



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس برگ اکالیپتوس و کاربرد آن در تولید دوغ

امیر ایرانشاهی^۱، حسین جوینده^{۲*}، محمد نوشاد^۳، بهروز عزیزاده بهبهانی^۳

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸

کلمات کلیدی:

دوغ،

اسانس اکالیپتوس،

زمان نگهداری،

حداقل غلظت بازدارندگی

DOI: 10.48311/fsct.2025.84057.0.

* مسئول مکاتبات:

hosjooy@asnrukh.ac.ir

استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی، رویکردی سالم و سازگار با محیط زیست است که جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های شیمیایی محسوب می‌شود و به حفظ سلامت مصرف‌کنندگان کمک می‌کند. اکالیپتوس یا گیاه صمغ آبی با نام علمی *Eucalyptus globulus* متعلق به خانواده میرتاسه است. این مطالعه با هدف شناسایی ترکیبات شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی اسانس اکالیپتوس بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. در این پژوهش ترکیبات شیمیایی اسانس اکالیپتوس با دستگاه GC-MS شناسایی شد. سپس تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس (صفر، ۲، ۴ و ۶ میکرولیتر در لیتر) بر برخی باکتری‌های بیماری‌زا و خصوصیات میکروبی نمونه‌های دوغ طی مدت ۴۵ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنالیز GC-MS نشان داد که ۱۸- سینئول (۴۸/۶٪) و آلفا- پینن (۲۳/۸۶٪) بیشترین درصد ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهند. با افزودن ۶ میکرولیتر در لیتر اسانس اکالیپتوس در دوغ، هیچ گونه رشد کپک و مخمر در تمام مدت نگهداری مشاهده نشد و نمونه حاوی ۴ میکرولیتر در لیتر اسانس نیز در پایان مدت نگهداری حاوی تعداد قابل قبول کپک و مخمر بود. همچنین اسانس اکالیپتوس باعث کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها گردید. براساس نتایج این تحقیق، باکتری های گرم منفی نسبت به اسانس گیاهی مقاوم‌تر از باکتری‌های گرم مثبت بودند و *سالمونلا* تیفی در روش دیسک به عنوان مقاوم‌ترین و *باسیلوس* سرئوس به عنوان حساس‌ترین باکتری شناخته شد. نتایج این پژوهش نشان داد اسانس اکالیپتوس دارای فعالیت ضد میکروبی مناسبی در برابر سویه‌های بیماری‌زا می‌باشد. بنابراین، با به‌کارگیری این اسانس در تولید دوغ، علاوه بر افزایش قابلیت نگهداری محصول، می‌توان دوغی با خواص دارویی مناسب تولید نمود. در هر حال به‌منظور کاربرد مطمئن اسانس اکالیپتوس در فرمولاسیون مواد غذایی نظیر دوغ، انجام مطالعات بیشتر ضروری است.

۱- مقدمه

با وجود پیشرفت‌های مدرن در اصول بهداشتی تولید مواد غذایی، امنیت غذایی موضوعی است که به طوری فزاینده اهمیت قابل توجهی یافته است. امروزه روش‌های جدیدی مورد نیاز است تا به کمک آن بتوان پاتوژن‌های منتقله از مواد غذایی را کاهش داد و از ایجاد بیماری‌های گوناگون جلوگیری کرد. اسانس‌ها دارای خواص ضد میکروبی می‌باشند و از سالیان دور این خاصیت به ثبت رسیده است. تا کنون حدود ۳۰۰۰ نوع اسانس شناخته شده است که در این بین ۳۰۰ نوع آن از نظر تجاری دارای اهمیت می‌باشد و عمدتاً این اسانس‌ها به منظور ایجاد طعم و رایحه به کار برده می‌شوند [۱]. بیش از ۲۰۰۰ سال قبل اولین بار اسانس در شرق (مصر، هند و ایران) به روش تقطیر تولید گردید و در مصارف پزشکی استفاده شد [۲]. گیاهانی مانند پسته وحشی، رزماری، چوب سرو کوهی، میخک، جوز، رازیانه، دارچین و اسطوخودوس مورد استفاده قرار گرفتند. علاوه بر موارد پزشکی، در قرن ۱۹ و ۲۰، اسانس‌ها به عنوان عامل ایجاد عطر و طعم به کار برده شدند [۲]. اسانس‌ها با داشتن خاصیت آبگریزی موجب نفوذ در لپید غشایی سلول باکتری شده و منجر به خروج یون‌ها و محتویات سلولی از آن می‌شوند و در نتیجه خروج این مواد از سلول، با ایجاد اختلال در عملکرد سلولی باعث مرگ آن می‌شوند. pH، دمای پایین و میزان کم اکسیژن از مهمترین شرایط فیزیکی هستند که موجب افزایش خاصیت ضد میکروبی اسانس می‌شوند. علاوه بر خاصیت ضد میکروبی، این ترکیبات به عنوان ضد ویروس، ضد قارچ، حشره‌کش، ضد انگل و آنتی‌اکسیدان به کار می‌روند [۳]. تا کنون خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بسیاری از اسانس‌های گیاهی توسط تحقیقات گوناگون ثابت شده است [۴-۶].

دوغ یکی از نوشیدنی‌های سنتی و محبوب است که به دلیل طعم تازه و خواص تغذیه‌ای‌اش، مصرف بالایی دارد.

دوغ یکی از فراورده‌های لبنی تخمیری است که از اختلاط ماست با آب و مقداری نمک تولید می‌شود. این نوشیدنی تخمیری در سطح وسیعی به عنوان یک نوشیدنی محبوب در ایران و سایر کشورهای خاورمیانه به ویژه در طول فصول گرم مصرف می‌گردد [۷]. دوغ دارای قابلیت هضم بالا و ویتامین‌های بیشتری در مقایسه با شیر است. همچنین مصرف دوغ سبب افزایش جذب کلسیم می‌شود [۸]. درهرحال، در صورتی که عملیات بهداشتی دوغ در حین تهیه آن به درستی رعایت نشود، میکروارگانیسم‌های عامل فساد مانند کپک و مخمر در آن زنده مانده و تکثیر می‌یابند که تکثیر این میکروارگانیسم‌ها باعث تغییر طعم، آروما و همچنین باکتریدگی محصول در طول زمان نگهداری خواهد شد. این فساد از معایب عمده دوغ محسوب می‌شود که باعث کاهش بازارپسندی آن نیز می‌گردد [۸-۹]. دوغ طعم‌دار دارای مقبولیت ویژه‌ای بین مصرف کنندگان می‌باشد. در ایران جهت بهتر شدن طعم دوغ از اسانس سبزیجاتی مانند پونه، نعنای کاکوتی استفاده می‌شود [۱۰].

Eucalyptus علمی نام *globulus* از خانواده میرتاسه است. منشأ اصلی این گیاه استرالیا و دارای رشدی سریع می‌باشد. از دیرباز اثرات ضد میکروبی و خواص دیگر آن مورد توجه بوده است. این گیاه منبع غنی از پلی‌فنل‌ها و ترپنوئیدهاست و ترکیب اصلی برگ آن اکالیپتول یا سینئول (۷۰ تا ۸۰ درصد) می‌باشد [۱۱]. مطالعات انجام شده روی عصاره‌های مختلف اکالیپتوس نشان داده است عصاره اکالیپتوس سبب بازداري رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی مثل *سالمونلا تیفی موریوم*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژنز*، *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیا* و همچنین *کاندیدا آلبیکنز* می‌گردد [۱۲]. میکروارگانیسم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *اشریشیا کلی*،

جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی است که ممکن است عوارض جانبی داشته باشند. تحقیق حاضر با هدف بررسی شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس اکالیپتوس و بررسی اثر ضد میکروبی آن توسط روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی انجام پذیرفت. در این پژوهش، اثر ضد میکروبی اسانس بر دو باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*) و دو باکتری گرم منفی (*سالمونلا تیفی* و *اشرشیاکلی*) در شرایط آزمایشگاهی طی دوره نگهداری ۴۵ روزه بررسی گردید. همچنین اثر اسانس بر کیفیت میکروبیولوژی نمونه‌های دوغ (کلی‌فرم، کپک و مخمر و شمارش کلی میکروبی) بررسی گردید.

لیوفیلیزه (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران)، محیط کشت‌های نوترینت آگار، PCA، YGC و VRB (کیولب، آمریکا)، مولر هینتون براث (مرک آلمان)، دی‌متیل سولفوکساید با خلوص ۹۹/۹٪ (سیگما آلدریچ، آلمان)، محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند، دیسک آنتی بیوگرام کلرامفنیکل و دیسک استریل (پادتن، ایران)، سود و سیکلو هگزان (مرک، آلمان) در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند.

آمریکا (Agilent Technologies) انجام شد. برنامه دمایی محفطه تزریق و آشکارسازی به ترتیب ۲۵۰ °C و ۳۰۰ °C بود و از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان گاز حامل به کار گرفته شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف آلکان‌های نرمال (C_8-C_{24}) با ولتاژ یونیزاسیون

سالمونلا پاراتیفی، *کاندیدا آلبیکانس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب حساسترین تا مقاومترین میکروب‌ها در این زمینه‌اند [۱۳].

اثر ضد میکروبی مواد نگهدارنده طبیعی، به‌ویژه اسانس‌های گیاهی، بر باکتری‌های بیماری‌زا در دوغ، یکی از جنبه‌های مهم حفظ کیفیت و ایمنی این نوشیدنی است. اسانس‌ها غالباً به دلیل داشتن ترکیبات ضد میکروبی قوی می‌توانند ساختار سلولی دیواره باکتری‌های بیماری‌زا را تخریب کنند، فعالیت آنزیم‌های حیاتی را مهار کنند و رشد و تکثیر آن‌ها را محدود نمایند [۱۴-۱۷]. بنابراین، بررسی و به‌کارگیری اسانس‌های طبیعی با خاصیت ضد میکروبی می‌تواند راهکار مؤثری در افزایش طول عمر مفید دوغ و تضمین سلامت مصرف‌کننده باشد. همچنین این روش

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد اولیه

اسانس اکالیپتوس از شرکت زریند، سویه‌های باکتریایی *باسیلوس سرئوس* (PTCC1154)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1112) و دو گونه باکتریایی گرم منفی *اشرشیاکلی*^۲ (PTCC1329) و *سالمونلا تیفی*^۳ (PTTC1609) که به‌صورت

۲-۲- شناسایی ترکیبات اسانس

شناسایی ترکیبات سازنده اسانس به کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 6890A حاوی ستون HP-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) و کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 5975C متصل به طیف‌سنج جرمی ساخت کشور

3- *Salmonella typhi*

1- *Bacillus Cereus*

2- *Escherichia coli*

مدل Agilent 6890A مجهز به آشکارساز FID^۴ و با استفاده از سطح زیر منحنی پیک ها محاسبه شد [۱۸ و ۱۹].

استرپتوکوکوس ترموفیلوس اضافه شد. سپس عمل تخمیر در دمای ۴۳ درجه سانتی گراد به مدت تقریبی ۴ ساعت تا رسیدن pH به مقدار ۴/۵ صورت گرفت [۲۰]. جهت تهیه نمونه های دوغ از ۵۰ درصد ماست به همراه ۵۰ درصد آب پاستوریزه شده و ۰/۸۵ درصد نمک استفاده شد. اسانس اکالیپتوس در ۳ سطوح مختلف (۲، ۴ و ۶ میکرولیتر) در فرمولاسیون دوغ و نمونه فاقد اسانس گیاهی به عنوان نمونه شاهد استفاده شدند. نمونه های دوغ در ظروف پلی اتیلن ترفتالات (PET) بطری گذاری و به مدت ۴۵ روز در دمای ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

اختصاصی (VRB به صورت کشت عمقی) در دمای ۳۷°C گرم خانه و کپک و مخمر از محیط کشت (YGC با رقت-های ۱۰^{-۲} و ۱۰^{-۳} به صورت سطحی) در دمای ۲۵°C گرم خانه در سه تکرار کشت شدند. پلیت ها به مدت ۳ روز گرم خانه گذاری شدند. سپس تعداد پرگنه ها به وسیله ی دستگاه پرگنه شمار، تعیین و برحسب Log cfu در هر سی سی نمونه گزارش شدند [۲۱ و ۲۲].

(MIC) و ۴- تعیین حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس اکالیپتوس گلوبولوس استفاده شد [۲۳].

مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد. سپس جهت تهیه استاندارد میکروبی، طبق استاندارد ۰/۵ مک فارلند در طول موج ۶۲۰ نانومتر (با جذب بین ۰/۱۳-۰/۱۸) اقدام شد. در این حالت استاندارد ۰/۵ مک فارلند، کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتریایی ۱/۵×۱۰^۸ سلول در هر میلی لیتر ایجاد می کند [۲۴].

۷۰ الکترون ولت و همچنین درصد ترکیبات موجود در اسانس مورد بررسی با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی

۲-۳- تهیه دوغ حاوی اسانس

شیر مورد استفاده (حاوی ۳/۲ درصد چربی و اسیدیته ۱۴/۵ درجه دورنیک) از ایستگاه دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه گردید و برای تولید ماست به آزمایشگاه گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان منتقل شد. جهت تولید ماست به مدت ده دقیقه در دمای ۹۰±۲ درجه سانتی گراد پاستوریزه و پس از سرد شدن تا دمای ۴۵ درجه سانتی گراد، جهت مایه زنی به میزان ۳ درصد از آغازگر ماست حاوی مخلوط مساوی باکتری های لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و

۲-۴- ارزیابی میکروبی

برای ارزیابی میکروبی ابتدا سوسپانسیون اولیه (۱ میلی لیتر از هر نمونه دوغ به ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک استریل اضافه شد) تهیه شد. از سوسپانسیون اولیه با رقت های مناسب برای شمارش کلی میکروارگانیسم ها بر روی محیط کشت (PCA، کیولب کانادا)، برای شمارش کلی فرم بر روی محیط کشت

۲-۵- بررسی خاصیت ضد میکروبی

در این مطالعه از ۳ روش متنوع ضد میکروبی که شامل ۱- روش انتشار دیسک، ۳- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی

۲-۵-۱- فعال سازی گونه های میکروبی

باکتری های مورد مطالعه شامل باکتریایی گرم مثبت باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و دو گونه باکتریایی گرم منفی اشرشیاکلی و سالموناتیفی بودند. گونه های باکتریایی در محیط کشت نوترینت آگار کشت داده و به

۲-۵-۲- انتشار دیسک

روش انتشار دیسک مطابق با روش علیزاده و همکاران انجام پذیرفت [۲۳]. ابتدا اسانس اکالیپتوس از فیلتر سر سرنگی با قطر منفذ ۰/۲۲ میکروبی عبور داده شد و در ظرف استریل ریخته شد، سپس ۲۰ میکرولیتر از اسانس اکالیپتوس به دیسک‌های بلانک استریل (با قطر ۶ میلی‌متر) اضافه گردید. در ادامه، دیسک‌های آغشته به اسانس اکالیپتوس با دقت بر روی پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک آلمان) و باکتری‌های بیماری‌زا (مطابق با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند) قرار گرفتند. فاصله دیسک‌ها از دیواره پتری‌دیش حداقل ۲۰ میلی‌متر و از یکدیگر حداقل ۲۵ میلی‌متر تعیین گردید. در نهایت، هریک از پتری‌دیش‌ها در دمای بهینه رشد باکتری (۳۷ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند، سپس قطر هاله عدم رشد توسط خط‌کش به‌طور دقیق اندازه‌گیری و ثبت گردید. همچنین از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک آنتی‌بیوتیک ۳۰ میکروگرمی کلرامفنیکل در پلیت‌های جداگانه بر روی کشت‌های میکروبی به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

۲-۵-۳- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

۲-۶- آنالیز آماری

آزمون‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش تجزیه واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، مقایسه

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی ترکیبات اسانس اکالیپتوس

براساس نتایج بدست آمده از تجزیه اسانس اکالیپتوس، ۱۱ ترکیب از اسانس اکالیپتوس استخراج شده که ۹۹/۸۷ درصد اسانس را شامل می‌شود. همانطور که در جدول ۱ مشاهده

برای تعیین غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس از میکروپلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. محلول اصلی اسانس اکالیپتوس با رقت ۱۵۰ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید تهیه و غلظت‌های مختلف اسانس‌ها با رقیق‌سازی محلول‌های اصلی با محیط کشت مولر هیتون برات (مرک آلمان) آماده شدند. باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شدند. جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی 10^6 cfu/ml از رقت ۰/۵ مک‌فارلند استفاده شد. پس از پرکردن چاهک‌ها، میکروپلیت‌ها به مدت یک شبانه‌روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن خانه‌هایی که فاقد کدورت بودند به‌عنوان MIC گزارش شدند [۲۳ و ۲۵].

۲-۵-۴- تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC)

به‌منظور تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) اسانس اکالیپتوس از خانه‌هایی که در آن کدورتی مشاهده نشد ۵ میکرولیتر به محیط کشت جامد (مولر هیتون آگار) منتقل و یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد [۲۳].

میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و سطح احتمال ($p < 0/05$) و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCELL (۲۰۰۳) صورت گرفت.

می‌شود دو ترکیب ۱۸- سیثول ۴۸/۶ درصد و آلفا-پینن ۲۳/۸۶ درصد به‌عنوان ترکیب‌های اصلی شناخته شده و بعد از آن آلفا ترپینئول ۶/۵۵ درصد، ترانس پینوکاروئول ۶/۳۴ درصد و پیناکارون ۴/۵۳ درصد گروه‌های عمده در اسانس اکالیپتوس می‌باشند و کمترین مقدار ترکیب موجود در اسانس اسپاتولنول ۱/۰۲ درصد می‌باشد (جدول ۱). بنابراین براساس

اسانس اکالیپتوس بود. در اسانس اکالیپتوس نیز مانند سایر اسانس‌های گیاهی ترکیبات موجود ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی همانند طول و عرض جغرافیایی، دما، رطوبت، ارتفاع، اقلیم و خاک، مسیرهای متابولیسی و بیوسنتز مواد مؤثره در این گیاهان بوده که در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شود؛ لذا تفاوت در درصد و نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده در نقاط مختلف دنیا قابل توجه می‌باشد [۲۹].

نتایج این تحقیق، سینئول ماده اصلی دهنده اسانس اکالیپتوس می‌باشد که با نتایج سماتی و همکاران [۲۶] مطابقت داشت. انصاری و همکاران [۲۷] نیز گزارش کردند که ۱،۸- سینئول ۵۸/۱ درصد و مقدار آلفا-پینن ۳/۳ درصد به عنوان ترکیب-های اصلی اسانس اکالیپتوس می‌باشد. همچنین محکمی و همکاران [۲۸] بیان کردند که مهمترین ترکیبات اسانس آلفا-پینن (۲۰/۳ درصد) و ۱ و ۸- سینئول (۱۷/۲۱ درصد) می‌باشند که به طور تقریبی مشابه نتایج پژوهش حاضر بود. در تمامی این مطالعات ۸-۱ سینئول ماده اصلی تشکیل دهنده

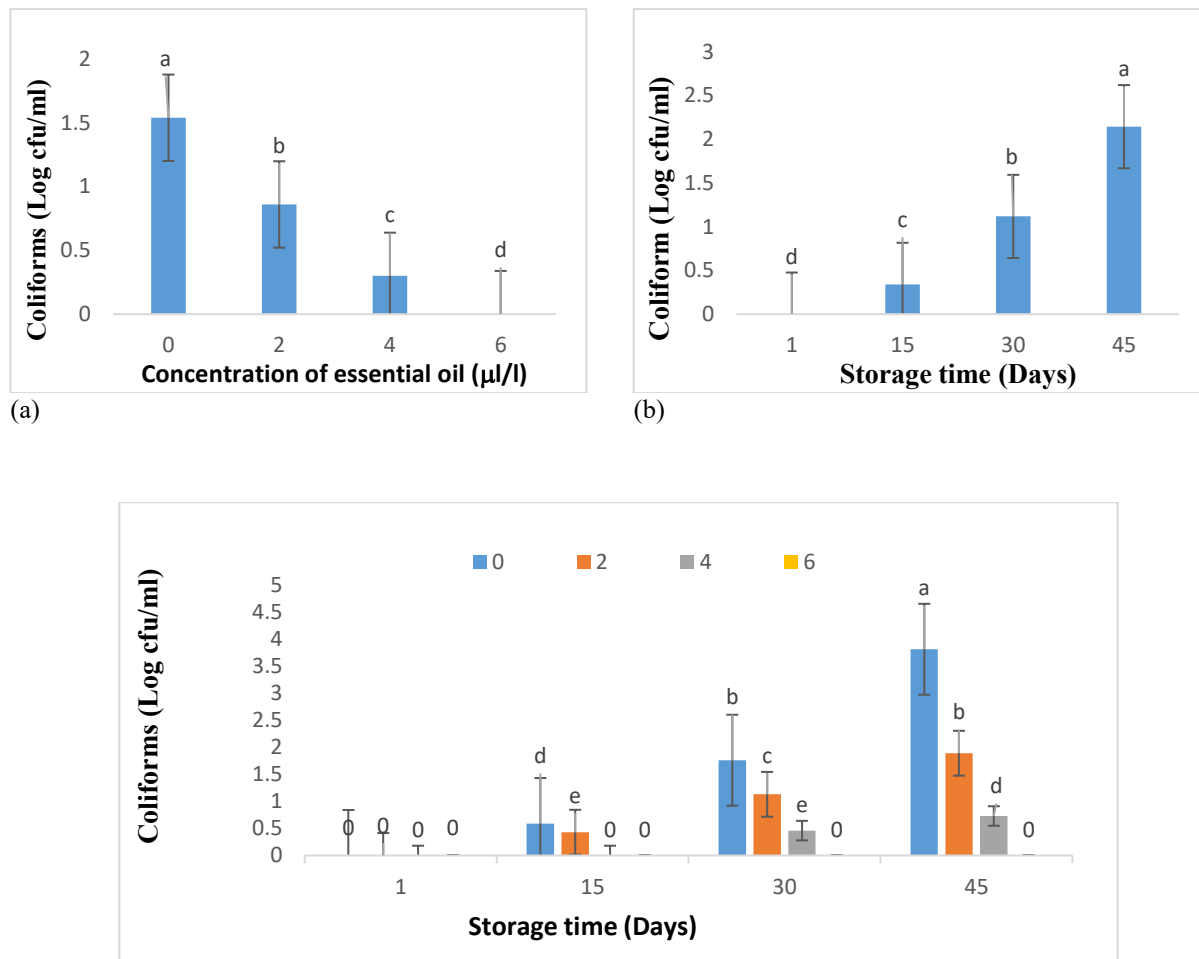
Table 1. Chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil.

Compound	Percentage
1,8- cineol	48.6
alpha-pinene	23.86
Terpineol alpha	6.55
Trans- pinocarveol	6.34
pinacarvone	4.53
4-terpineol	2.66
pinocarveol	2.42
alpha-terpinyl acetate	1.5
limonene	1.28
guaiene	1.11
spathulenol	1.02

۳-۲- کلی فرم

های آغازگر ماست ندارد و اثر عصاره کاکوتی کوهی نیز فقط در بالاترین غلظت از روز هفدهم به بعد معنی‌دار شد. رزاقی و همکاران [۳۱] بعد از غنی‌سازی دوغ با عصاره و پودر گیاه ملیس ویژگی‌های ضد میکروبی آن را بررسی نمودند. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که افزودن ملیس به دوغ، مانع از رشد کلی‌فرم تا روز بیستم نگهداری گردید. مطابق شکل -۱c، بیشترین تعداد کلی‌فرم ($3/81 \text{ Log cfu/ml}$) در نمونه شاهد و در آخرین روز نگهداری مشخص گردید. این درحالی بود که هیچ گونه رشدی از کلی‌فرم‌ها در نمونه حاوی ۶ میکروگرم اسانس در تمامی دوره‌های نگهداری مشاهده نگردید.

نتایج نشان داد در نمونه دوغ حاوی ۶ میلی گرم در میلی لیتر اسانس طی مدت نگهداری هیچ کلی‌فرمی مشاهده نشد و بیشترین میزان آن در نمونه شاهد با میانگین $1/54 \text{ Log cfu}$ مشاهده شد (شکل ۱-a). همچنین در روزهای اول نگهداری هیچ کلی‌فرمی در نمونه‌های دوغ مشاهده نشد ولی در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ نگهداری شاهد افزایش کلی‌فرم بودیم به طوری که بیشترین کلی‌فرم ($2/14 \text{ Log cfu/ml}$) در نمونه ۴۵ روز نگهداری مشاهده شد (شکل ۱-b). نتایج پژوهش مهربان سنگ آتش و همکاران [۳۰] نشان داد اسانس کوهی کاکوتی در غلظت‌های مورد آزمایش اثر معناداری بر باکتری-



(c)
Figure 1. The count of coliforms in Doogh samples containing different concentrations of essential oils (a) during storage period (b) and their interaction effect (c).

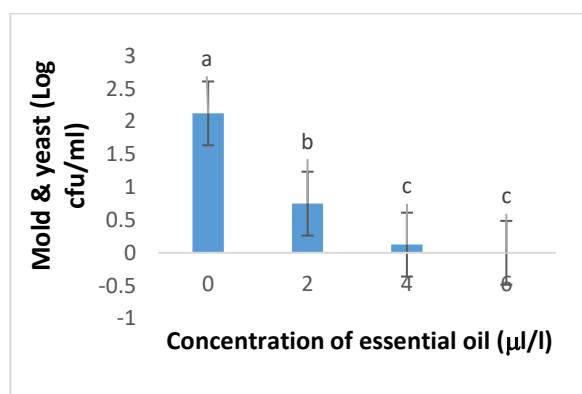
های دوغ حاوی اسانس داشت ($p < 0.05$). همچنین با افزایش زمان نگهداری، تعداد کپک و مخمر افزایش یافت و بیشترین کپک و مخمر ($2/63 \text{ Log cfu/ml}$) در تیمار روز ۴۵ نگهداری مشاهده شد و در بقیه تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۲-ب). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس × طول دوره نگهداری نشان داد که دوغ‌های تیمار شده با مقادیر ۴ و ۶ میکرولیتر اسانس تا روز ۴۵ نگهداری قابل مصرف بوده و فاقد کپک و مخمر می‌باشند (شکل ۲-ج). در میان نمونه‌های حاوی

۳-۳- کپک و مخمر

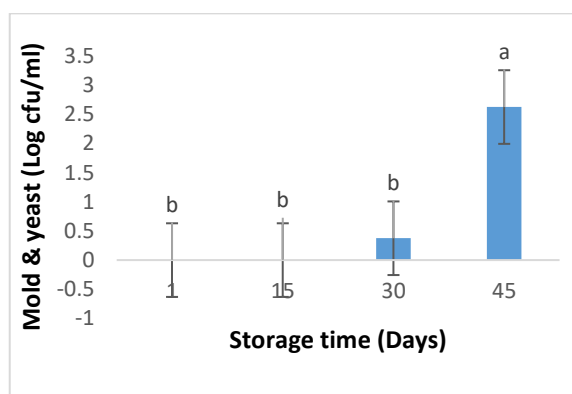
قارچ‌ها در مواد غذایی نسبتاً خشک با فعالیت آبی پایین، مواد غذایی اسیدی یا حاوی نمک و همچنین مواد غذایی که در سرما نگهداری می‌شوند به خوبی رشد می‌کنند. داده‌های حاصل از شمارش کپک و مخمر نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده با اسانس اکالیپتوس نشان از قدرت اسانس‌ها در جلوگیری از رشد کپک و مخمر در مقایسه با دوغ شاهد داشتند (شکل ۲). به این صورت که نمونه دوغ شاهد رشد کپک و مخمر بیشتری به نسبت سایر نمونه-

نگهداری را می‌توان به مساعد شدن شرایط رشد کپک و مخمرها به دلیل تولید اسید توسط باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس نسبت داد [۳۲]. ناگیجیمانا و همکاران [۳۳] گزارش کردند که تعداد کلنی‌های ساکارومایسس سرویزیه در شربت پرتقال حاوی اسانس پرتقال کمتر از نمونه شاهد بوده است. همچنین نتایج زارعلی و همکاران [۳۴] نشان داد قدرت کنترل رشد کپک و مخمر توسط عصاره‌های خوشاریزه و چای کوهی با گذشت زمان کاهش یافت.

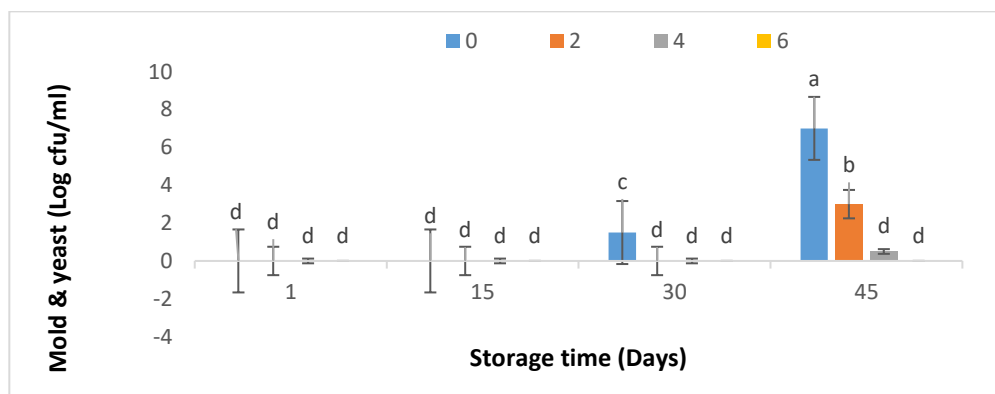
اسانس طی مدت ۴۵ روز نگهداری، تنها نمونه حاوی ۲ میکروگرم در لیتر اسانس در روز ۴۵ نگهداری حاوی تعداد قابل توجهی ($3/00 \text{ Log cfu/ml}$) کپک و مخمر بود. همچنین دوغ شاهد در روز ۳۰ ($1/50 \text{ Log cfu/ml}$) و به‌ویژه پایان مدت نگهداری ($7/00 \text{ cfu/ml}$) حاوی تعداد بالای کپک و مخمر بود (شکل ۲-۲). عوامل متعددی بر قابلیت بازدارندگی اسانس‌ها در سیستم غذایی تأثیر می‌گذارند، که از جمله آن‌ها می‌توان به پروتئین، چربی، نمک، مقدار اکسیژن، ماتریکس ماده غذایی، مقدار pH و a_w اشاره کرد. افزایش در تعداد کپک و مخمر در نمونه‌های دوغ طی مدت زمان



(a)



(b)



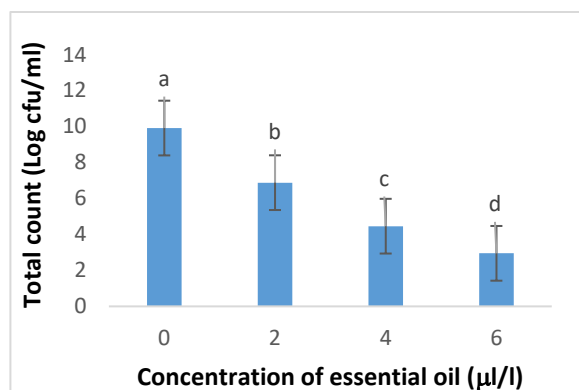
(c)

Figure 2. The count of of mold and yeast in Doogh samples containing different concentrations of essential oils (a) during storage period (b) and their intraction effect (c).

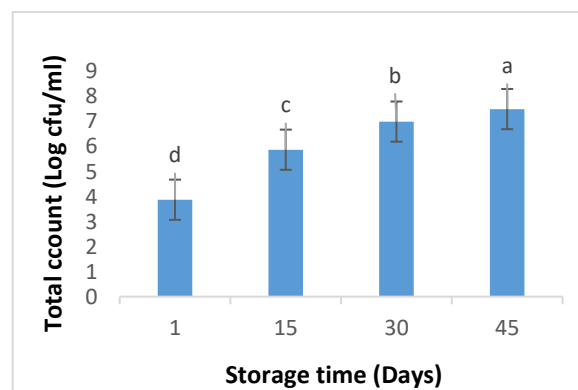
۳-۴- شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

بر اساس شکل ۳ مشخص شد که با افزایش غلظت اسانس جمعیت باکتریایی به طور معنی داری کاهش یافته است و بیشترین جمعیت میکروارگانیسم‌ها با میانگین ($9/92$ لگاریتم در میلی لیتر) در دوغ-های بدون اسانس و کمترین جمعیت میکروارگانیسم‌ها با میانگین ($2/95$ Log cfu/ml) در نمونه دوغ حاوی ۶ میکرولیتر در لیتر اسانس مشاهده شد (شکل ۳-ا). همچنین نمونه‌های دوغ در طول مدت زمان نگهداری از نظر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها به طور معنی داری افزایش پیدا کردند (شکل ۳-ب). به این صورت که بیشترین جمعیت میکروبی مربوط به نمونه در روز ۴۵ نگهداری با میانگین ($7/5$ Log cfu/ml) و کمترین جمعیت میکروبی مربوط به نمونه در روز اول نگهداری با میانگین ($3/87$ Log cfu/ml) می-باشد که تقریباً نشان داد با افزایش زمان نگهداری جمعیت میکروبی

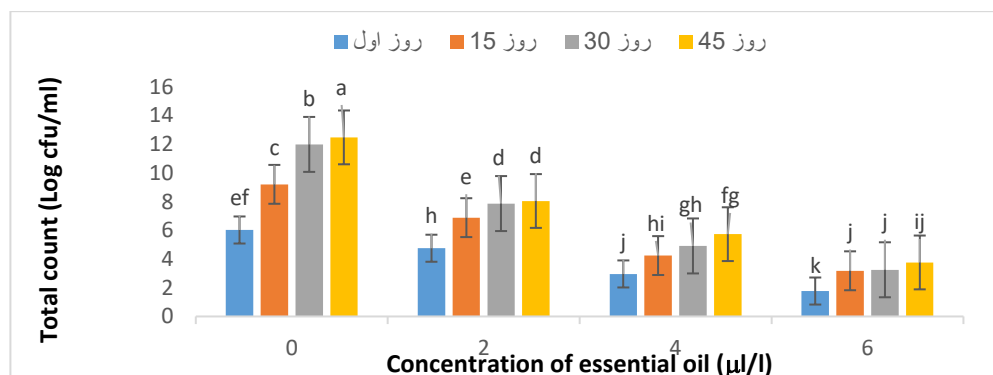
دوبرابر شده است (شکل ۳-ب). نتایج اثرات متقابل غلظت اسانس در طول دوره نگهداری نشان داد که بیشترین جمعیت میکروارگانیسم‌ها ($12/47$ Log cfu/ml) در دوغ‌های بدون اسانس در زمان ۴۵ روز نگهداری می‌باشد (شکل ۳-ج). پس می‌توان نتیجه گرفت که اسانس‌های گیاهی سبب کاهش رشد میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه‌های دوغ شده است و با افزایش زمان نگهداری تعداد باکتری‌ها به شکل فزاینده‌ای افزایش یافته است. زراعی و همکاران (۱۳۹۴) در تأیید نتایج این تحقیق گزارش کردند که نمونه‌های دوغ حاوی عصاره چای خوشاریزه از شمارش کلی پایین‌تری نسبت به نمونه شاهد برخوردار بودند و در پایان مدت زمان نگهداری تعداد میکروارگانیسم‌ها به طور قابل توجهی افزایش یافت [۳۴].



(a)



(b)



(c)

Figure 3. The count of of total count in Doogh samples containing different concentrations of essential oils (a) during storage period (b) and their intraction effect (c).

۳-۵- اثر ضد میکروبی اسانس

حدودی مقاومت بیشتری را دارا می باشند. بسیاری از محققین دلیل این امر را به تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت داده اند. شاید بتوان مقاومت بیشتر باکتری های گرم منفی را به حضور غشای فسفولیپیدی خارجی که تقریباً نسبت به ترکیبات چربی دوست غیر قابل نفوذ است نسبت داد. به عبارت دیگر، علت مقاومت بیشتر باکتری های گرم منفی به عصاره های گیاهان دارویی را می توان به وجود اختلاف ساختمانی و پیچیدگی بیشتر غشاء سلولی باکتری های گرم منفی در مقایسه با غشاء تک لایه ای باکتری های گرم مثبت نسبت داد. یافته های به دست آمده از پژوهش حاضر با نتایج مطالعات [۲۴، ۳۵ و ۳۶] همخوانی داشت. در کل نتایج نشان داد که در غلظت های کم (۳۲ میلی گرم در لیتر) از لحاظ مقاومت به ترتیب باکتری های *سالمونلا تیفی* / *استافیلوکوکس اورئوس* < *ای کلی* < *باسیلوس سرئوس* بالاترین مقاومت را از خود نشان دادند. براساس نتایج پژوهش عزیزاده بهبهانی و همکاران [۲۴] نیز حساسیت میکروب های بیماری زا در برابر اسانس *اکالپتوس گلوبولوس* (دیسک دیفیوژن) از مقاوم ترین به حساس ترین سویه به ترتیب به صورت *سالمونلا تیفی* < *اشرشیا کلی* < *سودوموناس ائروژینوزا* < *باسیلوس سوبتلیس* < *استرپتوکوکوس پیورنز* < *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین شد.

نتایج آنالیز به روش دیسک دیفیوژن آگار در جدول ۲ و نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی در جدول ۳ نشان شده است. مطابق نتایج این تحقیق مشخص شد که میزان قطر هاله عدم رشد در باکتری ها همگام با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت؛ بطوریکه در باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با افزایش غلظت اسانس قطر هاله عدم رشد به صورت معنی - داری افزایش یافت ($P < 0.05$). همانطور که جدول ۲ می - توان مشاهده نمود، قطر هاله برای باکتری های *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر اسانس به ترتیب ۲۵/۵۰ و ۲۶/۵۰ میلی متر و در غلظت ۳۲ میلی گرم در لیتر ۱۵/۵۰ و ۱۲/۵۰ میلی متر اندازه - گیری شد. این نتیجه بیانگر این موضوع می باشد که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تا حدودی مقاومت بیشتری را دارا می باشد. در بررسی هاله عدم رشد باکتری های گرم منفی *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* نیز مشاهده شد که با افزایش غلظت اسانس میزان قطر هاله عدم رشد افزایش یافت ($P < 0.05$). بیشترین قطر هاله یا اثر بازدارندگی در باکتری - های *سالمونلا تیفی* و *ای کلی* به ترتیب با ۲۵ و ۲۵ میلی متر در غلظت ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر اسانس مشاهده شد. کمترین قطر هاله نیز با ۱۱/۵۰ و ۱۴/۵۰ میلی متر در غلظت ۳۲ میلی گرم در لیتر مشاهده شد. این نتیجه بیانگر این موضوع می باشد که در باکتری های گرم منفی، باکتری ای کلی تا

Table 2. The results of inhibition zone diameters (mm) by agar disk diffusion (ADD) method.

Concentration (mg/ml)	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Escherichia coli</i>
32	15.50 ± 0.37 ^d	12.50 ± 0.28 ^c	11.50 ± 0.33 ^c	14.50 ± 0.21 ^d
64	16.5 ± 0.29 ^c	13.50 ± 0.34 ^d	13.50 ± 0.41 ^d	18.50 ± 0.53 ^c
128	22.5 ± 0.61 ^b	18 ± 0.48 ^c	15 ± 0.29 ^c	20 ± 0.76 ^b

256	25± 0.43 ^a	21 ±0.35 ^b	17.5 ±0.38 ^b	20.50 ±0.50 ^b
512	25.5 ±0.58 ^a	26.50 ±0.29 ^a	25 ±0.52 ^a	25 ±0.61 ^a

Values are expressed as mean, n = 3; different letters (a, b, c and d) in each column show significant differences

Table 3. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Eucalyptus globulus* essential oil on some pathogenic bacteria

Microorganism	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
<i>Bacillus cereus</i>	32	128
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	128
<i>Escherichia coli</i>	32	256
<i>Salmonella typhi</i>	32	512

دارای ترکیبات ضد میکروبی گوناگونی چون کارواکرول، تیمول، اوژول، پرل آلدهید، سینامالدهید، سینئول و اسید سینامیک هستند. نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد دو ترکیب ۱،۸- سینئول (۴۸/۶٪) و آلفا-پینن (۲۳/۸۶٪) به عنوان ترکیبات اصلی اسانس اکالیپتوس می باشند. نتایج اثر ضد میکروبی اسانس اکالیپتوس مطابق با روش دیسک نشان داد که باکتری *سالمونلا تیفی* مقاوم ترین باکتری می باشد. به-طور کلی باکتری های گرم منفی نسبت به اسانس گیاهی مقاوم تر از باکتری های گرم مثبت می باشند. براساس نتایج این تحقیق، با افزودن ۶ میکرولیتر در لیتر اسانس اکالیپتوس در دوغ هیچ گونه رشد کلی فرم در تمام مدت نگهداری نمونه ها مشاهده نشد. همچنین افزودن اسانس

نتایج نشان داد که در بیشترین غلظت بازدارندگی (۵۱۲ میلی گرم در لیتر) از لحاظ مقاومت به ترتیب باکتری های *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سرئوس*، *ای کلی*، *استافیلوکوکس اورئوس* بالاترین مقاومت را از خود نشان دادند. مطابق نتایج به دست آمده در روش دیسک، باکتری *سالمونلا تیفی* مقاوم ترین باکتری و باکتری *باسیلوس سرئوس* حساس ترین باکتری تعیین شد. به طور کلی باکتری های گرم منفی نسبت به اسانس گیاهی مقاوم تر از باکتری های گرم مثبت می باشند. محققین فراوانی دلیل این امر را به تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت دانسته اند. شاید بتوان مقاومت بیشتر باکتری-های گرم منفی را به حضور غشای فسفولیپیدی خارجی که تقریباً نسبت به ترکیبات چربی دوست غیرقابل نفوذ است نسبت داد. یافته های به دست آمده از پژوهش حاضر با نتایج مطالعات [۲۰، ۳۱ و ۳۲] همخوانی داشت.

۴- نتیجه گیری

خواص ضد میکروبی اسانس، سال های متمادیست که به اثبات رسیده است. تحقیقات مختلف نشان داده است که اسانس ها

مورد احتمال اثرهای منفی اسانس بر سلامت انسان مورد مطالعه قرار بگیرد.

۵- سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است و نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مسئولین محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی تشکر و قدردانی نمایند.

اکالیپتوس باعث کاهش رشد کلی میکروارگانیسم‌ها گردید. این بدان معنی است که میزان ترش شدن ماست طی مدت نگهداری می‌تواند توسط اسانس اکالیپتوس به تأخیر بیفتد. در یک نتیجه‌گیری کلی پیشنهاد می‌شود با توجه به خواص دارویی این اسانس گیاهی، استفاده از آن به عنوان یک نگهدارنده و طعم‌دهنده طبیعی در مواد غذایی مورد توجه قرار گیرد. در هر حال، جهت تجاری شدن کاربرد این اسانس در دوغ و سایر موارد غذایی لازم است که بررسی جامعی در

۶- منابع

- [1] Jooyandeh, H., & Rostamabadi, H. 2013. Antimicrobial properties of essential oils and their use in food. *The Second National Conference on Food Science and Industry*. 28-30 April, 2013, Quchan, Iran. (In Persian)
- [2] Guenther, E. 1948. *The Essential Oils*. Vol. 1, D. Van Nostrand Company Inc, New York. Gustafson, USA.
- [3] Pessoa, L.M., Morais, S.M., Bevilacqua, C.M.L., & Luciano, J.H.S. 2002. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 109 (1-2): 59-63.
- [4] Kouravand, F., Jooyandeh, H., Barzegar, H. & Hojjati, M. 2018. Characterization of cross-linked whey protein isolate-based films containing *Satureja khuzistanica* Jamzad essential oil. *Journal of Food processing and preservation*, 42(3): e13557: 1-10.
- [5] Saffari Samani, E., Jooyandeh, H., & Alizadeh Behbahani, B. 2023. The impact of Zedo gum based edible coating containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh buffalo meat. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17: 2663-2675.
- [6] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. & Jooyandeh H. 2020. Improving oxidative and microbial stability of beef using Shahri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24: 101563, 1-12.
- [7] Tamime, A.Y. & Robinson, R.K. 2007. *Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology*. 3rd eds., Woodhead Publishing, 808 pages.
- [8] Voosogh, A.S., Khomeiri, M., Nijad, M.K., & Jafari, S.M. 2009. Effects of mint extract on the viability of probiotic bacteria in a native Iranian dairy drink (Doogh). *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 16(1): 156.
- [9] Wilhelm, B., Rajić, A., Greig, J.D., Waddell, L., & Harris, J. 2011. The Effect of Hazard Analysis Critical Control Point Programs on Microbial Contamination of Carcasses in Abattoirs: A Systematic Review of Published Data. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(9): 949-60.
- [10] Jooyandeh, H. 2024. *Novel & Functional Foods: 1st ed.*, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University Press. (In Persian)
- [11] Moatar, F., & Samsam Shariat, H. 2004. Plants and natural medicines: Traditional pharmacology (medical vocabulary) Active ingredients, therapeutic properties and uses of plants and natural medicines. Vol. 1, 4th eds., Roozbehan Publishing, Tehran.
- [12] Elaissi, A., Rouis Z, Salem NA, Mabrouk S, ben Salem Y, Salah KB, Aouni M. et al. 2012. Chemical composition of 8 eucalyptus species essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC Complement Altern Med.*, 12: 81.
- [13] Srinivasan, D., Nathan, S., Suresh, T., & Lakshmana Perumalsamy, P. 2001. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(3): 217-220.
- [14] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Ebrahimi Kaykha, M.H., & Ghodsi, M. 2021. Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, 9: 1625-1639.
- [15] Ebrahimi Kaykha, M.H., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. 2022. Identification of chemical compounds, antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents and cytotoxicity effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 18 (4), 467-482. (In Persian)
- [16] Saffari Samani, E., Jooyandeh, H., & Alizadeh Behbahani, B. 2023. Evaluation of reciprocal pharmaceutical effect and antimicrobial activity of Shirazi thyme essential oil against some Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Food Science & Technology (Iran)*, 17(194): 1-11. (In Persian)
- [17] Zarali, M., Hojjati, M., Tehmouzi Dohban, S. & Jooyandeh, H. 2016. Evaluation of chemical composition and antibacterial activities of *Echinophora cinerea* Boiss and *Stachys lavandulifolia* Vahl essential oils in vitro. *Journal of Food Science & Technology (Iran)*, 13(52): 1-12. (In Persian)
- [18] Iwasa, M., Nakaya, S., Maki, Y., Marumoto, Sh., Usami, U., & Miyazawa, M. 2015. Identification of Aromatic Compounds in Essential Oil from *Uncaria Hook* by Gas Chromatography- Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Olfactometry. *Journal of Oleo Science*, 64(8): 825-833.
- [19] Jooyandeh, H., & Kouravand, F. 2018. Effect of *Saturejahortensis* L. essential oil on physicochemical,

- textural and sensory properties and viability of starter culture of set yoghurt. *Journal of Food Science and Technology* (Iran). 15(83): 87-100. (In Persian)
- [20] Yademellat, M., Jooyandeh, H., & Hojjati, M. 2018. Comparison of some physiochemical and sensory properties of low-fat stirred yogurt containing Persian and Balangu-Shirazi gums. *Journal of Food Science & Technology* (Iran). 14(72): 313-326. (In Persian)
- [21] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B. & Noshad, M. 2020. The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8: 6497-6512.
- [22] Jooyandeh H., Ebrahimi Kaykha, M.H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. 2023. Evaluating the quality of mutton meat coated with *Cordia myxa* fruit mucilage containing *Rosmarinus officinalis* essential oil during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17: 2062-2074.
- [23] Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Hojjati, M., & Ghodsi, M. 2024. Evaluation of probiotic, safety, and anti-pathogenic properties of *Levilactobacillus brevis* HL6, and its potential application as bio-preservatives in peach juice. *LWT-Food Science & Technology*, 191: 115601.
- [24] Noshad, M., & Alizadeh Behbahani, B. 2019. Identification of chemical compounds, antioxidant activity and antimicrobial effect of green cardamom essence on a number of pathogenic microorganisms in laboratory conditions. *Qom University of Medical Sciences Journal*, 13(2): 57-69. (In Persian)
- [25] Kardooni, Z., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., & Noshad, M. 2023. Assessing Protection Mechanisms against *Escherichia coli* by Analyzing Auto-and Co-Aggregation, Adhesion Ability, Antagonistic Activity and Safety Characteristics of Potentially Probiotic *Lactobacillus acidophilus* B103. *Nutrition and Food Science Research*, 10(1): 11-21.
- [26] Samaté, A.D., Nacro, M., Menut, C., Lamaty, G., & Bessi re, J.M. 1998. Aromatic Plants of Tropical West Africa. VII. Chemical Composition of the Essential Oils of two *Eucalyptus* Species (Myrtaceae) from Burkina Faso: *Eucalyptus alba* Muell and *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt. *Journal of Essential Oil Research*, 10(3): 321-324.
- [27] Ansari, N., Hasanzadeh, N., & Rezaee, M.B. 2013. Antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. on *Pseudomonas tolaasii* under In vitro & In vivo conditions. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants Research*, 28(4): 709-719. (In Persian)
- [28] Mohkami, Z., Mirshkar, A. & Mohammadi, F. 2020. Identifying the effective compounds of the essential oil of desert eucalyptus (*Eucalyptus rudis*) grown in the climatic conditions of Sistan, 10th National Conference on Sustainable Agriculture and Natural Resources, Tehran. (In Persian)
- [29] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S.A., & Mohebbi, M. 2017. Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94: part A, 515-526.
- [30] Mehraban Sangatash, M., Karazhyan, R., Hadad Khodaparast, M.H., Habibi Najafi, M.B., & Beiraghi Toosi, S. 2007. Effect of Essential Oil and Extract of *Ziziphora clinopodioides* on Yoghurt Starter Culture Activity. *Journal of Food Science and Technology* (Iran). 3(4): 47-55. (In Persian)
- [31] Razzaghi, P. & Soltani, M. 2019. The effect of Mellis (*Melissa officinalis*) addition on the Microbiological, Chemical, Rheological and sensorial attributes of pasteurized Doogh. *Journal of Food Science and Technology* (Iran), 15(85): 437-446. (In Persian)
- [32] Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253.
- [33] Ndagijimana, M., Belletti, N., Lanciotti, R., Guerzoni, E., & Gardini, F. 2004. Effect of Aroma Compounds on the Microbial Stabilization of Orange-based Soft Drinks. *Journal of Food Science*, 69(1): SNQ20-SNQ24.
- [34] Zarali, M., Hojjati, M., Tehmouzi Dohban, S. & Jooyandeh, H. 2015. Evaluation of the effect of *Echinophora cinerea* Boiss extract and mountain tea (*Stachys lavandulifolia* Vahl) on the qualitative and sensory characteristics of Doogh. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 46(3): 327-337. (In Persian)
- [35] Jooyandeh, H., Noshad, M., & Barzegar, H. 2021. In-vitro Investigation of Antimicrobial Activity and interaction of aqueous and ethanolic extracts of *Sepistan (Cordia myxa)* leaves on pathogenic microorganisms. *Iranian Journal of Infectious Diseases & Tropical Medicine*, 22(79): 41-50. (In Persian)
- [36] Alizadeh Behbahani, B. & Imani Fooladi, A.A. 2018. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 114: 299-303.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation of Chemical Compositions and Antimicrobial Properties of Eucalyptus Leaf Essential Oil and Its Application in the Production of Doogh

Amir Iranshahi¹, Hossein Jooyandeh^{*2}, Mohammad Noshad³, Behrooz Alizadeh Behbahani³

1. M.Sc., Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

2. Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2025/06/02 Accepted: 2025/08/30 Keywords: Doogh, Eucalyptus essential oil, Storage time, Minimum Inhibitory Concentration DOI: 10.48311/fsct.2025.84057.0. *Corresponding Author E- hosjooy@asnrukh.ac.ir	Using natural preservatives such as plant essential oils is a healthy and environmentally friendly approach that serves as a suitable alternative to chemical additives and helps maintain consumer health. Eucalyptus, or the blue gum plant, with the scientific name <i>Eucalyptus globulus</i>, belongs to the Myrtaceae family. This study was conducted with the aim of identifying chemical compounds and evaluating the antibacterial activity of eucalyptus essential oil (EEO) on a number of pathogenic microorganisms in vitro. The chemical compounds of EEO were identified using a GC-MS device. Subsequently, the effects of various concentrations of EEO (0, 2, 4, and 6 µl/l) on some pathogenic bacteria and the microbial characteristics of doogh samples during a 45-day storage period were investigated. The GC-MS analysis results showed that 1,8-cineole (48.6%) and alpha-pinene (23.86%) constituted the highest percentages of EEO compounds. By adding 6 µl/l of EEO to doogh, no mold and yeast growth was observed throughout the entire storage period, and the sample containing 4 µl/l of essential oil also contained an acceptable number of mold and yeast at the end of the storage period. Additionally, EEO caused a reduction in the total microbial count. Based on the results of this study, gram-negative bacteria were more resistant to the plant essential oil than gram-positive bacteria, and <i>Salmonella typhi</i> was identified as the most resistant and <i>Bacillus cereus</i> as the most sensitive bacteria in the disk method. The results of this research indicated that EEO possesses suitable antimicrobial activity against pathogenic strains. Therefore, by employing this essential oil in the production of doogh, in addition to increasing the product's shelf life, it is possible to produce doogh with appropriate medicinal properties. In any case, to ensure the safe application of EEO in the formulation of food products such as doogh, further studies are essential.