بررسی خاصیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین بنه بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *کلویورومایسس مارکسیانوس* و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* و اثر آن بر ماندگاری دوغ ایرانی

سیده میثمه احمدی[۱]، مریم مصلحی شاد[۲*]، عبدالرحمان رحیمی[۳]

۱- کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات علوم تغذیه و صنایع غذایی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶ /۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰٤/۱۰)

چکیده

فساد فرآورده‌های غذایی از جمله دوغ به‌واسطه انواع میکروارگانیسم‌ها ایجاد می‌گردد. هدف از این تحقیق ارزیابی خاصیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین بنه بر سویه‌های میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431)، *اشرشیاکلی* (PTCC1338)، *کلویورومایسس مارکسیانوس* (PTCC5195) و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* (PTCC5074) و تأثیر آن بر ماندگاری دوغ می‌باشد. خاصیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین بنه به روش انتشار دیسک کاغذی، حداقل غلظت کشندگی و حداقل غلظت بازدارندگی ارزیابی شد. سپس به نمونه‌های دوغ باکتری‌های مورد مطالعه ($۱۰^{۸}$ CFU mL^{-1}) و اسانس تلقیح شدند و سپس آزمایش‌های میکروبی در دو دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس در طول ۲۸ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین (٤۳/۷۸ میلی‌متر) و کم‌ترین (۲۲ میلی‌متر) قطر هاله عدم رشد ناشی از اسانس به‌ترتیب در برابر *کلویورومایسس مارکسیانوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست آمد. نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی اسانس نشان داد؛ حساسیت *کلویورومایسس مارکسیانوس* (MBC= ۳۱/۲۵ µl/ml؛ MIC= ۱۵/٦۰ µl/ml) و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* (MIC and MBC= ۳۱/۲۵ µL/mL) نسبت به *استافیلوکوکوس اورئوس* (MIC and MBC= ٦۲/۵۰ µl/ml) و *اشرشیاکلی* (MIC and MBC= ٦۰/۵۰ µL/mL) بیشتر است. هم‌چنین نتایج نشان داد که طی مدت زمان نگهداری دوغ، جمعیت میکروبی مورد مطالعه در دمای ٤ درجه سلسیوس نسبت دمای ۲۵ درجه سلسیوس و هم‌چنین در نمونه‌های تیمار شده با اسانس نسبت به شاهد کاهش یافت. بنابراین، دمای ٤ درجه سلسیوس به‌همراه استفاده از اسانس الئورزین بنه می‌تواند برای افزایش ماندگاری دوغ مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژگان: دوغ، خاصیت ضدمیکروبی، زمان ماندگاری، اسانس بنه

*مسئول مکاتبات: moslehishad@safaiau.ac.ir

۱- مقدمه

دوغ یکی از فرآورده‌های شیری بومی ایران است که مصرف آن پیشینه تاریخی طولانی دارد. ایران با تولید سالانه ۱۲۰ هزار تن دوغ تهیه شده از ماست، یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان دوغ در جهان است. امروزه تولید این محصول در کشور به دو صورت صنعتی و سنتی انجام می‌شود و با استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک و انواع افزودنی‌هایی مثل فیبرها می‌توان جنبه‌های تغذیه‌ای این محصول را بهبود بخشید [۱]. دوغ علاوه بر مزایای تغذیه‌ای، حاوی باکتری‌های مفیدی است که اثرات مفیدی بر سلامت دستگاه گوارش دارند. اگر دوغ به‌طور مرتب مصرف شود باکتری‌های مفید از جمله *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در دستگاه گوارش انسان مستقر می‌شوند. به‌طوری که مصرف مداوم آن می‌تواند موجب عدم رشد میکروارگانیسم‌های مضر شود [۲]. کپک و مخمرها از عمده‌ترین عوامل فساد دوغ می‌باشند که در این میان انواع مخمرها بهتر می‌توانند در دوغ رشد و در آن گاز تولید کنند و باعث ترش شدن و بدطعم شدن آن و در نتیجه کاهش مدت زمان ماندگاری آن شوند، در حالی‌که کپک‌ها به ندرت دوغ را آلوده می‌کنند. بنابراین امروزه به‌منظور جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد در دوغ و افزایش مدت زمان ماندگاری آن از انواع نگهدارنده‌های شیمیایی مانند ناتامایسین، بنزوات‌سدیم و سوربات‌پتاسیم به‌جای نگهدارنده‌های طبیعی استفاده می‌کنند [۳]. این ترکیبات با وجودی‌که از رشد باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها جلوگیری می‌کنند می‌تواند باعث ایجاد خطرات جدی از جمله: بروز آسم، آلرژی، آسیب عصبی و سرطان شوند [٤]. از این رو گرایش به‌سمت استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی اهمیت روز افزونی پیدا کرده است. نگهدارنده‌های طبیعی به‌دلیل خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و اثرات سلامتی‌بخش در ارتقا سلامت انسان نقش به‌سزایی دارند [۵]. از بین نگهدارنده‌های طبیعی، اسانس‌های گیاهی یکی از مهم‌ترین انواع آن‌ها می‌باشند که ضمن اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در سلامت انسان نیز ایفا می‌کنند. علاوه بر این، اسانس‌های گیاهی در صنایع دارویی، آرایشی‌بهداشتی کاربرد وسیعی دارند و در صنایع غذایی نیز به‌عنوان طعم‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرند [٦]. کشور ایران به‌دلیل داشتن شرایط اقلیمی خاص یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی به‌شمار می‌رود. بنه یکی از انواع این گیاهان دارویی می‌باشد. جنس پسته[1] جز خانواده آناکاردیاسه[2] طبقه‌بندی می‌شود که شامل ۱۱ گونه می‌باشد و سه گونه آن از قبیل پسته خوراکی، خنجوک و بنه در ایران رویش دارند. بنه با نام علمی *Pistacia atlantica* از جمله گونه‌های وحشی پسته می‌باشد که انتشار آن از جزایر قناری و کشورهای ساحل مدیترانه آغاز شد و تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران، افغانستان و پاکستان گسترش یافته است و در ایران در حد فاصل استان‌های فارس و کردستان به‌صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به‌صورت پراکنده دیده می‌شود [۷]. اندام‌های مختلف بنه نظیر میوه و برگ آن حاوی اسانس می‌باشند، هم‌چنین از میوه‌های آن نیز به‌عنوان ادویه در دوغ و سایر مواد غذایی استفاده می‌شود [۸]. تحقیقات صورت گرفته بیانگر این است که ترکیبات موجود در الئورزین بنه دارای فعالیت ضد *هلیکوباکتر پیلوری*[3] می‌باشد و در درمان زخم معده نقش دارد [۹]. الئورزین بنه درطیف گسترده‌ای در صنایع داروسازی، آدامس‌سازی و صنعتی کاربرد دارد [۱۰]. از اسانس الئورزین آن در تهیه لوازم آرایشی و عطر و به‌عنوان طعم‌دهنده درآماده‌سازی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۱]. با توجه به این‌که در کشور ما تاکنون اثر ضدمیکروبی اسانس بنه بر ماندگاری دوغ ایرانی صورت نگرفته است بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی خاصیت ضدمیکروبی این اسانس در شرایط آزمایشگاهی و امکان استفاده از اسانس این گیاه به‌عنوان نگهدارنده دوغ می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- روش تهیه اسانس بنه

اسانس مورد مطالعه در این پژوهش از الئورزین (سقز) درخت بنه (*Pistacia atlantica* subsp. Kurdica) در استان کردستان به‌دست آمد. برای این منظور ابتدا تنه درختان زخمی و سپس الئورزین تراوش یافته از محل زخم جمع‌آوری شد. اسانس‌گیری

1. *Pistacia*
2. Anacardiaceae
3. *Helicobacter Pylori*

از الئورزین نیز با روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. بعد از اسانس‌گیری، اسانس حاصله توسط سولفات سدیم آبگیری، و تا زمان آزمایش میکروبی اسانس حاصله در ظروف شیشه‌ای و در یخچال نگهداری شد [۱۲].

۲-۲- روند کلی پژوهش

به‌منظور بررسی خاصیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین بنه از روش دیسک کاغذی (تعیین قطر هاله عدم رشد) استفاده شد و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) در برابر باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) و باکتری گرم منفی (*اشریشیاکلی*) و مخمر *کلویورومایسس مارکسیانوس* و کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور MIC و MBC اسانس مورد استفاده را به‌دست آورده و بر مبنای غلظت به‌دست آمده از تعیین MIC و MBC، اسانس‌های مذکور در دوغ مورد استفاده قرار گرفت. سپس نمونه-های دوغ به‌مقدار 10^8 CFU mL^{-1} از هر یک از باکتری‌های مورد مطالعه و اسانس تلقیح شد. بدین ترتیب مجموع آزمایشات میکروبی در دوره ماندگاری در دو دمای یخچال (٤ درجه سلسیوس) و دمای محیط (۲۵ درجه سلسیوس) به‌مدت ۲۸ روز در روزهای صفر -۷ -۱٤ -۲۱ -۲۸ مورد بررسی قرار گرفت و کیفیت دوغ حاوی اسانس الئورزین بنه بررسی شد. [۱۳،۱٤].

۲-۳- آزمون‌ها

۲-۳-۱- تعیین ترکیبات اسانس توسط کروماتوگرافی GC/MS

جهت شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف HP 6890 متصل به طیف‌سنج جرمی HP MSD 5973 استفاده شد.

گاز کروماتوگراف مجهز به ستون TRB5-MS با قطر داخلی ۲۵۰ و ضخامت ۰/۲۵ میکرولیتر و طول ۳۰ متر، گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و حجم تزریق نمونه ۱ میکرولیتر بود [۱۵].

۲-۳-۲- تعیین خاصیت ضدمیکروبی استانداردسازی جمعیت میکروبی

ابتدا سویه‌های میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431)، *اشرشیاکلی* (PTCC 1338)، *کلویورومایسس مارکسیانوس* (PTCC 5195) و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* (PTCC5074) به‌صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید و سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه شد [۱٦].

۲-۳-۲-۱- تعیین قطر هاله عدم رشد به‌روش انتشار دیسک کاغذی

در روش انتشار دیسک کاغذی از کشت ۲٤ ساعته در محیط کشت مولر هینتون برای باکتری و محیط کشت PDA[1] برای کپک و مخمر سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه گردید و بر سطح محیط کشت، کشت یکنواختی صورت گرفت. سپس دیسک بلانک آغشته به ۲۰ میکرولیتر اسانس خالص در مرکز آن قرار داده و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای باکتری‌ها و دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۳ روز برای مخمر و کپک گرمخانه‌گذاری شدند. پس از این مدت با اندازه‌گیری هاله عدم رشد میزان حساسیت یا مقاومت باکتری و کپک و مخمر مشخص شد [۱۷].

۲-۳-۲-۲- سنجش میزان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)[2]

با استفاده از روش رقت‌سازی حداقل غلظت بازدارندگی اسانس الئورزین بنه تعیین گردید. بدین منظور برای هر عصاره از مجموعه ۹ تایی لوله‌های آزمایش حاوی سوسپانسیون میکروبی 10^8 CFU mL^{-1} و غلظت‌های متوالی تهیه شد. پس از گرمخانه-گذاری، لوله‌ها از نظر کدورت رشد میکروبی بررسی شد. اولین لوله با کم‌ترین غلظت اسانس که در آن رشد میکروب مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد تعیین شد [۱۸].

1. Potato Dextrose Agar (PDA)
2. Minimum Inhibitory Concentration

۲-۳-۲-۳- سنجش میزان حداقل غلظت کشندگی (MBC)[1]

حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس‌ها با توجه به نتایج MIC تعیین شد. میزان ۱۰ میکرولیتر از رقت‌هایی که رشد باکتری در آن‌ها کاملاً متوقف شده بود، به پلیت‌های حاوی محیط کشت منتقل شد و پس از گرمخانه‌گذاری پلیت از نظر تعداد کلنی بررسی شد. در نهایت غلظت‌هایی که فاقد رشد میکروب بودند، به‌عنوان MBC گزارش شدند [۱۹].

۲-٤- تولید نمونه‌های دوغ حاوی اسانس الئورزین بنه

ابتدا نمونه‌های دوغ بدون اضافه کردن هر گونه طعم‌دهنده و نگهدارنده از کارخانه واقع در استان کردستان تهیه شد، سپس مقدار ۵/۳۸ درصد اسانس و ۸/٦ درصد استاندارد نیم مک فارلند همراه با دوغ به حجم ۳۰ میلی‌لیتر رسانیده شد و بار میکروبی دوغ در دو دمای یخچال و دمای محیط (۲۵ درجه سلسیوس) طی مدت زمان ۲۸ روز در زمان‌های (صفر-۷-۱٤-۲۱-۲۸) مورد بررسی قرار گرفت [۲۰].

۲-٤-۱- آزمون‌های میکروبی

آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۸۹۲۳ انجام گرفت [۲۱]. شمارش میکروبی در نمونه‌های دوغ در روزهای صفر-۷-۱٤-۲۱-۲۸ انجام شد. برای کپک و مخمر از محیط کشت YGC استفاده شد و بعد از گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، بعد از سه تا پنج روز شمارش کلنی‌ها صورت گرفت. برای شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* نمونه‌ها در محیط کشت مانیتول سالت آگار کشت شدند و بعد از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، پس از ۲٤ تا ٤۸ ساعت کلنی‌ها شمارش شدند [۲۲، ۲۳]. برای شمارش *اشرشیاکلی* نیز از محیط کشت VRBA agar و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۲٤ ساعت استفاده شد [۲٤].

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش هاله عدم رشد در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار در سه تکرار طراحی گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از جداول تجزیه و تحلیل آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) به کمک نرم‌افزار آماری SPSS22 صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات اسانس

نتایج حاصل از آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی جرمی (GC-MS) در جدول (۱) ارائه شده است.

همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد آلفاپنین به‌عنوان جز اصلی (۹۱/٤۷ درصد) و بتاپینن (۲/٤۷ درصد) نیز به‌عنوان ترکیب غالب، بیش‌ترین درصد ترکیبات اسانس بنه را تشکیل می‌دهند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که آلفاپنین ترکیب اصلی و یک ترکیب ضدمیکروبی بسیار مهم در اسانس برگ گونه‌های جنس پسته می‌باشد. هم‌چنین در سایر پژوهش‌ها رحیمی و همکاران (۲۰۱٦) آلفاپینن (۸۹/۲٤ درصد-۹۲ درصد) را به‌عنوان ترکیب اصلی و بتاپینن (۱/٦۲ درصد- ٦/۸٦ درصد) را به‌عنوان دیگر ترکیب غالب در اسانس الئورزین پایه‌های نر و ماده بنه زیر گونه کردیکا گزارش نمودند که با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد [۲۵].

در تحقیق دیگر، برازنده و همکاران (۱۳۷۹) ترکیبات اسانس پوست میوه را با کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) و کروماتوگرافی گازی (GC) شناسایی و تعیین مقدار نمودند و ترکیبات آلفاپینن (۷۳/٦۰ درصد)، بتاپینن (۵/۳۰ درصد)، میرسن (۳/۲٦ درصد) و کامفن (۲/۳۰ درصد) را به‌عنوان ترکیبات غالب گزارش نمودند [۲٦].

1. Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Table 1 Chemical composition of the oleoresin essential oil of *Pistacia atlantic*a subsp. Kurdica by GC-MS

Substances	Retention time (minutes)	Percent
Tricyclene	8.31	0.14
Alpha Pinene	**9.06**	**91.47**
Camphene	9.41	0.94
Verbena	9.63	0.11
Sabinene	10.41	0.42
Beta Pinene	10.50	2.47
Beta Myrcene	11.16	0.48
Delta 3-Caren	11.80	0.36
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	12.33	0.24
1-limonene	12.49	0.60
1,8-Cineoe	12.57	0.21
Alpha Terpinolene	14.63	0.42
Alpha-Pinene Oxide	14.91	0.18
Unknown	15.19	0.24
Alpha-Campholene Aldehyde	15.85	0.10
Trans-Pinocarveol	16.26	0.13
Unknown	16.48	0.47
Pinocarvone	17.02	0.08
Benzenemethanol,4-(1-methylethyl)	17.76	0.23
Alpha Terpineol	17.94	0.06
Bicycle[3.1.1]hept-2-ene-caboxal	18.08	0.01
Bicycle[3.1.1]hept-3-en-2-one	18.47	0.29
Bicycle[2.2.1]heptan-2-ol	20.79	0.12
Unknown	21.13	0.05
Unknown	24.20	0.12

۳-۲- نتایج تعیین خاصیت ضدمیکروبی

۳-۲-۱- نتایج هاله عدم رشد

نتیجه حاصل از جدول (۲) حاکی از آن است که بین میکروارگانیسم‌های مختلف تیمار شده با اسانس الئورزین بنه، از لحاظ قطر هاله عدم رشد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد.

Table 2 Variance analysis of reaction of different microorganisms than oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica in terms of the inhibition zone diameter (mm)

variation source	release option	Inhibition zone
Treatment	3	1694.70**
Error	8	1.09
Total	11	1695.83
Variation factor (CV %)		1.40

** (P<0.01)

شکل (۱) مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس بنه علیه میکروارگانیسم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *کلویورومایسس مارکسیانوس* و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* نشان می‌دهد که تفاوت چشمگیری در بین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مختلف نسبت به‌یکدیگر وجود دارد. بیش‌ترین و کم‌ترین قطر هاله عدم رشد به‌ترتیب مربوط به مخمر *کلویورومایسس مارکسیانوس* و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. ترتیب

حساسیت میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه به اسانس الئورزین بنه به‌ترتیب زیر است.

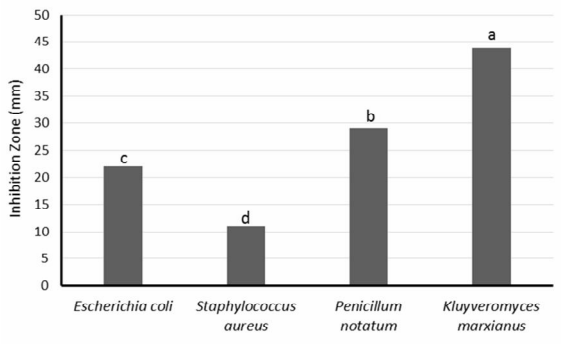

Fig1 The means of inhibition zone diameter of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica against different microorganisms' growth Means with different letters are significantly different by Duncan's test ($P< 0.05$)

استافیلوکوکوس اورئوس<اشرشیاکلی < پنی‌سیلیوم نوتاتوم < کلویوروماییسس مارکسیانوس

بنابراین می‌توان دریافت که اسانس الئورزین بنه از بیش‌ترین اثر ضدمیکروبی در برابر مخمر برخوردار است و بعد از آن به‌ترتیب کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* و باکتری *اشرشیاکلی* قرار داشتند.

بررسی نتایج هاله عدم رشد در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و مقایسه آن با تحقیقات Ayepola و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان می‌دهد که خاصیت ضدباکتریایی اسانس الئورزین *P.atlantica* تقریباً دو برابر خاصیت ضدباکتریایی اسانس برگ اکالیپتوس می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که ترکیبات فنلی و ترکیبات فرار اسانس از جمله ترکیبات مؤثر در خاصیت ضدباکتریایی می‌باشند که بر علیه محدوده بسیار وسیعی از میکروارگانیسم‌ها مؤثر می‌باشند [۲۷].

۳-۲-۲- نتایج حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

جدول (۳) حاکی از آن است که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و (MBC) با توجه به نوع میکروارگانیسم‌های تیمار شده، اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P<0.01$).

Table 3 The Means of minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimum Bactericidal concentration (MBC) of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica against different microorganisms

Microorganisms	MIC (µl/ml)	MBC (µl/ml)
Kluyveromyces marxianus	15.60 ^{c}	31.25 ^{b}
Penicillum natatum	31.25 ^{b}	31.25 ^{b}
Staphylococcus aureus	62.50 ^{a}	62.50 ^{a}
Escherichia coli	62.50 ^{a}	62.50 ^{a}

Means with different letters are significantly different by Duncan's test ($P<0.05$)

براساس نتایج به‌دست آمده کمترین مقدار MIC اسانس الئورزین بنه علیه مخمر *کلایوروماییسس مارکسیانوس* (۱۵/۶۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) و متعاقباً علیه کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* (۳۱/۲۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر) به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار MIC (۶۲/۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) نیز علیه *باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی* به‌دست آمد که تفاوتی از این لحاظ بین اثر اسانس بر دو باکتری وجود نداشت (جدول ۳). بنابراین مخمر *کلایوروماییسس مارکسیانوس* مقاومت کمتری نسبت به اسانس الئورزین بنه داشته و با غلظت کمتری از اسانس مورد استفاده آن رشد آن مهار شد. هم‌چنین نتایج به‌دست آمده از MBC نشان داد که بیش‌ترین مقدار MBC اسانس الئورزین بنه علیه *استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی* (۶۲/۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) و کم‌ترین مقدار (۳۱/۲۵ میکرولیتر) نیز علیه مخمر *کلایوروماییسس مارکسیانوس* و کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* به‌دست آمد که بیانگر حساسیت بیشتر مخمر *کلایوروماییسس مارکسیانوس* و کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* در مقایسه با باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. گالم و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس پسته گونه ورا[1] بر سه باکتری (*اشریشیاکلی*[2]، *استافیلوکوکوس اورئوس*[3] و *پروتئوس*[4]) با استفاده از سه روش (انتشار دیسک کاغذی، MIC، MBC) به این نتیجه

1. *Pistacia vera L.*
2. *Escherichia coli*
3. *Staphylococcus aureus*
4. *Proteus* sp.

رسیدند که اسانس الئورزین بنه دارای فعالیت ضدمیکروبی در برابر باکتری‌های گرم منفی (*اشریشاکلی*، *پروتئوس*) و هم‌چنین باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) دارد. بنابراین این اسانس عامل مهار هر دو باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شناخته شد که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز مطابقت دارد و مقاوم‌ترین باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش شد [۲۸]. در هر حال نتایج محققان حاکی از این است که در ترکیبات پوسته خارجی پسته، ماده‌ای با پتانسیل ضدمیکروبی وجود دارد. طبق گزارشات منتشر شده گروهی از گیاهان، دارای قدرت سنتز ترکیبات آروماتیک می‌باشند و برخی از این ترکیبات مشتقات فنلی می‌باشد. فلاوونوئیدها از مهم‌ترین زیرشاخه‌های ترکیبات فنلی به‌شمار می‌آیند که در گیاهان به‌منظور مقابله با عفونت‌های میکروبی ساخته می‌شوند. تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر، مبین خاصیت مهارکنندگی فلاوونوئیدها بر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. این خاصیت می‌تواند به‌علت اتصال به پروتئین‌های خارج سلولی، اتصال به دیواره سلولی باکتری‌ها یا به علت متلاشی کردن غشای باکتری‌ها باشد [۲۹]. در تحقیق دیگری روما و همکاران (۲۰۰۹) اثر ضدمیکروبی عصاره آلوئه‌ورا و بنه را با سه روش مورد بررسی قرار دادند که نتایج حاصل از حداقل غلظت کشندگی (MBC) نشان داد که عصاره برگ بنه دارای فعالیت ضدمیکروبی بالایی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد که این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت داشت. خاصیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین بنه را می‌توان به آلفاپینن که یک ترکیب اصلی و ضدمیکروبی بسیار مهم در اسانس برگ جنس پسته می‌باشد نسبت داد [۳۰].

۳-۳- ارزیابی جمعیت میکروبی و مدت زمان ماندگاری

شکل (۲) تغییرات لگاریتم جمعیت میکروبی *کلایوروماییسس مارکسیانوس* در نمونه‌های حاوی اسانس و بدون اسانس را در دو دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس نسبت به زمان را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از آن است که نمونه‌های تیمار شده در دمای ٤ درجه سلسیوس نسبت به دمای ۲۵ درجه سلسیوس کاهش بیشتری داشته‌اند. در نمونه‌های حاوی اسانس در هفته نخست ۳ سیکل لگاریتمی کاهش اولیه جمعیت میکروبی مشاهده می‌شود و در نمونه‌های بدون اسانس تا هفته نخست ۱ سیکل لگاریتمی جمعیت میکروبی کاهش پیدا کرده است و این کاهش در مورد تیمارهای حاوی اسانس بسیار شدیدتر است و داده‌های حاصل از نمونه‌های حاوی اسانس کاهش بیشتر بار میکروبی را نشان می‌دهند.

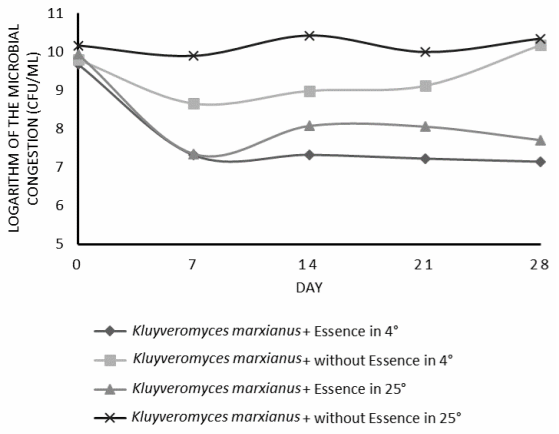

Fig 2 The effect of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica on microbial counts (log 10 cfu/mL) of *Kluyveromyces marxianus* in Iranian dough during storage at 4 °C and 25 °C.

شکل (۳) بار میکروبی *اشرشیاکلی* را در نمونه‌های حاوی اسانس و بدون اسانس در دو دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس نشان می‌دهد.

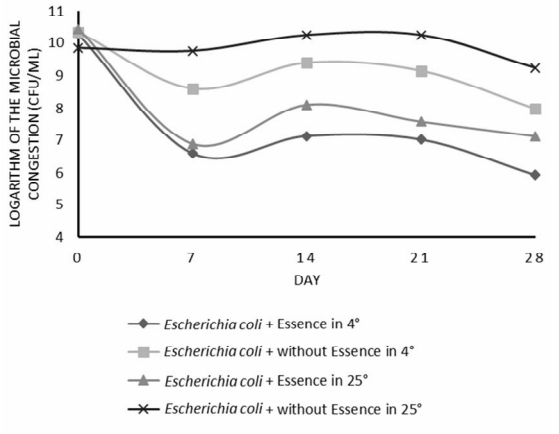

Fig 3 The effect of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica on microbial counts (log 10 cfu/mL) of *Escherichia coli* in Iranian dough during storage at 4 °C and 25 °C.

شکل (۳) مقایسه داده‌های مربوط به تیمارهای حاوی *اشرشیاکلی* نگهداری شده در دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس حاوی اسانس و

بدون اسانس می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت در تمام نمونه‌ها در هفته‌ی نخست جمعیت میکروبی *اشرشیاکلی* کاهش می‌یابد و این کاهش در مورد تیمارهای حاوی اسانس شدیدتر است. همانند نمونه‌های مخمر، در مورد نمونه‌های تیمار شده حاوی اسانس از روز هفتم جمعیت میکروبی افزایش می‌یابد و پس از آن تا پایان هفته چهارم کاهش تدریجی بار میکروبی مشهود است. گرچه در همه‌ی نمونه‌ها کاهش بار میکروبی مشاهده شد ولی اختلاف بین بار میکروبی روز نخست و روز ۲۸ در نمونه‌های تیمار شده حاوی اسانس بسیار شدیدتر و حدود ۳ سیکل لگاریتمی برای تیمار نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ٤ سیکل لگاریتمی برای تیمار نگهداری شده در دمای ٤ درجه سلسیوس می‌باشد. نرخ تغییرات جمعیت میکروبی بین نمونه‌های حاوی اسانس و بدون اسانس در هر دو دما به طور نسبی یکسان است ولی نمونه‌های حاوی اسانس دارای بار میکروبی کمتری هستند.

شکل (٤) تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمارهای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس حاوی اسانس و بدون اسانس را نشان می‌دهد.

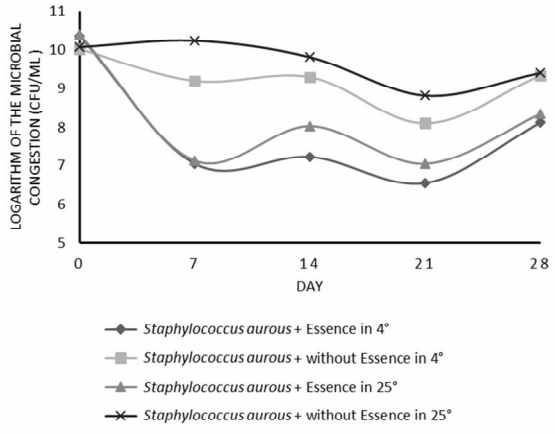

Fig 4 The effect of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica on microbial counts (log 10 cfu/mL) of *Staphylococcus aurous* in Iranian dough during storage at 4 °C and 25 °C.

شکل (٤) مقایسه داده‌های مربوط به تیمارهای حاوی *استافیلوکوکوس اورئوس* نگهداری شده در دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس حاوی اسانس و بدون اسانس می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت گرچه در تمام نمونه‌ها بار میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* روز نخست و ۲۸ اختلاف داشته و در نهایت بار میکروبی کاهش یافته است ولی تغییرات یکنواخت نبوده و به‌صورت سیکل‌های هفتگی کاهشی ـ افزایش در تمام تیمارها قابل مشاهده است. کاهش اولیه جمعیت میکروبی در تیمارهای حاوی اسانس به اندازه ٤ سیکل لگاریتمی کاهش یافته است اما این کاهش در مورد تیمار بدون اسانس به‌اندازه ۱ سیکل لگاریتمی می‌باشد و اختلافی بین بار میکروبی نگهداری شده در دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس در روز آخر مشاهده نمی‌شود. نتیجه این‌که تفاوت دمای ٤ یا ۲۵ درجه سلسیوس تاثیر (معنی‌داری) در تغییر بار میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* نداشته ولی حضور یا عدم حضور اسانس بسیار موثر است. شکل (۵) تغییرات جمعیت *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* در تیمارهای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس حاوی اسانس و بدون اسانس را نشان می‌دهد.

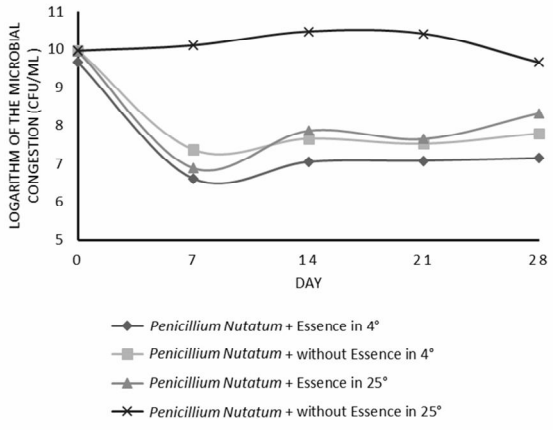

Fig 5 The effect of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica on microbial counts (log 10 cfu/mL) of *Penicillium Nutatum* in Iranian dough during storage at 4 °C and 25 °C.

شکل (۵) مقایسه داده‌های مربوط به تیمارهای حاوی کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* نگهداری شده در دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس حاوی اسانس و بدون اسانس می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت در تیمار نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بدون اسانس نه تنها بار میکروبی کاهش نیافت، بلکه در هفته‌ی سوم میزانی رشد هم مشاهده شد که البته مجدداً کاهش می‌یابد. ولی در سایر تیمارها نرخ تغییرات تقریباً مشابه یکدیگر است گرچه تیمار

نگهداری شده در دمای ٤ درجه سلسیوس حاوی اسانس بیش-ترین کاهش بار میکروبی به اندازه تقریباً ٤ سیکل لگاریتمی را نشان داد و در مورد تیمار ٤ درجه سلسیوس بدون اسانس این کاهش اولیه جمعیت میکروبی در هفته اول تقریباً ۲/۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. این در حالی است که برای تیمار ۲۵ درجه سلسیوس حاوی اسانس به‌اندازه ۳ سیکل لگاریتمی کاهش اولیه جمعیت میکروبی مشاهده شد. ولی تفاوت زیادی بین تیمارهای نگهداری شده در دمای ٤ و ۲۵ درجه سلسیوس حاوی اسانس مشاهده نمی‌شود. بنابراین در مورد کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها کاهش بار میکروبی مشهودتر می‌باشد.

بنابراین به‌دلیل دارا بودن خاصیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین بنه می‌توان از آن به‌عنوان نگهدارنده در کاهش یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد در فرآورده‌های مواد غذایی از جمله دوغ استفاده کرد که مطالعه حاضر گویای کاهش جمعیت میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *کلایبورومایسس مارکسیانوس* و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* در دوغ و افزایش زمان ماندگاری این نوشیدنی به‌واسطه افزودن اسانس الئورزین بنه می-باشد. طباطبائی یزدی و همکاران در سال ۱۳۹۱ به بررسی و مقایسه اثر ترکیبات بازدارنده طبیعی در جلوگیری از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های دوغ صنعتی پرداختند. در این تحقیق اثرات ضدمیکروبی عصاره و پودر گیاهان تیره نعناع (آویشن، نعناع وکاکوتی) در جلوگیری از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های دوغ صنعتی بررسی شد. پس از بررسی نتایج نشان داد که پودر گیاهان تیره نعناع به‌میزان بیش‌تری از عصاره گیاهان تیره نعناع بر کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* تاثیر دارد که این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت داشت به صورتی که کاربرد اسانس موجب کاهش معنی-دار بار میکروبی دوغ شد. به‌دلیل خاصیت ضدمیکروبی گیاهان معطر و وجود ترکیبات فنلی در آن‌ها سنتز اسید نوکلئیک و ATPas و انتقال الکترونی غشاء سلولی، دچار اختلال می‌شود. بنابراین می‌توان گفت کاهش جمعیت میکروبی نسبت به نمونه‌ی شاهد به‌دلیل ترکیبات اتانولی و متانولی موجود در گیاهان معطر است [۳۱].

٤- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل گویای فعالیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین بنه در مقابل باکتری‌ها و قارچ‌های مورد بررسی بود به‌طوری که موجب بازدارندگی و کشندگی این میکروارگانیسم‌ها گردید. اما نتایج خاصیت ضدمیکروبی در دوغ نشان داد که از بین میکروارگانیسم-ها *اشرشیاکلی* و کپک *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* در دوغ بیشتر مهار شدند که مهار رشد در محیط دوغ به‌واسطه شرایط محیطی است. بنابراین با استفاده از غلظت مناسب و صحیح اسانس می‌توان جمعیت میکروبی آن را کاهش و مدت زمان ماندگاری آن را افزایش داد. از سوی دیگر با توجه به اثرات ضدمیکروبی اسانس بنه، می‌توان از این اسانس به‌عنوان نگهدارنده طبیعی و یک ماده محافظت‌کننده در صنایع غذایی به‌ویژه در فرآورده‌های غذایی از جمله دوغ استفاده نمود.

٥- منابع

[1] Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E., Robinson, R.K. 1995. Microbiological and technological aspects of milks fermented with *bifidobacteria*, Journal of Dairy Research, Vol. 62, No. 1, P. 151-187.

[2] Foroughinaia, S., Abbasi, S., Hamidi Esfahani, Z. 2007. Effect of Individual and Combined Addition of Salep, Tragacantin and Guar Gums on the Stabilisation of Iranian Dough, Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, Vol. 2, No. 2, P. 15-25.

[3] Vesal, H., Mortazavian, A., Mohammadi, A., Esmaeili, S. 2013. Potassium sorbate and sodium benzoate levels in dough samples consumed by the Tehran market measured using high performance liquid chromatography, Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, Vol. 8, No. 2, P. 181-190.

[4] Anand, S.P., Sati, N. 2013. Artificial preservatives and their harmful effect: looking toward Nature for safer alternatives, Pharmaceutical sciences and Research, Vol. 4, No. 7, P. 2496-2501.

[5] Karimi Poor fard, M., Mirzaei, A., Kargar, M., Khosravani, S., Mohamadi, R. 2012. Antibacterial Activities of Thymus Denaensis,

Jaft and Hydro-Alcoholic Extract of Green hull Pistacia Atlantica on *Listeria Monocytogenes*. Armaghane danesh, Vol. 17, No. 1, P. 68-77.

[6] Wyerstahl, P., Rrstaiyan, A. 1994. Flavor and Fragrance, Journal of Applied Bacteriology, Vol. 9, P. 12-407.

[7] Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia Lentiscus and Pistacia Atlantica extracts, African Journal of Pharmacy and Pharmacology, Vol. 2, No. 2, P. 022-028.

[8] Azizian, M., etall. 2013. Antibacterial effect of hydro-extract of pistacia atlantica on bacteria in vitro. Biomedical & pharmacology, Vol. 6, No. 2, P. 133-13.

[9] Sharifi, M.S., Ebrahimi, D., Hibbert, D.B., Hook, J., Hazell, S.L. 2012. Bio-Activity of Natural Polymers from the Genus Pistacia: A Validated Model for Their Antimicrobial Action, Glob, Journal of Health Science, Vol. 4, P. 149-161.

[10] Al-Said, M.S., Ageel, A.M., Parmar, N.S., Tariq, M. 1986. Evaluation of mastic, a crude drug obtained from Pistacia alentiscus for gastric and duodenal anti-ulcer activity, Journal of Ethnopharmacology, Vol. 15, No. 3, P. 271-278.

[11] Fayyaz, P., Etemadi, E., Julaiee-Manesh, N., Zolfaghari, R. 2013. Sodium and potassium allocation under drought stress in Atlas mastic tree (Pistacia atlantica subsp. mutica), iForest, Vol. 6, P. 90-94.

[12] Daryaei, M.G., Hoseiny, S.K., Taheri, K., Mirzaei, J., Mzbani, A. 2012. Effect of morphological variables of Pistacia atlantica on gum and seed production, Environment of Iran. 25, P. 303-315

[13] Dough – Specifications and test method 2008, Institute of Standards and Industrial Research of IRAN, No. 2453. 4691.

[14] The general principles of sensory evaluation of milk and its products, 1999, Standards and Industrial Research Institute of Iran, No. 4691

[15] Adams, R.P. 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Allured Puld. Crop. Carol Stream, IIUSA, P. 89-675.

[16] Ghasemi Pirbalouti, A., Roshan Chaleshtori, A., Tajbakhsh, E., Momtaz, H., Rahimi, E., Shahin, F. 2009. Bioactivity of medicinal plants extracts against *Listeria monocytogenes* isolated from food, Journal of Food, Agriculture & Environment, Vol. 7, No. 1, P. 132-135.

[17] Koutsoudaki, C., Kresk, M., Rodger, A. 2005. Chemical composition and Antibacterial Activity of the Essential oil and the Gam of Pestaica Lentisc var.chia, Agricultural and food chemistry, Vol. 53, P. 7681-7685.

[18] Nahaie, M.R., Jalali, A. 1987. Medical Laboratory Microbiology Procedures, printed by zoghi publishers, P. 208-210.

[19] Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations, Food Chemistry, Vol. 100, P. 553-559.

[20] Taheri, P., Ehsani, M., Khosravi-Darani, K. 2009. Effects of *Lactobacillus acidophilus* La-5 on microbiological characteristics, sensory attributes and phase separation of Iranian Dough drink during refrigerated storage. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, Vol. 4, No. 3, P. 15-24

[21] Microbiology of food and animal feeding - Preparation of test substance - Primary suspensions and decimal forages for microbiological tests - Part 1 - General provisions for preparation of initial suspensions and decimal dilutions, 2007, Institute of Standards and Industrial Research of IRAN, No. 8923-1.

[22] Microbiology of food and animal feeding - Comprehensive method for counting molds and yeasts - Part I: Colony counting in products with aqueous activity greater than 95/0, 2008, Institute of Standards and Industrial Research, No. 10899-1.

[23] Microbiology of food and animal feeding - Comprehensive method for counting coagulase positive *staphylococci* (*Staphlicoccus aureus* and other species) - Part 3: Search, identification and counting in the most probable number (MPN) for a small number of microorganisms, 2006, Institute of Standards and Industrial Research of Iran, No. 3-6806.

[24] Milk and its products - *Escherichia coli* count - Maximum probable number (MPN)

method, 2000, Institute of Standards and Industrial Research of Iran No. 5234.
[25] Rahimi A.R., Hadian, J., Azizi, M., Abdosi, V., Larijani, K. 2016. Quantity and quality of essential oil of *Pistacia atlantica* Subsp. Kurdica in response to gradual harvest of oleoresin, Journal of Essential Oil Bearing Plants. Vol. 9, No. (3), P. 616-623.
[26] Barazandeh, m.M., Dehghani, Y., Rezaei, M.B., jaymand, K. 1996. Investigation of Chemical Composition of Essential Oil of Pineapple Peel, Journal of Research and Development, Vol. 2, P. 44-46.
[27] Ayepola, O.O., Adeniyi, B.A. 2010. The antibacterial activity of leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis (Myrtaceae), Journal of Applied Sciences Research, Vol. 6, P. 1-4.
[28] Ghalem, B.R., Mohamed, B. 2009. Antimicrobial Activity evaluation of the oleoresin oil of Pestaica Veral, pharmacy and pharmacology, Vol. 3, No. 3, P. 092-096.
[29] Tsuchiya, H., etall. 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistan *Staphylococcus aureus*, Journal of Ethnopharmacology, Vol. 50, No. 1, P. 27-34.
[30] Rhouma, A.H.B., [et al.]. 2009. Antimicrobial activity of leaf extracts of Pistacia and Schinus species against some plant pathogenic fungi and bacteria, Journal of Plant Pathology, Vol. 91, No. 2, P. 339-345.
[31] Tabatabaie yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Mortazavi, S.A. 2016. Investigation Effects of Lamiaceae plants (Thymus vulgaris L., Mentha spp. and Ziziphora tenuir L.) Inhibitory *Staphylococcus aureus* and *Geotrichum candidium* in Razavi Khorasan Province Industrial Dough Samples with Response Surface Method (RSM), Journal of Food Science and Technology, Vol. 13, No. 51, P. 15-28.

Evaluation of antimicrobial activity of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* on *Staphlicoccus aureus*, *Escherichia coli*, *Kluyveromyces matxianus*, *Penicillum natatum* and its impact on Iranian dough shelf life

Ahmadi, S.M. [1], Moslehishad, M. [2*], Rahimi, A. [3]

1. MSc Student, Nutrition and Food Sciences Research Center, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Safadasht Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of agriculture, Islamic Azad

(Received: 2017/12/22 Accepted: 2018/07/01)

Spoilage of food products such as dough may occur due to a variety of microorganisms. The aim of this study is to determine of antimicrobial activity of oleoresins essential oil of *Pistacia altantica* subsp. Kurdica on *Staphylococcus aurous* PTCC1431, *E.coli* PTCC1338, *Kluyveromyces marxianus* PTCC5195, *Penicillum notatum* PTCC5074 and this effect on the shelf-life of dough. Antimicrobial activity of oleoresins essential oil of *Pistacia altantica* subsp. Kurdica had been determined by paper disk diffusion method (to determine inhibition zone), Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and also by Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Dough samples were incubated by microorganisms (10^7 CUF/mL) and essential oil, and then the microbial studies were evaluated at 4 °C and 25 °C during 28 days of storage. The results showed that the highest (43.78 mm) and the lowest diameter of Inhibition zone (22 mm) respectively, were obtained by *Kluyveromyces matxianus* and *Staphlicoccus aureus*. The results for MIC and MBC showed that *Kluyveromyces marxianus* (MIC= 15.60 µl/ml; MBC= 31.25 µl/ml) and *Penicillum notatum* (MIC and MBC= 31.25 µl/ml) were more sensitive to oleoresins essential oil of *Pestacia atlantica* subsp. Kurdica when compared to the *Staphylococcus aurous* (MIC and MBC= 62.50 µl/ml) and *E. coli* (MIC and MBC= 62.50 µl/ml). Also, the result showed that Microbial population studied were reduced at 4 °C than at 25 °C, as well as in samples treated with essential oil as compared to the control, during the storage period of the dough. Therefore, the temperature of 4 °C, along with the use of oleoresin essential oil of *Pestacia atlantica* it can be used, to improve dough durability.

Keyword: Dough, Antimicrobial Property, Shelf-life, *Pistacia atlantica* subsp. Kurdica

* Corresponding Author E-Mail Address: moslehishad@safaiau.ac.ir