ارزیابی ترکیب شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی افشره دو گیاه زیره سبز و اکالیپتوس بر سه گونه لاکتوباسیل در محیط آزمایشگاهی

دکتر فائزه خزیمه[۱]، دکتر زهرا گلستان نژاد*[۱]، سعیده سیفی[۲]، آرمیتا پورآرین[۳]، شاهین گوانجی[۴]، فرناز فرهاد[۵]

چکیده

مقدمه: یکی از روش های کمکی برای کنترل پوسیدگی، مواد ضد باکتریایی می باشد. بدنبال بروز عوارض جانبی و مقاومت به مواد ضد باکتریایی شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه است. در این مطالعه اثر ضدباکتریایی افشره زیره سبز و اکالیپتوس بر سه سوش لاکتوباسیل پوسیدگی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی استخراج افشره با روش تقطیر با آب انجام و با دستگاه گازکروماتوگرافی- طیف نگار جرمی، ترکیب شیمیایی آنها ارزیابی شد. شاخص های فعالیت ضد باکتریایی شامل minimum inhibitory concentration (MIC) و minimum bactericidal concentration (MBC) و قطر هاله عدم رشد افشره‌هابر سه سوش لاکتوباسیل (کازئی، پلانتاروم و رامنوسوس) به دو روش ماکرودیلوشن براث و انتشار چاهکی در آگار اندازه‌گیری شد. نتایج با استفاده از آزمون‌های واریانس یکطرفه و توکی تجزیه و تحلیل گردیدند (α=۰/۰۵).

یافته‌ها: اصلی‌ترین ترکیبات افشره زیره سبز و اکالیپتوس به ترتیب کومینیک الکل (۳۰/۲۳٪) و ۸،۱-سینئول(۴۱/۱۸٪) بودند. MIC هر سه سوش باکتری برای زیره ۶/۷۱µg/ml و برای اکالیپتوس ۱۱۰µg/ml بود. MBC برای لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس رامنوسوس به ترتیب ۱۳/۴۳µg/ml، ۲۶/۸۷µg/ml و ۲۶/۸۷µg/ml برای زیره و ۱۱۰µg/ml، ۲۲۰µg/ml و ۱۱۰µg/ml برای اکالیپتوس بود. افزایش غلظت افشره ها موجب افزایش قطر هاله عدم رشد شد (p value= ۰)، وبیشترین قطر هاله عدم رشد در هر دو افشره مربوط به غلظت ۸۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود. از میان سه گونه باکتری مورد مطالعه، *L. Casei* بیشترین حساسیت و *L. Plantarum* کمترین حساسیت را نسبت به افشره ها نشان داد (p-value= ۰/۰۲). قطر هاله عدم رشد در زمان های مختلف (۲۴و ۴۸ ساعت) نشان می دهد که قطر هاله عدم رشد طی زمان تغییر معنی داری نداشته است (p-value= ۰/۷۸). قطر هاله عدم رشد برای افشره زیره سبز بیشتر از اکالیپتوس است (p- value=۰/۰۲)

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که هر دو افشره بر سوش‌های مورد مطالعه اثر ضد باکتریایی دارند ولی زیره سبز تاثیر بیشتری دارد.

کلید واژه‌ها: پوسیدگی، لاکتوباسیل، اکالیپتوس، ضد باکتریایی، GS-MS

*. استادیار، مرکز تحقیقات دندانپزشکی ترابی نژاد ، گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران (مؤلف مسؤول)
dr_zgolestan@yahoo.com

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات دندانپزشکی ترابی نژاد ، گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی ،دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲. دانشجوی دندانپزشکی، کمیته پژوهش های دانشجویی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد پاتولوژی گیاهان، دانشکده کشاورزی،دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

۴. کارشناس، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اصفهان، ایران

۵. دانشجوی دندانپزشکی، کمیته پژوهشهای دانشجویی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ، اصفهان، ایران

این مقاله در تاریخ ۹۳/۳/۲۴ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۳/۱۱/۱۶ اصلاح شده و در تاریخ ۹۳/۱۲/۵ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۴؛ ۱۱(۳)؛ ۱۹۵-۲۰۵.

مقدمه

پوسیدگی دندان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن در جهان و یک بیماری با ماهیت عفونی میکروبی است [۲، ۱]. پوسیدگی نتیجه اثر متقابل بین باکتری‌های تولید کننده اسید و کربوهیدرات‌های قابل تخمیر است که باعث حل شدن و تخریب بافت آهکی دندان می‌شود [۴، ۳]. بیش از ۱۰۰۰ گونه مختلف از باکتری‌ها ممکن است در دهان افراد بالغ وجود داشته باشند [۵, ولی تنها گروه نسبتا کوچک از باکتری‌های موجود در آن قادر به تولید اسید و ایجاد پوسیدگی هستند. سوش‌های اصلی دخیل در این فرآیند استرپتوکوک‌ها (*S. Mutans* و *S. Sobrinus*) و لاکتوباسیل‌ها هستند [۶، ۲]. لاکتوباسیل‌ها نقش عمده‌ای در پیشروی روند پوسیدگی دارند و بیشترین محل کلونیزاسیون آنها در حفره دهان فرورفتگی‌های گیردار از قبیل پیت و فیشورها و ضایعات پوسیدگی است [۷، ۶]. پوسیدگی یک بیماری برگشت‌پذیر است، مشروط به اینکه بیوفیلم به میزان کافی از محیط حذف شود. عمده روش پیشگیری از پوسیدگی از طریق کنترل پلاک دندانی با روش‌های مکانیکی یعنی استفاده از مسواک و نخ دندان است [۸] ولی روش‌های معمول همیشه موثر نیست، به همین دلیل به درمان‌های کمکی نیاز است [۹]. استفاده از مواد با خاصیت ضد باکتریایی به عنوان یکی از مهمترین درمان‌های کمکی مطرح است. با توجه به احتمال ایجاد مقاومت میکروارگانیسم‌ها به دنبال مصرف موادضد باکتریایی شیمیایی و همچنین بروز عوارض جانبی و احتمال برهم زدن تعادل بیولوژیک دهان، اخیرا استفاده از گیاهان دارویی با خاصیت ضد باکتریایی مورد توجه قرار گرفته است [۱۲-۱۰].

اسانس و عصاره گیاهان دارویی جهت استفاده از خواص دارویی آنها به کار می‌رود. اسانس و عصاره از لحاظ روش تهیه، نوع حلال، نوع ترکیبات، شرایط نگه‌داری، قدرت اثر و خواص با یکدیگر متفاوت هستند. به طور کلی هدف از اسانس‌گیری استخراج ترکیبات فرار گیاه است که با عصاره‌گیری امکان استخراج آن‌ها وجود ندارد.

حلال اسانس آب است در حالی که حلال عصاره الکل، متانول، اتانول و .... می باشد. اسانس به نور حساس است و در صورت قرارگیری در معرض نور ترکیبات فرار آن از بین می‌رود. اسانس چندین برابر قوی‌تر از عصاره است و خاصیت ضدمیکروبی زیادی دارد در حالی که عصاره بیشتر خاصیت ضد التهابی و تنظیم‌کنندگی ایمنی بدن را دارد. به طور کلی در صورتی که امکان تهیه‌ی اسانس از گیاه نباشد، عصاره‌گیری صورت می‌گیرد [۱۳].

اکالیپتوس و زیره از جمله گیاهان دارویی هستند که در طب سنتی ایران مورد استفاده قرار می‌گرفته است. از زمان‌های گذشته از خاصیت ضد میکروبی اکالیپتوس برای شستشوی زخم‌ها و حفره‌های عفونی بدن استفاده شده است [۱۵, ۱۴]. از افشره اوکالیپتوس که ارزشمندترین محصول این گیاه است، در شربت سرفه استفاده می‌شود [۱۶]. اصلی‌ترین ترکیبات افشره اکالیپتوس ۸،۱-سینئول و آلفا پینن هستند [۱۷]. از زیره سبز با نام علمی *Cuminumcyminum* L. در بیماری‌های ریوی برای درمان سرفه استفاده می‌شود همچنین گزارش‌هایی از فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی آن در علم پزشکی وجود دارد [۱۸]. ترکیبات عمده در افشره زیره سبز کومین آلدهید، سیمن و ترپنوئیدها هستند [۱۹]. مطالعات زیادی اثر ضدباکتریایی اکالیپتوس [۲۱، ۲۰ ،۱۶] و زیره سبز [۲۴-۲۲] را بررسی کرده‌اند ولی تعداد مطالعاتی که در مورد اثر ضدباکتریایی این گیاهان به ویژه زیره سبز بر روی باکتری‌های مولد پوسیدگی انجام شده محدود است. لذا با توجه به فراوانی این گیاهان در کشور ایران هدف این مطالعه ضمن تعیین ترکیب شیمیایی افشره این دو گیاه، بررسی اثر ضد باکتریایی آنها بر سه گونه لاکتوباسیل مولد پوسیدگی، به دو روش ماکرودیلوشن براث (Broth Macrodilution) و انتشار چاهکی در آگار (Agar Well Diffusion) بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی (آزمایشگاهی) بوده و به منظور تعیین ترکیبات، غلظت و تاثیر افشره زیره سبز و اکالیپتوس بر سه سوش *Lactobacillus casei*، *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus plantarum* به روش زیر اجرا گردید.

جمع آوری گیاه و استخراج افشره

برای تهیه افشره‌ها، برگ و ساقه گیاه اکالیپتوس (Eucalyptus Globulus) و همچنین بذرهای زیره سبز (Cuminumcyminum L.) از منطقه رویشگاه طبیعی آنها در استان اصفهان در سال ۹۲ جمع آوری گردید. بخش‌های جمع‌آوری شده به مدت سه روز در دمای اتاق خشک شدند. جهت تهیه افشره، ۵۰گرم از هر نمونه گیاهی خشک شده در دستگاه مخلوط کن (Mixer, Pars Khazar Co, Iran) خرد شده، سپس به روش تقطیر با آب (hydrodistilation) و با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger type apparatus, Razi Chemical Co, Iran) افشره هر نمونه استخراج گردید و توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد. افشره‌های به دست آمده تا زمان انجام آزمایشات در ویال‌های استریل در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند [۲۵].

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده

جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در افشره‌ها، دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) استفاده گردید. دستگاه گاز کروماتوگراف از نوع Agilent۷۸۹۰ (Gas Chromatograph, Agilent technologies Com, Austria) با ستونی به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5 MS بود و گاز هلیوم (خلوص ۹۹/۹۹۹٪) با سرعت جریان ۰/۸ml/min به عنوان گاز حامل استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و به تدریج با سرعت ۴ درجه در دقیقه افزایش یافت تا به ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسید. برای تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌ها از سرنگ هامیلتون استفاده شد. درجه حرارت محفظه تزریق نیز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. سپس افشره‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (Mass spectrophotometer, Agilent technologies Com, Austria) تزریق شد. گازکروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی از نوع Agilent۵۹۷۵ با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت مورد استفاده قرار گرفت. جهت شناسایی طیف‌ها ابتدا آلکان‌های نرمال سری c۲۵–c۵ تحت شرایط ذکر شده به دستگاه GC-MS تزریق و زمان بازداری آنها به دست آمد. شناسایی طیف‌ها بر اساس شاخص بازداری و مقایسه با طیف‌های جرمی استاندارد صورت گرفت [۲۶].

تهیه گونه‌های میکروبی و محیط کشت

سوش‌های باکتری لاکتوباسیل شامل *L.casei* (PTCC۱۶۰۸)، *L. .rhamnosus* (PTCC۱۶۳۷) و *L. plantarum* (PTCC۱۰۵۸) به صورت لیوفیلیزه از انستیتو پاستور ایران و محیط کشت MRS broth از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

تهیه سوسپانسیون باکتری

از کشت ۲۴–۱۸ساعته در محیط کشت MRS broth از گونه‌های لاکتوباسیل، سوسپانسیون باکتری معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۸}$CFU/ml) تهیه گردید و نهایتا سوسپانسیون باکتری برای تلقیح به رقت $۱/۵\times۱۰^{۶}$ رسانده شد.

تعیین MIC و MBC (به روش Broth Macrodilution Method) طبق پروتکل (CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006, M_7–A_7 .USA) انجام شد (۲۵). بدین منظور یک سری لوله استریل آماده شده و در هر لوله ۱cc محیط کشت MRS broth وارد شد. سپس از هر افشره با غلظت اولیه ۱۰۰٪ (اکالیپتوس ۸۸۰µg/ml) (زیره سبز ۸۶۰µg/ml) به لوله اول وارد کرده و به روش serial macrodilution سایر رقت‌ها (۱۰ غلظت) تهیه شد. سپس از سوسپانسیون میکروبی، معادل $۱/۵\times۱۰^{۶}$CFU/ml باکتری ۱cc به هر لوله اضافه کرده و دو لوله یکی به عنوان کنترل رشد مثبت (محیط کشت همراه با سوش مورد نظر) و دیگری به عنوان کنترل منفی (محیط کشت همراه با افشره) در نظر گرفته شد. لوله‌ها به مدت ۲۴–۱۸ساعت در دمای ۳۷°c انکوبه شده و سپس نتایج به روش کدورت سنجی ارزیابی شد. غلظت اولین لوله‌ای که در آن رشد مشاهده نگردید، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) رشد باکتری توسط آن عصاره منظور گردید.

متعاقب تعیین MIC، از لوله‌هایی که فاقد کدورت بودند بر روی محیط کشت جامد MRS broth به روش خطی کشت داده شد و پس از انکوباسیون در دمای ۳۷°c به مدت ۲۴–۱۸ ساعت رشد یا عدم رشد باکتری‌ها بررسی گردید. کمترین غلظتی که هیچگونه رشد باکتری در آن مشاهده نگردید

(تعداد کلونی=۰) MBC گزارش شد. این آزمایش به صورت مجزا برای هر دو ماده ۳مرتبه تکرار گردید.

تعیین هاله عدم رشد به روش انتشار چاهکی (Agar Well Diffusion) طبق روش Barki & douglas انجام شد [۲۷]. بدین‌صورت که بر روی محیط کشت MRS broth از سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند به روش کشت جارویی (Spread Plate Method) کشت تهیه کرده و پس از گذشت ۱۰-۵دقیقه در محیط چاهک‌هایی به قطر ۶ mm آماده شد، به طوریکه فاصله چاهک‌ها از لبه پلیت ۱/۵cm و از یکدیگر ۲/۵cm-۲ باشد. سپس از غلظت‌های مختلف افشره (۶ غلظت) به میزان ۵۰µl در چاهک‌ها ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲-۱ساعت در یخچال قرار گرفته تا ماده ضد میکروبی فرصت انتشار در محیط را پیدا کند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۷°c انکوبه شد. پس از آن هاله‌های عدم رشد با استفاده از کولیس اندازه‌گیری گردید. این اندازه‌گیری در فاصله زمانی ۴۸ ساعت نیز تکرار شد. این آزمایش به صورت مجزا برای هر دو ماده ۳ مرتبه تکرارگردید.

در نهایت داده‌ها توسط برنامه آماری SPSS و با استفاده از آزمون‌های واریانس یک طرفه (ANOVA) و توکی (Tukey) مورد ارزیابی قرار گرفتند (α=۰/۰۵).

یافته‌ها

نتایج ارزیابی ترکیبات شیمیایی افشره اکالیپتوس و زیره سبز به ترتیب در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. در مورد افشره اکالیپتوس تعداد ترکیبات شناسایی شده ۲۷ ترکیب بود و عمده ترین ترکیبات ۸،۱-سینئول (۴۰/۱۸٪)، پارا سیمن (۱۴/۱۱٪) و گاما ترپینن(۱۲/۴۳٪) بودند. در افشره زیره سبز ۲۴ ترکیب شناسایی شد که بیشترین ترکیبات آن را کومینیک الکل (۳۰/۳۲٪)، گاما ترپینن (۲۵/۳۲٪)، بتا پینن (۱۵/۹۴٪)، کومین آلدهید (۱۱/۱۵٪) تشکیل دادند. نتایج حاصل از روش Broth Macrodilution (MIC و MBC بر حسب درصد) در مورد هر دو افشره گیاهی بر روی باکتری‌های مورد مطالعه در جدول ۳ آمده است (کوچکتر بودن میزان MIC و MBC به معنی بالاتر بودن اثر ضدباکتریی است). همان گونه که مشاهده می‌شود، هر دو افشره بر روی هر ۳ گونه باکتری اثر بازدارندگی رشد داشتند ولی زیره در غلظت‌های پایین‌تری نسبت به اکالیپتوس خاصیت مهاری داشت. همچنین هر دو افشره در محدوده غلظتی مورد بررسی علاوه بر اثر بازدارندگی رشد، اثر باکتریسیدال نیز داشتند.

نتایج حاصل از روش Agar Well Diffusion نشان می‌دهد که هر دو افشره اثر بازدارندگی رشد بر هر سه گونه لاکتوباسیل مورد مطالعه داشتند. میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلیمتر) در غلظت‌های مختلف افشره اکالیپتوس و زیره بر سه سوش مورد مطالعه در جدول ۴ آمده است.

افزایش غلظت افشره‌ها موجب افزایش قطر هاله عدم رشد شده است (p- value= ۰)، به گونه‌ای که بیشترین میزان قطر هاله عدم رشد در هر دو افشره مربوط به غلظت ۸۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است (نمودار۱).

از میان سه گونه باکتری مورد مطالعه، *L. Casei* بیشترین حساسیت و *L. Plantarum* کمترین حساسیت را نسبت به افشره‌ها نشان داد که با افزایش غلظت این تفاوت بیشتر دیده می‌شود (p-value= ۰/۰۲) (نمودار ۲).

اطلاعات حاصل از اندازه‌گیری قطر هاله در زمان‌های مختلف (۲۴ و ۴۸ ساعت) نشان می‌دهد که قطر هاله عدم رشد طی زمان‌های بررسی شده تغییر معنی‌داری نداشته است (p- value= ۰/۷۸). میانگین قطر هاله عدم رشد برای دو افشره در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت نیز بالاتر بودن تاثیر افشره زیره را تایید می‌کند (نمودار۳).

مقایسه اثر ضدباکتریایی دو افشره در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد قطر هاله برای افشره زیره سبز بیشتر از اکالیپتوس است و این اختلاف، در غلظت‌های پایین بیشتر است (p-value=۰/۰۲).

افشره زیره سبز در غلظت‌های پایین (۲۷/۵ میکروگرم بر میلی لیتر) هم توانایی مهار رشد باکتری‌ها را دارد در حالی که در این غلظت توانایی افشره اکالیپتوس برای مهار رشد باکتری‌ها ناچیز است (نمودار۴).

جدول ۱: ترکیبات شناسایی شده از اسانس اکالیپتوس(بر حسب درصد)

	ترکیب	درصد	شاخص
۱	α –Thujan	۰/۳	۹۲۹
۲	α –pinene	۷/۷	۹۳۷
۳	camphene	۰/۰۹	۹۵۱
۴	Sabinene	۰/۰۸	۹۷۵
۵	β – pinene	۰/۷	۹۷۹
۶	β –myrcene	۰/۶۳	۹۹۲
۷	α. Terpinene	۰/۲	۱۰۱۸
۸	p-Cymene	۱۴/۱۱	۱۰۲۹
۹	1,8-cineol	۴۰/۱۸	۱۰۳۴
۱۰	γ.-Terpinene	۱۲/۴۳	۱۰۵۹
۱۱	α. Terpineol	۱/۷۴	۱۰۸۷
۱۲	Linalool	۰/۱۳	۱۰۹۹
۱۳	Fenchyl alcohol	۰/۰۷	۱۱۱۲
۱۴	trans-Pinocarveol	۰/۶۲	۱۱۳۶
۱۵	Menthofuran	۰/۱۶	۱۱۵۹
۱۶	Borneol	۰/۱۳	۱۱۶۲
۱۷	Terpinene-4-ol	۵/۶۲	۱۱۷۴
۱۸	p-Cymen-8-ol	۰/۷۲	۱۱۸۱
۱۹	Menthol	۱/۰۷	۱۱۸۴
۲۰	α. Terpineol	۱/۵۳	۱۱۸۷
۲۱	trans-Carveol	۰/۷۷	۱۲۱۴
۲۲	cis-Carveol	۰/۴۱	۱۲۲۶
۲۳	Carvone	۰/۲۵	۱۲۳۹
۲۴	Geraniol	۰/۵۲	۱۲۴۹
۲۵	Thymol	۰/۵۱	۱۲۸۰
۲۶	Carvacrol ethylether	۰/۵۲	۱۲۸۸
۲۷	Carvacrol	۰/۴۱	۱۲۹۵
جمع کل		۹۱/۶	

جدول ۲: ترکیبات شناسایی شده از اسانس زیره سبز(بر حسب درصد)

	ترکیب	درصد	شاخص بازداری
۱	α-Thujene	۰/۳۹	۹۲۹
۲	α-Pinene	۱/۰۴	۹۴۱
۳	Sabinene	۱/۱۳	۹۷۴
۴	β-Pinene	۱۵/۹۴	۹۷۸
۵	β-Myrcene	۱/۱۱	۹۸۸
۶	α-Phellandrene	۰/۹۶	۱۰۰۶
۷	Δ-3-Carene	۰/۰۶	۱۰۱۱
۸	α-Terpinene	۰/۲۳	۱۰۱۶
۹	p-Cymene	۶/۲۲	۱۰۲۸
۱۰	1,8-Cineole	۰/۲	۱۰۳۰
۱۱	β-Phellandrene	۰/۸۴	۱۰۳۲
۱۲	γ-Terpinene	۲۵/۳۲	۱۰۵۶
۱۳	α-Terpinolene	۰/۰۸	۱۰۸۲
۱۴	Linalool	۰/۱۱	۱۰۹۸
۱۵	cis-Sabinene hydrate	۰/۰۶	۱۱۰۰
۱۶	Terpin-4-ol	۰/۲۲	۱۱۷۳
۱۷	α-Terpienol	۰/۰۵	۱۱۸۶
۱۸	Cuminic aldehyde	۱۱/۱۵	۱۲۲۵
۱۹	Safranal	۲/۹۱	۱۲۷۴
۲۰	Cuminic alcohol	۳۰/۳۲	۱۲۸۲
۲۱	γ-Elemene	۰/۰۹	۱۳۹۴
۲۲	Myrtenol	۰/۱۴	۱۴۰۲
۲۳	β-Caryophyllene	۰/۰۸	۱۴۱۲
۲۴	trans-β-Farnesene	۰/۱	۱۴۲۷
جمع کل		۹۸/۷۵	

جدول۳: میزان MIC و MBC اسانس زیره سبز و اکالیپتوس بر حسب درصد و میکروگرم به میلی لیتر

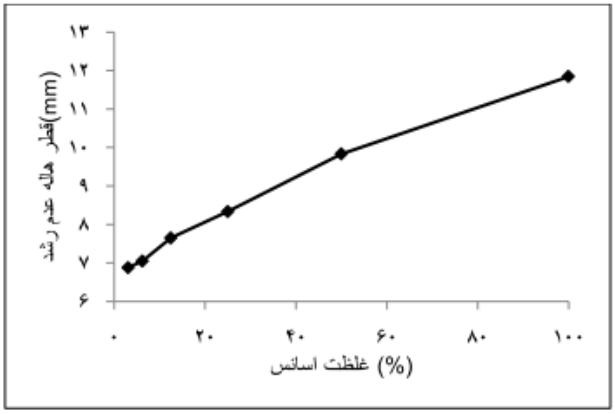
گونه باکتریایی		اسانس گیاهی(درصد)(میکروگرم به میلی لیتر)	
		زیره	اکالیپتوس
لاکتوباسیل پلانتروم	MIC	۰/۷۸٪(۶/۷۱µg/ml)	۱۲/۵٪(۱۱۰µg/ml)
	MBC	۳/۱۲٪(۲۶/۸۷µg/ml)	۲۵٪(۲۲۰µg/ml)
لاکتوباسیل کازئی	MIC	۰/۷۸٪(۶/۷۱µg/ml)	۱۲/۵٪(۱۱۰µg/ml)
	MBC	۱/۵۶٪(۱۳/۴۳µg/ml)	۱۲/۵٪(۱۱۰µg/ml)
لاکتوباسیل رامنوسوس	MIC	۰/۷۸٪(۶/۷۱µg/ml)	۱۲/۵٪(۱۱۰µg/ml)
	MBC	۳/۱۲٪ (۲۶/۸۷µg/ml)	۱۲/۵٪(۱۱۰µg/ml)

MIC: minimum inhibitory concentration
MBC: minimum bactericidal concentration

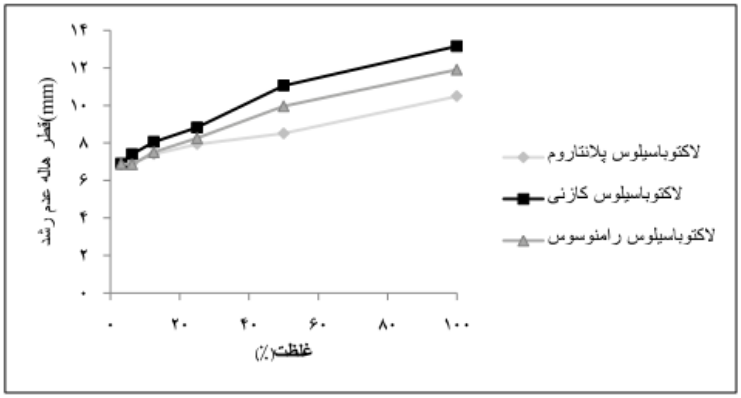
www.mui.ac.ir

جدول ۴: میانگین و خطای معیار قطر هاله عدم رشد(بر حسب میلیمتر) در غلظتهای مختلف اسانس اکالیپتوس و زیره بر سه سوش مورد مطالعه

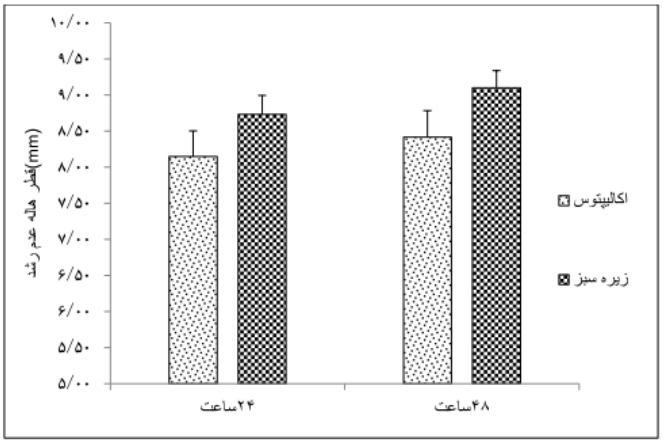
غلظت برحسب(٪)	لاکتوباسیل پلانتروم		لاکتوباسیل کازئی		لاکتوباسیل رامنوسوس	
	اکالیپتوس	زیره	اکالیپتوس	زیره	اکالیپتوس	زیره
۱۰۰	۹/۴۸±۰/۶۳	۱۱/۴۸±۰/۶۰	۱۴/۱۵±۰/۸۲	۱۲/۱۵±۰/۸۲	۱۲/۱۵±۰/۴۱	۱۱/۶۵±۰/۴۱
۵۰	۷/۵۵±۰/۸۲	۹/۴۵±۰/۸۲	۱۱/۶۵±۰/۷۷	۱۰/۴۵±۰/۷۷	۱۱/۱۵±۰/۳۹	۸/۷۵±۰/۳۹
۲۵	۶/۹۸±۰/۵۴	۸/۸۸±۰/۵۸	۸/۸۲±۰/۲۶	۸/۸۲±۰/۳۳	۸/۵۵±۰/۲۷	۷/۹۵±۰/۲۷
۱۲/۵	۶/۵۵±۰/۲۴	۸/۲۵±۰/۲۴	۷/۶۵±۰/۳۲	۸/۴۵±۰/۳۲	۷/۰۵±۰/۰۸	۷/۹۵±۰/۳۷
۶/۲۵	۶/۱۵±۰/۱۲	۷/۶۵±۰/۵۰	۶/۵۵±۰/۲۵	۸/۲۵±۰/۲۵	۶/۱۵±۰/۱۰	۷/۵۵±۰/۳۶
۳/۱۲	۶/۱۵±۰/۱۲	۷/۵۵±۰/۵۰	۶/۱۵±۰/۱۰	۷/۶۵±۰/۴۷	۶/۱۸±۰/۱۲	۷/۵۸±۰/۲۹



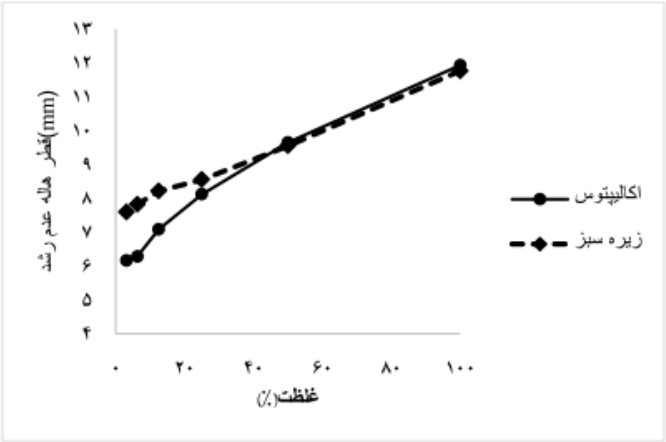
نمودار ۱: همبستگی غلظت اسانس و قطر هاله عدم رشد



نمودار۲: همبستگی غلظت اسانس و قطر هاله عدم رشد به تفکیک سوش باکتری



نمودار۳: میانگین و خطا معیار قطر هاله عدم رشد به تفکیک زمان و نوع اسانس



نمودار ۴: همبستگی غلظت و قطر هاله عدم رشد به تفکیک نوع اسانس

بحث

در سال‌های اخیر، ایجاد مقاومت دارویی همچنین بروز عوارض جانبی نامطلوب در اثر مصرف مواد ضد باکتریایی شیمیایی، موجب تلاش در جهت شناسایی منابع جدید دارویی به ویژه از میان گیاهان شده است [۱۳]. اکالیپتوس از جمله گیاهان دارویی است که از زمان‌های گذشته از خاصیت ضدمیکروبی آن برای شستشوی زخم‌های عفونی استفاده می‌شده است [۱۵]. زیره سبز نیز از گیاهان دارویی مهم و اقتصادی کشورمان به شمار می رود که سالیان درازی است در طب سنتی از خاصیت ضدمیکروبی آن استفاده می‌شود [۲۸]. افشره‌های گیاهی از جمله فراورده‌های گیاهی هستند که اثرات ضدمیکروبی و فارماکولوژیکی متعددی دارند و سرعت تشکیل بیوفیلم و پیشروی پوسیدگی را کاهش می‌دهند [۲۹]. افشره‌های گیاهی زمانی که به همراه روش‌های روتین جلوگیری از پوسیدگی به کار برود باعث کاهش تشکیل پلاک و التهاب لثه می‌شوند [۳۰].

نتایج ارزیابی ترکیبات شیمیایی افشره اکالیپتوس نشان می‌دهد ۸،۱–سینئول (۴۰/۱۸٪)، پارا سیمن (۱۴/۱۱٪)، گاما ترپینن(۱۲/۴۳٪) و آلفا پینن (۷/۷٪) عمده‌ترین ترکیبات این افشره بودند. عمده‌ترین ترکیبات در مطالعه محمودی و همکاران [۳۱] ۸،۱–سینئول (۷۲/۷۱٪)، بتا پینن (۹/۲۲٪) و بتا ترپینئول استات (۳/۱۰٪) بودند. Akin و همکاران [۳۲] نشان دادند افشره اکالیپتوس به طور عمده از اتانون (۲۵/۳۶٪)، اکالیپتول (۸/۱–سینئول) (۱۳/۷۳٪)، بتاکاریوفیلن (۱۱/۵۵٪) و کارواکرول (۹/۰۵٪) تشکیل شده است. مطالعات نشان داده که اثر

ضدباکتریایی افشره اکالیپتوس به طور عمده به دلیل وجود ترکیبات ۸،۱–سینئول، پارا سیمن، گاما ترپینن و آلفا پینن است [۳۵–۳۳، ۱۷]. در مطالعه حاضر اصلی‌ترین ترکیب افشره اکالیپتوس ۸،۱–سینئول بود که یکی از مهمترین ترکیبات گیاه اکالیپتوس با خاصیت ضد باکتریایی است. علت این خاصیت مربوط به توانایی این ترکیب در از بین بردن غشای سلولی باکتری‌هاست و در ترکیب با سایر عوامل ضد باکتریایی به علت اثر سینرژیک این خاصیت افزایش می‌یابد [۳۶]. ترکیبات بعدی با غلظت کمتر در مطالعه حاضر شامل پاراسیمن، گاما ترپینن و آلفا پینن نیز به عنوان ترکیبات دارای اثر ضد باکتریایی شناخته می‌شوند.

نتایج GC-MS افشره زیره سبز در مطالعه حاضر نشان داد بیشترین ترکیبات، کومینیک الکل (۳۰/۳۲٪)، گاما ترپینن (۲۵/۳۲٪)، بتا پینن (۱۵/۹۴٪) و کومین آلدهید (۱۱/۱۵٪) بودند. عمده‌ترین ترکیبات افشره زیره سبز در مطالعه عروجعلیان و همکاران [۳۶] کومین آلدهید (۳۰/۲٪)، پارا سیمن (۱۴/۱٪) و گاما ترپینن (۱۲/۸٪) بودند. الله قدری و همکاران [۳۷] نیز اصلی‌ترین ترکیبات این افشره را آلفا–پینن (۲۹/۱٪)، لیمونن (۲۱/۵٪)، ۸،۱–سینئول (۱۷/۹٪) و لینالول (۱۰/۴٪) گزارش کردند. مطالعات نشان داده که در زیره سبز اصلی‌ترین ترکیبات با خاصیت ضد باکتریایی کومینیک الکل، گاما ترپینن، بتا پینن و کومین آلدهید می‌باشد [۳۶،۳۸]. در مطالعه حاضر اصلی‌ترین ترکیب شناسایی شده در افشره زیره کومینیک الکل بود. در حالیکه در مطالعات عروجعلیان و الله قدری این ترکیب وجود نداشته است [۳۶، ۳۷]. با توجه به اینکه کومینیک الکل یکی از اصلی‌ترین ترکیبات ضد باکتریایی افشره زیره سبز است درصد بالای آن در افشره مطالعه حاضر می‌تواند بر روی خاصیت ضد باکتریایی آن در مقایسه با افشره‌های مطالعات قبلی تاثیر مهمی داشته باشد. گاما ترپینن ترکیب مهم دیگر زیره سبز با خاصیت ضد باکتریایی است. مقایسه درصد این ترکیب در افشره مطالعه حاضر (۲۵/۳۲٪) با مطالعات عروجعلیان و همکاران [۳۶] و الله قدری و همکاران [۳۷] (۱۲/۸٪ و ۰/۶٪) نشان می‌دهد مقدار این ترکیب در مطالعه حاضر به طور قابل توجهی بیشتر است و با توجه به تاثیر مهم ضد باکتریایی این جز چنین تفاوتی می‌تواند روی خاصیت ضد باکتریایی افشره اثر بسزایی داشته باشد. تفاوت در ترکیب شیمیایی افشره یک گونه گیاهی در شرایط منطقه‌ای متفاوت می‌تواند ناشی عوامل متعددی از جمله تفاوت در فصل برداشت، مناطق مختلف جغرافیایی با شرایط دما، نور و میزان بارش متفاوت و حتی استفاده از بخش‌های مختلف گیاه باشد [۳۲،۳۹].

همانگونه که در جدول ۳ نشان داده شده، هر دو افشره مورد مطالعه بر روی هر سه گونه باکتری اثر مهاری داشته‌اند ولی افشره زیره سبز در غلظت‌های پایین‌تری نسبت به اکالیپتوس رشد لاکتوباسیل‌ها را مهار کرد. نتایج حاصل از MBC نیز اثر کشندگی زیره را در غلظت‌های پایین‌تری نسبت به اکالیپتوس نشان می‌دهد. نتایج حاصل از روش Agar Well Diffusion نیز اثر ضد باکتریایی قوی‌تر زیره سبز را تایید می‌کند. این تفاوت در غلظت‌های پایین‌تر مشهودتر است. از بین باکتری‌های مورد مطالعه *L. Casei* بیشترین حساسیت را نسبت به هر دو افشره زیره سبز و اکالیپتوس نشان داد.

MIC اندازه‌گیری شده برای افشره اکالیپتوس محصول ایران در مطالعه امین و همکاران [۲۱] بر روی بعضی باکتری‌های حفره دهان از جمله *S. Mutans* و *L. Casei*µg/ml ۱۲۵ گزارش شد که با نتایج مطالعه حاضر (۱۱۰µg/ml) هماهنگ است. در مطالعه Ishnava و همکاران [۲۰] قطر هاله عدم رشد عصاره اکالیپتوس به دست آمده از هند بر روی *L. Casei* در حلال‌های مختلف ۱۰، ۱۱ و ۱۲ میلی متر گزارش شده که از میزان قطر هاله افشره اکالیپتوس در مطالعه حاضر که محصول استان اصفهان است (۱۴/۱۵میلی متر) کمتر می‌باشد. علت این امر می‌تواند ناشی از تفاوت ترکیبات گیاهان مورد مطالعه باشد. همان گونه که قبلا عنوان گردید ترکیبات گیاه تحت عواملی از قبیل شرایط جغرافیایی قرار می‌گیرد و بدین صورت موجب تغییر در غلظت اجزای دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌شود. علت دیگر این تفاوت در نتایج می‌تواند استفاده از افشره اکالیپتوس در مطالعه حاضر و استفاده از عصاره در مطالعه مذکور باشد.

در مطالعه شایق و همکاران [۲۳] قطر هاله عدم رشد افشره زیره سبز برای باکتری *S. Mutansmm15* گزارش شد که نتیجه این مطالعه نیز همانند مطالعه حاضر بیانگر اثر مهاری زیره سبز بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندانی است. در مطالعه

Tariq و Chaudhry [۲۴] عصاره زیره سبز بر روی استرپتوکوک‌های دهانی از جمله *S. mutans* تاثیری نداشت و هاله عدم رشد برای آنها تشکیل نشد. تفاوت نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر می‌تواند مربوط به تفاوت گونه باکتری مورد بررسی، تفاوت ترکیبات گیاهان مورد مطالعه همچنین استفاده از عصاره گیاه به جای افشره آن باشد.

با توجه به اینکه افشره‌های یک گونه گیاه تهیه شده از مناطق مختلف حاوی اجزای متفاوت با درصدهای گوناگون و پتانسیل ضد باکتریایی متفاوت هستند و همچنین نتایج متفاوتی در خصوص میزان MIC، MBC و zone of inhibition روی سوش واحد باکتری وجود دارد، استخراج ترکیبات موثره هر افشره و بررسی تاثیر ضد باکتریایی اجزا آن به صورت مجزا پیشنهاد می‌شود. همچنین بررسی استفاده از ترکیبات مذکور به منظور پیشگیری از پوسیدگی در محصولاتی نظیر دهانشویه، همچنین به صورت ترکیبات ضد عفونی کننده حفره تراش توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر در هر دو روش Broth Macrodilution و Agar Well Diffusion نشان داد که هر دو افشره گیاهی زیره سبز و اکالیپتوس توانایی مهار رشد لاکتوباسیل‌های مورد مطالعه را داشتند و تاثیر زیره سبز بیشتر از اکالیپتوس بود.

References

1. Kermanshah H, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi M, JabalAmoli F. In vitro evaluation of antibacterial activity of hydroalcoholic extract of Salvia officinalis and Pimpinella anisum against cariogenic bacteria. J Dent Med Tehran Univ Med Sch 2009; 22(2):149-54.[In Persian]
2. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. J Clin Microbiol 2008;46(4):1407-17.
3.Twetman S. The role of xylitol in patient caries management. Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde 2009;31:122-7.
4. Caglar E, Kavaloglu S, Kuscu O, Sandalli N, Holgerson P, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Clin Oral Investig 2007;11(4):425-9.
5. Noroozi J, Khanafari A, Beiglari S. Isolation and identification of lactic acid bacteria in the people's mouth and studying on their inhibitory effect on some entropatogenic bacteria. Journal of microbial world 2009;1:29-38.
6. Akhlaghi N, Mortazavi S, Akhlaghi N. Relationship between salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus counts and caries in adults with a high level of dental care. J Isfahan Dent Sch 2011;6(6):750-9.
7. Caufield P, Li Y, Dasanayake A, Saxena D. Diversity of lactobacilli in the oral cavities of young women with dental caries. Caries Res 2006;41(1):2-8.
8. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. The Lancet 2007;369(9555):51-9.
9. Houshmand B, Mortazavi H, Alikhani Y, Abdolsamadi H, AhmadiMotemayel F, ZareMahmoudabadi R. In Vitro Evaluation of Antibacterial Effect of Myrtus Extract with Different Concentrations on Some Oral Bacteria. J Mashad Dent Sch 2011;35(2):123-30. [In Persian]
10.Badet C, Quero F. The *in vitro* effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria. Anaerobe 2011;17(1):19-22.
11. Sharafati CR, Sharafati CF, Rafieian KM, Drees F, Ashrafi K. Comparison of the antibacterial effect of ethanolic walnut (Juglans regia) leaf extract with chlorhexidine mouth rinse on streptococcus mutans and sanguis. The Journal of Islamic Dental Association of IRAN (JIDA) 2010; 22(4):211-7.
12. Bonjar S. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. J Ethnopharmacol 2004;94(2):301-5.
14. Hans-jorj B. Extraction of Natural Products from Plants – An Introduction. USA: wiley; 2011.
14. Sattari M, Shahbazi N, Najar Peeryeh S. An assessment of antibacterial effect of alcoholic and aquatic extracts of Eucalyptus leaves on Pseudomonas aeruginosa. Modares J Med Sci Pathol 2005;8(1):19-23.
15. Zargari A. medicinal plants. 6th ed. Tehran: tehran university publication; 1986. [In Persian]
16. Cock IE. Antimicrobial Activity of Eucalyptus major and Eucalyptus baileyana Methanolic Extracts. Internet Journal of Microbiology 2009;6(1).
17. Torabi sagvand B, Naderi H, Sadeghzade L. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of ten Eucalyptus species against Micrococcus loteus and Escherchia coli. Iranian journal of medicinal and aromatic plants 2011;27(3):440-9. [In Persian]

18. Nakhaei M, Ramezani M, Malekzadeh F. In vitro anti-Helicobacter pylori activity of cumin (Cuminum cyminum L.) and tarragon (Artemisia dracunculus L.) extracts. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2006;9(3):193-200. [In Persian]
19. Hajlaoui H, Mighri H, Noumi E, Snoussi M, Trabelsi N, Ksouri R, et al. Chemical composition and biological activities of Tunisian< i> Cuminum cyminum</i> L. essential oil: A high effectiveness against< i> Vibrio</i> spp. strains. Food Chem Toxicol. 2010 Aug-Sep;48(8-9):2186-92.
20. Ishnava KB, Chauhan JB, Barad MB. Anticariogenic and phytochemical evaluation of< i> Eucalyptus globules</i> Labill. Saudi Journal of Biological Sciences 2013;20(1):69-74.
21. Amin M, Abbasi ME, Javadi M, Shahin F, Teymuri RM. Antimicrobial evaluation of methanolic essential oil of Eucalyptus globulus leaves against a number of oral cavity bacteria. Jentashapir 2013;supplement:41-7. [In Persian]
22. Damašius J, Škėmaitė M, Kirkilaitė G, Vinauskienė R, Venskutonis PR. Antioxidant and antimicrobial properties of carway (Carum carvi L.) and cumin (Cuminum cyminum L.) extracts. Veterinarija Ir Zootechnika 2007;40(62):1-9.
23. Shayegh S, Rasooli I, Taghizadeh M, Alipoor Astaneh SD. Phytotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque. Natural product research 2008;22(5):428-39.
24. Chaudhry NMA, Tariq P. In vitro antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. Pakistan Journal of Botany 2008;40(1):461.
25. Cassel E, Vargas R, Martinez N, Lorenzo D, Dellacassa E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. Industrial crops and products 2009;29(1): 171-6
26. Adams RP. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometery 4th Ed. United States: Allured publishing Corporation; 2007.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard–Seventh edition: M7-A7.
28. Haghiroalsadat F, Vahidi A, Sabour M, Azimzadeh M, Kalantar M, Sharafodini M. The indigenous cuminum cyminum L. of yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci 2011;29(8):472-81. [In Persian]
29. Claffey N. Essential oil mouthwashes: a key component in oral health management. J Clin Periodontol 2003; 30(s5):22-4.
30. Stoeken JE, Paraskevas S, van der Weijden GA. The long-term effect of a mouthrinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis: a systematic review. J priodontol 2007;78(7):1218-28.
31. Mahmoodi A, Roomiani L, Soltani M, Akhondzadeh Basti A, Kamali A, Taheri S. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils and Extracts from Rosmarinus officinalis, Zataria multiflora, Anethum graveolens and Eucalyptus globulus. Glob Veter 2012;9(1):73-9.
32. Akin M, Aktumsek A, Nostro A. Antibacterial activity and composition of the essential oils of Eucalyptus camaldulensis Dehn. and Myrtus communis L. growing in Northern Cyprus. African Journal of Biotechnology 2012;9(4): 531-4.
33. Magiatis P, Skaltsounis AL, Chinou I, Haroutounian SA. Chemical composition and in-vitro antimicrobial activity of the essential oils of three Greek Achillea species. Zeitschrift fur Naturforschung C 2002;57(3/4):287-90.
34.Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils–A review. Food and Chemical Toxicology 2008;46(2):446-75.
35. Elaissi A, Salah KH, Mabrouk S, Larbi KM, Chemli R, Harzallah-Skhiri F. Antibacterial activity and chemical composition of 20< i> Eucalyptus</i> species' essential oils. Food Chem 2011;129(4):1427-37.
36. Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami M. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Food Chem 2010;120(3):765-70.
37. Allahghadri T, Rasooli I, Owlia P, Nadooshan MJ, Ghazanfari T, Taghizadeh M, et al. Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran. J Food Sci 2010;75(2):H54-H61.
38. Johri R. Cuminum cyminum and Carum carvi: an update. Pharmacognosy reviews 2011;5(9):63-72.
39. Pajohi M R, Tajik HA, Gandomi H, Ehsani A, Shokohi SJF. Evaluation of chemical composition and antibacterial efficacy of Cuminum cyminum L. and Mentha longifolia L. alone and combined with nisin. J Urmia Univ Med Sci 2010;12(2):324-31. [In Persian]

Chemical composition and in vitro antibacterial activities of *Cuminumcyminum L.* and *Eucalyptus globulus* essential oil extracts against three lactobacillus strains

Faezeh Khozeimeh, Zahra Golestannejad*, Saeedeh Seifi, Armita Pourarian, Shahin Gavanji, Farnaz Farhad

Abstract

Introduction: *Antibacterial agents are considered one of the adjuncts for caries prevention. Due to side effects and bacterial resistance with the use of chemical agents, use of herbal medications has attracted a lot of attention. This study evaluated the antibacterial effects of essential oil extracts of C. cyminum L. and E. globulus against three common oral lactobacilli involved in tooth caries.*

Materials and methods: *In this study, essential oils were extracted by hydrodistillation. C. cyminum L. and E. globulus were characterized by means of gas chromatography–mass specrtophotometry (GC–MS). Antibacterial activity indices including MIC, MBC and zone of inhibition for the above essential oils against three bacterial strains (Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum and Lactobacillus rhamnosus) were determined using broth macrodilution and agar well diffusion methods. Data analysis was performed using one-way ANOVA and Tukey HSD tests (α=0.05).*

Results: *The main components of the essential oils of C. cyminum L. and E. globulus were cuminic alcohol (30.23%) and 1.8 cineol (40.18%), respectively. MIC for all the bacterial strains was 6.71 µg/mL for C. cyminumand and 110 µg/mL for E. globulus. MBC values for L. casei, L. plantarum and L. rhamnosus were 13.43 µg/mL, 26.87 µg/mL and 26.87 µg/mL for C. cyminum and 110 µg/mL, 220 µg/mL and 110 µg/mL for E. globulus, respectively. An increase in the concentration of essential oils resulted in an increase in zone of inhibition (p value = 0). In both essential oils the maximum zone of inhibition was observed at a concentration of 880 mg/mL. L. casei had maximum and L. plantrum had minimum sensitivity to these oils (p value = 0.02). Zones of inhibition at different time intervals (24-48 h) showed no significant differences (p value = 0.78). Zone of inhibition of C. cyminum was more than that of eucslyptus (p value = 0.02).*

Conclusion: *Both essential oils exhibited antibacterial effects against the bacterial strains evaluated. C. cyminum had higher antibacterial efficacy.*

Key words: *Dental caries, Lactobacillus, Eucalyptus globulus, Antibacterial, GC-MS.*

Received: 16 Oct, 2014 Accepted: 24 Feb, 2014

Address: Assistant Professor, Torabinejad Dental Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Email: dr_zgolestan@yahoo.com

Citation: Khozeimeh F, Golestannejad Z, Seifi S, Pourarian A, Gavanji Sh, Farhad F. **Chemical composition and in vitro antibacterial activities of *Cuminumcyminum L.* and *Eucalyptus globulus* essential oil extracts against three lactobacillus strains**. J Isfahan Dent Sch 2015; 11(3):195-205.