M., Burgess, I.F. (2007). An investigation and comparison of the bioactivity of selected essential oil on human lice and house dust mites. *Fitoterapia*, 78, 521–525.

Woodring, J., Mcbride, L., Fields, P. (1989). The role of octopamine in handling and exercise-induced hyperglycemia and hyperlipaemia in *Acheta domesticus*. *Journal of Insect Physiology*, 35, 613-617.

Wu, S., Zhang, W.M., Sun, X.M., Yang, Y., Zhang, F.L. (2011). Analysis of Flavors and Flavonoid in Cumin Seeds from Different Producing Area. *China Condiment*, 3, 96-98.

Yamamoto, N., Nakai, Y., Sasahira, N., Hirano, K., Tsujino, T., Isayama, H., Komatsu, Y., Tada, M., Yoshida, H., Kawabe, T., Hiki, N., Kaminishi, M., Kurosaka, H., Omata, M. (2006). Efficacy of peppermint oil as an antispasmodic during endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 21, 1394–1398.

Yang K, Zhou YX, Wang CF, Du SS, Deng ZW, Liu QZ, Liu ZL. (2011). Toxicity of *Rhododendron anthopogonoides* Essential Oil and Its Constituent Compounds towards *Sitophilus zeamais*. *Molecules*, 16, 7320-7330.

Yang, Y.C., Choi, H.C., Choi, W.S., Clark, J.M., Ahn, Y.J. (2004). Ovicidal and adulticidal activity of *Eucalyptus globulus* leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus* capitis (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2507-2511.

Yang, Y.C., Lee, H.S., Clark, J.M., Ahn, Y.J. (2004b). Insecticidal activity of plant essential oils against *Pediculus humanus* capitis (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Medical Entomology*, 41, 699–704.

Yeom, H.-J., Kang, J.S., Kim, G.-H., Park, I.-K. (2012). Insecticidal and Acetylcholine Esterase Inhibition Activity of Apiaceae Plant Essential Oils and Their Constituents against Adults of German Cockroach (*Blattella germanica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(29), 7194-7203. doi:10.1021/jf302009w

Yetim, H., Sagdic, O., Ozturk, I. (2008). Fatty acid composition of cold press oils of seven edible plant seeds grown in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 44, 634–636.

Yildirim1, E., Emsen, B., Kordali, S. (2013). Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86, 198-204, doi:10.5073/jabfq.2013.086.027

Yip, Y.B., Tam, A.C.Y. (2008). An experimental study on the effectiveness of massage with aromatic ginger and orange essential oil for moderate-to-severe knee pain among the elderly in Hong Kong. *Complementary Therapies in Medicine-Journal*, 16, 131–138.

Yooussef, M.M., Pham, Q., Achar, P.N., Sreenivasa, M.Y. (2016) Antifungal activity of essential oils on *Aspergillus parasiticus* isolated from peanuts. *Journal of Plant Protection Research*, 56(2), 139-142. DOI: 10.1515/jppr-2016-0021.

Zaghloul, M., Fatma, E., El-Quesni, S., Mazhar, A.A. (2009). Influence of potassium humate on growth and chemical constituents of *Thuja orientalis* L. seedlings. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 2(1), 73–78.

Zeiger, E. (1999). N, N-Diethyl-m-toluamide (DEET) [134-62-3] Review of Toxicological Literature. *National Institute of Environmental Health Sciences*.

Zhang, Z., Xie, Y., Hu, X., Shi, H., Wei, M., Lin, Z. (2018). Antifungal Activity of Monoterpenes against *Botryosphaeria dothidea*. *Natural Product Communications*, 13(12), 1721-1724.

Zheljazkov, V.D., Astatkie, T., Hristov, A.N. (2012). Lavender and hyssop productivity, oil content, and bioactivity as a function of harvest time and drying. *Industrial Crops and Products-Journal*, 36(1), 222–228.

Zheljazkov, V.D., Astatkie, T., Jeliazkova, E.A., Tatman, A.O., Schlegel, V. (2013a). Distillation time alters essential oil yield, composition and antioxidant activity of female *Juniperus scopulorum* trees. *Journal of Essential Oil Research*, 25(1), 62–69.

Zheljazkov, V.D., Astatkie, T., Shiwakoti, S., Poudyal, S., Horgan, T., Kovatcheva, N., Dobreva, A. (2014). Essential oil yield and composition of garden sage as a function of different steam distillation times. *Horticultural Science*, 49(6), 785–790.

Zheljazkov, V.D., Cantrell, C.L., Astatkie, T., Jeliazkova, E. (2013b). Distillation time effect on lavender essential oil yield and composition. *Journal of Oleo Science*, 62(4), 195–199.

Ziaee, M., Moharramipour, S., Mohsenifar, A. (2014). MA-chitosan nanogel loaded with *Cuminum cyminum* essential oil for efficient management of two stored product beetle pests. *Journal of Pest Science*, 87, 691–699 doi 10.1007/s10340-014-0590-6.

Zohary, D. y Hopf, M. (2000). *Domestication of Plants in the Old World*. 3rd edn. Oxford, University Press, p. 206.

Zunino, M.P., Areco, V.A., Zygadlo J.A. (2012). Insecticidal activity of three essential oils against two new important soybean pests: *Sternechus pinguis* (Fabricius) and *Rhyssomatus subtilis* Fiedler (Coleoptera: Curculionidae). *BLACPMA*, 11(3), 269 - 277.

Zunino, M.P., Herrera, J.M., Pizzolitto, R.P., Rubinstein, H.R., Zygadlo, J.A., & Dambolena, J.S. (2015). Effect of Selected Volatiles on Two Stored Pests: The Fungus *Fusarium verticillioides* and the Maize Weevil *Sithophilus zeamais*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(35), 7743–7749.doi:10.1021/acs.jafc.5b02315

Zuzarte, M., Salgueiro, L. (2015). *Essential oils chemistry*. Springer, Switzerland.

Páginas web

http://indianspices.com. © 2019 Spices Board India, Ministry Of Commerce & Industry, Govt. of India

http://www.afssaps.fr. Camphre, eucalyptol et menthol dans les produits cosme´tiques destine´s aux enfants: l'Afssaps publie des recommandations pour les industriels.

http://www.centres-antipoison.net/cctv/rapport_cctv_repulsifs_2007.pdf

http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/hmpc/13721205en. pdf.

http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/hmpc/13836305en. pdf.

http://www.ifraorg.org.

Anexos

ANEXO 1

Estudio del fruto semilla de *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina.

DESCRIPCIÓN BREVE

Resultado de los análisis estadísticos de datos obtenidos del estudio del fruto semilla de *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina.

Viviana del V. Quiroga

TESIS DOCTORAL

III. Introducción.

En este Anexo se muestran los resultados de los análisis estadísticos descriptivos e inferenciales aplicados a los datos obtenidos de ensayos físicos y químicos realizados a los frutos semillas de comino de Catamarca.

A los efectos de facilitar la lectura de estos resultados en relación a la correspondencia con lo descrito e interpretado en el cuerpo de la Tesis, en este Anexo, los títulos y subtítulos de los apartados conservan el mismo orden en el que aparecen en la Tesis.

Los resultados de los análisis estadísticos que se presentan como un conglomerado de tablas y/o cuadros, fueron agrupados en cada caso con un mismo número y título de tabla.

III.1 Resultados del estudio del fruto-semilla de comino.

III.1.1 Peso medio de 1000 semillas (g)

III.1.1.6 Peso medio de 1000 semillas (g). Provincia Catamarca.

Tabla 1. Estadística descriptiva del peso de 1000 semillas de comino de Catamarca.

	Procedencia					
Estadística descriptiva	Belén	Capayán	Pomán	Santa María	Tinogasta	Catamarca
Media	**3,86**	**3,36**	**4,47**	**3,97**	**3,18**	**3,88**
Error típico	0,10	0,05	0,14	0,10	0,14	0,07
Mediana	4,07	3,40	4,54	3,97	3,22	3,92
Moda	4,01	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	4,01
Desviación estándar	**0,69**	**0,21**	**0,81**	**0,38**	**0,55**	**0,76**
Varianza de la muestra	0,48	0,04	0,65	0,15	0,31	0,58
Curtosis	0,03	-0,66	-0,50	-1,14	0,33	-0,37
Coef. de asimetría	-0,64	-0,69	-0,47	-0,19	0,76	0,19
Rango	2,82	0,70	2,95	1,14	1,90	3,41
Mínimo	2,21	2,95	2,67	3,36	2,39	2,21
Máximo	5,03	3,65	5,62	4,50	4,29	5,62
Suma	173,65	67,20	151,86	59,51	47,67	496,54
Cuenta	45,00	20,00	34,00	15,00	15,00	128
Mayor (1)	5,03	3,65	5,62	4,50	4,29	5,62
Menor(1)	2,21	2,95	2,67	3,36	2,39	2,21
Nivel de conf. (95,0%)	0,21	0,10	0,28	0,21	0,31	0,13

Tabla 2. Pruebas de normalidad de los datos de pesos de mil semillas.

Pruebas de Normalidad[b]							
	Procedencia	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
Pesos de mil semillas por departamento	1-Belén	,351	45	,000	,765	45	,000
	2-Capayán	,538	20	,000	,236	20	,000
	3-Pomán	,232	34	,000	,859	34	,000
	4-Santa María	,350	15	,000	,643	15	,000
	5-Tinogasta	,306	14	,001	,773	14	,002
Pesos de mil semillas total Catamarca	6- Total Catamarca	,226	128	,000	,868	128	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

b. Para pesos de mil semillas por Departamento es = constante, ha sido omitido

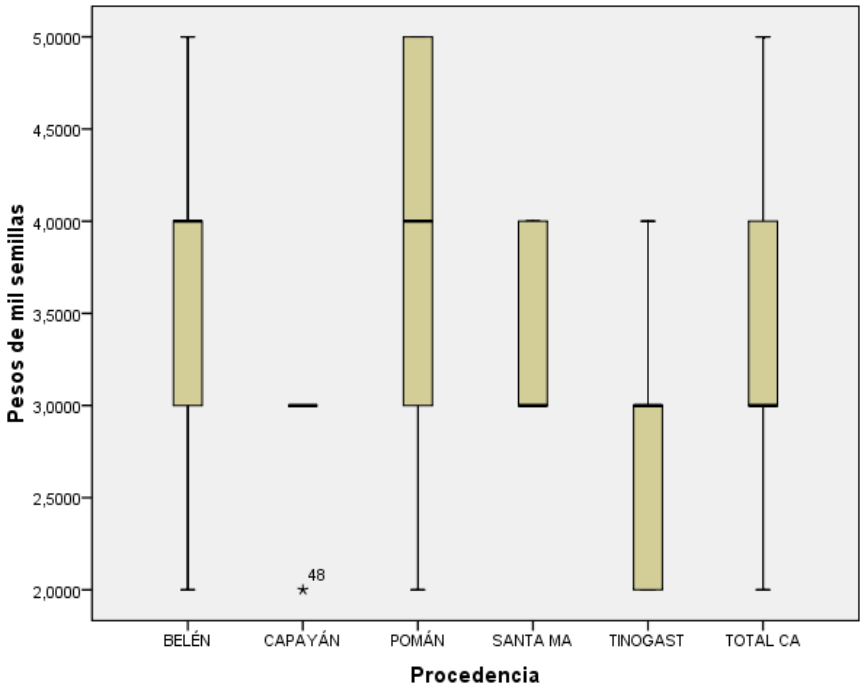


Figura 1. Distribución de los datos y medias de los pesos de 1000 semillas de comino según departamento y total Catamarca (Procedencia).

Tabla 3. Pruebas no paramétricas de pesos de mil semillas.

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Pesos de mil semillas	1- Belén	45	68,38
	2- Capayán	20	41,30
	3- Pomán	34	85,12
	4- Santa María	15	66,33
	5- Tinogasta	14	33,14
	Total	128	

Estadística de pruebas[a,b]

	Peso de mil semillas
Chi-Cuadrado	32,880
df	4
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Pesos de mil semillas	1- Belén	45	137,70
	2- Capayán	20	83,05
	3- Pomán	34	171,38
	4- Santa María	15	133,63
	5- Tinogasta	14	67,77
	6- T. Catamarca	129	129,50
	Total	258	

Estadística de pruebas[a,b]

	Peso de mil semillas
Chi-Cuadrado	33,434
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Pesos mil semillas	1-Belén	45	37,64	1694,00
	2-Capayán	20	22,55	451,00
	Total	65		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Capayán	Pesos de mil semillas
Mann-Whitney U	241,000
Wilcoxon W	451,000
Z	-3,249
Asint. Sig. (2-colas)	,001

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Pesos mil semillas	1-Belén	45	35,09	1579,00
	3-Pomán	34	46,50	1581,00
	Total	79		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Pomán	Pesos de mil semillas
Mann-Whitney U	544,000
Wilcoxon W	1579,000
Z	-2,370
Asint. Sig. (2-colas)	,018

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Pesos mil semillas	1-Belén	45	30,96	1393,00
	4-Santa María	15	29,13	437,00
	Total	60		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Santa María	Pesos mil semillas
Mann-Whitney U	317,000
Wilcoxon W	437,000
Z	-,391
Asint. Sig. (2-colas)	,696

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Pesos mil semillas	1-Belén	45	33,69	1516,00
	5-Tinogasta	14	18,14	254,00
	Total	59		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Tinogasta	Pesos mil semillas
Mann-Whitney U	149,000
Wilcoxon W	254,000
Z	-3,189
Asint. Sig. (2-colas)	,001

a. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 3. Pruebas no paramétricas de pesos de mil semillas.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Pesos mil semillas	2-Capayán	20	19,70	394,00
	5-Tinogata	14	14,36	201,00
	Total	34		

Estadística de Pruebas[a,b]

Capayán-Tinogasta	Pesos mil semillas
Mann-Whitney U	96,000
Wilcoxon W	201,000
Z	-1,931
Asint. Sig. (2-colas)	,053
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,129a

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Pesos mil semillas	3-Pomán	34	27,59	938,00
	4-Santa María	15	19,13	287,00
	Total	49		

Estadística de Pruebas[a]

Pomán-Santa María	Pesos mil semillas
Mann-Whitney U	167,000
Wilcoxon W	287,000
Z	-2,037
Asint. Sig. (2-colas)	,042

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Pesos mil semillas	1-Belén	45	91,60	4122,00
	6-Catamarca	129	86,07	11103,00
	Total	174		

Estadística de Pruebas[a]

Belén-Catamarca	Pesos mil semillas
Mann-Whitney U	2718,000
Wilcoxon W	11103,000
Z	-,680
Asint. Sig. (2-colas)	,496

a. Variable de agrupación: Procedencia

Tabla 4. Valores medios ± desvío estándar e intervalos de confianza de la media del peso de 1000 semillas de comino de Catamarca.

Muestras	Procedencia	Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
1	BELÉN	3,86 ± 0,69	[3,66; 4,06]	B
2	CAPAYÁN	3,36 ± 0,21	[3,27; 3,45]	A
3	POMÁN	4,47 ± 0,81	[4,19; 4,75]	C
4	SANTA MARÍA	3,97 ± 0,38	[3,77; 4,16]	B
5	TINOGASTA	3,18 ± 0,55	[2,90; 3,46]	A
6	Total Catamarca	**3,88 ± 0,76**	**[3,72; 3,98]**	

(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según Pruebas de Kruskal-Wallis (*P*= 0,000) y Mann-Whitney (*P*< 0,05).

III.1.2 Tamaño de los frutos-semillas

III.1.2.6 Tamaño de los frutos-semillas expresado como área superficial media S (mm^2). Provincia Catamarca.

Tabla 5. Estadística descriptiva del área superficial media (mm^2) de semillas de comino de Catamarca.

	Procedencia					
Estadística descriptiva	Belén	Capayán	Pomán	Santa María	Tinogasta	Catamarca
Media	**13,27**	**11,26**	**10,87**	**11,14**	**10,49**	**11,85**
Error típico	0,20	0,27	0,23	0,42	0,30	0,13
Mediana	13,34	11,10	10,93	10,62	10,24	11,46
Moda	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Desviación estándar	**2,74**	**2,39**	**2,28**	**2,69**	**2,29**	**2,77**
Varianza de la muestra	7,49	5,73	5,20	7,21	5,22	7,65
Curtosis	-0,49	0,90	0,37	0,20	1,39	-0,17
Coeficiente de asimetría	0,04	0,61	0,15	0,77	0,71	0,39
Rango	13,71	12,37	13,00	11,38	11,42	17,64
Mínimo	7,61	5,83	3,68	6,38	5,95	3,68
Máximo	21,32	18,21	16,69	17,75	17,36	21,32
Suma	2387,76	900,99	1087,09	445,48	629,13	5450,45
Cuenta	180,00	80,00	100,00	40,00	60,00	460,00
Nivel de confianza (95%)	0,40	0,53	0,45	0,86	0,59	0,25

Tabla 6. Pruebas de normalidad de los datos de áreas superficiales de las semillas.

	Procedencia	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
Área superficial	1 Belén	,092	180	,001	,980	180	,011
	2 Capayán	,169	80	,000	,951	80	,004
	3 Pomán	,108	100	,006	,956	100	,002
	4 Santa María	,167	40	,007	,936	40	,025
	5 Tinogasta	,144	60	,004	,936	60	,004
	6-Catamarca	,125	460	,000	,972	460	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

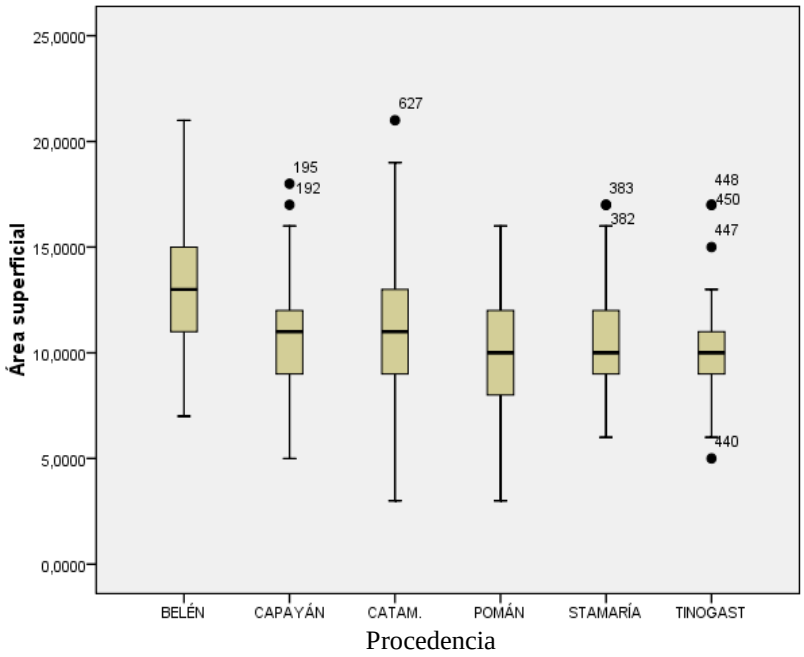


Figura 2. Distribución de los datos y medias de las áreas superficiales de semillas de comino según Procedencia.

Tabla 7. Pruebas no paramétricas de áreas superficiales de las semillas.

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Área superficial	1- Belén	180	594,84
	2- Capayán	80	404,93
	3- Pomán	100	369,36
	4- Santa María	40	383,68
	5- Tinogasta	60	334,68
	6- T. Catamarca	460	460,50
	Total	920	

Estadística de pruebas[a,b]

	Área superficial
Chi-Cuadrado	79,074
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	1-Belén	180	147,71	26587,50
	2-Capayán	80	91,78	7342,50
	Total	260		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Capayán	Área superficial
Mann-Whitney U	4102,500
Wilcoxon W	7342,500
Z	-5,566
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	1-Belén	180	165,04	29708,00
	3-Pomán	100	96,32	9632,00
	Total	280		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Pomán	Área superficial
Mann-Whitney U	4582,000
Wilcoxon W	9632,000
Z	-6,843
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 7.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	1-Belén	180	119,27	21468,50
	4-Santa María	40	71,04	2841,50
	Total	220		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Santa María	Área superficial
Mann-Whitney U	2021,500
Wilcoxon W	2841,500
Z	-4,357
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	1-Belén	180	137,15	24687,00
	5-Tinogasta	60	70,55	4233,00
	Total	240		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Tinogasta	Área superficial
Mann-Whitney U	2403,000
Wilcoxon W	4233,000
Z	-6,468
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	1-Belén	180	387,67	69781,00
	6-Catamarca	460	294,22	135339,00
	Total	640		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Catamarca	Área superficial
Mann-Whitney U	29309,000
Wilcoxon W	135339,000
Z	-5,781
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	2-Capayán	80	94,69	7575,50
	3-Pomán	100	87,15	8714,50
	Total	180		

Estadística de Pruebas[a,]

Capayán-Pomán	Área superficial
Mann-Whitney U	3664,500
Wilcoxon W	8714,500
Z	-,976
Asint. Sig. (2-colas)	,329

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	2-Capayán	80	75,79	6063,50
	5-Tinogasta	60	63,44	3806,50
	Total	140		

Estadística de Pruebas[a,]

Capayán-Tinogasta	Área superficial
Mann-Whitney U	1976,500
Wilcoxon W	3806,500
Z	-1,806
Asint. Sig. (2-colas)	,071

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	3-Pomán	100	234,93	23493,00
	6-Catamarca	460	290,41	133587,00
	Total	560		

Estadística de Pruebas[a,]

Pomán-Catamarca	Área superficial
Mann-Whitney U	18443,000
Wilcoxon W	23493,000
Z	-3,129
Asint. Sig. (2-colas)	,002

a. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 7. Pruebas no paramétricas de áreas superficiales de las semillas.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	2-Capayán	80	75,79	6063,50
	5-Tinogasta	60	63,44	3806,50
	Total	140		

Estadística de Pruebas[a]

Capayán-Tinogasta	Área superficial
Mann-Whitney U	1976,500
Wilcoxon W	3806,500
Z	-1,806
Asint. Sig. (2-colas)	,071

a. Variable de agrupación: muestra

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Área superficial	3-Pomán	100	234,93	23493,00
	6-Catamarca	460	290,41	133587,00
	Total	560		

Estadística de Pruebas[a]

Pomán-Catamarca	Área superficial
Mann-Whitney U	18443,000
Wilcoxon W	23493,000
Z	-3,129
Asint. Sig. (2-colas)	,002

a. Variable de agrupación: muestra

Tabla 8. Valores medios ± desvío estándar e intervalos de confianza de la media del tamaño de semillas de comino de Catamarca

Procedencia de las muestras	Resultados	L (mm)	A (mm)	E (mm)	Da (mm)	Dg (mm)	S (mm^2)
Belén	Media ± DE	6,30 ± 0,63	1,50 ± 0,25	0,98 ± 0,20	2,93 ± 0,26	2,09 ± 0,24	13,27 ± 2,74
	IC para α 0,05	[6,21; 6,39]	[1,46; 1,54]	[0,95; 1,01]	[2,89; 2,96]	[2,05; 2,12]	[12,87; 13,6]
Capayán	Media ± DE	5,86 ± 0,54	1,52± 0,24	0,80 ± 0,15	2,73 ± 0,25	1,92 ± 0,22	11,26 ± 2,39
	IC para α 0,05	[5,74; 5,98]	[1,47; 1,58]	[0,77; 0,84]	[2,68; 2,78]	[1,87; 1,97]	[10,74; 11,7]
Pomán	Media ± DE	5,98 ± 0,61	1,31 ± 0,18	0,84 ± 0,16	2,71 ± 0,25	1,87 ± 0,22	10,87 ± 2,28
	IC para α 0,05	[5,86; 6,10]	[1,28; 1,35]	[0,81; 0,88]	[2,66; 2,76]	[1,83; 1,91]	[10,42; 11,3]
Santa María	Media ± DE	6,15 ± 0,76	1,34 ± 0,19	0,82 ± 0,15	2,77 ± 0,32	1,88 ± 0,23	11,14 ± 2,69
	IC para α 0,05	[5,91; 6,38]	[1,28; 1,39]	[0,77; 0,87]	[2,67;2,87]	[1,81; 1,95]	[10,30; 11,9]
Tinogasta	Media ± DE	6,02 ± 0,67	1,24 ± 0,21	0,82 ± 0,11	2,69 ± 0,28	1,82 ± 0,21	10,49 ± 2,29
	IC para α 0,05	[5,85; 6,19]	[1,19; 1,29]	[0,79; 0,84]	[2,62; 2,76]	[1,77;1,87]	[9,91; 11,06]
Total Catamarca (*)	Media ± DE	6,10 ± 0,65	1,41 ± 0,25	0,88 ± 0,18	2,80 ± 0,28	1,96 ± 0,25	11,85 ± 0,86
	IC para α 0,05	[6,04; 6,16]	[1,39; 1,44]	[0,87; 0,90]	[2,78; 2,83]	[1,93;1,98]	[11,77; 11,93]

(*) La media provincial para cada medida de las semillas de comino de Catamarca se calculó sobre 460 datos.

III.1.3 Humedad media (% fracción en masa)

III.1.3.6 Contenido de agua de semillas de comino. Provincia Catamarca.

Tabla 9. Estadística descriptiva del contenido de agua de semillas de comino de Catamarca.

	Procedencia					
Estadística descriptiva	Catamarca	Belén	Capayán	Pomán	Santa María	Tinogasta
Media	**8,29**	**8,28**	**8,61**	**8,12**	**8,98**	**7,74**
Error típico	0,16	0,33	0,29	0,29	0,18	0,39
Mediana	8,05	7,95	8,16	8,43	8,95	8,00
Moda	9,00	7,00	8,00	8,50	9,00	8,00
Desviación estándar	**1,53**	**1,92**	**1,25**	**1,29**	**0,44**	**1,34**
Varianza de la muestra	2,35	3,69	1,57	1,65	0,20	1,79
Curtosis	3,02	3,17	1,52	-0,92	2,81	-1,68
Coeficiente de asimetría	1,24	1,72	1,13	0,16	1,39	-0,29
Rango	8,01	8,01	5,00	4,20	1,30	3,51
Mínimo	5,99	5,99	7,00	6,38	8,50	5,99
Máximo	14,00	14,00	12,00	10,58	9,80	9,50
Suma	754,14	281,41	163,53	162,41	53,90	92,89
Cuenta	91,00	34,00	19,00	20,00	6,00	12,00
Nivel de confianza (95%)	0,32	0,67	0,60	0,60	0,47	0,85

Tabla 10. Pruebas de normalidad de los datos del contenido de agua de las semillas de comino.

	Procedencia	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
Humedad % (p/p)	1 Belén	,242	34	,000	,826	34	,000
	2 Capayán	,254	19	,002	,863	19	,011
	3 Pomán	,184	20	,075	,882	20	,019
	4 Santa María	,319	6	,056	,683	6	,004
	5 Tinogasta	,247	12	,041	,884	12	,100
	6-Catamarca	,201	91	,000	,890	91	,000
a. Corrección del significado de Lilliefors							

Tabla 11. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y prueba de homogeneidad de las varianzas para los contenidos medios de humedad.

ANOVA **Prueba de Levene**

Humedad (% p/p)– comparación según procedencia-sólo departamentos									
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Prueba de homogeneidad de las varianzas Levene			
Entre grupos	12,582	4	3,146	1,168	,330	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	231,528	86	2,692			1,335	4	86	,264
Total	244,110	90							
Humedad (% p/p)– comparación según procedencia- incluye total Catamarca									
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Prueba de homogeneidad de las varianzas Levene			
Entre grupos	12,582	5	2,516	,931	,462	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	475,638	176	2,702			,976	5	176	,434
Total	488,220	181							

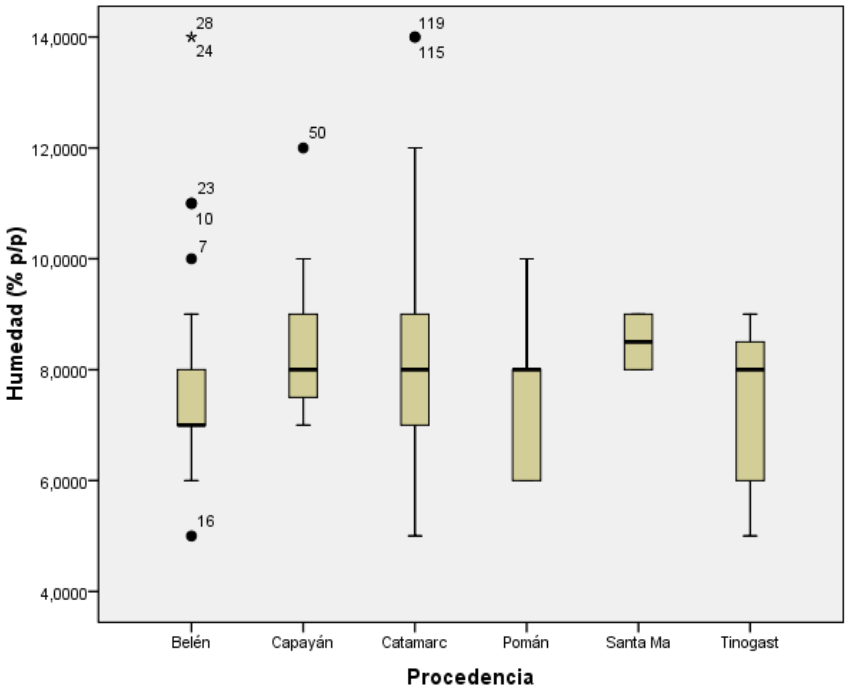


Figura 3. Distribución de los datos y medias del contenido de humedad de semillas de cominos de Catamarca según departamento productor y total provincia (procedencia).

Tabla 12. Pruebas no paramétricas del contenido de agua de las semillas de comino.

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Humedad (% p/p)	1- Belén	34	42,09
	2- Capayán	19	56,00
	3- Pomán	20	41,25
	4- Santa María	6	62,75
	5- Tinogasta	12	40,79
	Total	91	

Estadística de pruebas[a,b]

	Humedad (% p/p)
Chi-Cuadrado	7,369
df	4
Asint. Sig. (2 colas)	,118

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Humedad (% p/p)	1- Belén	34	83,68
	2- Capayán	19	111,50
	3- Pomán	20	82,00
	4- Santa María	6	125,00
	5- Tinogasta	12	81,08
	6- T. Catamarca	91	91,50
	Total	182	

Estadística de pruebas[a,b]

	Humedad (% p/p)
Chi-Cuadrado	7,410
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,192

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Tabla 13. Valores medios ± desvío estándar e intervalos de confianza de la media por departamento del contenido de humedad de las semillas de comino de Catamarca

Muestra	Procedencia	N	Media ± DE (% p/p)	IC; α = 0,05	
1	Belén	34	8,28 ± 1,92	[7,61 – 8,95]	A
2	Capayán	19	8,61 ± 1,25	[8,00 – 9,21]	A
3	Pomán	20	8,12 ± 1,29	[7,52 – 8,72]	A
4	Santa maría	6	8,98 ± 0,44	[8,52 – 9,45]	A
5	Tinogasta	12	7,74 ± 1,34	[6,89 – 8,59]	A
6	Total Catamarca	91	8,29 ± 1,53	[7,97 – 8,61]	A

Tabla 14. Análisis de correlación de Pearson entre humedad y medidas de tamaño y peso de las semillas de comino de Catamarca.

Correlación de Pearson

Variable(1)	Variable(2)	n	Pearson	p-valor
Peso 1000 semillas (g)	Peso 1000 semillas (g)	24	1,00	<0,0001
Peso 1000 semillas (g)	S (mm2)	24	0,35	0,0900
Peso 1000 semillas (g)	L (mm)	24	0,22	0,2948
Peso 1000 semillas (g)	A (mm)	24	0,23	0,2847
Peso 1000 semillas (g)	E (mm)	24	0,43	0,0358
Peso 1000 semillas (g)	Humedad (%p/p)	24	0,10	0,6301
S (mm2)	Peso 1000 semillas (g)	24	0,35	0,0900
S (mm2)	S (mm2)	24	1,00	<0,0001
S (mm2)	L (mm)	24	0,79	<0,0001
S (mm2)	A (mm)	24	0,81	<0,0001
S (mm2)	E (mm)	24	0,93	<0,0001
S (mm2)	Humedad (%p/p)	24	0,01	0,9553
L (mm)	Peso 1000 semillas (g)	24	0,22	0,2948
L (mm)	S (mm2)	24	0,79	<0,0001
L (mm)	L (mm)	24	1,00	<0,0001
L (mm)	A (mm)	24	0,39	0,0597
L (mm)	E (mm)	24	0,68	0,0003
L (mm)	Humedad (%p/p)	24	-0,14	0,5027
A (mm)	Peso 1000 semillas (g)	24	0,23	0,2847
A (mm)	S (mm2)	24	0,81	<0,0001
A (mm)	L (mm)	24	0,39	0,0597
A (mm)	A (mm)	24	1,00	<0,0001
A (mm)	E (mm)	24	0,65	0,0006
A (mm)	Humedad (%p/p)	24	0,22	0,3027
E (mm)	Peso 1000 semillas (g)	24	0,43	0,0358
E (mm)	S (mm2)	24	0,93	<0,0001
E (mm)	L (mm)	24	0,68	0,0003
E (mm)	A (mm)	24	0,65	0,0006
E (mm)	E (mm)	24	1,00	<0,0001
E (mm)	Humedad (%p/p)	24	-0,01	0,9664
Humedad (%p/p)	Peso 1000 semillas (g)	24	0,10	0,6301
Humedad (%p/p)	S (mm2)	24	0,01	0,9553
Humedad (%p/p)	L (mm)	24	-0,14	0,5027
Humedad (%p/p)	A (mm)	24	0,22	0,3027
Humedad (%p/p)	E (mm)	24	-0,01	0,9664
Humedad (%p/p)	Humedad (%p/p)	24	1,00	<0,0001

III.1.4 Rendimiento medio en aceite esencial expresados en base húmeda (bh) (ml de AE/100g de muestra húmeda) y en base seca (bs) (ml de AE/100g de muestra seca).

III.1.4.6 Rendimiento en aceite esencial. Provincia de Catamarca.

Tabla 15. Estadística descriptiva del rendimiento en aceite esencial en base seca de comino de la provincia de Catamarca

Rendimiento AE bs (% v/p)	Procedencia					
Estadística descriptiva	Catamarca	Belén	Capayán	Pomán	Santa María	Tinogasta
Media	**4,66**	**5,27**	**3,79**	**4,91**	**4,51**	**4,59**
Error típico	0,08	0,12	0,19	0,09	0,12	0,15
Mediana	4,79	5,08	3,29	4,81	4,64	4,84
Moda	3,09	4,33	3,09	4,11	#N/A	3,70
Desviación estándar	**0,97**	**0,78**	**1,14**	**0,50**	**0,46**	**0,63**
Varianza de la muestra	0,95	0,61	1,30	0,25	0,21	0,40
Curtosis	-0,40	-1,29	-0,55	-0,17	-0,94	-1,12
Coeficiente de asimetría	-0,25	0,26	0,92	0,12	-0,64	-0,63
Rango	4,05	2,55	3,80	2,09	1,42	1,84
Mínimo	2,51	4,00	2,51	3,89	3,74	3,48
Máximo	6,55	6,55	6,31	5,98	5,16	5,32
Suma	666,58	237,01	136,50	147,32	67,70	78,05
Cuenta	143,00	45,00	36,00	30,00	15,00	17,00
Niv.confianza (95,0%)	0,16	0,23	0,39	0,19	0,25	0,32

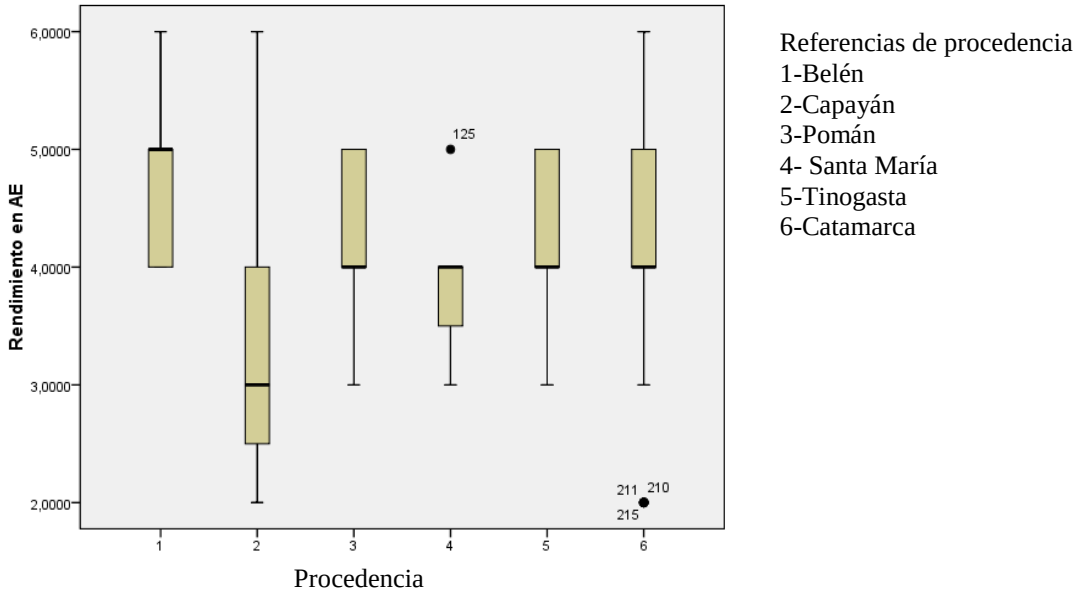


Figura 4. Distribución de los datos y medias de los rendimientos en AE en bs de semillas de comino según departamento productor y total Catamarca.

Tabla 16. Pruebas de normalidad de los datos de rendimiento en aceite esencial en base seca.

	Procedencia	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
Rendimiento en AE en bs	1 Belén	,308	45	,000	,755	45	,000
	2 Capayán	,323	36	,000	,823	36	,000
	3 Pomán	,379	30	,000	,700	30	,000
	4 Santa María	,373	15	,000	,734	15	,001
	5 Tinogasta	,224	17	,024	,812	17	,003
	6-Catamarca	,211	143	,000	,908	143	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

Tabla 17. Pruebas no paramétricas del rendimiento en aceite esencial de comino en base seca.

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Rendimiento AE en bs	1- Belén	45	190,79
	2- Capayán	36	83,42
	3- Pomán	30	159,30
	4- Santa María	15	113,90
	5- Tinogasta	17	143,79
	6- T. Catamarca	143	143,50
	Total	286	

Estadística de pruebas[a,b]

	Rendimiento AE bs
Chi-Cuadrado	40,607
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim. AE bs	1-Belén	45	53,02	2386,0
	2-Capayán	36	25,97	935,0
	Total	81		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Capayán	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	269,000
Wilcoxon W	935,000
Z	-5,280
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rend. AE bs	1-Belén	45	118,14	5316,5
	6-Catamarca	143	87,06	12449,5
	Total	188		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Catamarca	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	2153,500
Wilcoxon W	12449,500
Z	-3,530
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 17.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim. AE bs	1-Belén	45	42,13	1896,00
	3-Pomán	30	31,80	954,00
	Total	75		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Pomán	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	489,000
Wilcoxon W	954,000
Z	-2,237
Asint. Sig. (2-colas)	,025

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim. AE bs	1-Belén	45	34,56	1555,00
	5-Tinogasta	17	23,41	398,00
	Total	62		

Estadística de Pruebas[a,]

Belén-Tinogasta	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	245,000
Wilcoxon W	398,000
Z	-2,329
Asint. Sig. (2-colas)	,020

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim. AE bs	2-Capayán	36	25,15	905,50
	3-Pomán	30	43,52	1305,50
	Total	66		

Estadística de Pruebas[a,]

Capayán-Pomán	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	239,500
Wilcoxon W	905,500
Z	-4,011
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim AE bs	2-Capayán	36	59,96	2158,50
	6-Catamarca	143	97,56	13951,50
	Total	179		

Estadística de Pruebas[a,]

Capayán-Catamarca	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	1492,500
Wilcoxon W	2158,500
Z	-4,034
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim AE bs	3-Pomán	30	26,10	783,00
	4-Santa M.	15	16,80	252,00
	Total	45		

Estadística de Pruebas[a]

Pomán-Santa María	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	132,000
Wilcoxon W	252,000
Z	-2,645
Asint. Sig. (2-colas)	,008

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim AE bs	3-Pomán	30	94,90	2847,00
	6-Catamarca	143	85,34	12204,00
	Total	173		

Estadística de Pruebas[a]

Pomán-Catamarca	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	1908,000
Wilcoxon W	12204,000
Z	-1,011
Asint. Sig. (2-colas)	,312

a. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 17.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim AE bs	3-Pomán	30	24,98	749,50
	5-Tinogasta	17	22,26	378,50
	Total	47		

Estadística de Pruebas[a]

Pomán-Tinogasta	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	225,500
Wilcoxon W	378,500
Z	-,735
Asint. Sig. (2-colas)	,463

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim AE bs	4-Santa María	15	14,47	217,00
	5-Tinogasta	17	18,29	311,00
	Total	32		

Estadística de Pruebas[a]

Santa María-Tinogasta	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	97,000
Wilcoxon W	217,000
Z	-1,268
Asint. Sig. (2-colas)	,205

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Rendim AE bs	4-Santa María	15	64,70	970,50
	6-Catamarca	143	81,05	11590,50
	Total	158		

Estadística de Pruebas[a]

Santa María- Catamarca	Rendimiento AE bs
Mann-Whitney U	850,500
Wilcoxon W	970,500
Z	-1,393
Asint. Sig. (2-colas)	,164

a. Variable de agrupación: Procedencia

Tabla 18. Valores medios ± desvío estándar e intervalos de confianza de la media del rendimiento en aceite esencial de comino de la provincia de Catamarca.

Procedencia	N		Media ± DE	IC; α = 0,05	(*)
BELÉN	45	bh	4,84 ± 0,74	[4,61 - 5,06]	
		bs	5,27 ± 0,78	[5,03 - 5,50]	A
CAPAYÁN	36	bh	3,47 ± 1,06	[3,11 - 3,82]	
		bs	3,79 ± 1,14	[3,41 - 4,18]	D
POMÁN	30	bh	4,51 ± 0,42	[4,35 - 4,66]	
		bs	4,91 ± 0,50	[4,72 - 5,10]	B
SANTA MARÍA	15	bh	4,12 ± 0,42	[3,88 - 4,35]	
		bs	4,51 ± 0,46	[4,26 - 4,77]	C
TINOGASTA	17	bh	4,24 ± 0,61	[3,93 - 4,55]	
		bs	4,59 ± 0,63	[4,27 - 4,91]	BC
Total Catamarca	143	bh	4,28 ± 0,91	[4,13 - 4,43]	
		bs	4,66 ± 0,97	[4,50 - 4,82]	BC

Los valores medios de los rendimientos para cada muestra se calcularon sobre N repeticiones.
(*) Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de AE expresados en bs según pruebas de Kruskal-Wallis, $P = 0{,}000$ y Mann-Whitney $P<0{,}05$.

ANEXO 2

Estudio del aceite esencial de *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina

DESCRIPCIÓN BREVE

Resultado de los análisis estadísticos de datos obtenidos del estudio físico y químico del aceite esencial de semillas de *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina.

Viviana del V. Quiroga

TESIS DOCTORAL

III. Introducción.

En este Anexo se muestran los resultados de los análisis estadísticos descriptivos e inferenciales aplicados a los datos obtenidos de ensayos físicos y químicos realizados a los aceites esenciales de frutos semillas de comino de los distintos departamentos productores de la provincia de Catamarca.

A los efectos de facilitar la lectura de estos resultados en relación a la correspondencia con lo descrito e interpretado en el cuerpo de la Tesis, en este Anexo, los títulos y subtítulos de los apartados conservan el mismo orden en el que aparecen en la Tesis.

Los resultados de los análisis estadísticos que se presentan como un conglomerado de tablas y/o cuadros, fueron agrupados en cada caso con un mismo número y título de tabla.

III.2 Resultados del estudio del aceite esencial obtenido del fruto-semilla de comino

III.2.1 Índice de refracción a 20 ºC (n_D^t).

III.2.1.6 Índice de refracción a 20 ºC (n_D^t). Provincia de Catamarca.

Tabla 1. Estadística descriptiva del índice de refracción del AE de comino de Catamarca.

Estadística descriptiva	Belén	Capayán	Pomán	Santa María	Tinogasta	Catamarca
Media	**1,4970**	**1,4989**	**1,4965**	**1,4970**	**1,4961**	**1,4972**
Error típico	0,0002	0,0005	0,0002	0,0001	0,0001	0,0002
Mediana	1,4971	1,4984	1,4962	1,4970	1,4961	1,4968
Moda	1,4961	1,5030	1,4959	1,4971	1,4961	1,4959
Desviación estándar	**0,0014**	**0,0023**	**0,0010**	**0,0004**	**0,0004**	**0,0017**
Varianza de la muestra	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Curtosis	0,5072	-0,3616	0,1363	-1,5378	-0,3116	3,1657
Coeficiente de asimetría	-0,1109	0,6464	0,9554	0,2168	0,6567	1,4202
Rango	0,0068	0,0071	0,0035	0,0011	0,0011	0,0099
Mínimo	1,4931	1,4959	1,4951	1,4965	1,4957	1,4931
Máximo	1,4999	1,5030	1,4986	1,4976	1,4968	1,5030
Suma	50,8969	28,4782	25,4404	14,9699	14,9613	134,7467
Cuenta	34,0000	19,0000	17,0000	10,0000	10,0000	90,0000
Nivel de confianza (95,0%)	0,0005	0,0011	0,0005	0,0003	0,0003	0,0003

Tabla 2. Pruebas de normalidad de los datos del índice de refracción y densidad de los AEs de comino de Catamarca agrupados según su procedencia.

Shapiro -Wilks (modificado)

Departamento	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
BELÉN	Índice de refracción	34	1,4970	0,0014	0,9475	0,3355
BELÉN	Densidad	26	0,8937	0,0816	0,3006	<0,0001
CAPAYÁN	Índice de refracción	19	1,4989	0,0023	0,8743	0,0368
CAPAYÁN	Densidad	15	0,9132	0,0073	0,9012	0,2024
CATAMARCA	Índice de refracción	90	1,4972	0,0017	0,8738	<0,0001
CATAMARCA	Densidad	71	0,9029	0,0500	0,2455	<0,0001
POMÁN	Índice de refracción	17	1,4965	0,0010	0,8799	0,0690
POMÁN	Densidad	15	0,9085	0,0052	0,8859	0,1172
SANTA MARÍA	Índice de refracción	10	1,4970	0,0004	0,8738	0,1771
SANTA MARÍA	Densidad	9	0,9025	0,0185	0,5155	<0,0001
TINOGASTA	Índice de refracción	10	1,4961	0,0004	0,9237	0,5288
TINOGASTA	Densidad	6	0,9034	0,0055	0,7433	0,0230

Tabla 3. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y pruebas de Tukey y Duncan para los índices de refracción de los AEs de comino de Catamarca.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,0001	5	1,5E-05	6,1384	<0,0001
Departamento	0,0001	5	1,5E-05	6,1384	<0,0001
Error	0,0004	174	2,4E-06		
Total	0,0005	179			

Test: Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,00152

Error: 0,0000 gl: 174

Departamento	Medias	n	E.E.		
CAPAYÁN	1,4989	19	0,0004	A	
CATAMARCA	1,4972	90	0,0002		B
SANTA MARÍA	1,4970	10	0,0005		B
BELÉN	1,4970	34	0,0003		B
POMÁN	1,4965	17	0,0004		B
TINOGASTA	1,4961	10	0,0005		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test: Duncan Alfa = 0,05

Error: 0,0000 gl: 174

Departamento	Medias	n	E.E.		
CAPAYÁN	1,4989	19	0,0004	A	
CATAMARCA	1,4972	90	0,0002		B
SANTA MARÍA	1,4970	10	0,0005		B
BELÉN	1,4970	34	0,0003		B
POMÁN	1,4965	17	0,0004		B
TINOGASTA	1,4961	10	0,0005		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

III.2.2.6 Densidad relativa al agua a 20 ºC (d_{20}^{20}). Provincia de Catamarca.

Tabla 4. Estadística descriptiva de la densidad de los AEs de comino de Catamarca.

Estadística descriptiva	Belén	Capayán	Pomán	Santa María	Tinogasta	Catamarca
Media	**0,9094**	**0,9132**	**0,9085**	**0,9025**	**0,9034**	**0,9029**
Error típico	0,0012	0,0019	0,0014	0,0062	0,0023	0,0059
Mediana	**0,9083**	**0,9102**	**0,9087**	**0,9081**	**0,9006**	**0,9086**
Moda	0,9079	0,9098	#N/A	#N/A	#N/A	0,9079
Desviación estándar	**0,0059**	**0,0073**	**0,0052**	**0,0185**	**0,0055**	**0,0500**
Varianza de la muestra	0,0000	0,0001	0,0000	0,0003	0,0000	0,0025
Curtosis	1,1104	-0,9530	-1,1222	8,7706	-1,6211	66,2611
Coeficiente de asimetría	1,2791	0,3548	-0,3534	-2,9474	0,9503	-8,0234
Rango	0,0205	0,0232	0,0155	0,0588	0,0122	0,4325
Mínimo	0,9038	0,9038	0,8999	0,8534	0,8991	0,4945
Máximo	0,9243	0,9270	0,9154	0,9122	0,9113	0,9270
Suma	23,6455	13,6979	13,6278	8,1225	5,4202	64,1040
Cuenta	26,0000	15,0000	15,0000	9,0000	6,0000	71,0000
Nivel de confianza (95,0%)	0,0024	0,0041	0,0029	0,0142	0,0058	0,0118

Tabla 5. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks (modificado) aplicada a los datos de densidad de AEs de comino de Catamarca agrupados según su procedencia.

Departamento	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
BELÉN	Densidad	26	0,9094	0,0059	0,8149	<0,0001
CAPAYÁN	Densidad	15	0,9132	0,0073	0,9012	0,2024
CATAMARCA	Densidad	71	0,9029	0,0500	0,2455	<0,0001
POMÁN	Densidad	15	0,9085	0,0052	0,8859	0,1172
SANTA MARÍA	Densidad	9	0,9025	0,0185	0,5155	<0,0001
TINOGASTA	Densidad	6	0,9034	0,0055	0,7433	0,0230

Tabla 6. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y prueba de Tukey aplicada a las medias de datos de densidad agrupados según procedencia.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,0020	5	0,0004	0,3053	0,9090
Departamento	0,0020	5	0,0004	0,3053	0,9090
Error	0,1797	136	0,0013		
Total	0,1818	141			

Test: Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,04081

Error: 0,0013 gl: 136

Departamento	Medias	n	E.E.	
CAPAYÁN	0,9132	15	0,0094	A
BELÉN	0,9094	26	0,0071	A
POMÁN	0,9085	15	0,0094	A
TINOGASTA	0,9034	6	0,0148	A
CATAMARCA	0,9029	71	0,0043	A
SANTA MARÍA	0,9025	9	0,0121	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis aplicada a medias de datos de densidad agrupados según procedencia.

Variable	Departamento	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
Densidad	BELÉN	26	0,9094	0,0059	0,9083	5	8,7865	0,1177
Densidad	CAPAYÁN	15	0,9132	0,0073	0,9102			
Densidad	CATAMARCA	71	0,9029	0,0500	0,9086			
Densidad	POMÁN	15	0,9085	0,0052	0,9087			
Densidad	SANTA MARÍA	9	0,9025	0,0185	0,9081			
Densidad	TINOGASTA	6	0,9034	0,0055	0,9006			

Tabla 8. Análisis de correlación de Pearson entre el índice de refracción y la densidad del AE de comino de Catamarca.

Correlación de Pearson

Variable(1)	Variable(2)	n	Pearson	p-valor
densidad	densidad	23	1,00	<0,0001
densidad	índice refracción	23	0,41	0,0513
índice refracción	densidad	23	0,41	0,0513
índice refracción	índice refracción	23	1,00	<0,0001

Tabla 9. Análisis de correlación de Pearson entre el índice de refracción y la composición química del AE de comino de Catamarca.

Correlación de Pearson

Variable(1)	Variable(2)	n	Pearson	p-valor
índice refracción	índice refracción	23	1,00	<0,0001
índice refracción	Hidrocarburo terpénico	23	-0,36	0,0939
índice refracción	Aldehído	23	0,36	0,0955
índice refracción	Alcohol	23	0,27	0,2094
índice refracción	a-tuyeno	23	0,14	0,5158
índice refracción	a-pineno	23	0,21	0,3345
índice refracción	sabineno	23	-0,09	0,6875
índice refracción	ß-pineno	23	-0,31	0,1543
índice refracción	ß-mirceno	23	-0,52	0,0113
índice refracción	NI	23	-0,38	0,0708
índice refracción	a-felandreno	23	-0,09	0,6885
índice refracción	delta 3 carene	23	0,01	0,9814
índice refracción	p-cimeno	23	0,62	0,0017
índice refracción	limoneno	23	-0,22	0,3036
índice refracción	Éter: 1,8 cineole	23	0,24	0,2679
índice refracción	?-terpineno	23	-0,66	0,0007
índice refracción	cis sabinene hydrate	23	0,29	0,1720
índice refracción	trans pinocarveol	23	-0,27	0,2113
índice refracción	Cetona: sabina ketone	23	-0,20	0,3670
índice refracción	2 6 dimethyl 3 5 7 octatri..	23	-0,09	0,6835
índice refracción	terpinen 4 ol	23	0,54	0,0074
índice refracción	1,3-Cyclohexadiene-1-metha..	23	0,06	0,7868
índice refracción	cuminaldehído	23	0,58	0,0037
índice refracción	felandral	23	0,05	0,8256
índice refracción	2-caren-10-al	23	-0,14	0,5375
índice refracción	p-mentha-1,4-dien-7-al	23	-0,29	0,1839
índice refracción	p-mentha 1,4-dien-7-ol	23	0,28	0,1973
índice refracción	ß cariofileno	23	-0,16	0,4546
índice refracción	ß farneseno	23	0,23	0,2898
índice refracción	acoradiene	23	-0,25	0,2589
índice refracción	ß chamigrene	23	-0,19	0,3857
índice refracción	Epóxido: caryophyllene oxi..	23	0,02	0,9278
índice refracción	carotol	23	-0,14	0,5371

Tabla 10. Análisis de correlación de Pearson entre la densidad y la composición química del AE de comino de Catamarca.

Correlación de Pearson

Variable(1)	Variable(2)	n	Pearson	p-valor
densidad	densidad	23	1,00	<0,0001
densidad	Hidrocarburo terpénico	23	-0,26	0,2367
densidad	Aldehído	23	0,19	0,3793
densidad	Alcohol	23	0,20	0,3588
densidad	Epóxido: caryophyllene oxi..	23	-0,10	0,6382
densidad	Cetona: sabina ketone	23	-0,17	0,4308
densidad	Éter: 1,8 cineole	23	0,06	0,8006
densidad	cuminaldehído	23	-0,06	0,7827
densidad	felandral	23	0,06	0,7685
densidad	2-caren-10-al	23	0,18	0,4115
densidad	p-mentha-1,4-dien-7-al	23	0,16	0,4740
densidad	p-mentha 1,4-dien-7-ol	23	0,24	0,2647
densidad	?-terpineno	23	-0,16	0,4714
densidad	p-cimeno	23	0,01	0,9538
densidad	ß-pineno	23	-0,16	0,4548
densidad	a-pineno	23	0,12	0,5928
densidad	ß-mirceno	23	0,02	0,9289
densidad	NI	23	-0,18	0,4178
densidad	a-felandreno	23	0,10	0,6479
densidad	delta 3 carene	23	0,28	0,1930
densidad	limoneno	23	0,18	0,4215
densidad	cis sabinene hydrate	23	0,29	0,1719
densidad	trans pinocarveol	23	-0,22	0,3027
densidad	2 6 dimethyl 3 5 7 octatri..	23	-0,10	0,6499
densidad	terpinen 4 ol	23	0,19	0,3778
densidad	1,3-Cyclohexadiene-1-metha..	23	-0,03	0,8912
densidad	ß cariofileno	23	-0,27	0,2053
densidad	ß farneseno	23	0,24	0,2613
densidad	acoradiene	23	-0,03	0,8921
densidad	ß chamigrene	23	-0,18	0,4005
densidad	carotol	23	0,04	0,8399
densidad	a-tuyeno	23	-0,16	0,4725
densidad	sabineno	23	0,12	0,5810

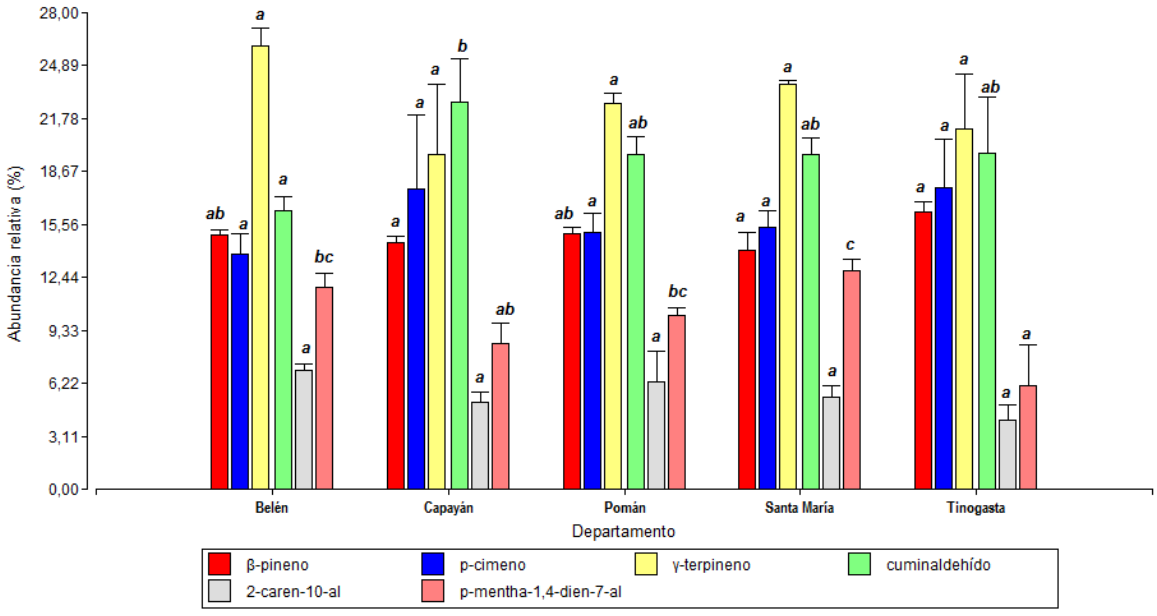


Figura 1. Abundancias relativas medias de los compuestos mayoritarios presentes en los AEs de comino según departamento de procedencia.
Medias con una letra común no son significativamente diferentes según Duncan, *P* >0,05.

ANEXO 3

Actividad anti-insecto del aceite esencial de *Cuminum cyminum* L. de Catamarca contra *Sitophilus zeamais* (Motschulsky).

DESCRIPCIÓN BREVE

Resultados de los análisis estadísticos de datos obtenidos de experimentos de actividad anti-insecto de aceites esenciales de *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina, contra *Sitophilus zeamais* (Motschulsky).

Viviana del V. Quiroga

TESIS DOCTORAL

Introducción.

En este Anexo se muestran los resultados de los análisis estadísticos descriptivos e inferenciales aplicados a los datos experimentales de actividad anti-insecto de los aceites esenciales de comino de Catamarca frente *S. zeamais*.

A los efectos de facilitar la lectura de estos resultados en relación a la correspondencia con lo descrito e interpretado en el cuerpo de la Tesis, en este Anexo, los títulos y subtítulos de los apartados conservan el mismo orden en el que aparecen en la Tesis.

Los resultados de los análisis estadísticos que se presentan como un conglomerado de tablas y/o cuadros, fueron agrupados en cada caso con un mismo número y título de tabla.

III.2.4.1 Actividad anti-insecto contra *S. zeamais*

III.2.4.1.1 Actividad insecticida

III.2.4.1.1.6 Provincia Catamarca. Actividad insecticida contra *S. zeamais* M. de los aceites esenciales de los frutos-semillas de comino de Catamarca.

Tabla 1. Análisis estadístico de regresión Probit para la determinación de concentraciones letales del aceite esencial de comino contra *Sitophilus zeamais* M.

Análisis Probit

Información de datos		N de Casos
Válido		778
Rechazado	Desaparecido	17
	Número de respuestas > Número de sujetos	25
Grupo de Control		161

Información de convergencia

	Número de iteraciones	Solución óptima encontrada
PROBIT	13	Sí

Estimaciones de parámetros

						95% Intervalo de Confianza	
	Parámetro	Estimar	Error Est.	Z	Sig.	Límite inferior	Límite superior
PROBIT[a]	Tratamiento	,012	,000	44,093	,000	,011	,012
	Interceptar	-,878	,023	-38,236	,000	-,901	-,855

a. PROBIT modelo: PROBIT(p) = Interceptar + BX

		Chi-cuadrado	df[a]	Sig.
PROBIT	Prueba de bondad de ajuste de Pearson	6882,314	776	,000[b]

a. Las estadísticas basadas en casos individuales difieren de las estadísticas basadas en casos agregados.

b. Dado que el nivel de significación es menor que, 050, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

Continuación Tabla 1. Análisis estadístico de regresión Probit para la determinación de concentraciones letales del aceite esencial de comino contra *Sitophilus zeamais* M.

Límites de Confianza

Probabilidad		95 % Límites de confianza para el tratamiento		
		Estimar	Límite inferior	Límite superior
PROBIT[a]	,010	-123,137	-152,334	-100,447
	,020	-99,958	-125,803	-79,788
	,030	-85,251	-108,999	-66,652
	,040	-74,187	-96,377	-56,751
	,050	-65,188	-86,125	-48,683
	,060	-57,528	-77,412	-41,803
	,070	-50,812	-69,782	-35,759
	,080	-44,799	-62,962	-30,338
	,090	-39,330	-56,767	-25,398
	,100	-34,295	-51,075	-20,842
	,150	-13,452	-27,620	-1,864
	,200	3,113	-9,164	13,403
	,250	17,325	6,474	26,697
	,300	30,088	20,303	38,850
	,350	41,914	32,883	50,346
	,400	53,136	44,570	61,504
	,450	63,994	55,624	72,554
	,500	**74,679**	**66,258**	**83,673**
	,550	85,364	76,670	95,014
	,600	96,222	87,053	106,735
	,650	107,444	97,617	119,017
	,700	119,270	108,605	132,105
	,750	132,033	120,338	146,354
	,800	146,244	133,290	162,333
	,850	162,810	148,281	181,066
	,900	183,653	167,029	204,750
	,910	188,687	171,544	210,484
	,920	194,156	176,443	216,719
	,930	200,170	181,824	223,580
	,940	206,886	187,828	231,248
	,950	**214,546**	**194,669**	**240,001**
	,960	223,545	202,698	250,293
	,970	234,608	212,557	262,956
	,980	249,315	225,649	279,805
	,990	272,495	246,255	306,388

a. Se utiliza un factor de heterogeneidad.

III.2.4.1.2.6 Índice de Respuesta del *S. zeamais* frente al AE de comino de la Provincia de Catamarca.

Tabla 2. Análisis estadístico paramétrico. Análisis de la varianza de Índices de Respuesta (IR) de *S. zeamais* según tratamiento con aceite esencial de comino de Catamarca.

ANOVA **Prueba de Levene**

Índice de Respuesta – comparación según Tratamiento IR

	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Prueba de Homogeneidad de Varianzas de Levene			
Entre grupos	110522,488	2	55261,244	49,888	,000	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	404312,729	365	1107,706			,366	2	365	,694
Total	514835,217	367							

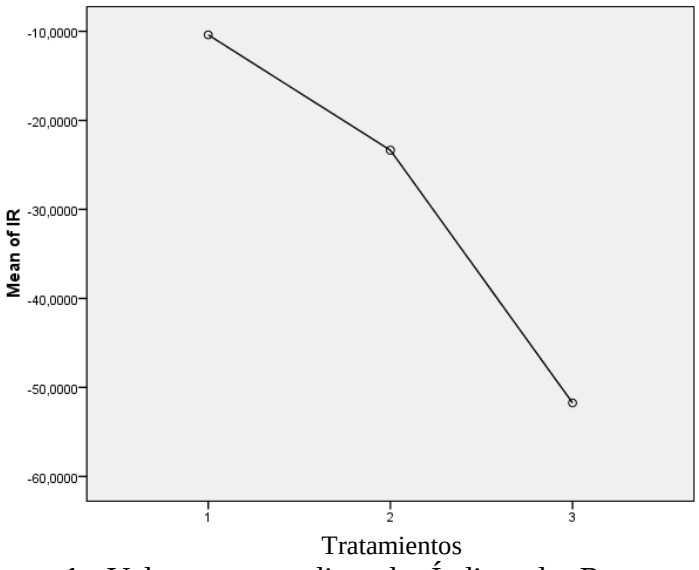
Tabla 3. Análisis estadístico paramétrico. Comparaciones múltiples de medias de Índices de Respuesta (IR) de *S. zeamais* según tratamiento con aceite esencial de comino de Catamarca con homogeneidad de varianzas asumidas.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:IR

	(I) Tratamientos	(j) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error Est.	Sig.	95% Intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
Tukey HSD	1	2	12,9651280*	4,2614946	,007	2,936491	22,993765
		3	41,3516916*	4,2354285	,000	31,384397	51,318986
	2	1	-12,9651280*	4,2614946	,007	-22,993765	-2,936491
		3	28,3865636*	4,2529648	,000	18,378000	38,395127
	3	1	-41,3516916*	4,2354285	,000	-51,318986	-31,384397
		2	-28,3865636*	4,2529648	,000	-38,395127	-18,378000
LSD	1	2	12,9651280*	4,2614946	,003	4,584964	21,345292
		3	41,3516916*	4,2354285	,000	33,022787	49,680596
	2	1	-12,9651280*	4,2614946	,003	-21,345292	-4,584964
		3	28,3865636*	4,2529648	,000	20,023174	36,749953
	3	1	-41,3516916*	4,2354285	,000	-49,680596	-33,022787
		2	-28,3865636*	4,2529648	,000	-36,749953	-20,023174

*. La diferencia de medias es significativa al nivel de 0,05.



Referencias de Tratamientos.

1-0,05 µL$_{AE}$/L$_{aire}$
2-0,4 µL$_{AE}$/L$_{aire}$
3-4,0 µL$_{AE}$/L$_{aire}$

Figura 1. Valores promedios de Índice de Respuesta de *S. zeamais* según tratamiento con AE de comino de Catamarca.
Valores negativos de IR indican repelencia.

Tabla 4. Análisis estadístico paramétrico. Pruebas de Tukey, Duncan y Waller-Duncan de subgrupos homogéneos de medias de Índice de respuesta (IR) de *S. zeamais* según tratamiento con aceite esencial de comino de Catamarca.

Subgrupos homogéneos

IR – Total Catamarca

	Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
			1	2	3
Tukey HSD[a,b]	3 (4,0 µLAE/Laaire)	124	-51,741935		
	2 (0,4 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	121		-23,355372	
	1 (0,05 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	123			-10,390244
	Sig.		1,000	1,000	1,000
Tukey B[a,b]	3 (4,0 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	124	-51,741935		
	2 (0,4 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	121		-23,355372	
	1 (0,05 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	123			-10,390244
Duncan[a,b]	3 (4,0 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	124	-51,741935		
	2 (0,4 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	121		-23,355372	
	1 (0,05 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	123			-10,390244
	Sig.		1,000	1,000	1,000
Waller-Duncan[a,,b,,c]	3 (4,0 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	124	-51,741935		
	2 (0,4 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	121		-23,355372	
	1 (0,05 µL$_{AE}$/L$_{aaire}$)	123			-10,390244

Las medias se muestran en grupos de subconjuntos homogéneos
a. Usa el tamaño medio de la muestra armónica = 122,654.
b. Los tamaños de grupo son desiguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.
c. Error Tipo 1/Tipo 2 Razón de Seriedad = 100.

Tabla 5. Análisis estadístico paramétrico. Prueba T de muestras pareadas para medias de IR de *S. zeamais* según tratamiento con aceite esencial de comino de Catamarca.

Prueba-T. Estadísticas de muestras pareadas- AE comino Catamarca.

		Medias	N	Desviación Est.	Error Est. de la media
Par 1	Control	55,368421	114	17,0445866	1,5963718
	Tratamiento 0,05	43,912281	114	17,0618663	1,5979902
Par 2	Control	61,669643	112	17,2278783	1,6278815
	Tratamiento 0,4	37,607143	112	17,1481920	1,6203518
Par 3	Control	75,725664	113	15,6964781	1,4766005
	Tratamiento 4	23,150442	113	15,4516650	1,4535704

Correlaciones de muestras pareadas – AE comino Catamarca

		N	Correlación	Sig.
Par 1	Control & Tratamiento 0,05	114	-1,000	,000
Par 2	Control & Tratamiento 0,4	112	-1,000	,000
Par 3	Control & Tratamiento 4	113	-,987	,000

Prueba de muestras pareadas - AE de comino de Catamarca

		Diferencias apareadas					t	df	Sig. (2 colas)
					95% Interv. Confianza dif.				
		Media	Desviación Est.	Error Est. Media	Inferior	Superior			
Par 1	Control-tratamiento 0,05 µL/L	-11,456	34,10347	3,1941	5,1281	17,78419	3,587	113	,000
Par 2	Control-tratamiento 0,4 µL/L	-24,062	34,37323	3,2480	17,6264	30,49856	7,408	111	,000
Par 3	Control-tratamiento 4 µL/L	-52,575	31,05031	2,9210	46,7877	58,3627	17,999	112	,000

Tabla 6. Análisis estadístico paramétrico. Comparación de IR de *S. zeamais* según procedencia para cada tratamiento con aceite esencial de comino.

Prueba de homogeneidad de las varianzas

Tratam. ($\mu L_{AE}/L_{aire}$)	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
0,05	1,747	5	117	,129
0,4	1,809	5	115	,116
4	1,012	5	118	,414

ANOVA

Tratamientos		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
0,05 $\mu L_{AE}/L_{aire}$	Entre grupos	7649,012	5	1529,802	1,309	,265
	Dentro de los grupos	136704,257	117	1168,412		
	Total	144353,268	122			
0,4 $\mu L_{AE}/L_{aire}$	Entre grupos	7118,206	5	1423,641	1,203	,312
	Dentro de los grupos	136071,513	115	1183,231		
	Total	143189,719	120			

Continuación Tabla 6.

Continuación ANOVA

Tratamientos		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
4 $\mu L_{AE}/L_{aire}$	Entre grupos	9755,771	5	1951,154	2,151	,064
	Dentro de los grupos	107013,971	118	906,898		
	Total	116769,742	123			

Subconjuntos homogéneos. Referencias para la Procedencia. 0: Catamarca; 1: Belén; 2: Capayán; 3: Pomán; 4: Santa María; 5: Tinogasta

	0,05 $\mu L_{AE}/L_{aire}$			**0,4** $\mu L_{AE}/L_{aire}$			**4** $\mu L_{AE}/L_{aire}$			
		N	Subconjunto para α = 0,05	Proced.	N	Subconjunto para α = 0,05	Proced.	N	Subconjunto para α = 0,05	
Procedencias			1			1			1	2
Tukey HSD[a,b]	1	45	-18,600000	4	15	-36,466667	4	15	-65,800000	
	5	16	-15,750000	2	22	-27,590909	5	15	-62,066667	
	3	16	-9,062500	1	45	-25,444444	2	22	-58,045455	
	2	22	-1,727273	0	9	-16,777778	0	11	-46,636364	
	4	15	-,733333	3	16	-13,687500	1	45	-46,466667	
	0	9	,555556	5	14	-11,214286	3	16	-38,562500	
	Sig.		,604	Sig.		,313	Sig.		,098	
Tukey B[a,b]	1	45	-18,600000	4	15	-36,466667	4	15	-65,800000	
	5	16	-15,750000	2	22	-27,590909	5	15	-62,066667	
	3	16	-9,062500	1	45	-25,444444	2	22	-58,045455	
	2	22	-1,727273	0	9	-16,777778	0	11	-46,636364	
	4	15	-,733333	3	16	-13,687500	1	45	-46,466667	
	0	9	,555556	5	14	-11,214286	3	16	-38,562500	
Duncan[a,b]	1	45	-18,600000	4	15	-36,466667	4	15	-65,800000	
	5	16	-15,750000	2	22	-27,590909	5	15	-62,066667	
	3	16	-9,062500	1	45	-25,444444	2	22	-58,045455	-58,045455
	2	22	-1,727273	0	9	-16,777778	0	11	-46,636364	-46,636364
	4	15	-,733333	3	16	-13,687500	1	45	-46,466667	-46,466667
	0	9	,555556	5	14	-11,214286	3	16		-38,562500
	Sig.		,169	Sig.		,072	Sig.		,099	,088
Waller-Duncan[a,b,c,d]	1	45		4	15		4	15	-65,800000	
	5	16		2	22		5	15	-62,066667	-62,066667
	3	16		1	45		2	22	-58,045455	-58,045455
	2	22		0	9		0	11	-46,636364	-46,636364
	4	15		3	16		1	45	-46,466667	-46,466667
	0	9		5	14		3	16		-38,562500

Grupos de medias que se muestran en subconjuntos homogéneos

a. Usa el tamaño medio de la muestra armónica = 16,196.

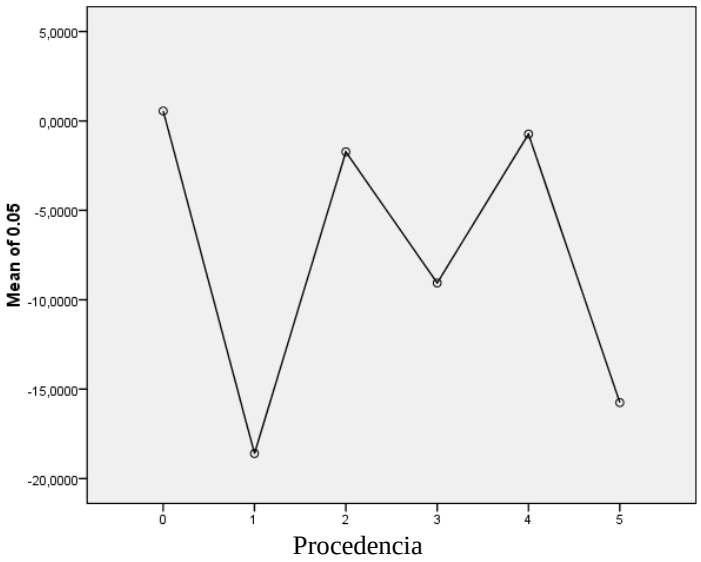
a. Usa el tamaño medio de la muestra armónica = 15,815.

a. Usa el tamaño medio de la muestra armónica Size = 16,929.

b. Los tamaños de grupo son desiguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados. c. Relación de seriedad del Error Tipo 1/Tipo 2 = 100.

d. No hay subconjuntos homogéneos para α = 0,05.

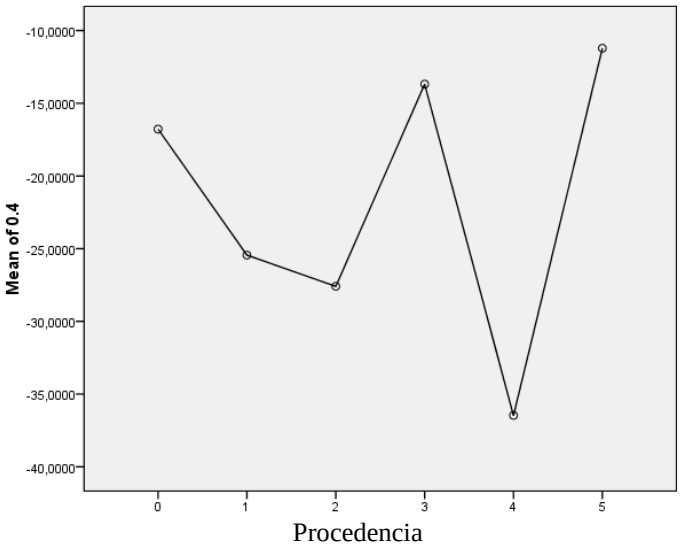
d. No hay subconjuntos homogéneos para α = 0,05.



Referencias de Procedencia.

0- Catamarca
1- Belén
2- Capayán
3- Pomán
4- Santa María
5- Tinogasta

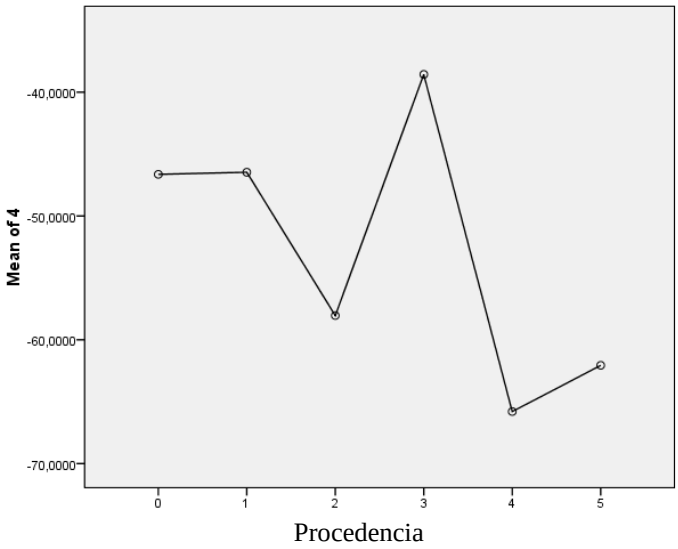
Figura 2. Valores promedios de Índice de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento de 0,05 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ según procedencia.
Valores negativos de IR indican repelencia.



Referencias de Procedencia.

0- Catamarca
1- Belén
2- Capayán
3- Pomán
4- Santa María
5- Tinogasta

Figura 3. Valores promedios de Índice de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento de 0,4 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ según procedencia.
Valores negativos de IR indican repelencia.



Referencias de Procedencia.

0- Catamarca
1- Belén
2- Capayán
3- Pomán
4- Santa María
5- Tinogasta

Figura 4. Valores promedios de Índice de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento de 4 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ según procedencia.
Valores negativos de IR indican repelencia.

Tabla 7. Análisis estadístico de regresión Probit para la determinación de concentraciones letales del cuminaldehído contra *Sitophilus zeamais* M.

Estimaciones de parámetros

	Parámetro	Estimar	Error est.	Z	Sig.	95% Intervalo de Confianza	
						Límite inferior	Límite superior
PROBIT[a]	Tratamiento	,008	,001	7,729	,000	,006	,010
	Interceptar	-,469	,108	-4,352	,000	-,577	-,361

a. PROBIT modelo: PROBIT(p) = Interceptar + BX

Prueba de Chi-Cuadrado

	Chi-cuadrado	df[a]	Sig.
PROBIT Prueba de bondad de ajuste de Pearson	86,490	28	,000[b]

a. Las estadísticas basadas en casos individuales difieren de las estadísticas basadas en casos agregados.
b. Dado que el nivel de significación es menor que, 050, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

Continuación Tabla 7. Análisis estadístico de regresión Probit para la determinación de concentraciones letales del cuminaldehído contra *Sitophilus zeamais* M.

Límites de Confianza

		95% Límites de confianza para el tratamiento		
	Probabilidad	Estimar	Límite inferior	Límite superior
PROBIT[a]	,010	-234,689	-505,518	-133,068
	,020	-200,239	-441,593	-108,997
	,030	-178,381	-401,112	-93,647
	,040	-161,938	-370,712	-82,049
	,050	-148,563	-346,022	-72,576
	,060	-137,179	-325,041	-64,479
	,070	-127,197	-306,673	-57,352
	,080	-118,259	-290,252	-50,944
	,090	-110,131	-275,343	-45,092
	,100	-102,649	-261,642	-39,682
	,150	-71,671	-205,212	-16,987
	,200	-47,051	-160,849	1,536
	,250	-25,929	-123,329	17,966
	,300	-6,961	-90,281	33,368
	,350	10,616	-60,475	48,457
	,400	27,294	-33,255	63,838
	,450	43,431	-8,306	80,106
	,500	**59,312**	**14,493**	**97,871**
	,550	75,193	35,230	117,698
	,600	91,330	54,121	140,023
	,650	108,008	71,598	165,147
	,700	125,585	88,261	193,380
	,750	144,553	104,812	225,278
	,800	165,675	122,082	261,959
	,850	190,295	141,228	305,698
	,900	221,273	164,401	361,649
	,910	228,755	169,895	375,267
	,920	236,883	175,828	390,095
	,930	245,821	182,314	406,437
	,940	255,803	189,518	424,729
	,950	**267,187**	**197,690**	**445,635**
	,960	280,562	207,239	470,249
	,970	297,005	218,914	500,573
	,980	318,863	234,346	540,971
	,990	353,313	258,513	604,799

a. Se utiliza un factor de heterogeneidad.

Tabla 8. Estadística descriptiva de los índices de respuesta del *Sitophilus zeamais* frente a distintos tratamientos con cuminaldehído.

Tratamientos con cuminaldehído ($\mu L_{AE}/L_{aire}$)					
4		0,4		0,05	
Media	**-51,86**	**Media**	**-22,49**	**Media**	**0,18**
Error típico	8,86	Error típico	16,42	Error típico	15,94
Mediana	-52,94	Mediana	-6,67	Mediana	-16,67
Moda	#N/A	Moda	11,11	Moda	#N/A
Desviación estándar	**29,40**	**Desviación estándar**	**49,25**	**Desviación estándar**	**47,83**
Varianza de la muestra	864,30	Varianza de la muestra	2425,60	Varianza de la muestra	2287,28
Curtosis	-0,92	Curtosis	-0,45	Curtosis	-1,35
Coeficiente de asimetría	-0,02	Coeficiente de asimetría	0,05	Coeficiente de asimetría	0,56
Rango	94,12	Rango	160,00	Rango	122,17
Mínimo	-100,00	Mínimo	-100,00	Mínimo	-52,94
Máximo	-5,88	Máximo	60,00	Máximo	69,23
Suma	-570,48	Suma	-202,40	Suma	1,63
Cuenta	11,00	Cuenta	9,00	Cuenta	9,00
Nivel de confianza (95,0%)	19,75	Nivel de confianza (95,0%)	37,86	Nivel de confianza (95,0%)	36,76

Tabla 9. Análisis estadístico paramétrico. Análisis de la varianza de Índices de Respuesta (IR) de *S. zeamais* según tratamiento con cuminaldehído.

ANOVA **Prueba de Levene**

Índice de Respuesta – comparación según Tratamiento con cuminal IR

	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig	Prueba de homogeneidad de varianzas Levene			
Entre grupos	11485,470	2	5742,735	4,185	,027	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	35674,323	26	1372,089			1,007	2	26	,379
Total	47159,793	28							

Tabla 10. Análisis estadístico paramétrico. Comparaciones múltiples de medias de Índices de Respuesta (IR) de *S. zeamais* según tratamiento con cuminaldehído con homogeneidad de varianzas asumidas.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:IR							
						95% Intervalo de confianza	
	(I) Tratamientos	(j) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error Est.	Sig.	Límite inferior	Límite superior
Tukey HSD	1	2	17,3333333	17,461636	,588	-26,056979	60,723646
		3	47,1919192*	16,649017	,023	5,820880	88,562959
	2	1	-17,3333333	17,461636	,588	-60,723646	26,056979
		3	29,8585859	16,649017	,192	-11,512454	71,229625
	3	1	-47,1919192*	16,649017	,023	-88,562959	-5,820880
		2	-29,8585859	16,649017	,192	-71,229625	11,512454
LSD	1	2	17,3333333	17,461636	,330	-18,559574	53,226241
		3	47,1919192*	16,649017	,009	12,969375	81,414464
	2	1	-17,3333333	17,461636	,330	-53,226241	18,559574
		3	29,8585859	16,649017	,085	-4,363959	64,081131
	3	1	-47,1919192*	16,649017	,009	-81,414464	-12,969375
		2	-29,8585859	16,649017	,085	-64,081131	4,363959

*. La diferencia de medias es significativa al nivel de 0,05.

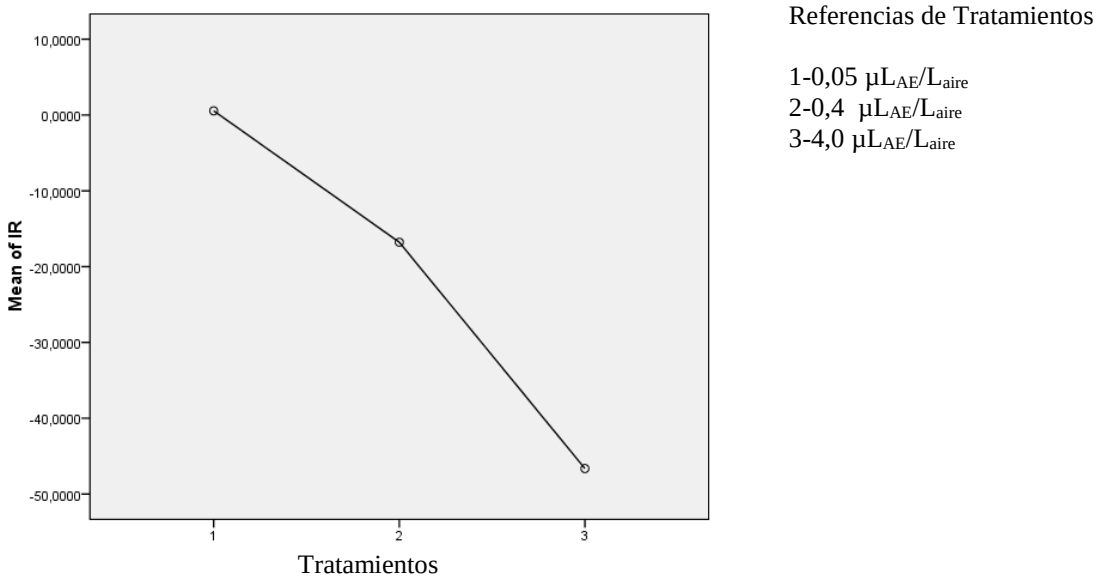


Figura 5. Valores promedios de Índice de Respuesta de *S. zeamais* según tratamiento con cuminaldehído.
Valores negativos de IR indican repelencia.

Tabla 11. Análisis estadístico paramétrico. Pruebas de Tukey, Duncan y Waller-Duncan de subgrupos homogéneos de medias de IR de *S. zeamais* según tratamiento con cuminaldehído.

Subgrupos homogéneos

IR- Total Catamarca

	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
			1	2
Tukey HSD[a,b]	3- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	11	-46,636364	
	2- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9	-16,777778	-16,777778
	1- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9		,555556
	Sig.		,201	,569
Tukey B[a,b]	3- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	11	-46,636364	
	2- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9	-16,777778	-16,777778
	1- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9		,555556
Duncan[a,b]	3- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	11	-46,636364	
	2- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9	-16,777778	-16,777778
	1- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9		,555556
	Sig.		,089	,315
Waller-Duncan[a,b,c]	3- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	11	-46,636364	
	2- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9	-16,777778	-16,777778
	1- (4,0 $\mu L_{AE}/L_{aaire}$)	9		,555556

Grupos de medias se muestran en subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño medio de la muestra armónica = 9,581.

b. Los tamaños de grupo son desiguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Gravedad de Error Tipo 1 / Tipo 2 Relación = 100.

Tabla 12. Análisis estadístico paramétrico. Prueba T de muestras pareadas para medias de IR de *S. zeamais* según tratamiento con cuminaldehído.

Estadística de muestras pareadas - cuminal

		Media	N	Desviación Estándar	Error Estándar de la Media
Par 1	Tratamiento 0,05 µL/L	42,111111	9	22,0762567	7,3587522
	Control	41.777778	9	21,1114766	7,0371589
Par 2	Tratamiento 0,4 µL/L	35,111111	9	23,5342540	7,8447513
	Control	52,000000	9	19,9874961	6,6624987
Par 3	Tratamiento 4 µL/L	19,818182	11	11,3562158	3,4240279
	Control	66,727273	11	19,9403656	6,0122465

Correlación de muestras pareadas - cuminal

		N	Correlación	Significancia
Par 1	Control y Tratamiento 0,05 µL/L	9	-,813	,008
Par 2	Control y Tratamiento 0,4 µL/L	9	-,808	,008
Par 3	Control y Tratamiento 4,00 µL/L	11	-,757	,007

Prueba de muestras pareadas - cuminaldehído

		Diferencias apareadas					t	df	Sig (2-colas)
		Media	Desvc. Est.	Error Est. Media	Int. Conf. dif. 95% Inferior	Superior			
Par 1	Cont.-Tratam. 0,05	0,3333	41,11873	13,70624	-31,2733	31,9000	,024	8	,981
Par 2	Cont.-Tratam. 0,4	-16,888	41,38975	13,79658	-48,7039	14,9261	-1,224	8	,256
Par 3	Cont.-Tratam. 4,00	-46909	29,48713	8,89071	-66,7188	-27,0994	-5,276	10	,000

Tabla 13. Análisis estadístico paramétrico. Pruebas de correlación de Pearson entre Índices de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento con aceite esencial de comino a 0,05 µL/L y las CL_{50} y CL_{95} del AE.

Correlaciones paramétricas entre IR al tratamiento de 0,05 µL/L y las CL_{50} y CL_{95}

Estadísticas descriptivas

	Medias	Desviación Estándar	N
IR 0,05	-11,68	12,714	22
CL_{50}	68,91	48,100	22

Correlations

		IR 0,05	CL_{50}
IR 0,05	Correlación de Pearson	1	-,193
	Sig. (2-colas)		,390
	Suma de cuadrados y productos cruzados	3394,773	-2478,364
	Covarianza	161,656	-118,017
	N	22	22
CL_{50}	Correlación de Pearson	-,193	1
	Sig. (2-colas)	,390	
	Suma de cuadrados y productos cruzados	-2478,364	48585,818
	Covarianza	-118,017	2313,610
	N	22	22

Estadísticas descriptivas

	Medias	Desviación Estándar	N
IR 0,05	-11,68	12,714	22
CL_{95}	174,41	98,170	22

Correlations

		IR 0,05	CL_{95}
IR 0,05	Correlación de Pearson	1	-,117
	Sig. (2-colas)		,603
	Suma de cuadrados y productos cruzados	3394,773	-3074,864
	Covarianza	161,656	-146,422
	N	22	22
CL_{95}	Correlación de Pearson	-,117	1
	Sig. (2-colas)	,603	
	Suma de cuadrados y productos cruzados	-3074,864	202385,318
	Covarianza	-146,422	9637,396
	N	22	22

Tabla 14. Análisis estadístico no paramétrico. Pruebas de correlación de Kendall's tau_b y Spearman's rho entre Índices de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento con aceite esencial de comino a 0,05 µL/L y las CL_{50} y CL_{95} del AE.

Correlaciones no paramétricas entre IR al tratamiento de 0,05 µL/L y las CL_{50} y CL_{95}

Correlaciones

			IR 0,05	CL_{50}
Kendall's tau_b	IR 0,05	Coeficiente de Correlación	1,000	-,222
		Sig. (2 colas)	.	,156
		N	22	22
	CL_{50}	Coeficiente de Correlación	-,222	1,000
		Sig. (2 colas)	,156	.
		N	22	22
Spearman's rho	IR 0,05	Coeficiente de Correlación	1,000	-,265
		Sig. (2 colas)	.	,234
		N	22	22
	CL_{50}	Coeficiente de Correlación	-,265	1,000
		Sig. (2 colas)	,234	.
		N	22	22

Correlaciones

			IR 0,05	CL_{95}
Kendall's tau_b	IR 0,05	Coeficiente de Correlación	1,000	-,168
		Sig. (2 colas)	.	,282
		N	22	22
	CL_{95}	Coeficiente de Correlación	-,168	1,000
		Sig. (2 colas)	,282	.
		N	22	22
Spearman's rho	IR 0,05	Coeficiente de Correlación	1,000	-,181
		Sig. (2 colas)	.	,421
		N	22	22
	CL_{95}	Coeficiente de Correlación	-,181	1,000
		Sig. (2 colas)	,421	.
		N	22	22

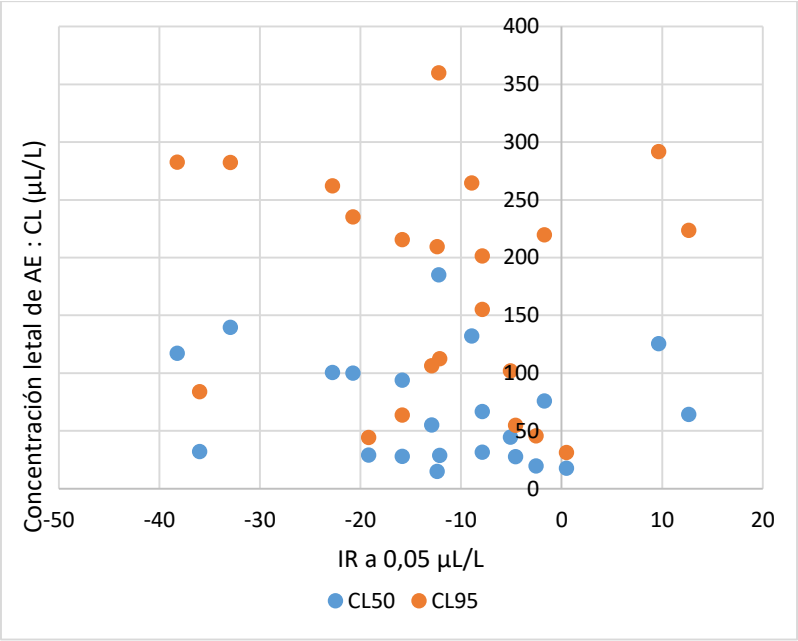


Figura 6. Relación entre el índice de respuesta a 0,05 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ y las CL_{50} y CL_{95}
CCP a CL_{50}, -0,193; *P* = 0,390 // *CCP* a CL_{95}, -0,117; *P* = 0,603

Tabla 15. Análisis estadístico paramétrico. Pruebas de correlación de Pearson entre Índices de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento con aceite esencial de comino a 0,4 µL/L y las CL_{50} y CL_{95} del AE.

Correlaciones paramétricas entre IR al tratamiento de 0,4 µL/L y las CL_{50} y CL_{95}

Estadísticas descriptivas

	Medias	Desviación Estándar	N
IR 0,4	-23,32	13,778	22
CL_{50}	68,91	48,100	22

Correlations

		IR 0,4	CL_{50}
IR 0,4	Correlación de Pearson	1	-,054
	Sig. (2-colas)		,811
	Suma de cuadrados y productos cruzados	3986,773	-751,636
	Covarianza	189,846	-35,792
	N	22	22
CL_{50}	Correlación de Pearson	-,054	1
	Sig. (2-colas)	,811	
	Suma de cuadrados y productos cruzados	-751,636	48585,818
	Covarianza	-35,792	2313,610
	N	22	22

Continuación Tabla 15.

Estadísticas descriptivas

	Medias	Desviación Estándar	N
IR 0,4	-23,32	13,778	22
CL_{95}	174,41	98,170	22

Correlations

		IR 0,4	CL_{95}
IR 0,4	Correlación de Pearson	1	-,068
	Sig. (2-colas)		,763
	Suma de cuadrados y productos cruzados	3986,773	-1935,136
	Covarianza	189,846	-92,149
	N	22	22
CL_{95}	Correlación de Pearson	-,068	1
	Sig. (2-colas)	,763	
	Suma de cuadrados y productos cruzados	-1935,136	202385,318
	Covarianza	-92,149	9637,396
	N	22	22

Tabla 16. Análisis estadístico no paramétrico. Pruebas de correlación de Kendall's tau_b y Spearman's rho entre Índices de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento con aceite esencial de comino a 0,4 µL/L y las CL_{50} y CL_{95} del AE.

Correlaciones no paramétricas

Correlaciones

			IR 0,4	CL_{50}
Kendall's tau_b	IR 0,4	Coeficiente de Correlación	1,000	-,048
		Sig. (2 colas)	.	,756
		N	22	22
	CL_{50}	Coeficiente de Correlación	-,048	1,000
		Sig. (2 colas)	,756	.
		N	22	22
Spearman's rho	IR 0,4	Coeficiente de Correlación	1,000	-,082
		Sig. (2 colas)	.	,718
		N	22	22
	CL_{50}	Coeficiente de Correlación	-,082	1,000
		Sig. (2 colas)	,718	.
		N	22	22

Correlations

			IR 0,4	CL_{95}
Kendall's tau_b	IR 0,4	Coeficiente de Correlación	1,000	-,048
		Sig. (2 colas)	.	,756
		N	22	22
	CL_{95}	Coeficiente de Correlación	-,048	1,000
		Sig. (2 colas)	,756	.
		N	22	22
Spearman's rho	IR 0,4	Coeficiente de Correlación	1,000	-,089
		Sig. (2 colas)	.	,694
		N	22	22
	CL_{95}	Coeficiente de Correlación	-,089	1,000
		Sig. (2 colas)	,694	.
		N	22	22

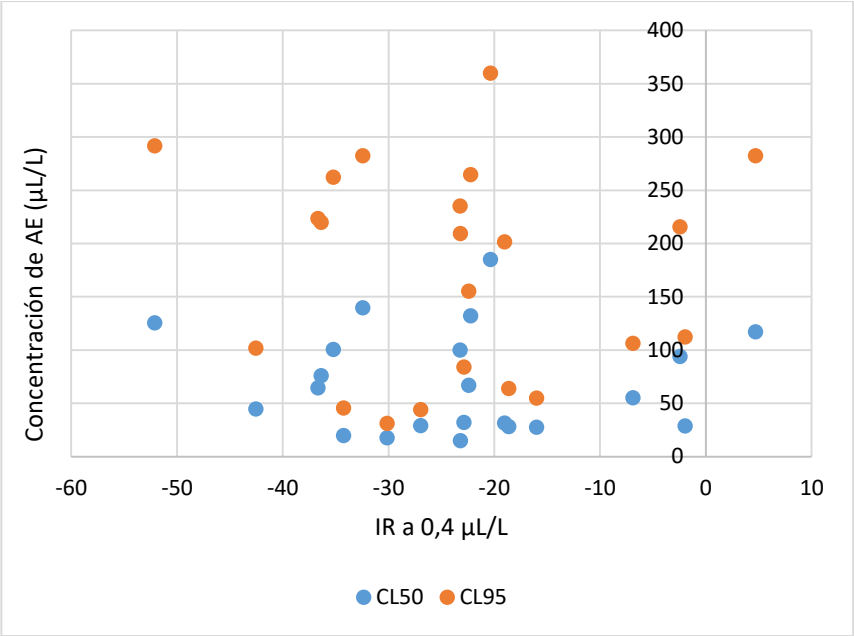


Figura 7. Relación entre el índice de respuesta a 0,4 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ y las CL_{50} y CL_{95}
CCP a CL_{50}, -0,054; *P* = 0,811 // *CCP* a CL_{95}, -0,068; *P* = 0,763

Tabla 17. Análisis estadístico paramétrico. Pruebas de correlación de Pearson entre Índices de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento con aceite esencial de comino a 4 µL/L y las CL_{50} y CL_{95} del AE.

Correlaciones paramétricas entre IR al tratamiento de 4 µL/L y las CL_{50} y CL_{95}

Estadísticas descriptivas

	Medias	Desviación Estándar	N
IR 4	-51,55	15,032	22
CL_{50}	68,91	48,100	22

Correlations

		IR 4	CL_{50}
IR 4	Correlación de Pearson	1	,046
	Sig. (2-colas)		,839
	Suma de cuadrados y productos cruzados	4745,455	696,909
	Covarianza	225,974	33,186
	N	22	22
CL_{50}	Correlación de Pearson	,046	1
	Sig. (2-colas)	,839	
	Suma de cuadrados y productos cruzados	696,909	48585,818
	Covarianza	33,186	2313,610
	N	22	22

Continuación Tabla 17.

Estadísticas descriptivas

	Medias	Desviación Estándar	N
IR 4	-51,55	15,032	22
CL_{95}	174,41	98,170	22

Correlations

		IR 4	CL_{95}
IR 4	Correlación de Pearson	1	,101
	Sig. (2-colas)		,656
	Suma de cuadrados y productos cruzados	4745,455	3121,909
	Covarianza	225,974	148,662
	N	22	22
CL_{95}	Correlación de Pearson	,101	1
	Sig. (2-colas)	,656	
	Suma de cuadrados y productos cruzados	3121,909	202385,318
	Covarianza	148,662	9637,396
	N	22	22

Tabla 18. Análisis estadístico no paramétrico. Pruebas de correlación de Kendall's tau_b y Spearman's rho entre Índices de Respuesta de *S. zeamais* para el tratamiento con aceite esencial de comino a 4 µL/L y las CL_{50} y CL_{95} del AE.

Correlaciones no paramétricas

Correlaciones

			IR 4	CL_{50}
Kendall's tau_b	IR 4	Coeficiente de Correlación	1,000	-,004
		Sig. (2 colas)	.	,977
		N	22	22
	CL_{50}	Coeficiente de Correlación	-,004	1,000
		Sig. (2 colas)	,977	.
		N	22	22
Spearman's rho	IR 4	Coeficiente de Correlación	1,000	-,038
		Sig. (2 colas)	.	,867
		N	22	22
	CL_{50}	Coeficiente de Correlación	-,038	1,000
		Sig. (2 colas)	,867	.
		N	22	22

Correlations

			IR 4	CL_{95}
Kendall's tau_b	IR 4	Coeficiente de Correlación	1,000	,061
		Sig. (2 colas)	.	,693
		N	22	22
	CL_{95}	Coeficiente de Correlación	,061	1,000
		Sig. (2 colas)	,693	.
		N	22	22
Spearman's rho	IR 4	Coeficiente de Correlación	1,000	,089
		Sig. (2 colas)	.	,695
		N	22	22
	CL_{95}	Coeficiente de Correlación	,089	1,000
		Sig. (2 colas)	,695	.
		N	22	22

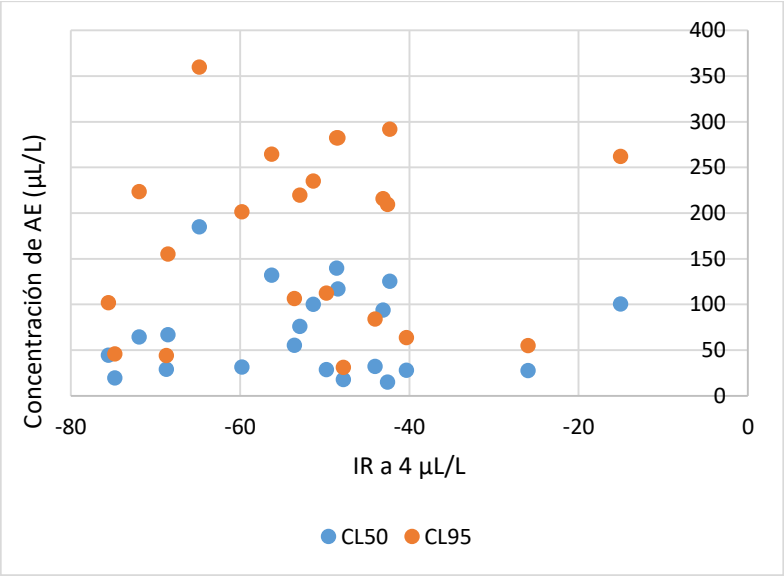
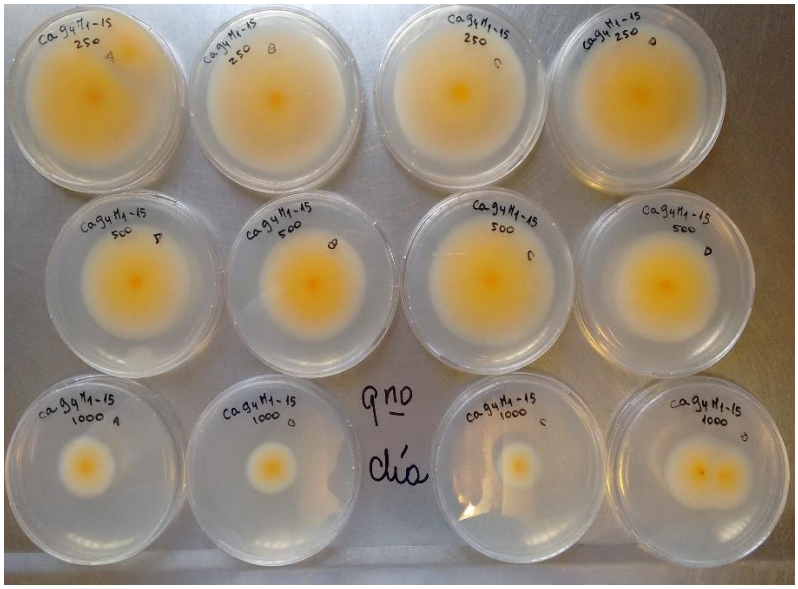


Figura 8. Relación entre el índice de respuesta a 4 $\mu L_{AE}/L_{aire}$ y las CL_{50} y CL_{95}

CCP a CL_{50}, -0,046; *P* = 0,839 // *CCP* a CL_{95}, -0,101; *P* = 0,656



DESCRIPCIÓN BREVE

Resultado de los análisis estadísticos de datos obtenidos del crecimiento de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (= F.moniliforme Sheldon Gibberella fujikuroi (Sawada) Ito in Ito & K. Kimura) bajo distintos tratamientos con aceite esencial de *Cuminum cyminum* L. de Catamarca, Argentina.

ANEXO 4

Actividad antifúngica del aceite esencial de comino de Catamarca, Argentina, contra *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (= F.moniliforme Sheldon Gibberella fujikuroi (Sawada) Ito in Ito & K. Kimura).

Viviana del V. Quiroga

TESIS DOCTORAL

III. Introducción.

En este Anexo se muestran los resultados de los análisis estadísticos descriptivos e inferenciales aplicados a los datos experimentales de actividad antifúngica de los aceites esenciales de comino de Catamarca frente a *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (= F.moniliforme Sheldon Gibberella fujikuroi (Sawada) Ito in Ito & K. Kimura).

A los efectos de facilitar la lectura de los resultados, en relación a la correspondencia con lo descrito e interpretado en el cuerpo de la Tesis, en este Anexo, los títulos y subtítulos de los apartados conservan el mismo orden en el que aparecen en la Tesis.

Los resultados de los análisis estadísticos que se presentan como un conglomerado de tablas y/o cuadros, fueron agrupados en cada caso con un mismo número y título de tabla.

III.2.4.2 Actividad anti-fúngica frente a *F. verticillioides*.
III.2.4.2.6 Porcentaje de inhibición del AE de *C. cyminum* de Catamarca frente al crecimiento fúngico de *F. verticillioides*.

Tabla 1. Estadística descriptiva de la inhibición del crecimiento fúngico (%) según tratamientos con AE de comino de Catamarca.

	Tratamientos		
Estadística descriptiva	250 ppm	500 ppm	1000 ppm
Media	**28,08**	**50,89**	**79,99**
Error típico	1,15	1,40	1,30
Mediana	25,65	49,26	78,24
Moda	22,38	68,38	78,04
Desviación estándar	**10,75**	**13,10**	**12,16**
Varianza de la muestra	115,55	171,63	147,89
Curtosis	2,70	-1,02	0,74
Coeficiente de asimetría	1,02	0,24	-0,43
Rango	62,83	49,77	62,57
Mínimo	11,05	28,85	37,43
Máximo	73,88	78,62	100,00
Suma	2443,08	4427,39	6959,29
Cuenta	87,00	87,00	87,00
Nivel de confianza (95,0%)	2,29	2,79	2,59

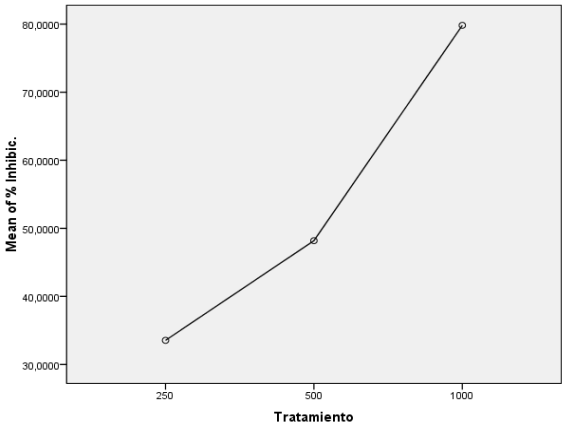


Figura 1. Porcentajes medios de Inhibición de crecimiento fúngico según tratamientos con AE de comino de Catamarca.

Tabla 2. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de porcentaje de Inhibición de crecimiento fúngico (%) del AE de comino de Catamarca agrupados según procedencia para el tratamiento a 250 ppm de AE y cuminal.

% de Inhibición a 250 ppm

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad** – Total Catamarca – cuminal- 250 ppm							
Tratam.	AE y cuminal	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
250 ppm	Belén	35	100,00%	,196	35	,002	,914	35	,009
	Capayán	15	100,00%	,174	15	,200*	,911	15	,142
	Cuminal	4	100,00%	,260	4	.	,827	4	,161
	Pomán	15	100,00%	,181	15	,199	,886	15	,058
	Santa María	11	100,00%	,261	11	,035	,815	11	,015
	Tinogasta	11	100,00%	,179	11	,200*	,917	11	,291
	Total Catam.	87	100,00%	,098	87	,038	,930	87	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

*. Este es un límite inferior del verdadero significado.

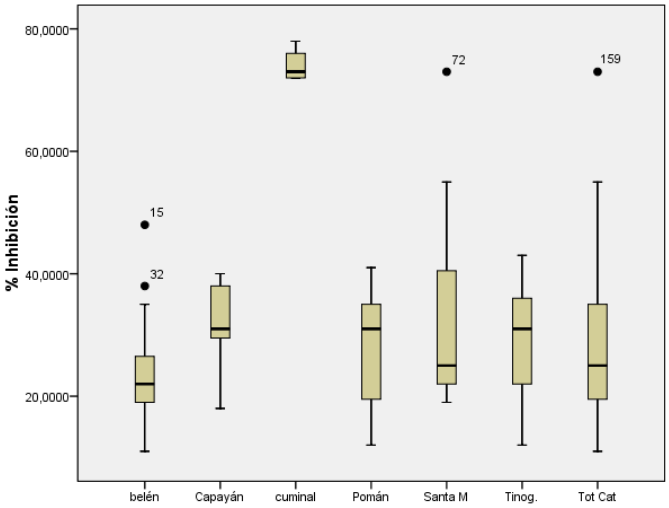


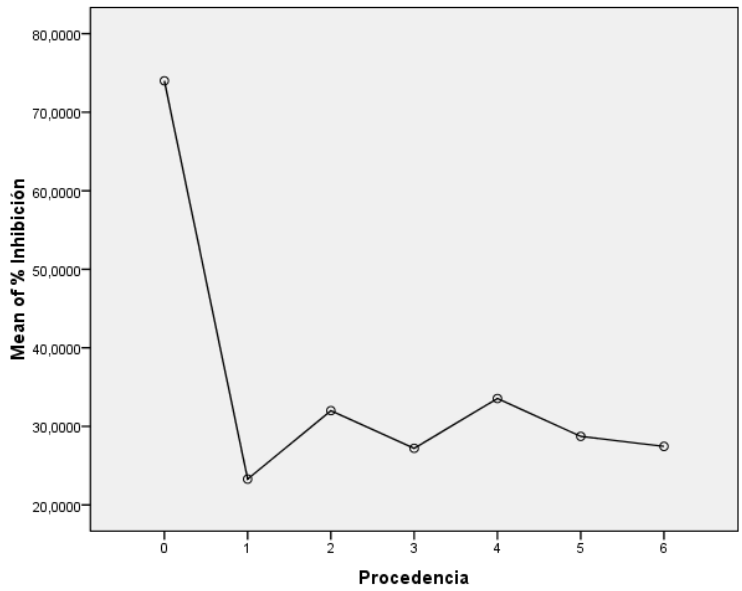
Figura 2. Distribución de los datos y medias de los porcentajes de inhibición del crecimiento fúngico ejercidas por AEs de Catamarca y cuminaldehído a 250 ppm.

Tabla 3. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y prueba de homogeneidad de las varianzas para los % de inhibición de crecimiento fúngico a 250 ppm de AE y cuminaldehído.

ANOVA **Prueba de Levene**

% Inhibic. 250 ppm – comparación según procedencia

	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Prueba de homogeneidad de las varianzas de Levene			
Entre grupos	9818,525	6	1636,421	15,879	,000	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	17621,969	171	103,052			3,493	6	171	,003
Total	27440,494	177							



Procedencia de los AEs y cuminal.

0- Cuminal
1- Belén
2- Capayán
3- Pomán
4- Sta. María
5- Tinogasta
6- Total Catamarca

Figura 3. Valores promedios de Inhibición de crecimiento fúngico (%) ejercidas por el cuminaldehído y por AEs de Catamarca a 250 ppm.

Tabla 4. Análisis estadístico paramétrico. Comparaciones múltiples de medias de porcentajes de inhibición de crecimiento fúngico según procedencia del aceite esencial para el tratamiento de 250 ppm de AE y cuminaldehído. Homogeneidad de varianzas no asumidas.

Dunnett T3- Comparaciones múltiples – 250 ppm						
Variable dependiente: % Inhibición – Variables independientes: Tratamiento: 250 ppm - Procedencia						
(I)	(J)	Diferencia de			Intervalo de confianza 95%	
Procedencia	Procedencia	medias (I-J)	Error Est.	Sig.	Límite inferior	Límite superior
0	1	50,7142857*	1,9042506	,000	43,260752	58,167820
	2	42,0000000*	2,2360680	,000	33,809536	50,190464
	3	46,8000000*	2,9458607	,000	36,485271	57,114729
	4	40,4545455*	5,4512111	,000	20,037970	60,871121
	5	45,2727273*	3,4774361	,000	32,543451	58,002003
	6	46,5517241*	1,8071821	,000	39,150150	53,953298
1	0	-50,7142857*	1,9042506	,000	-58,167820	-43,260752
	2	-8,7142857*	2,1508534	,007	-15,785896	-1,642675
	3	-3,9142857	2,8817123	,965	-13,703979	5,875407
	4	-10,2597403	5,4168139	,702	-30,586196	10,066716
	5	-5,4415584	3,4232634	,875	-17,853711	6,970594
	6	-4,1625616	1,7006110	,283	-9,462704	1,137581
2	0	-42,0000000*	2,2360680	,000	-50,190464	-33,809536
	1	8,7142857*	2,1508534	,007	1,642675	15,785896
	3	4,8000000	3,1109637	,911	-5,606639	15,206639
	4	-1,5454545	5,5421749	1,000	-21,992448	18,901539
	5	3,2727273	3,6183645	,999	-9,492456	16,037911
	6	4,5517241	2,0654073	,479	-2,282794	11,386243
3	0	-46,8000000*	2,9458607	,000	-57,114729	-36,485271
	1	3,9142857	2,8817123	,965	-5,875407	13,703979
	2	-4,8000000	3,1109637	,911	-15,206639	5,606639
	4	-6,3454545	5,8646226	,995	-27,254969	14,564060
	5	-1,5272727	4,0951993	1,000	-15,446765	12,392220
	6	-,2482759	2,8185107	1,000	-9,902528	9,405976
4	0	-40,4545455*	5,4512111	,000	-60,871121	-20,037970
	1	10,2597403	5,4168139	,702	-10,066716	30,586196
	2	1,5454545	5,5421749	1,000	-18,901539	21,992448
	3	6,3454545	5,8646226	,995	-14,564060	27,254969
	5	4,8181818	6,1488425	1,000	-16,755596	26,391959
	6	6,0971787	5,3834570	,989	-14,207043	26,401400
5	0	-45,2727273*	3,4774361	,000	-58,002003	-32,543451
	1	5,4415584	3,4232634	,875	-6,970594	17,853711
	2	-3,2727273	3,6183645	,999	-16,037911	9,492456
	3	1,5272727	4,0951993	1,000	-12,392220	15,446765
	4	-4,8181818	6,1488425	1,000	-26,391959	16,755596
	6	1,2789969	3,3702328	1,000	-11,067206	13,625199
6	0	-46,5517241*	1,8071821	,000	-53,953298	-39,150150
	1	4,1625616	1,7006110	,283	-1,137581	9,462704
	2	-4,5517241	2,0654073	,479	-11,386243	2,282794
	3	,2482759	2,8185107	1,000	-9,405976	9,902528
	4	-6,0971787	5,3834570	,989	-26,401400	14,207043
	5	-1,2789969	3,3702328	1,000	-13,625199	11,067206

*. La diferencia de medias es significativa al nivel de 0,05.

Tabla 5. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de porcentaje de Inhibición de crecimiento fúngico (%) del AE de comino de Catamarca agrupados según procedencia. para el tratamiento a 500 ppm de AE y de cuminal.

% de Inhibición a 500 ppm

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad** – Total Catamarca – cuminal- 500 ppm							
Tratam.	AE y cuminal	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Estadística	df	Estadística	df
500 ppm	Belén	35	100,00%	,112	35	,200*	,978	35	,701
	Capayán	15	100,00%	,135	15	,200*	,943	15	,428
	Cuminal	4	100,00%	,306	4	.	,864	4	,276
	Pomán	15	100,00%	,255	15	,009	,809	15	,005
	Santa María	11	100,00%	,290	11	,011	,728	11	,001
	Tinogasta	11	100,00%	,217	11	,153	,860	11	,058
	Total Catam.	87	100,00%	,124	87	,002	,961	87	,010

a. Corrección del significado de Lilliefors

*. Este es un límite inferior del verdadero significado.

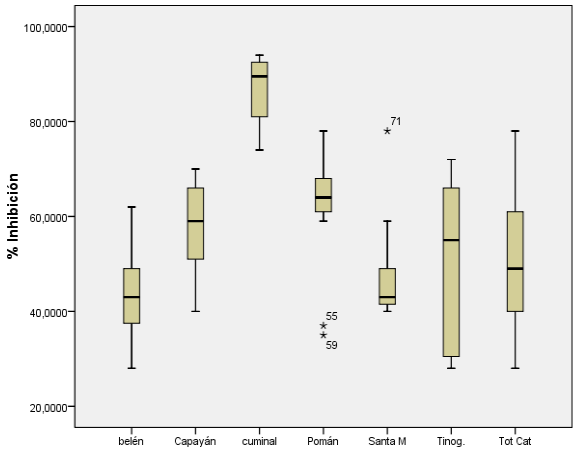


Figura 4. Distribución de los datos y medias de los porcentajes de inhibición del crecimiento fúngico a 500 ppm de AE y cuminal.

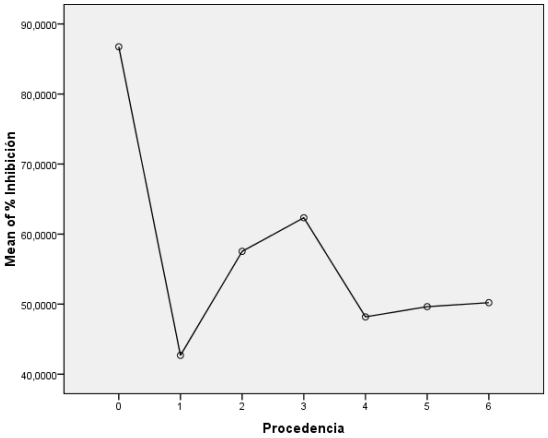


Figura 5. Valores promedios de Inhibición de crecimiento fúngico (%) a 500 ppm, por departamento, total provincia y cuminal. Procedencia: 0-cuminal; 1-Belén; 2-Capayán; 3-Pomán; 4-Sta. María; 5-Tinogasta y 6-Catamarca

Tabla 6. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y prueba de homogeneidad de las varianzas para los % de inhibición de crecimiento fúngico a 500 ppm de AE y cuminaldehído.

ANOVA **Prueba de Levene**

% Inhibic. 500 ppm – comparación según procedencia

	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Prueba de homogeneidad de las varianzas de Levene			
Entre grupos	10261,042	6	1710,174	12,098	,000	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	24171,817	171	141,356			4,698	6	171	,000
Total	34432,860	177							

Tabla 7. Análisis estadístico paramétrico. Comparaciones múltiples de medias de porcentajes de inhibición de crecimiento fúngico según procedencia del aceite esencial para el tratamiento de 500 ppm de AE y cuminaldehído. Homogeneidad de varianzas no asumidas.

Dunnett T3- Comparaciones múltiples – 500 ppm						
Variable dependiente: % Inhibición – Variables independientes: Tratamiento: 500 ppm - Procedencia						
(I) Procedencia	(J) Procedencia	Diferencia de medias (I-J)	Error Est.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0	1	44,0642857*	4,5958437	,011	16,827753	71,300819
	2	29,2166667*	5,0388294	,024	4,667972	53,765361
	3	24,4166667*	5,3680973	,044	,612662	48,220671
	4	38,5681818*	5,5966803	,004	14,702508	62,433856
	5	37,1136364*	6,9311028	,004	11,037532	63,189741
	6	36,5431034*	4,6366925	,018	9,697550	63,388657
1	0	-44,0642857*	4,5958437	,011	-71,300819	-16,827753
	2	-14,8476190*	2,7178266	,000	-24,046297	-5,648941
	3	-19,6476190*	3,2883503	,000	-30,969190	-8,326048
	4	-5,4961039	3,6496041	,909	-18,842535	7,850327
	5	-6,9506494	5,4805990	,972	-27,548041	13,646742
	6	-7,5211823*	1,8696784	,002	-13,318571	-1,723793
2	0	-29,2166667*	5,0388294	,024	-53,765361	-4,667972
	1	14,8476190*	2,7178266	,000	5,648941	24,046297
	3	-4,8000000	3,8834611	,987	-17,687876	8,087876
	4	9,3515152	4,1937611	,472	-5,074527	23,777558
	5	7,8969697	5,8570460	,960	-13,151458	28,945397
	6	7,3264368	2,7863451	,234	-1,996352	16,649225
3	0	-24,4166667*	5,3680973	,044	-48,220671	-,612662
	1	19,6476190*	3,2883503	,000	8,326048	30,969190
	2	4,8000000	3,8834611	,987	-8,087876	17,687876
	4	14,1515152	4,5841356	,095	-1,341754	29,644785
	5	12,6969697	6,1426097	,587	-8,875264	34,269203
	6	12,1264368*	3,3452034	,031	,711175	23,541698
4	0	-38,5681818*	5,5966803	,004	-62,433856	-14,702508
	1	5,4961039	3,6496041	,909	-7,850327	18,842535
	2	-9,3515152	4,1937611	,472	-23,777558	5,074527
	3	-14,1515152	4,5841356	,095	-29,644785	1,341754
	5	-1,4545455	6,3433443	1,000	-23,592945	20,683854
	6	-2,0250784	3,7009118	1,000	-15,419135	11,368978
5	0	-37,1136364*	6,9311028	,004	-63,189741	-11,037532
	1	6,9506494	5,4805990	,972	-13,646742	27,548041
	2	-7,8969697	5,8570460	,960	-28,945397	13,151458
	3	-12,6969697	6,1426097	,587	-34,269203	8,875264
	4	1,4545455	6,3433443	1,000	-20,683854	23,592945
	6	-,5705329	5,5148983	1,000	-21,187645	20,046579
6	0	-36,5431034*	4,6366925	,018	-63,388657	-9,697550
	1	7,5211823*	1,8696784	,002	1,723793	13,318571
	2	-7,3264368	2,7863451	,234	-16,649225	1,996352
	3	-12,1264368*	3,3452034	,031	-23,541698	-,711175
	4	2,0250784	3,7009118	1,000	-11,368978	15,419135
	5	,5705329	5,5148983	1,000	-20,046579	21,187645

*. La diferencia de medias es significativa al nivel de 0,05.

Tabla 8. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de porcentaje de Inhibición de crecimiento fúngico (%) del AE de comino de Catamarca agrupados según procedencia, para el tratamiento a 1000 ppm de AE y de cuminal.

% de Inhibición a 1000 ppm

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad[b]** – Total Catamarca – cuminal- 1000 ppm							
Tratam.	AE y cuminal	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Estadística	df	Estadística	df
1000 ppm	Belén	35	100,00%	,129	35	,150	,959	35	,213
	Capayán	15	100,00%	,213	15	,065	,920	15	,194
	Cuminal	4	100,00%						
	Pomán	15	100,00%	,257	15	,009	,733	15	,001
	Santa María	11	100,00%	,177	11	,200*	,952	11	,673
	Tinogasta	11	100,00%	,265	11	,030	,819	11	,017
	Total Catam.	87	100,00%	,080	87	,200*	,962	87	,012

a. Corrección del significado de Lilliefors

*. Este es un límite inferior del verdadero significado.

b. El % de inhibición debido al cuminal fue omitido por ser constante.

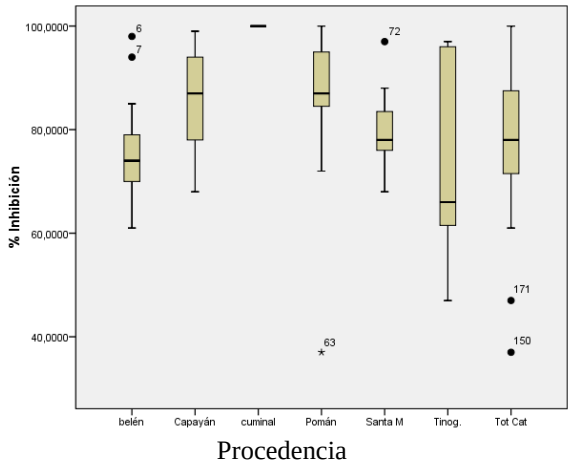


Figura 6. Distribución de los datos y medias de los porcentajes de inhibición del crecimiento fúngico a 1000 ppm de AE y cuminal.

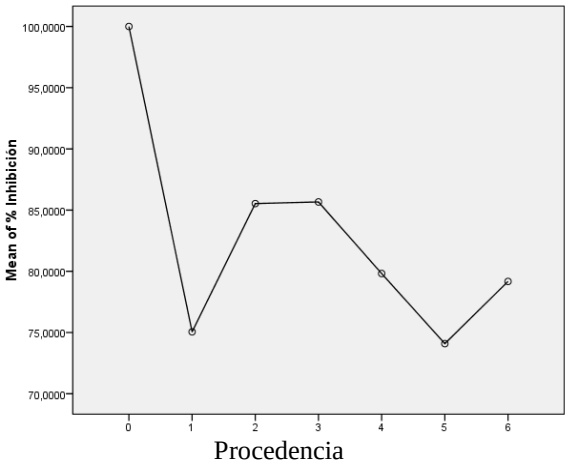


Figura 7. Valores promedios de Inhibición de crecimiento fúngico (%) a 1000 ppm, por departamento, total provincia y cuminal. Procedencia: 0-cuminal; 1-Belén; 2-Capayán; 3-Pomán; 4-Sta. María; 5-Tinogasta y 6- Total Catamarca

Tabla 9. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y prueba de homogeneidad de las varianzas para los porcentajes de inhibición de crecimiento fúngico a 1000 ppm de AE y cuminaldehído.

ANOVA

% Inhibición 1000 ppm- comparación según procedencia						Prueba de Levene			
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Prueba de homogeneidad de las varianzas de Levene			
Entre grupos	3817,077	6	636,180	4,469	,000	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	24343,912	171	142,362			4,198	6	171	,001
Total	28160,989	177							

Tabla 10. Análisis estadístico paramétrico. Comparaciones múltiples de medias de porcentajes de inhibición de crecimiento fúngico según procedencia del aceite esencial para el tratamiento de 1000 ppm de AE y cuminaldehído. Homogeneidad de varianzas no asumidas.

Dunnett T3- Comparaciones múltiples – 1000 ppm						
Var. Dep: % Inhibición – Var. Indep.: Tratamiento: 1000 ppm – Var. de Agrupamiento: Procedencia						
(I) Procedencia	(J) Procedencia	Diferencia de medias (I-J)	Error Est.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0	1	24,9428571*	1,4076280	,000	20,362051	29,523663
	2	14,4666667*	2,5427145	,001	5,319080	23,614254
	3	14,3333333*	3,9721251	,049	,043345	28,623322
	4	20,1818182*	2,4189336	,000	10,874412	29,489225
	5	25,9090909*	5,5913156	,015	4,395210	47,422971
	6	20,8275862*	1,3298746	,000	16,681869	24,973303
1	0	-24,9428571*	1,4076280	,000	-29,523663	-20,362051
	2	-10,4761905*	2,9063402	,029	-20,258938	-,693443
	3	-10,6095238	4,2141659	,308	-25,251231	4,032183
	4	-4,7610390	2,7986883	,825	-14,506642	4,984564
	5	,9662338	5,7657806	1,000	-20,630401	22,562869
	6	-4,1152709	1,9364873	,520	-10,139896	1,909354
2	0	-14,4666667*	2,5427145	,001	-23,614254	-5,319080
	1	10,4761905*	2,9063402	,029	,693443	20,258938
	3	-,1333333	4,7162670	1,000	-15,951657	15,684991
	4	5,7151515	3,5095066	,871	-6,063525	17,493828
	5	11,4424242	6,1423291	,723	-10,620141	33,504989
	6	6,3609195	2,8694883	,476	-3,323472	16,045311
3	0	-14,3333333*	3,9721251	,049	-28,623322	-,043345
	1	10,6095238	4,2141659	,308	-4,032183	25,251231
	2	,1333333	4,7162670	1,000	-15,684991	15,951657
	4	5,8484848	4,6507007	,983	-9,875670	21,572640
	5	11,5757576	6,8586141	,835	-11,997409	35,148924
	6	6,4942529	4,1888357	,900	-8,098565	21,087071
4	0	-20,1818182*	2,4189336	,000	-29,489225	-10,874412
	1	4,7610390	2,7986883	,825	-4,984564	14,506642
	2	-5,7151515	3,5095066	,871	-17,493828	6,063525
	3	-5,8484848	4,6507007	,983	-21,572640	9,875670
	5	5,7272727	6,0921301	,999	-16,294047	27,748592
	6	,6457680	2,7603996	1,000	-9,010161	10,301697

Continuación Tabla 10.

Dunnett T3- Comparaciones múltiples – 1000 ppm

Var. Dep: % Inhibición – Var. Indep.: Tratamiento: 1000 ppm – Var. de Agrupamiento: Procedencia						
(I) Procedencia	(J) Procedencia	Diferencia de medias (I-J)	Error Est.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
5	0	-25,9090909*	5,5913156	,015	-47,422971	-4,395210
	1	-,9662338	5,7657806	1,000	-22,562869	20,630401
	2	-11,4424242	6,1423291	,723	-33,504989	10,620141
	3	-11,5757576	6,8586141	,835	-35,148924	11,997409
	4	-5,7272727	6,0921301	,999	-27,748592	16,294047
	6	-5,0815047	5,7472930	,999	-26,663202	16,500192
6	0	-20,8275862*	1,3298746	,000	-24,973303	-16,681869
	1	4,1152709	1,9364873	,520	-1,909354	10,139896
	2	-6,3609195	2,8694883	,476	-16,045311	3,323472
	3	-6,4942529	4,1888357	,900	-21,087071	8,098565
	4	-,6457680	2,7603996	1,000	-10,301697	9,010161
	5	5,0815047	5,7472930	,999	-16,500192	26,663202

*. La diferencia de medias es significativa al nivel de 0,05.

III.2.4.2.2 Efecto de AEs de comino sobre la tasa de crecimiento de *F. verticillioides* M3125.

III.2.4.2.2.6 Tasa de crecimiento de *F. verticillioides*. Provincia de Catamarca.

Tabla 11. Estadística descriptiva del efecto de los AE de comino de Catamarca sobre la tasa de crecimiento fúngico según tratamientos.

	Tratamientos			
Estadística descriptiva	Control	250 ppm	500 ppm	1000 ppm
Media	**4,89**	**4,96**	**4,69**	**3,69**
Error típico	0,01	0,04	0,06	0,10
Mediana	4,92	4,82	4,49	3,78
Moda	4,79	4,80	4,35	3,96
Desviación estándar	0,10	0,38	0,59	0,97
Varianza de la muestra	0,01	0,15	0,35	0,95
Curtosis	-1,36	1,52	1,59	1,24
Coeficiente de asimetría	-0,17	1,68	1,59	-0,09
Rango	0,30	1,46	2,44	5,41
Mínimo	4,73	4,59	3,91	0,87
Máximo	5,03	6,05	6,34	6,28
Suma	425,29	416,63	408,21	321,40
Cuenta	87,00	84,00	87,00	87,00
Nivel de confianza (95,0%)	0,02	0,08	0,13	0,21

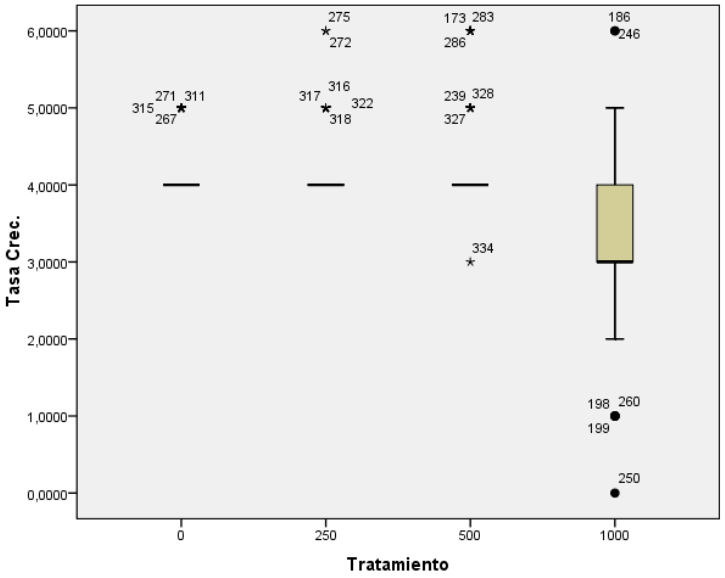


Figura 8. Distribución de los datos y medias a nivel provincial de las tasas de crecimiento fúngico según tratamientos con AEs de comino de Catamarca.

Tabla 12. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de tasa de crecimiento fúngico según tratamiento con AE de comino de Catamarca (250 ppm) agrupados según procedencia.

Tasa de crecimiento- 250 ppm

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad[b]** – Total Catamarca – 250 ppm							
Tratam.	AE	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
250 ppm	Belén	35	100,00%	,523	34	,000	,378	34	,000
	Capayán	15	100,00%	,453	15	,000	,561	15	,000
	Pomán	15	100,00%	,470	13	,000	,533	13	,000
	Santa María	11	100,00%	,438	11	,000	,600	11	,000
	Tinogasta	11	100,00%	,401	11	,000	,625	11	,000
	Total Catam.	87	100,00%	,475	84	,000	,530	84	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

b. Tasa crecimiento es constante con = cuminal. Se ha omitido.

Tabla 13. Pruebas no paramétricas de tasas de crecimiento fúngico con tratamientos de AE de comino de Catamarca y cuminal (250 ppm), agrupados según procedencia.

Prueba de Kruskal-Wallis – 250 ppm

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Tasa de crecimiento a 250 ppm	0 - Cuminal	4	2,50
	1- Belén	34	80,15
	2- Capayán	15	92,37
	3- Pomán	13	89,42
	4- Santa María	11	96,14
	5- Tinogasta	11	100,32
	6- T. Catamarca	84	88,50
	Total	172	

Estadística de pruebas[a,b]

	Tasa de crecimiento
Chi-Cuadrado	25,082
df	6
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Tasa de crecimiento a 250 ppm	1- Belén	34	76,15
	2- Capayán	15	88,37
	3- Pomán	13	85,42
	4- Santa María	11	92,14
	5- Tinogasta	11	96,32
	6- T. Catamarca	84	84,50
	Total	168	

Estadística de pruebas[a,b]

	Tasa de crecimiento
Chi-Cuadrado	3,981
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,552

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de crecimiento	1-Belén	34	22,03	749,00
	4-Sta. Ma.	11	26,00	286,00
	Total	45		

Estadística de Pruebas[b]

Belén-Sta. María	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	154,000
Wilcoxon W	749,000
Z	-1,384
Asint. Sig. (2-colas)	,166
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,396[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de crecimiento	0-cuminal	4	2,50	10,00
	6-Catamarc.	84	46,50	3906,00
	Total	88		

Estadística de Pruebas[b]

Cuminal-Catamarca	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-4,449
Asint. Sig. (2-colas)	,000
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,000[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

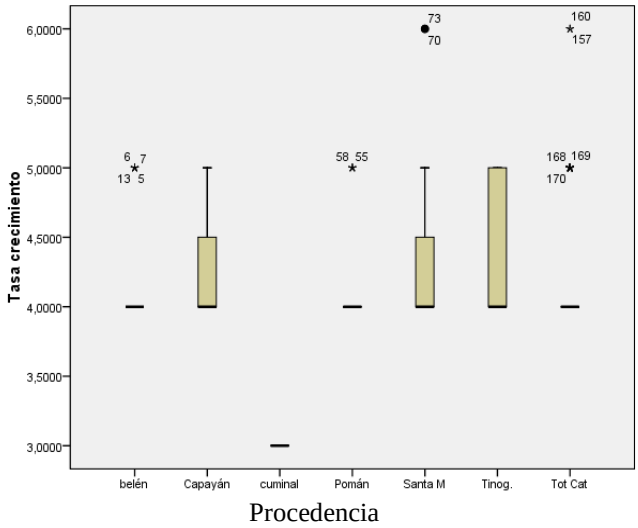


Figura 9. Distribución de los datos y medias de las tasas de crecimiento fúngico para el tratamiento a 250 ppm de cuminal y de AEs de comino según la procedencia.

Tabla 14. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de tasa de crecimiento fúngico según tratamiento con AE de comino de Catamarca (500 ppm) agrupados según procedencia.

Tasa de crecimiento- 500 ppm

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad**[b] – Total Catamarca – 500 ppm					
Tratam.	Procedencia	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
500 ppm	Belén	,526	35	,000	,318	35	,000
	Capayán	,485	15	,000	,499	15	,000
	Cuminal	,441	4	.	,630	4	,001
	Pomán	,485	15	,000	,499	15	,000
	Santa María	,448	11	,000	,572	11	,000
	Tinogasta	,346	11	,001	,774	11	,004
	Total Catamarca	,482	87	,000	,517	87	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

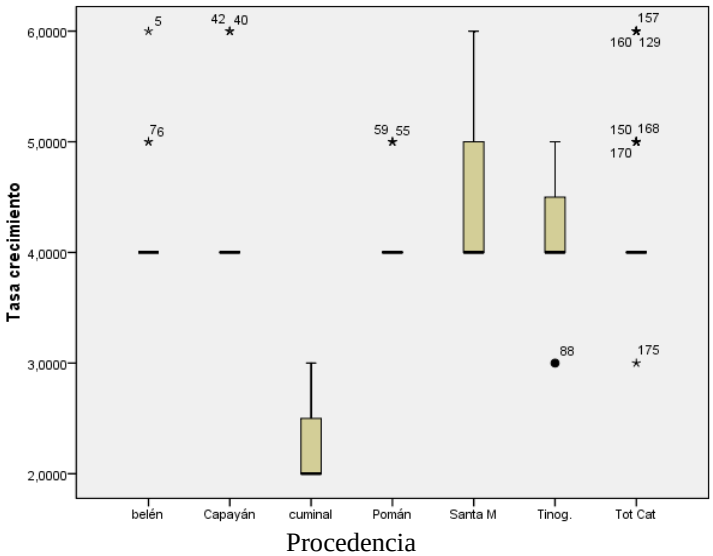


Figura 10. Distribución de los datos y medias de las tasas de crecimiento fúngico para el tratamiento a 500 ppm de cuminal y de AEs de comino según procedencia.

Tabla 15. Pruebas no paramétricas de tasas de crecimiento fúngico con tratamientos de AE de comino de Catamarca y cuminal (500 ppm), agrupados según procedencia.

Prueba de Kruskal-Wallis – 500 ppm

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Tasa de crecimiento a 500 ppm	0 - Cuminal	4	2,75
	1- Belén	35	84,70
	2- Capayán	15	96,30
	3- Pomán	15	89,42
	4- Santa María	11	103,14
	5- Tinogasta	11	92,45
	6- T. Catamarca	87	91,49
	Total	178	

Estadística de pruebas[a,b]

	Tasa de crecimiento
Chi-Cuadrado	26,310
df	6
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Tasa de crecimiento a 500 ppm	1- Belén	35	80,70
	2- Capayán	15	92,30
	3- Pomán	15	89,30
	4- Santa María	11	99,14
	5- Tinogasta	11	88,50
	6- T. Catamarca	87	87,50
	Total	174	

Estadística de pruebas[a,b]

	Tasa de crecimiento
Chi-Cuadrado	3,041
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,694

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 500 ppm	3-Pomán	15	12,80	192,00
	4-Sta. Ma.	11	14,45	159,00
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]

Belén-Sta. María	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	72,000
Wilcoxon W	192,000
Z	-,740
Asint. Sig. (2-colas)	,459
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,610[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Tabla 16. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de tasa de crecimiento fúngico según tratamiento con AE de comino de Catamarca (1000 ppm) agrupados según procedencia.

Pruebas de Normalidad[b] – 1000 ppm

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Procedencia	Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
Tasa crecimiento fúngico según procedencia	1-Belén	,364	35	,000	,692	35	,000
	2-Capayán	,260	15	,007	,855	15	,021
	3-Pomán	,329	15	,000	,848	15	,016
	4-Santa María	,432	11	,000	,619	11	,000
	5-Tinogasta	,217	11	,155	,887	11	,128
	6- Total Catamarca	,253	87	,000	,892	87	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors
b. La Tasa de crecimiento es constante para el cuminal. Se ha omitido.

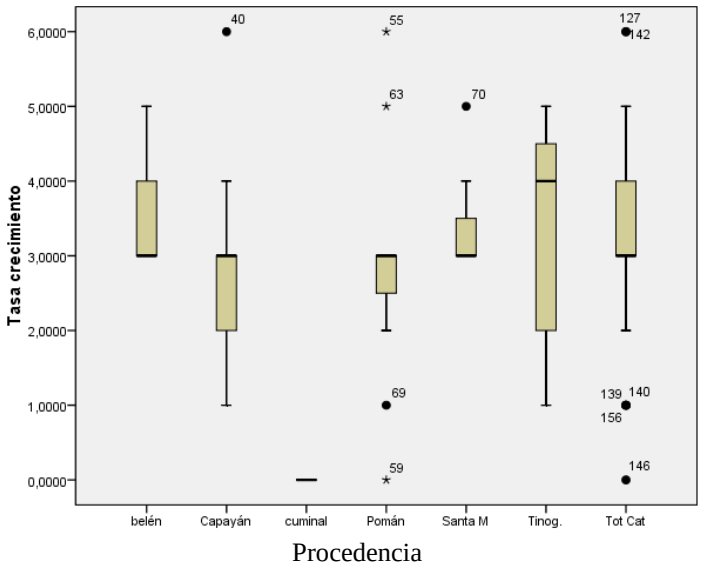


Figura 11. Distribución de los datos y medias de las tasas de crecimiento fúngico para el tratamiento a 1000 ppm de cuminal y de AEs de comino según procedencia.

Tabla 17. Pruebas no paramétricas de tasas de crecimiento fúngico con tratamientos de AE de comino de Catamarca y cuminal (1000 ppm), agrupados según procedencia.

Prueba de Kruskal-Wallis – 1000 ppm

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Tasa de crecimiento a 1000 ppm	0 - Cuminal	4	3,50
	1- Belén	35	106,67
	2- Capayán	15	62,23
	3- Pomán	15	74,30
	4- Santa María	11	98,32
	5- Tinogasta	11	99,59
	6- T. Catamarca	87	91,48
	Total	178	

Estadística de pruebas[a,b]

	Tasa de crecimiento
Chi-Cuadrado	24,719
df	6
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Tasa de crecimiento a 1000 ppm	1- Belén	35	102,67
	2- Capayán	15	58,23
	3- Pomán	15	70,43
	4- Santa María	11	94,32
	5- Tinogasta	11	95,59
	6- T. Catamarca	87	87,50
	Total	174	

Estadística de pruebas[a,b]

	Tasa de crecimiento
Chi-Cuadrado	12,194
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,032

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	0-cuminal	4	2,50	10,00
	1-Belén	35	22,00	770,00
	Total	39		

Estadística de Pruebas[b]

Cuminal -Belén	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-3,582
Asint. Sig. (2-colas)	,000
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,000[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 17.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	0-Cuminal	4	2,50	10,00
	2-Capayán	15	12,00	180,00
	Total	19		

Estadística de Pruebas[b]

Cuminal -Capayán	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-3,091
Asint. Sig. (2-colas)	,002
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,001[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	1-Belén	35	29,51	1033,00
	2-Capayán	15	16,13	242,00
	Total	50		

Estadística de Pruebas[a]

Belén -Capayán	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	122,000
Wilcoxon W	242,000
Z	-3,262
Asint. Sig. (2-colas)	,002
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,001

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	2- Capayán	15	14,43	216,50
	3- Pomán	15	16,57	248,50
	Total	30		

Estadística de Pruebas[b]

Capayán - Pomán	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	96,500
Wilcoxon W	216,500
Z	-,715
Asint. Sig. (2-colas)	,475
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,512[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	2- Capayán	15	10,93	164,00
	4- Santa M.	11	17,00	187,00
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]

Capayán – Santa María	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	44,00
Wilcoxon W	164,00
Z	-2,186
Asint. Sig. (2-colas)	,029
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,047[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	2- Capayán	15	11,87	178,00
	5- Tinogasta.	11	15,73	173,00
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]

Capayán – Tinogasta	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	58,00
Wilcoxon W	178,00
Z	-1,307
Asint. Sig. (2-colas)	,191
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,217[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	2- Capayán	15	36,87	553,00
	6- Catamarc	87	54,02	4700,00
	Total	102		

Estadística de Pruebas[a]

Capayán – Catamarca	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	433,00
Wilcoxon W	553,00
Z	-2,224
Asint. Sig. (2-colas)	,026

a. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 17.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	1- Belén	35	28,44	995,50
	3- Pomán	15	18,63	279,50
	Total	50		

Estadística de Pruebas[a]

Belén – Pomán	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	159,500
Wilcoxon W	164,00
Z	-2,464
Asint. Sig. (2-colas)	,029
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,014

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	1- Belén	35	28,44	995,50
	5- Tinogasta	15	18,63	279,50
	Total	50		

Estadística de Pruebas[b]

Belén – Tinogasta	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	190,500
Wilcoxon W	820,500
Z	-,056
Asint. Sig. (2-colas)	,956
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,960[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	1- Belén	35	69,09	2418,00
	6- Catamarca	87	58,45	5085,00
	Total	122		

Estadística de Pruebas[a]

Belén – Catamarca	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	1257,000
Wilcoxon W	5085,00
Z	-1,646
Asint. Sig. (2-colas)	,100

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	1- Belén	35	24,19	846,50
	4- Sta. María	11	21,32	234,50
	Total	46		

Estadística de Pruebas[b]

Belén – Santa María	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	168,500
Wilcoxon W	234,500
Z	-,722
Asint. Sig. (2-colas)	,470
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,542[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	3- Pomán	15	11,83	177,50
	4- Sta. María	11	15,77	173,50
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]

Pomán – Santa María	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	57,500
Wilcoxon W	177,500
Z	-1,529
Asint. Sig. (2-colas)	,126
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,198[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 17.

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	3- Pomán	15	12,43	186,50
	5- Tinogasta	11	14,95	164,50
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]

Pomán – Tinogasta	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	66,500
Wilcoxon W	186,500
Z	-,860
Asint. Sig. (2-colas)	,390
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,413[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Tasa de Crecimiento 1000 ppm	4- Sta. María	11	52,91	582,00
	6- Catamarca	87	49,07	4269,00
	Total	98		

Estadística de Pruebas[a]

Santa María – Catamarca	Tasa de crecimiento
Mann-Whitney U	441,000
Wilcoxon W	4269,00
Z	-,461
Asint. Sig. (2-colas)	,645

a. Variable de agrupación: Procedencia

III.2.4.2.3 Efecto de AEs de comino sobre la Fase Lag de F. verticillioides M3125

III.2.4.2.3.6 Fase Lag de F. verticillioides. Total Catamarca.

Tabla 18. Estadística descriptiva del efecto de los AE de comino de Catamarca sobre la fase lag (h) de *F. verticillioides* según tratamientos.

		Tratamientos		
Estadística descriptiva	Control	250 ppm	500 ppm	1000 ppm
Fase Lag		(h)		
Media	**57,41**	**78,22**	**91,54**	**117,38**
Error típico	1,73	1,21	1,41	2,71
Mediana	64,29	80,38	90,85	112,69
Moda	64,38	62,53	#N/A	#N/A
Desviación estándar	**16,11**	**11,10**	**13,11**	**25,29**
Varianza de la muestra	259,42	123,29	171,76	639,62
Curtosis	1,12	6,56	4,63	6,69
Coeficiente de asimetría	-1,75	-2,20	-1,55	1,35
Rango	44,53	67,33	76,08	180,49
Mínimo	21,97	32,93	37,26	55,92
Máximo	66,50	100,26	113,35	236,41
Suma	4994,75	6570,71	7964,22	10212,17
Cuenta	87,00	84,00	87,00	87,00
Nivel de confianza (95,0%)	3,43	2,41	2,79	5,39

Tabla 19. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de fase lag (h) del hongo según tratamiento con AE de comino de Catamarca.

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad** – Total Catamarca–							
	Tratamiento (ppm)	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
Fase Lag (h)	0	87	100,0%	,474	87	,000	,514	87	,000
	250	84	96,6%	,236	84	,000	,785	84	,000
	500	87	100,0%	,131	87	,001	,871	87	,000
	1000	87	100,0%	,167	87	,018	,855	87	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

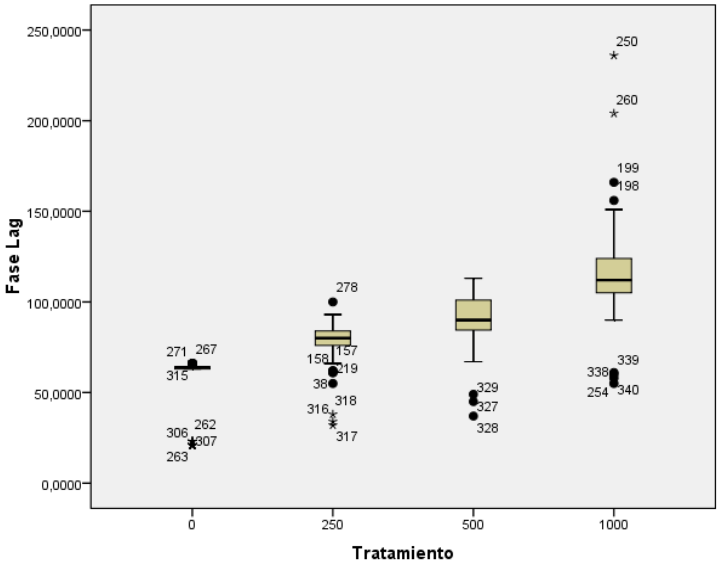


Figura 12. Distribución de los datos y medias de las fases lag (h) de *F. verticillioides* según tratamiento con AE de comino de Catamarca.

Tabla 20. Pruebas no paramétricas de las fases lag del hongo según tratamiento con AE de comino de Catamarca.

Kruskal-Wallis

Rangos

Tratamiento (ppm)		N	Rango medio
Fase Lag (h)	0	87	56,62
	250	84	138,68
	500	87	209,68
	1000	87	285,83
	Total	345	

Estadística de pruebas[a,b]

	Fase Lag
Chi-Cuadrado	251,946
df	3
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 20.

Prueba de Mann-Whitney

Rangos - Total Catamarca

	Tratamientos	N	Rango medio	Suma de rangos
Fase Lag	0	87	50,83	4422,00
	250	84	122,43	10284,00
	Total	171		

Estadística de Pruebas[a]

0 ppm – 250 ppm	Fase Lag
Mann-Whitney U	594,000
Wilcoxon W	4422,000
Z	-9,515
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Tratamiento

Rangos - Total Catamarca

	Tratamientos	N	Rango medio	Suma de rangos
Fase Lag	250	84	54,85	4607,00
	500	87	116,08	10099,00
	Total	171		

Estadística de Pruebas[a]

250 ppm – 500 ppm	Fase Lag
Mann-Whitney U	1037,000
Wilcoxon W	4607,000
Z	-8,091
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Tratamiento

Rangos - Total Catamarca

	Tratamientos	N	Rango medio	Suma de rangos
Fase Lag	500	87	53,08	4618,00
	1000	87	121,92	10607,00
	Total	174		

Estadística de Pruebas[a]

500 ppm – 1000 ppm	Fase Lag
Mann-Whitney U	790,000
Wilcoxon W	4618,000
Z	-9,016
Asint. Sig. (2-colas)	,000

a. Variable de agrupación: Tratamiento

Tabla 21. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de fase lag del hongo para el tratamiento con cuminal y AE de comino de Catamarca (250 ppm) agrupados según procedencia.

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad** – Fase Lag (h) a 250 ppm de cuminal y AEs–							
Tratamiento	Procedencia	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
250 ppm	Belén	34	97,1%	,242	34	,000	,806	34	,000
	Capayán	15	100,0%	,352	15	,000	,738	15	,001
	cuminal	4	100,0%	,303	4	.	,791	4	,086
	Pomán	13	86,7%	,257	13	,018	,849	13	,028
	Santa M	11	100,0%	,235	11	,092	,814	11	,014
	Tinog.	11	100,0%	,344	11	,001	,736	11	,001
	Tot Cat	84	96,6%	,236	84	,000	,785	84	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

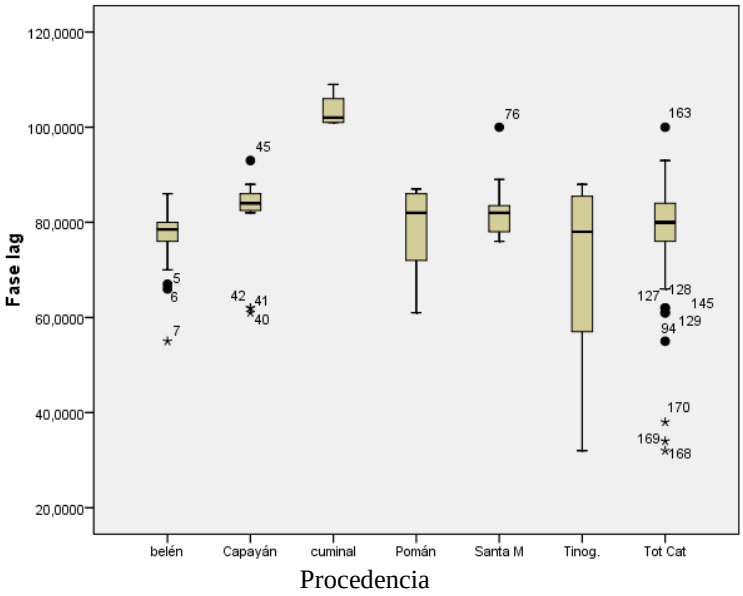


Figura 13. Medias y las dispersiones de los datos de las Fases Lag (h) a 250 ppm según departamento, vs cuminal y total Catamarca.

Tabla 22. Pruebas no paramétricas de los datos de fase lag del hongo para el tratamiento con cuminal y AE de comino de Catamarca (250 ppm) agrupados según procedencia.

Prueba de Kruskal-Wallis – total comparaciones 250 ppm

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Fase Lag 250 ppm	0 - Cuminal	4	170,50
	1- Belén	34	67,82
	2- Capayán	15	111,10
	3- Pomán	13	91,27
	4- Santa María	11	98,77
	5- Tinogasta	11	77,50
	6- T. Catamarca	84	84,50
	Total	172	

Estadística de pruebas[a,b]

250 ppm	Fase Lag
Chi-Cuadrado	21,179
df	6
Asint. Sig. (2 colas)	,002

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio	Suma de rangos
Fase Lag 250 ppm	0-Cuminal	4	86,50	346,00
	6-Catamarca	84	42,50	3570,00
	Total	88		

Estadística de Pruebas[b]

Cuminal-Catamarca	Fase Lag
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	3570,000
Z	-3,370
Asint. Sig. (2-colas)	,001
Exact Sig. [2*(Sig de 1 cola)]	,000[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 22

Prueba de Mann-Whitney

Rangos				
	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Fase Lag 250 ppm	2-Capayán	15	14,73	221,00
	4-Sta. María	11	11,82	130,00
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]	
Capayán-Santa María	Fase lag
Mann-Whitney U	64,000
Wilcoxon W	130,000
Z	-,964
Asint. Sig. (2-colas)	,335
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,357[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos				
	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Fase Lag 250 ppm	2-Capayán	15	15,43	231,00
	3-Pomán	13	13,42	174,50
	Total	28		

Estadística de Pruebas[b]	
Capayán-Pomán	Fase lag
Mann-Whitney U	83,500
Wilcoxon W	174,500
Z	-,649
Asint. Sig. (2-colas)	,517
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,525[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos				
	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Fase Lag 250 ppm	3-Pomán	13	12,04	156,50
	4-Sta. María	11	13,05	143,50
	Total	24		

Estadística de Pruebas[b]	
Pomán-Santa María	Fase lag
Mann-Whitney U	65,500
Wilcoxon W	156,500
Z	-,349
Asint. Sig. (2-colas)	,727
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,733[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos				
	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Fase Lag 250 ppm	4-Sta. María	11	55,14	606,50
	6-Catamarca	84	47,07	3953,50
	Total	95		

Estadística de Pruebas[b]	
Santa María - Catamarca	Fase lag
Mann-Whitney U	383,500
Wilcoxon W	3953,500
Z	-,915
Asint. Sig. (2-colas)	,360

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos				
	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Fase Lag 250 ppm	1-Belén	34	20,72	704,50
	4-Sta. María	11	30,05	330,50
	Total	45		

Estadística de Pruebas[b]	
Belén-Santa María	Fase lag
Mann-Whitney U	109,500
Wilcoxon W	704,500
Z	-2,056
Asint. Sig. (2-colas)	,040
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,039[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 22

Rangos				
	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Fase Lag 250 ppm	4-Sta. María	11	12,73	140,00
	5-Tinogasta	11	10,27	113,00
	Total	22		

Estadística de Pruebas[b]	
Santa María-Tinogasta	Fase lag
Mann-Whitney U	47,000
Wilcoxon W	113,000
Z	-,890
Asint. Sig. (2-colas)	,373
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,401[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Tabla 23. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de fase lag del hongo para el tratamiento con cuminal y AE de comino de Catamarca (500 ppm) agrupados según procedencia.

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad** – Fase Lag (h) a 500 ppm de cuminal y AEs–							
Tratamiento	Procedencia	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
500 ppm	Belén	34	100,0%	,115	35	,200*	,965	35	,325
	Capayán	15	100,0%	,180	15	,200*	,907	15	,122
	cuminal	4	100,0%	,215	4	.	,950	4	,717
	Pomán	15	100,0%	,377	15	,000	,676	15	,000
	Sta. María	11	100,0%	,243	11	,068	,854	11	,048
	Tinogasta	11	100,0%	,252	11	,048	,861	11	,059
	Tot Catam.	87	100,0%	,131	87	,001	,871	87	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors
*. Este es un límite inferior del verdadero significado.

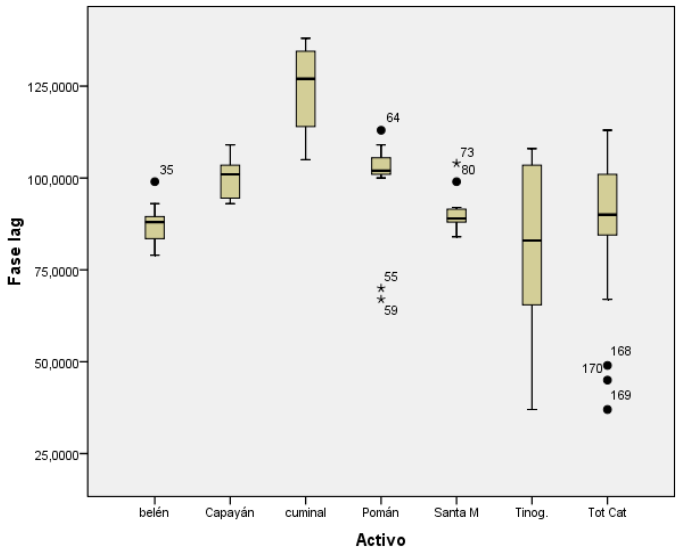


Figura 14. Medias y dispersión de los datos de las fases Lag a 500 ppm de cuminal y AEs de comino de Catamarca.

Tabla 24. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y prueba de homogeneidad de las varianzas de los datos de las fases lag de *F. verticillioides* tratado con 500 ppm de cuminal y AEs de comino de Catamarca.

ANOVA **Prueba de Levene**

Fase lag a 500 ppm – comparación según procedencia

	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.	Prueba de homogeneidad de las varianzas de Levene			
Entre grupos	8488,867	6	1414,811	9,353	,000	Estadística	df1	df2	Sig.
Dentro de los grupos	25867,745	171	151,273			6,746	6	171	,000
Total	34356,612	177							

Tabla 25. Prueba T de muestras independientes. Comparación de medias de fases lag de *F. verticillioides* tratado con 500 ppm de cuminal y AEs de comino de Catamarca.

Fase Lag. (h) 500 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			0-Cuminal 6-Catamarca 500 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	,045	,832	4,954	89	,000	33,2385057	6,7094990	19,906874	46,5701374
Varianz. iguales no asumidas			4,586	3,238	,016	33,2385057	7,2477044	11,102254	55,3747574
Fase Lag. (h) 500 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			2-Capayán 5-Tinogasta 500 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	15,02	,001	2,864	24	,009	19,5696970	6,8331199	5,4668307	33,672563
Varianz. iguales no asumidas			2,469	10,655	,032	19,5696970	7,9274776	2,0522586	37,087135
Fase Lag. (h) 500 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			2-Capayán 1-Belén 500 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	2,015	,162	8,854	48	,000	13,0761905	1,4768176	10,1068497	16,045531
Varianz. iguales no asumidas			8,175	22,481	,000	13,0761905	1,5996081	9,7629206	16,389460
Fase Lag h 500 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			2-Capayán 4-Santa María 500 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	,295	,592	4,062	24	,000	9,0242424	2,2217874	4,4386987	13,609786
Varianz. iguales no asumidas			4,024	20,935	,001	9,0242424	2,2427717	4,3592671	13,689218

Continuación Tabla 25

Fase Lag h 500 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			2-Capayán 6-Catamarca 500 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	3,552	,062	2,594	100	,011	8,9218391	3,439077	2,09881	15,74487
Varianz. iguales no asumidas			4,488	47,83	,000	8,9218391	1,987993	4,92435	12,91933

Tabla 26. Pruebas no paramétricas de los datos de fase lag del hongo para el tratamiento con cuminal y AE de comino de Catamarca (500 ppm) agrupados según procedencia.

Prueba de Kruskal-Wallis – total comparaciones a 500ppm

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Fase Lag 500 ppm	0 - Cuminal	4	171,50
	1- Belén	35	58,96
	2- Capayán	15	131,23
	3- Pomán	15	128,97
	4- Santa María	11	82,77
	5- Tinogasta	11	67,77
	6- Catamarca	87	87,61
	Total	178	

Estadística de pruebas[a,b]

500 ppm	Fase Lag
Chi-Cuadrado	43,405
df	6
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Fase Lag 500 ppm	1- Belén	35	58,96
	2- Capayán	15	131,23
	3- Pomán	15	128,97
	4- Santa María	11	82,77
	5- Tinogasta	11	67,77
	6- Catamarca	87	87,61
	Total	174	

Estadística de pruebas[a,b]

500 ppm	Fase Lag
Chi-Cuadrado	34,374
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
FaseLag 500 ppm	2-Capayán	15	17,77	266,50
	4-Sta.María	11	7,68	84,50
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]

Capayán-Santa María	Fase Lag
Mann-Whitney U	18,500
Wilcoxon W	84,500
Z	-3,329
Asint. Sig. (2-colas)	,001
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,000[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 26.

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
FaseLag 500 ppm	2-Capayán	15	73,30	1099,50
	6-Catamarca	87	47,74	4153,50
	Total	102		

Estadística de Pruebas[a]

Capayán-Catamarca	Fase Lag
Mann-Whitney U	325,500
Wilcoxon W	4153,500
Z	-3,092
Asint. Sig. (2-colas)	,001
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,002

a. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
FaseLag 500 ppm	2-Capayán	15	13,67	205,00
	3-Pomán	15	17,33	260,00
	Total	30		

Estadística de Pruebas[b]

Capayán-Pomán	Fase Lag
Mann-Whitney U	85,000
Wilcoxon W	205,000
Z	-1,143
Asint. Sig. (2-colas)	,253
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,267[a]

a. No se corrigen los lazos.

b. Variable agrupación: Procedencia

Tabla 27. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks aplicada a los datos de fase lag del hongo para el tratamiento con cuminal y AE de comino de Catamarca (1000 ppm) agrupados según procedencia.

Total Catamarca		**Prueba de Normalidad[b]** – Fase Lag (h) a 1000 ppm de cuminal y AEs–							
Tratamiento	Procedencia	Casos válidos		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		N	Porcentaje	Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
1000 ppm	Belén	35	100,0%	,201	35	,001	,911	35	,008
	Capayán	15	100,0%	,104	15	,200*	,983	15	,987
	cuminal	4	100,0%						
	Pomán	15	100,0%	,269	15	,005	,811	15	,005
	Santa M	11	100,0%	,127	11	,200*	,975	11	,935
	Tinog.	11	100,0%	,218	11	,149	,854	11	,048
	Tot Cat	87	100,0%	,167	87	,000	,855	87	,000

a. Corrección del significado de Lilliefors

*. Este es un límite inferior del verdadero significado.

b. Fase lag es constante cuando procedencia = cuminal. Se ha omitido.

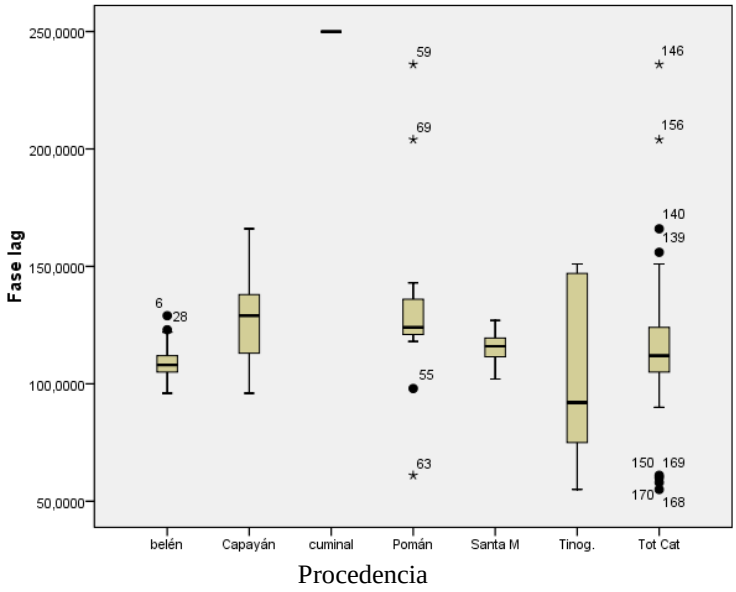


Figura 15. Dispersión de los datos y medias de las Fases Lag según procedencia para el tratamiento con 1000 ppm de AEs de comino, de Catamarca y cuminal.

Tabla 28. Pruebas no paramétricas de los datos de fase lag del hongo para el tratamiento con cuminal y AE de comino de Catamarca (1000 ppm) agrupados según procedencia.

Prueba de Kruskal-Wallis – total comparaciones a 1000ppm

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Fase Lag 1000 ppm	0 - Cuminal	4	176,50
	1- Belén	35	66,73
	2- Capayán	15	117,90
	3- Pomán	15	119,43
	4- Santa María	11	90,41
	5- Tinogasta	11	65,68
	6- Catamarca	87	87,50
	Total	178	

Estadística de pruebas[a,b]

1000 ppm	Fase Lag
Chi-Cuadrado	30,377
df	6
Asint. Sig. (2 colas)	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Fase Lag 1000 ppm	1- Belén	35	58,96
	2- Capayán	15	131,23
	3- Pomán	15	128,97
	4- Santa María	11	82,77
	5- Tinogasta	11	67,77
	6- Catamarca	87	87,61
	Total	174	

Estadística de pruebas[a,b]

1000 ppm	Fase Lag
Chi-Cuadrado	19,567
df	5
Asint. Sig. (2 colas)	,002

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Continuación Tabla 28.

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
FaseLag 1000 ppm	3-Pomán	15	16,47	247,00
	4-Sta. María	11	9,45	104,00
	Total	26		

Estadística de Pruebas[b]

Pomán-Sta María	Fase Lag
Mann-Whitney U	38,000
Wilcoxon W	104,000
Z	-2,314
Asint. Sig. (2-colas)	,021
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,020[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
FaseLag 1000 ppm	3-Pomán	15	67,47	1012,00
	6-Catamarca	87	48,75	4241,00
	Total	102		

Estadística de Pruebas[a]

Pomán-Catamarca	Fase Lag
Mann-Whitney U	413,000
Wilcoxon W	4241,00
Z	-2,264
Asint. Sig. (2-colas)	,024

a. Variable agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
FaseLag 1000 ppm	2-Capayán	15	66,70	1000,50
	6-Catamarca	87	48,88	4252,50
	Total	102		

Estadística de Pruebas[a]

Capayán-Catamarca	Fase Lag
Mann-Whitney U	424,500
Wilcoxon W	4252,500
Z	-2,155
Asint. Sig. (2-colas)	,031

a. Variable agrupación: Procedencia

Rangos

	Procedencia	N	Rango Medio	Suma de Rangos
FaseLag 1000 ppm	5-Tinogasta	11	38,59	424,50
	6-Catamarca	87	50,88	4426,50
	Total	98		

Estadística de Pruebas[a]

Tinogasta-Catamarca	Fase Lag
Mann-Whitney U	358,500
Wilcoxon W	424,500
Z	-1,351
Asint. Sig. (2-colas)	,177

a. Variable agrupación: Procedencia

Tabla 29. Prueba T de muestras independientes. Comparación de medias de fases lag de *F. verticillioides* tratado con 1000 ppm de cuminal y AEs de comino de Catamarca.

Fase Lag h 1000 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes. 1-Belén 2-Capayán 1000 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	20,233	,000	-4,960	48	,000	-18,4285714	3,7157354	-25,899558	-10,957585
Varianz. iguales no asumidas			-3,560	15,516	,003	-18,4285714	5,1766908	-29,430524	-7,426619
Fase Lag h 1000 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes. 1-Belén 3-Pomán 1000 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	15,101	,000	-3,304	48	,002	-23,1619048	7,0112020	-37,258871	-9,064938
Varianz. iguales no asumidas			-2,192	14,346	,045	-23,1619048	10,5659246	-45,772382	-,551427
Fase Lag h 1000 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes. 2-Capayán 3-Pomán 1000 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	1,494	,232	-,406	28	,688	-4,7333333	11,649920	-28,597112	19,130446
Varianz. iguales no asumidas			-,406	20,133	,689	-4,7333333	11,649920	-29,024368	19,557702
Fase Lag h 1000 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes. 2-Capayán 4-Santa María 1000 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	6,826	,015	2,090	24	,047	13,0181818	6,2281729	,1638647	25,8724989
Varianz. iguales no asumidas			2,354	19,137	,029	13,0181818	5,5301129	1,4491274	24,5872363
Fase Lag h 1000 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes. 2-Capayán 6-Catamarca 1000 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	,055	,816	1,643	100	,103	11,2919540	6,8712170	-2,3403448	24,92425
Varianz. iguales no asumidas			1,972	22,959	,061	11,2919540	5,7270788	-,5565866	23,14050

Tabla 30. Correlación entre los parámetros de crecimiento fúngico de *F. verticillioides* bajo tratamiento con aceite esencial de comino de Catamarca.

		% Inhibic.	Tasa crec.	Fase Lag
% Inhibic.	Coef. Correlación de Pearson	1	-,475**	,829**
	Sig. (2-colas)		,000	,000
	Suma de cuadrados	332443,103	-4132,887	246441,139
	Covariancia	958,049	-12,014	716,399
	N	348	345	345
Tasa crec.	Coef. Correlación de pearson	-,475**	1	-,619**
	Sig. (2-colas)	,000		,000
	Suma de cuadrados	-4132,887	228,649	-4836,252
	Covariancia	-12,014	,665	-14,059
	N	345	345	345
Fase lag	Coef. Correlación de pearson	,829**	-,619**	1
	Sig. (2-colas)	,000	,000	
	Suma de cuadrados	246441,139	-4836,252	267337,843
	Covariancia	716,399	-14,059	777,145
	N	345	345	345

**. La correlación es significativa a *P*< 0,01 (2 colas).

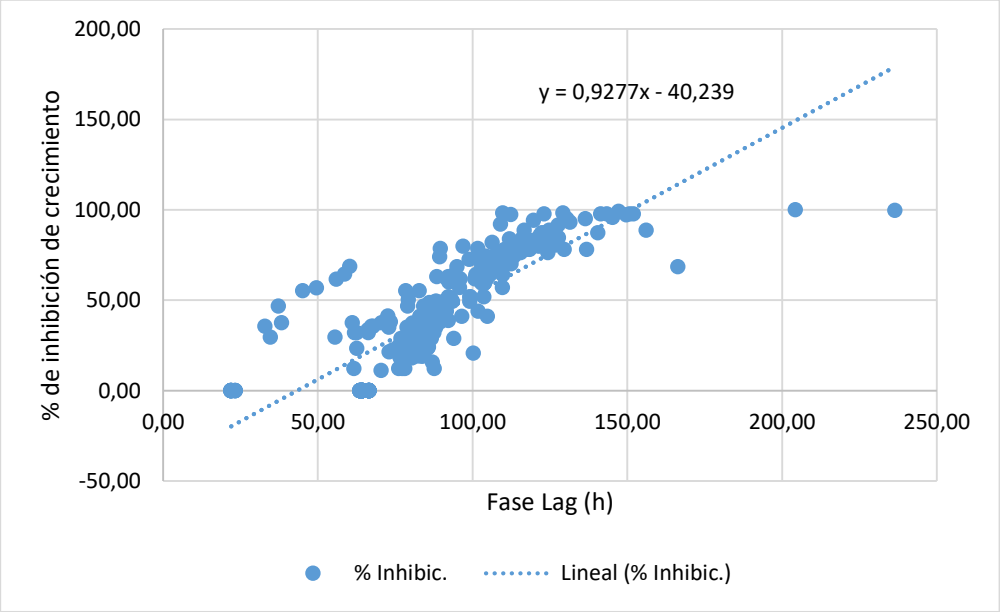


Figura 16. Relación entre el % de inhibición del crecimiento y la fase lag del *F. verticillioides* tratado con AE de comino de Catamarca.

CCP = 0,829, significativo a *P* = 0,000. Covarianza = 716,399 para N= 345.

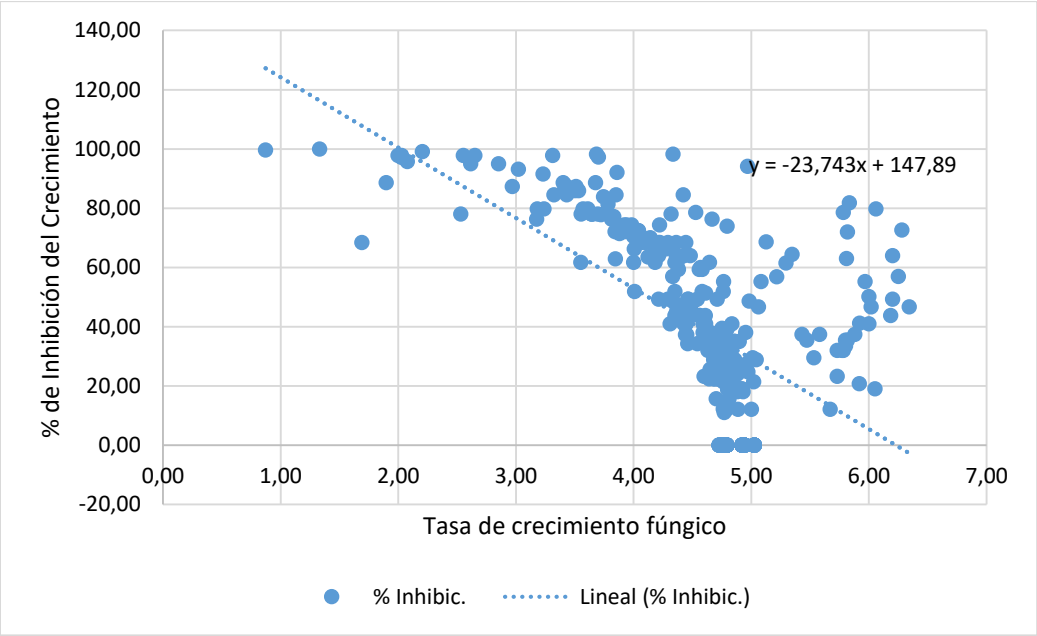


Figura 17. Relación entre el % Inhibición del crecimiento y la Tasa de crecimiento de *F. verticillioides* tratado con AE de comino de Catamarca.

CCP = - 0,475, significativo a *P* = 0,000. Covarianza = -12,014 para N= 345.

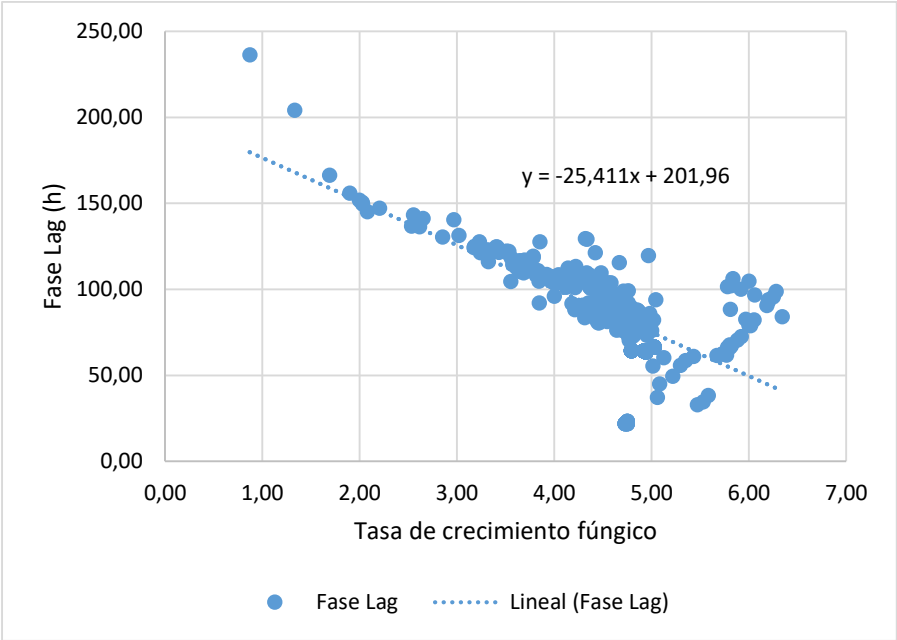


Figura 18. Relación entre la Fase Lag y la Tasa de crecimiento fúngico de *F. Verticillioides* tratado con AE de comino de Catamarca.

CCP = - 0,619, significativo a *P* = 0,000. Covarianza = - 4836,252 para N= 345.

Tabla 31. Síntesis de la actividad antifúngica del cuminal.

	% Inhibición			*Tasa crecimiento fúngico*			*Fase Lag*		
	Tratamiento								
	250	*500*	*1000*	*250*	*500*	*1000*	*250*	*500*	*1000*
Media	**74,33**	**87,02**	**100**	**3,51**	**2,77**	**0,00**	**104,26**	**124,88**	**>250,00**
Error típico	1,32	4,36	0	0,06	0,26	0,00	1,94	7,18	0,00
Mediana	73,42	89,81	100	3,57	2,61	0,00	102,78	127,46	>250,00
Moda	72,45	#N/A	100	#N/A	#N/A	0,00	#N/A	#N/A	>250,00
Desviación estándar	**2,63**	**8,71**	**0**	**0,13**	**0,53**	**0,00**	**3,88**	**14,37**	**0,00**
Varianza de la muestra	6,94	75,88	0	0,02	0,28	0,00	15,03	206,46	0,00
Curtosis	1,31	2,81	#¡DIV/0!	3,36	2,89	#¡DIV/0!	2,85	0,44	#¡DIV/0!
Coeficiente de asimetría	1,37	-1,61	#¡DIV/0!	-1,83	1,56	#¡DIV/0!	1,71	-0,90	#¡DIV/0!
Rango	5,59	19,68	0	0,27	1,21	0,00	8,35	33,30	0,00
Mínimo	72,45	74,39	100	3,33	2,32	0,00	101,57	105,65	>250,00
Máximo	78,04	94,06	100	3,59	3,53	0,00	109,92	138,95	>250,00
Suma	297,33	348,07	400	14,05	11,07	0,00	417,05	499,51	>1000,00
Cuenta	4,00	4,00	4	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Nivel de confianza (95,0%)	4,19	13,86	0	0,20	0,84	0,00	6,17	22,86	--

Tabla 32. Prueba de normalidad de los datos de actividad antifúngica del cuminal frente a *F. verticillioides* según tratamiento.

Resumen de procesamiento de casos.

Tratamiento		Cases					
		Válidos		Desaparecido		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcent	N	Porcent
% Inhibición	0	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	250	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	500	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	1000	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
Tasa crecimiento	0	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	250	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	500	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	1000	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
Fase lag	0	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	250	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	500	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	1000	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%

Prueba de Normalidad[b,c,d,e,f]

Tratamiento		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Estadística	df	Sig.	Estadística	df	Sig.
% Inhibición	250	,260	4	.	,827	4	,161
	500	,306	4	.	,864	4	,276
Tasa crecimiento	0	,441	4	.	,630	4	,001
	500	,441	4	.	,630	4	,001
Fase lag	0	,329	4	.	,895	4	,406
	250	,303	4	.	,791	4	,086
	500	,215	4	.	,950	4	,717

a. Corrección del significado de Lilliefors.

b. El % de Inhibición es constante cuando el tratamiento = 0. Ha sido omitido.

c. El % de Inhibición es constante cuando el tratamiento = 1000. Ha sido omitido.

d. La Tasa de crecimiento es constant cuando el Tratamiento = 250. Ha sido omitido.

e. la Tasa crecimiento es constante cuando el Tratamiento = 1000. Ha sido omitido.

f. La Fase lag es constant cuando el Tratamiento = 1000. Ha sido omitido.

Tabla 33. Análisis de la varianza de un factor (ANOVA) y prueba de homogeneidad de las varianzas de los datos del porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico y las fases lag de *F. verticillioides* tratado con cuminal a distintas concentraciones.

Prueba de homogeneidad de las Varianzas

	Estadística de Levene	df1	df2	Sig.
% Inhibición	5,408	3	12	,014
Fase lag	5,197	3	12	,016

ANOVA

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
% Inhibición	Entre grupos	24015,688	3	8005,229	371,257	,000
	Dentro de los grupos	258,750	12	21,563		
	Total	24274,438	15			

ANOVA

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Fase lag	Entre grupos	77349,500	3	25783,167	472,724	,000
	Dentro de los grupos	654,500	12	54,542		
	Total	78004,000	15			

Tabla 34. Comparaciones múltiples.

Dunnett T3

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error Estánd	Sig.	95% Intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
% Inhibición	0	250	-74,0000000*	1,4142136	,000	-81,401095	-66,598905
		500	-86,7500000*	4,4229515	,001	-109,896917	-63,603083
		1000	-100,0000000	,0000000	.	-100,000000	-100,000000
	250	0	74,0000000*	1,4142136	,000	66,598905	81,401095
		500	-12,7500000	4,6435439	,212	-34,246964	8,746964
		1000	-26,0000000*	1,4142136	,001	-33,401095	-18,598905
	500	0	86,7500000*	4,4229515	,001	63,603083	109,896917
		250	12,7500000	4,6435439	,212	-8,746964	34,246964
		1000	-13,2500000	4,4229515	,199	-36,396917	9,896917
	1000	0	100,0000000	,0000000	.	100,000000	100,000000
		250	26,0000000*	1,4142136	,001	18,598905	33,401095
		500	13,2500000	4,4229515	,199	-9,896917	36,396917
Fase lag	0	250	-39,2500000*	1,9947849	,000	-48,412766	-30,087234
		500	-60,0000000*	7,1385106	,013	-96,937176	-23,062824
		1000	-1,8575000E2	,6291529	,000	-189,042586	-182,457414
	250	0	39,2500000*	1,9947849	,000	30,087234	48,412766
		500	-20,7500000	7,3583852	,207	-55,933792	14,433792
		1000	-1,4650000E2	1,8929694	,000	-156,406599	-136,593401
	500	0	60,0000000*	7,1385106	,013	23,062824	96,937176
		250	20,7500000	7,3583852	,207	-14,433792	55,933792
		1000	-1,2575000E2	7,1107313	,001	-162,963048	-88,536952
	1000	0	185,7500000*	,6291529	,000	182,457414	189,042586
		250	146,5000000*	1,8929694	,000	136,593401	156,406599
		500	125,7500000*	7,1107313	,001	88,536952	162,963048

*. La diferencia de medias es significativa al nivel de 0,05.

Tabla 35. Prueba T de muestras independientes. Comparación de medias de porcentajes de inhibición de crecimiento fúngico y de fases lag de *F. verticillioides* bajo distintos tratamientos con cuminal.

% Inhibición 250 - 500 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			Cuminal 250 ppm – 500 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	2,864	,142	-2,746	6	,033	-12,750000	4,6435439	-24,112343	-1,3876574
Varianz. iguales no asumidas			-2,746	3,607	,058	-12,750000	4,6435439	-26,21576	,7157623

% Inhibición 500 - 1000 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			Cuminal 500 ppm – 1000 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	6,756	,041	2,996	6	,024	13,2500000	4,4229515	2,4274275	24,0725725
Varianz. iguales no asumidas			2,996	3,000	,058	13,2500000	4,4229515	-,8258057	27,3258057

Fase Lag 250 - 500 ppm	Prueba de Levene para igualdad de varianzas		Prueba T de muestras independientes.						
			Cuminal 250 ppm – 500 ppm					Intervalo de confianza de la diferencia 95%	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-colas)	Diferencia media	Dif. de error estándar	Inferior	Superior
Varianz. iguales asumidas	3,388	,115	-2,820	6	,030	-20,750000	7,3583852	-38,755320	-2,7446800
Varianz. iguales no asumidas			-2,820	3,423	,057	-20,750000	7,3583852	-42,612425	1,1124252

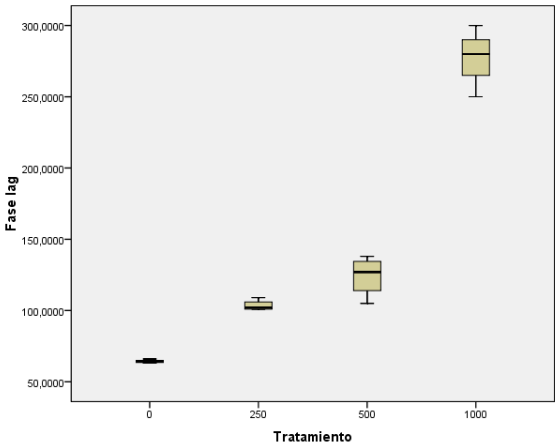


Figura 19. Dispersión de los datos y medias de las fases lag de *F. verticillioides* según tratamiento con cuminal.

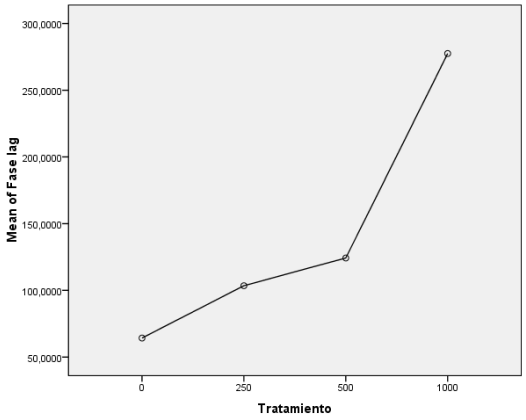


Figura 20. Comparación de medias de fases Lag de *F. verticillioides* según tratamiento con cuminal.

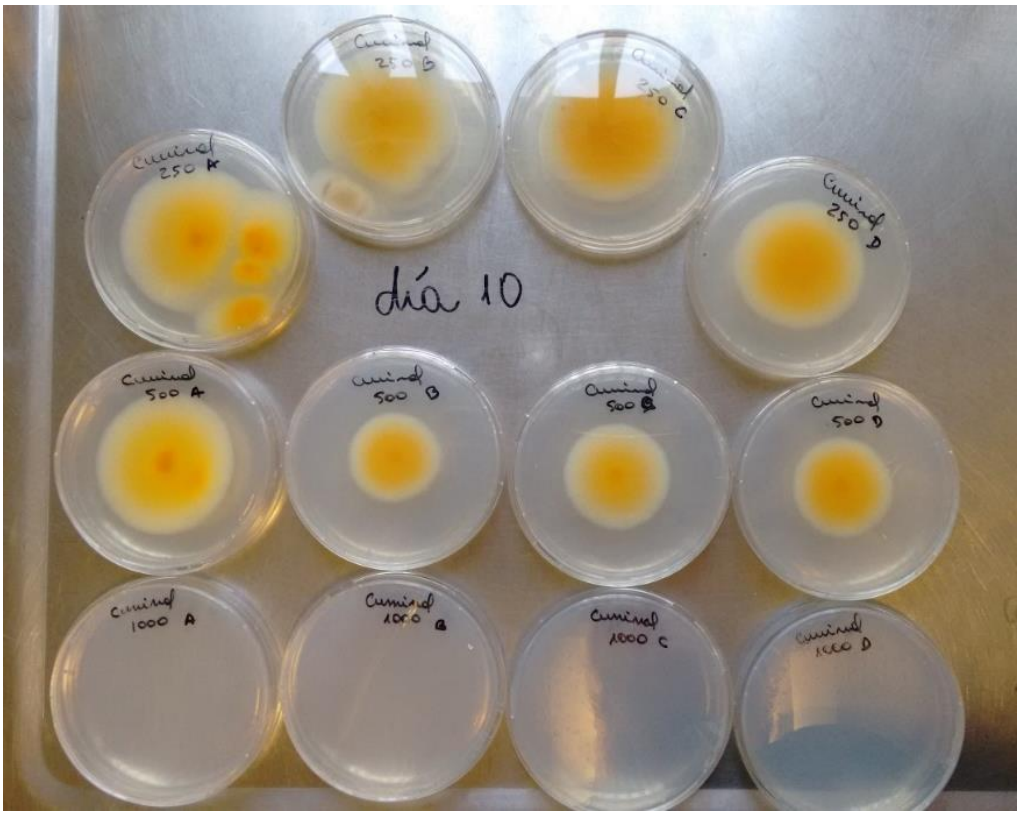


Figura 21. Desarrollo del *F. verticillioides* bajo distintos tratamientos con cuminal.

Tabla 36. Pruebas no paramétricas de los datos de tasa de crecimiento fúngico bajo diferentes tratamientos con cuminal.

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Procedencia	N	Rango medio
Tasa crecimiento	0	4	14,50
	250	4	10,00
	500	4	7,00
	1000	4	2,50
	Total	16	

Estadística de pruebas[a,b]

Tasa de crecimiento	
Chi-Cuadrado	14,299
df	3
Asint. Sig. (2 colas)	,003

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Procedencia

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

	Tratamiento	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Tasa de crecimeinto	0	4	6,50	26,00
	250	4	2,50	10,00
	Total	8		

Estadística de Pruebas[b]

0-250	Tasa crec.
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,530
Asint. Sig. (2-colas)	,011
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,029[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable agrupación: Procedencia

Rangos

	Tratamiento	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Tasa de crecimeinto	250	4	6,00	24,00
	500	4	3,00	12,00
	Total	8		

Estadística de Pruebas[b]

250-500	Tasa crec.
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-2,049
Asint. Sig. (2-colas)	,040
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,114[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable agrupación: Procedencia

Rangos

	Tratamiento	N	Rango Medio	Suma de Rangos
Tasa de crecimeinto	500	4	6,50	26,00
	1000	4	2,50	10,00
	Total	8		

Estadística de Pruebas[b]

500-1000	Tasa crec.
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,530
Asint. Sig. (2-colas)	,011
Sig. Exacto. [2 * (Sig. 1 cola)]	,029[a]

a. No se corrigen los lazos.
b. Variable agrupación: Procedencia