

بیوسنتز نانوذرات اکسید منیزیم توسط *Enterococcus hirae* از ماست سنتی رفسنجان، ایران

عذری حسینی نوه^۱، اشرف کریمی نیک^{۲*}، شهلا سلطانی نژاد^۳، عنایت الله شیخ حسینی^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد جیرفت، دانشگاه آزاد اسلامی، جیرفت، ایران

۴- دانشیار، گروه شیمی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

* نویسنده مسئول: a.kariminik@iauk.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۸/۹، پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۹/۵

چکیده

شواهد فراوانی مبنی بر اثرات بیولوژیک مفید پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی و لبنی وجود دارد. خواص ضد میکروبی، قابلیت تولید بیوسورفکتانت و بیوسنتز نانوذرات از اثرات قابل توجه این ارگانیزم‌ها می‌باشد. هدف از این پژوهش بیوسنتز نانوذرات اکسید منیزیم توسط باکتری‌های پروبیوتیک از ماست سنتی می‌باشد. جهت جداسازی پروبیوتیک‌ها از محیط کشت ام آر اس آگار (دمن روگوزا شارپ آگار) استفاده گردید. جدایه‌های مولد بیوسورفکتانت از نظر تست‌های همولیز، گسترش نفت‌خام، انهدام قطره و امولسیه‌کنندگی مورد بررسی قرار گرفتند، جدایه برتر جهت تولید نانوذرات اکسید منیزیم، اندازه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، FTIR و اثرات ضد باکتریایی ارزیابی و به روش بی‌سی‌ار تعیین هویت گردید. ۹ جدایه خاصیت پروبیوتیکی داشتند، جدایه L۱۱ با توانایی تولید بیوسورفکتانت بهتر، انتخاب شد و خاصیت ضد باکتریایی بیوسورفکتانت تولیدی از آنف بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی تعیین گردید. این سویه همچنین قادر به سنتز نانوذرات اکسید منیزیم بود. نانوذرات تشکیل شده با اندازه ۱۳۵ نانومتر، اثرات ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نشان دادند. پس از بررسی مولکولی، سویه برتر به نام *انتروکوکوس هیرای* معرفی گردید. با توجه به یافته‌های به‌دست آمده، به نظر می‌رسد که این سویه پروبیوتیک مولد بیوسورفکتانت و نانوذرات اکسید منیزیم می‌تواند در جهت استفاده در مصارف صنایع غذایی و صنعتی مورد استفاده قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: *انتروکوکوس هیرای*، نانوذرات اکسید منیزیم، بیوسورفکتانت، ماست

مقدمه

و به دلیل مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها در افزایش سطح سلامت افراد، گرایش زیادی به سمت مصرف این محصولات معطوف شده است. از میان میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک، باکتری‌های اسیدلاکتیک به عنوان مهمترین گروه شناخته شده‌اند. جنس‌های معروف باکتری‌های اسیدلاکتیک شامل *لاکتوباسیلوس*^۱، *لاکتوکوکوس*^۲، *انتروکوکوس*^۳،

واژه پروبیوتیک از کلمه یونانی به معنی "برای زندگی" گرفته شده است. پروبیوتیک معمولاً یک یا مخلوطی از چند میکروارگانیزم هستند که چنانچه توسط انسان یا حیوان مصرف شوند، می‌توانند با بهبود خصوصیات میکروفلور گوارشی میزبان، اثرات مفید قابل توجهی را اعمال نمایند (۱). امروزه تولید محصولات پروبیوتیک وسعت جهانی یافته

³ Enterococcus

¹ Lactobacillus

² Lactococcus

روش تحقیق

این تحقیق از نوع تجربی و آزمایشگاهی است. تعداد ۱۵ نمونه ماست سنتی شهرستان رفسنجان جهت جداسازی سویه‌های مورد نظر به صورت تصادفی، تحت شرایط استریل نمونه برداری و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شد.

کشت، جداسازی و شناسایی باکتری‌های پروبیوتیک

۱۰ گرم نمونه از هر نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل مخلوط و سپس رقت‌های مختلف تا یک ده هزارم تهیه شد از سه رقت آخر، بر روی کشت ام آر اس (دمن روگوزا شارپ^۸) آگار کشت انجام شد. پلست‌ها در شرایط بی‌هوای، دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. کلنی‌های رشد کرده با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز و توانایی تولید بیوسورفکتانت و سپس قابلیت سنتز نانوذره اکسید منیزیم مورد مطالعه قرار گرفتند (۷).

تولید بیوسورفکتانت

تولید بیوسورفکتانت از باکتری‌های پروبیوتیک‌های جدا شده با استفاده از تکنیک‌های مختلفی از جمله: فعالیت همولیتیک، گسترش یا پراکندگی نفت خام^۹، انهدام یا فروپاشی قطره^{۱۰} و فعالیت امولسیون‌کنندگی^{۱۱} مورد ارزیابی قرار گرفت. برای فعالیت همولیتیک، کشت جدایه‌ها بر روی محیط کشت بلاآگار انجام و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند و منطقه شفاف اطراف کلنی‌های باکتریایی به نشانه همولیز کامل، بررسی شد. جدایه‌های خالص از نظر پراکندگی نفت خام بررسی شدند

استرپتوکوکوس^۱، پدیوکوکوس^۲، لئوکونوستوک^۳ و بیفیدوباکتریوم^۴ می‌باشند. اولین محصول پروبیوتیکی شیر تخمیر شده در سال ۱۹۸۰ میلادی در اروپا معرفی گردید (۲). باکتری‌های اسید لاکتیک^۵ اهمیت ویژه‌ای در صنایع لبنی داشته، زیرا علاوه بر آن که دارای خصوصیات سازگار با شرایط همان منطقه می‌باشند، از توانایی خاص در تولید طعم و بوی مطلوب در تهیه انواع فراورده‌های لبنی برخوردار هستند (۳). از خواص پروبیوتیک‌ها می‌توان به توانایی تولید باکتریوسین^۶، کاهش pH، تولید دی‌استیل^۷ و بیوسورفکتانت را نام برد. بیوسورفکتانت‌ها ترکیبات زیستی آملی‌فیلیکی تولید شده به صورت خارج سلولی یا بخشی از غشاءهای سلول بوسیله انواع باکتری، مخمر و قارچ هستند. بیوسورفکتانت‌ها نسبت به سورفکتانت‌های شیمیایی سنتزی دارای مزیت‌هایی همچون قابلیت تجزیه زیستی، سمیت کمتر، زیست‌سازگاری، در دسترس بودن مواد خام و قابلیت استفاده در پاک‌سازی محیط زیست می‌باشند (۴). از سوی دیگر، مشخص گردیده است که باکتری‌های پروبیوتیک دارای پتانسیل بالایی برای تولید نانوذرات فلزی هستند. اکسید منیزیم به دلیل خواص گسترده آن از نقطه نظر تغذیه‌ای و سلامتی مورد توجه قرار گرفته است (۵). این نانوذرات مزایایی نظیر عدم سمیت، پایداری حرارتی بالا، زیست‌سازگار و کم‌هزینه بودن داشته و نیز، پتانسیل قابل توجهی به عنوان عامل ضدباکتریایی و ضد قارچی دارند (۶). این تحقیق با هدف بیوسنتز نانوذرات اکسید منیزیم توسط باکتری‌های پروبیوتیک جدا شده از ماست سنتی، انجام شد.

⁷ Diacetyl

⁸ de Man Rogosa Sharpe agar

⁹ Oil Spreading

¹⁰ Drop collapsing

¹¹ Emulsification index

¹ Streptococcus

² Pediococcus

³ Leuconostoc

⁴ Bifidobacterium

⁵ Lactic Acid Bacteria

⁶ Bacteriocin

سانتی‌گراد نگهداری شد و بعد از آن محلول کلروفورم - متانول (۷/۷ v/v) اضافه شد. فاز آلی جدا شده و حلال در دستگاه فور با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر گردید. در ادامه وزن خشک بیوسورفکتانت‌های جمع‌آوری شده، تعیین و رقت‌های متوالی شامل ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در آب مقطر دیونیزه استریل تهیه گردید (۸).

بررسی اثرات ضد باکتریایی بیوسورفکتانت

جهت بررسی فعالیت ضد باکتریایی بیوسورفکتانت‌های استخراج شده از روش انتشار چاهک^۱ استفاده شد. که طی آن از سوسپانسیون میکروبی استاندارد شده از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1431)، *سالمونلا انتریتیدیس* (PTCC 1709)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC 1015)، *اشریشیاکلی* (PTCC 1270) و *سودوموناس آئروژینوزا* (YX 441328) به روش کشت چمنی در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت انجام شد. چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر با پیپت پاستور استریل ایجاد گردید. ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف بیوسورفکتانت (۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به هر حفره اضافه شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۲۴ ساعت قرار داده شدند (۹). به‌عنوان کنترل مثبت، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شامل اگزاسیلین (۱ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، نیتروفوران‌توئین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، با روش انتشار در دیسک استفاده گردید. تمامی پلیت‌ها از نظر حساسیت نسبی باکتری‌ها به بیوسورفکتانت‌های تولیدی و آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی به‌وسیله منطقه ممانعت از رشد^۲ بررسی گردید. نتایج حاصل از آنتی‌بیوتیک‌ها با جداول انسیتیتو استاندارد بالینی و آزمایشگاهی (CLSI^۳ 2020) مقایسه گردید (۱۰).

که جهت این آزمایش، در محیط کشت ام آر اس براث به مدت ۷ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل داخل پلیت‌های شیشه‌ای استریل ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر نفت خام به آن اضافه گردید سپس میزان ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به پلیت مذکور اضافه گردید قطر ناحیه شفاف در لایه نفتی اندازه‌گیری شد و با کنترل منفی (آب مقطر) مقایسه شد. همچنین جدایه‌ها با آزمون انهدام یا فروپاشی قطره مورد بررسی قرار گرفتند. ۱۰ میکرولیتر نفت خام بر روی یک صفحه شیشه‌ای استریل قرار داده شده، سپس ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی آماده شده، بر روی نفت خام اضافه گردید. بعد از گذشت زمان ۱ دقیقه، شکل قطره ایجاد شده در سطح قطره نفت خام بررسی گردید. در صورت تولید بیوسورفکتانت قطره به‌حالت مسطح در غیر این‌صورت قطره کاملاً گرد خواهد بود. توانایی امولسیون‌سازی جدایه‌ها با شاخص امولسیون‌سازی ارزیابی شد. ۴ میلی‌لیتر از محیط کشت حاوی باکتری به ۶ میلی‌لیتر نفت سفید اضافه گردید. در ادامه توسط دستگاه ورتکس با سرعت بالا به‌مدت دو دقیقه مخلوط گردید. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده شد. شاخص امولسیون‌کنندگی از طریق نسبت ارتفاع لایه امولسیون شده (سانتی‌متر) تقسیم بر ارتفاع کل ستون مایع (سانتی‌متر) در صد محاسبه شد (۸).

از کلنی خالص جدایه‌های انتخابی باکتریایی، داخل ارلن محتوی ۵۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت ام آر اس براث اضافه شد. سپس در انکوباتور شیکردار، دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، دور ۱۵۰ rpm در دقیقه به مدت زمان ۷ روز قرار داده شد. بعد از آن سوسپانسیون‌های باکتریایی به وسیله دستگاه سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، سانتریفیوژ گردیدند. مایع رویی جمع‌آوری شد. pH مایع با استفاده از محلول اسید کلریدریک ۶ مولار، به ۲ تنظیم شد. سپس محلول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه

³ Clinical and Laboratory Standards Institute

¹ Well diffusion assay

² Inhibition zone

در حلال دی‌متیل سولفوکسید و متانول با حجم برابر (V/V) (۱:۱) تهیه شد. پلیت‌های مولر هینتون آگار با سویه‌های باکتری شاخص کشت داده شدند و چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر با پیپت پاستور استریل ایجاد گردید. از غلظت‌های تهیه شده مقدار ۲۰ میکرولیتر در هر حفره ریخته شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، قرار داده گرفته و قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۱۲، ۱۳).

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید منیزیم

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات با استفاده از ۱-۱ دی‌فنیل-۲-پیکریل هیدرازول (DPPH)^۲ اندازه‌گیری شد. که با کاهش جذب محلول متانول DPPH در طول واکنش مشخص شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول نانوذرات منیزیم و منیزیم استات در محدوده غلظتی معین (۲۰۰-۰ μg/mL) جداگانه به ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH (۱۰۰ میکرومولار در متانول) اضافه گردید و مخلوط حاصل پس از افزودن ۳ میلی‌لیتر دیگر متانول به مدت یک ساعت در تاریکی قرار داده شد. سپس میزان جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. هم‌زمان با نمونه، یک لوله شاهد (بدون محلول نانو ذره) نیز در نظر گرفته شد. از ترکیب بوتیل هیدروکسی تولوئن^۳ به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

DPPH radical scavenging ability (%) = $[1 - (Aa - Ab) / Ac] \times 100$ که در این فرمول Aa میزان جذب نمونه حاوی منیزیم، Ab میزان جذب شاهد و Ac میزان جذب نمونه کنترل می‌باشد (۱۴).

توزیع اندازه ذره‌ای نانوذرات اکسید منیزیم^۴

تعیین خصوصیات بیوسورفکتانت به روش طیف‌سنجی مادون قرمز

۴ میلی‌گرم بیوسورفکتانت با ۱۰۰ میلی‌گرم برمید پتاسیم خالص و خشک مخلوط و با فشار زیاد به‌صورت یک قرص نازک و شفاف در آورده شد. سپس در دستگاه FTIR^۱ در محدوده طول موج (cm⁻¹) ۴۰۰۰-۴۰۰ تجزیه و تحلیل شد (۸).

بیوسنتز نانوذرات اکسید منیزیم

جدایه‌های پروبیوتیک به ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت ام آر اس برات اضافه و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار داده شد. ۵۰ میلی‌لیتر نیترات منیزیم ۰/۱ نرمال و هیدروکسید سدیم ۰/۲ مولار به کشت باکتری اضافه و در بن‌ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار داده، سپس به‌مدت ۱۰ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. آنگاه با ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع روماند دور ریخته شد و رسوب با آب دو بار تقطیر چند بار شستشو داده و در آن ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ ساعت خشک شد. ماده حاصله به فرم هیدروکسید نانو می‌باشد که پس از ۴ ساعت قرار دادن در ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد به فرم اکسید تبدیل شد (۱۱).

بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم

اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم بر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC (1431)، *سالمونلا انتریتیدیس* (PTCC 1709)، *باسیلیوس سرئوس* (PTCC 1015)، *اشریشیا کلی* (PTCC 1270) و *سودوموناس آئروژینوزا* (YX 441328) و روش انتشار در چاهک انجام شد. غلظت‌های مختلف از نانوذرات اکسید منیزیم (۳۰، ۱۵، ۷/۵ و ۳/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

⁴ Dynamic light scattering (DLS)

¹ Fourier Transform Infrared Spectroscopy

² (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

³ Butylated hydroxytoluene

طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. در نهایت محصول پی‌سی‌آر به ژل آگاروز ۱ درصد منتقل و به مدت ۱ ساعت در ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز گردید (۱۶، ۱۷). ۲۰۰ میکرولیتر از محصول پی‌سی‌آر برای تعیین توالی قطعات تکثیر شده به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید. سپس توالی‌های ارسال شده با نرم افزارهای Bio edit و Gene runner و مگا ورژن ۷ بررسی گردید، پس از بلاست کردن در سایت NCBI سویه مورد نظر شناسایی گردید (۸).

بحث و بررسی

کشت، جداسازی و شناسایی باکتری‌های پروبیوتیک

در مجموع ۴۰ کلنی از نمونه‌های ماست سنتی جداسازی شد. ۹ کلنی از مجموع کلنی بررسی شده، باکتری‌هایی به اشکال کوکسی و باسیل گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند. از مجموع ۹ جدایه انتخابی در مرحله اول، ۷ نمونه دارای فعالیت همولیتیک بودند. در بررسی نتایج گسترش نفت خام بر روی ۹ نمونه غربال شده همگی مثبت بودند در جدول ۱ و شکل ۱B نشان داده شده است. نتایج به دست آمده از آزمون انهدام قطره نشان داد ۶ نمونه مورد آزمایش بعد از گذشت زمان یک دقیقه حالت کاملاً مسطح نشان دادند (جدول ۱). نتایج به دست آمده از آزمون آمیزندگی (E۲۴) نشان داد که از مجموع ۹ نمونه برتر تست‌های قبل، همه‌ی نمونه‌ها فعالیت امولسیون‌کنندگی نسبتاً خوبی نشان دادند (جدول ۱)، (شکل ۱A). از مجموع تست‌های غربال‌گری فعالیت همولیتیک، آزمون گسترش نفت خام، تست انهدام قطره و شاخص امولسیون‌کنندگی، ۲ جدایه برتر با کدهای L۱۱، L۸ انتخاب شدند.

در این روش، از روی حرکت براونی ذرات درسوسپانسیون کلوئیدی می‌توان توزیع ابعاد ذرات در یک محلول را مشخص نمود. در این آنالیز میزان ۱ میلی‌گرم از نمونه مورد بررسی قرار گرفت (۱۱).

تعیین خصوصیات نانوذرات اکسید منیزیم به روش طیف‌سنجی مادون قرمز

نانو ذرات اکسید منیزیم را با برمید پتاسیم مخلوط کرده با فشار به صورت یک قرص نازک و شفاف درآورده شد. سپس در دستگاه FTIR قرار داده شد و بررسی شد (۱۵).

شناسایی مولکولی سویه برتر

برای شناسایی مولکولی از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (پی‌سی‌آر)^۱ استفاده شد. استخراج DNA توسط کیت استخراج سیناژن طبق دستورالعمل انجام شد. به منظور تکثیر ناحیه rRNA ۱۶S از پرایمرهای اولیگونوکلئوتیدی 5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3' (8F) و 5'AAGGAGGTGATCCAGCCGCA3' (R) استفاده گردید. واکنش پی‌سی‌آر با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر DNA الگو، ۰/۴ میکرومولار از هر پرایمر، ۰/۲ میکرومولار dNTP، ۲ میکرومولار MgCl₂، ۲/۵ میکرولیتر بافر پی‌سی‌آر و ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase انجام گردید. در ادامه واکنش پی‌سی‌آر در دستگاه ترموسایکلر با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت

¹ Polymerase chain reaction (PCR)

جدول ۱- نتایج فعالیت همولیتیک، گسترش نفت خام و انهدام قطره و فعالیت امولسیونه‌کنندگی جدایه‌های پروبیوتیک

جدایه	فعالیت همولیتیک	گسترش نفت خام قطر هاله (میلی‌متر)	آزمون انهدام قطره	فعالیت امولسیونه‌کنندگی % E _{۲۴}
L۳	آلفا	۴۹	کاملاً مسطح	۶۱/۵۳
L۴	آلفا	۳۰	خیلی متمایل	۵۲/۵
L۵	گاما	۳۰/۳	خیلی متمایل	۲۲
L۷	گاما	۲۸	کاملاً مسطح	۵۶/۲۵
L۸	بتا	۵۹/۳	کاملاً مسطح	۵۷/۱۴
L۹	آلفا	۲۹	کاملاً مسطح	۶۰
L۱۰	بتا	۳۴/۳	کاملاً مسطح	۳۵/۷۱
L۱۱	بتا	۵۵/۶	کاملاً مسطح	۵۲/۹۴
L۱۲	آلفا	۵۸/۳	خیلی متمایل	۳۳/۳۳



شکل ۱- تصویر آزمون گسترش نفت خام (A) و تصویر شاخص امولسیون‌کنندگی (B)

تولید بیوسورفکتانت

در بین جدایه‌های انتخاب شده L۱۱ حداکثر توانایی تولید بیوسورفکتانت (۲/۵ گرم در لیتر) را نشان داد و جهت ادامه آزمون‌ها، انتخاب شد.

بررسی اثرات ضد باکتریایی بیوسورفکتانت

فعالیت ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف بیوسورفکتانت در جدول ۲ نشان داده شده است. بیوسورفکتانت جدا شده از جدایه L۱۱ فعالیت گسترده‌ای در برابر سویه‌های

باکتریایی نشان داد. تجزیه و تحلیل حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های شاخص بر روی ۵ آنتی‌بیوتیک مختلف مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در جدول ۳ ارائه شده است. مقایسه اثر تاثیر ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف بیوسورفکتانت استخراج شده و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر روی پنج سویه باکتری بیماری‌زا نشان داد که بیوسورفکتانت استخراج شده جدایه منتخب این پژوهش، از اثرات ضد باکتریایی خوبی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های مذکور علیه سویه‌های بیماری‌زای منتخب برخوردار بودند و حتی در

مواردی عملکرد بالاتری در مقایسه با برخی از این آنتی بیوتیک‌ها داشتند.

جدول ۲- فعالیت ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف بیوسورفکتانت در برابر سویه‌های باکتریایی (اعداد جدول، میانگین قطر هاله ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر می‌باشد)

سویه	۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر	۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر	۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر	۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر
اشرشیاکلی	۲۰ ± ۰/۵۷۷	۱۱ ± ۰/۲۸۸	۰	۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۷ ± ۰/۵	۲۱ ± ۰/۲۸۸	۱۴ ± ۰/۷۶۳	۱۰ ± ۰/۲۸۸
باسیلوس سرئوس	۸ ± ۰/۵	۸ ± ۰/۷۶۳	۴ ± ۰/۵۷۷	۰
سودوموناس آنروژینوزا	۳۰ ± ۰/۲۸۸	۱۶ ± ۰/۷۶۳	۹ ± ۰/۲۸۸	۷ ± ۰/۵۷۷
سالمونلا انتریتیدیس	۱۱ ± ۰/۲۸۸	۶ ± ۰/۵۷۷	۱۰ ± ۰/۷۶۳	۰

جدول ۳- نتایج میانگین قطر هاله ممانعت از رشد آنتی بیوتیک‌ها بر ۵ سویه باکتریایی (اعداد جدول، قطر هاله ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر را نشان می‌دهند)

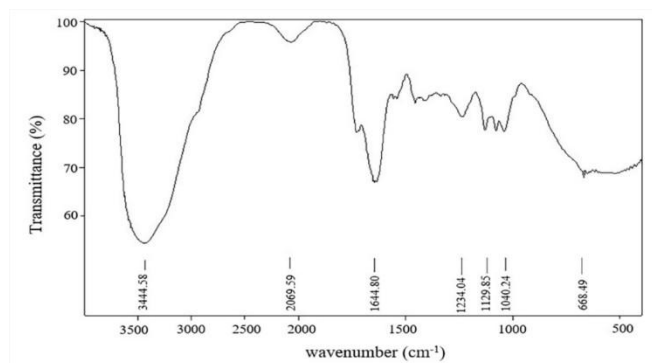
سویه	نالییدیکسیک اسید	پنی سیلین	نیتروفورانتوئین	سفالکسین	اگزاسیلین
اشریشیاکلی	۰	۰	۰	۲۴ ± ۰/۵	۰
استافیلوکوکوس اورئوس	R	R	R	S	R
سودوموناس آنروژینوزا	۰	۰	۱۴ ± ۰/۲۸۸	۰	۰
سالمونلا انتریتیدیس	R	R	R	R	R
باسیلوس سرئوس	۰	۰	۰	۲۴ ± ۰/۲۸۸	۰
	R	R	R	S	R
	۰	۰	۰	۲۱ ± ۰/۷۶۳	۰
	R	R	R	S	R

±: Standard deviation S: Susceptible R: Resistant

ساختار بیوسورفکتانت در طول موج حدود 2067 cm^{-1} و 1644 cm^{-1} ظاهر می‌شوند. پیوندهای کششی- ارتعاشی C-H موجود در ساختار بیوسورفکتانت در ناحیه 1456 cm^{-1} تا 1130 cm^{-1} در طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز FT-IR نمایش داده شده‌اند. طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز وجود بیوسورفکتانت را تایید می‌کند.

تعیین خصوصیات بیوسورفکتانت به روش طیفسنجی مادون قرمز

نتایج طیف FTIR در نمودار (۱) نشان داد که طول موج‌های ظاهر شده در ناحیه 3444 cm^{-1} مربوط به پیوندهای هیدروکسیدی گروه O-H در ساختار بیوسورفکتانت می‌باشد. پیوندهای C-H ارتعاشی موجود در



نمودار ۱- طیف FTIR بیوسورفکتانت

بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم

نتایج مربوط به فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم در جدول (۴) نشان داده شده است. نانوذرات اکسید منیزیم فعالیت خوبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت نشان

دادند. باسیلوس سرئوس حساس ترین جدایه بود. نتایج این پژوهش نشان داد که نانوذرات اکسید منیزیم هیچ اثر ضد باکتری در برابر باکتری‌های گرم منفی / اشریشیا کلی و سالمونلا انتریتیدیس نداشت.

جدول ۴- بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذره اکسید منیزیم بر علیه ۵ سویه باکتریایی

(اعداد جدول، قطر هاله ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر را نشان می‌دهند)

غلظت (mg/ml) سویه	۳۰	۱۵	۷/۵	۳/۷۵
اشریشیا کلی
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۵ ± ۰/۷۶۳	۲۰ ± ۰/۲۸۸	۱۸ ± ۰/۵۷۷	۱۵ ± ۰/۲۸۸
باسیلوس سرئوس	۳۰ ± ۰/۲۸۸	۲۵ ± ۰/۷۶۳	۲۴ ± ۰/۵۷۷	۲۳ ± ۰/۲۸۸
سودوموناس آئروژینوزا	۲۲ ± ۰/۲۸۸	۱۲ ± ۰/۷۶۳	۱۰ ± ۰/۲۸۸	۹ ± ۰/۵۷۷
سالمونلا انتریتیدیس

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید منیزیم

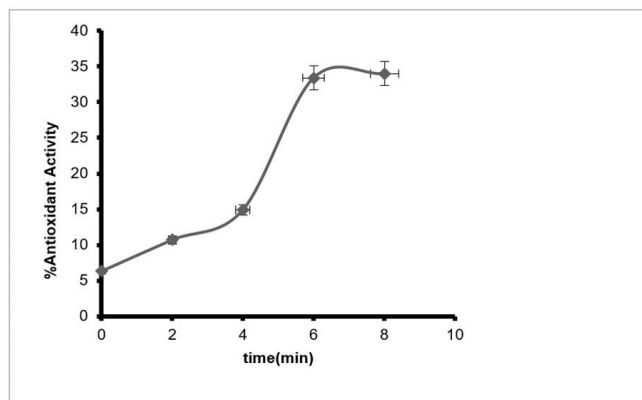
فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات اکسید منیزیم سنتز شده توسط رادیکال‌های DPPH تعیین شد. نتایج تست نشان داد که نمونه نانوساختار اکسید منیزیم دارای اثر آنتی‌اکسیدانی نسبتاً خوبی می‌باشد که به صورت وابسته به زمان اثر می‌کند، و در فاصله زمانی ۱۰ دقیقه با شیب ملایم

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به حدود ۳۵ درصد این مقدار برآورد شده است (نمودار ۲).

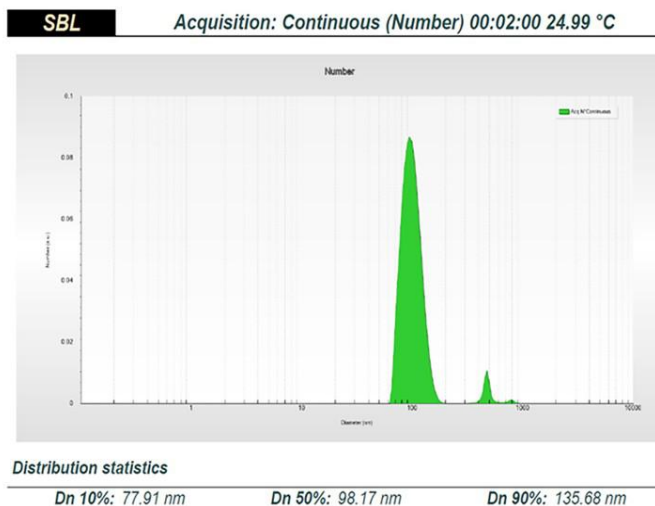
تعیین توزیع اندازه ذره‌ای نانوذرات اکسید منیزیم

تست تفرق نور پویا^۱ جهت تعیین توزیع ابعاد ذرات، نشان داد که ابعاد ۹۰ درصد نانوذرات تشکیل شده ۱۳۵ نانومتر می‌باشد (نمودار ۳).

^۱ DLS :Dynamic light scattering



نمودار ۲- آزمون بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید منیزیم تولید شده توسط سویه پروبیوتیکی

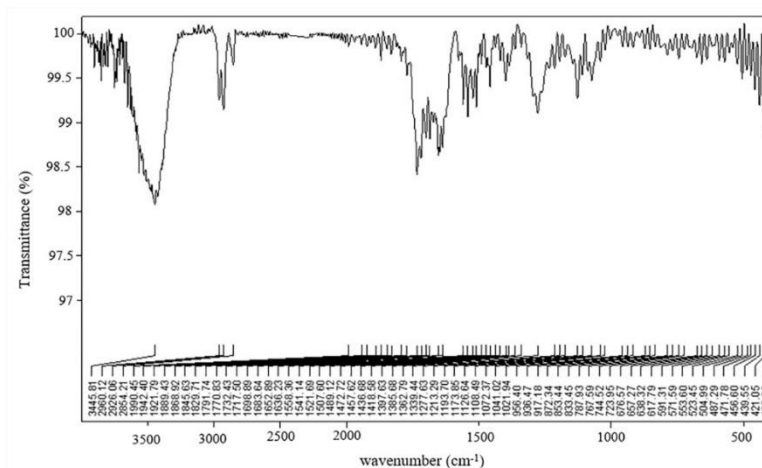


نمودار ۳- نتایج توزیع اندازه ذره‌ای نانوذرات اکسید منیزیم تولید شده توسط سویه پروبیوتیکی

ارتعاشی موجود در ساختار نانوذرات در طول موج حدود 2288cm^{-1} و 1644cm^{-1} ظاهر می‌شوند. پیوندهای C-H موجود در ساختار نانوذرات در ناحیه 1234cm^{-1} و 1129cm^{-1} در طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز FT-IR نمایش داده شده‌اند. وجود پیوندهای فلزی در ناحیه زیر 1000cm^{-1} به صورت پیک‌های ضعیفی نمایان می‌شود. اسپکتروسکوپی مادون قرمز وجود نانوذرات اکسید منیزیم را تایید می‌کند (نمودار ۴).

تعیین خصوصیات نانوذرات اکسید منیزیم به روش طیف‌سنجی مادون قرمز

نتایج طیف‌سنجی اسپکتروسکوپی مادون قرمز FT-IR نشان می‌دهد که طول موج‌های ظاهر شده در ناحیه cm^{-1} ۳۴۴۴ مربوط به پیوندهای هیدروکسیدی گروه O-H در ساختار نانوذرات اکسید منیزیم می‌باشد. پیوندهای C-H



نمودار ۴- طیف FTIR نانوذرات اکسید منیزیم تولید شده توسط سویه پروبیوتیکی

شناسایی مولکولی سویه برتر

از طریق آنالیز تشابه توالی ژن *rRNA* ۱۶S، سویه L۱۱ که دارای خواص تولید بیوسورفکتانت، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تولید کننده نانوذره اکسید منیزیم بود *انتروکوکوس هیرای* شناسایی شد.

بحث

در طی چند دهه اخیر استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در انواع مختلف غذاها به‌خصوص فرآورده‌های لبنی در حال افزایش است، که اثرات بسیار مفیدی بر سلامت انسان دارند (۱۸). در مطالعه حاضر جداسازی باکتری‌های پروبیوتیک از ماست سنتی شهر رفسنجان انجام گرفت. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، ۳ نمونه (۳۳/۳ درصد) از جدایه‌های منتخب از نظر فعالیت همولیتیک، ۶ نمونه (۶۶/۶ درصد) از نظر انهدام قطره و ۹ نمونه (۱۰۰ درصد) براساس گسترش نفت‌خام مثبت در نظر گرفته شدند. غربال‌گری تکمیلی با اندازه‌گیری فعالیت امولسیون‌کنندگی انجام شد. *انتروکوکوس هیرای* جدایه L۱۱ با توانایی تولید بالا بیوسورفکتانت انتخاب شد. اثرات ضدباکتریایی بیوسورفکتانت حاصل از این سویه در غلظت‌های متفاوت در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی، خاصیت ضدباکتری

خیلی خوبی نشان داد و برخی از آنها حتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های منتخب، قوی‌تر و مؤثرتر عمل می‌کنند. در تحقیقی خصوصیات بیوسورفکتانت تولید شده توسط باکتری‌های پروبیوتیک را بررسی کردند که نشان دادند بیوسورفکتانت‌های تولید شده توسط سویه‌های غربال شده، در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های منتخب از فعالیت ضدباکتریایی خیلی خوبی برخوردار هستند. برخی از آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های منتخب قوی‌تر و مؤثرتر عمل کردند که با نتایج مطالعه حاضر مشابه می‌باشد که دلیل آن می‌تواند روش یکسان آزمایش باشد (۸). در بررسی مطالعات مشابه، وجود برخی تفاوت‌ها در میزان اثرات ضد میکروبی مشاهده شده در این مطالعه و تحقیقات مشابه می‌تواند به دلیل تفاوت سوبستراهای مختلف برای رشد باکتری تولید کننده بیوسورفکتانت، استفاده از روش‌های مختلف برای استخراج و غیره باشد. همچنین تفاوت در اثرات ضد میکروبی نشان‌دهنده تفاوت‌های موجود در ترکیبات بیوسورفکتانت‌ها می‌باشد. روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی معمولاً برای سنتز نانوذرات اکسید منیزیم استفاده می‌شوند. مواد زیستی مانند عصاره‌های گیاهی، قارچ‌ها و باکتری‌ها را می‌توان برای سنتز نانوذرات اکسیدهای فلزی از طریق روش‌های سنتز سبز استفاده کرد (۱۹). طیف‌سنجی FTIR برای تجزیه و تحلیل گروه‌های عاملی که در واکنش دخیل

دارد و احتمالاً دلیل مغایرت، روش آزمون متفاوت می باشد که در این تحقیق از روش انتشار در آگار به کمک چاهک استفاده شده است (۲۳). در مطالعه‌ای تأثیر اندازه نانوذرات اکسید منیزیم بر فعالیت ضد باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید منیزیم در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی فعالیت بیشتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت دارند. مکانیسم‌های مختلفی برای توصیف اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید منیزیم پیشنهاد شده است (۲۴). نانوذرات ابتدا بار منفی را در سطح خارجی باکتری جذب کردند. این اتصال هم می‌تواند تعادل الکترولیت باکتری و هم چرخه تنفسی آن‌ها را مختل کند. سپس نانوذرات بر پروتئین‌ها، DNA و آنزیم‌های زنجیره تنفسی که مسئول رشد سلولی و تکثیر هستند، تأثیر می‌گذارند و در نتیجه رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال تشکیل می‌شوند (۲۵).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های حاصله از این تحقیق، سنتز سبز نانوذرات اکسید منیزیم از طریق باکتری‌های پروبیوتیک امکان‌پذیر می‌باشد و این روش، سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه بوده و به جای روش‌های شیمیایی و فیزیکی پیشنهاد می‌گردد. نانوذرات اکسید منیزیم سنتز شده توسط سویه پروبیوتیکی می‌توانند به‌عنوان عوامل ضد میکروبی فعال و کاندیدای مناسب برای کنترل آلودگی‌های میکروبی غذایی در نظر گرفته شوند.

تشکر و قدردانی

از همکاران محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهید سلیمانی (کرمان)، سپاسگزاری می‌گردد.

هستند، استفاده شد. در مطالعه دیگری نیز نتایج مشابه با تحقیق حاضر به دست آوردند که وجود گروه‌های عاملی در نانوذره را تأیید می‌کند (۲۰). آنالیز توزیع اندازه ذره‌ای نانوذرات نشان‌دهنده تعیین توزیع ابعاد ذرات می‌باشد. در پژوهشی دیگر سنتز نانوذرات اکسید منیزیم با استفاده از *آسپرژیلوس توبینجنسیس*^۱ را مورد بررسی قرار دادند. اندازه متوسط نانوذرات تولید شده را ۲/۸ نانومتر و کروی شکل با استفاده از آنالیز توزیع اندازه ذره‌ای نانوذرات و میکروسکوپ الکترونی گزارش کردند (۲۱). در این تحقیق خواص آنتی‌اکسیدانی نانوذره اکسید منیزیم اثبات شد. در راستای این تحقیق، مطالعه‌ای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید منیزیم حاصل از گیاه *ارتیمسیا آبروتانوم* با پارامتر IC50 در حدود ۴/۷۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان دادند. نتایج به دست آمده حاکی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه بوده که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مشابه می‌باشد (۲۲). در مطالعه حاضر فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم در برابر برخی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این نانو ذرات بر باکتری‌های گرم مثبت، اثر ضد میکروبی دارند و هیچ‌گونه فعالیت ضد باکتریایی بر باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *سالمونلا انتریتیدیس* ندارند. محققین دیگری تأثیر ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید منیزیم با میانگین اندازه ۲۰ نانومتر بر تعدادی از باکتری‌ها از جمله *اشرشیاکلی*، *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر* را با روش سنجش رزوزارین مورد بررسی قرار دادند. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای *اشرشیاکلی*، *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر* به ترتیب ۱، ۲ و ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر *کمپیلوباکتر* در مدت ۲ ساعت به طور کامل مهار شد. در غلظت ۲ تا ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رشد *اشرشیاکلی* و *سالمونلا* طی ۸-۶ ساعت متوقف شدند. باکتری *کمپیلوباکتر* نسبت به دو باکتری *اشرشیاکلی* و *سالمونلا* حساس‌تر بود که نسبت به مطالعه حاضر تفاوت

¹ *Aspergillus tubingensis*

9- Anandaraj B, Thivakaran P. Isolation and production of biosurfactant producing organism from oil spilled soil. *J Biosci Tech.* 2010;1(3):6-120.

10- Andrews JM, BSAC Working Party on Susceptibility Testing ft. BSAC standardized disc susceptibility testing method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2001;48(1): 43-57.

11- Mohanasrinivasan V, Devi CS, Mehra A, Prakash S, Agarwal A, Selvarajan E, et al. Biosynthesis of MgO Nanoparticles Using *Lactobacillus Sp.* and its Activity Against Human Leukemia Cell Lines HL-60. *Bio-NanoScience.* 2018;8(1):53-249.

12- Shah NP. Functional cultures and health benefits. *International dairy journal.* 2007; 17(11):77-1262.

13- Darijani V, Kariminik A. Antibacterial effect of *Salvia macrosiphon* essential oil against 4 human pathogenic bacteria and identification of the oil constituents. *Quality and durability of agricultural products and food.* 2021;1(2):1-8.

14- Chen Z, Bertin R, Frolidi G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food chemistry.* 2013;138(1):20-414.

15- Mohamed MA, Jaafar J, Ismail A, Othman M, Rahman M. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Membrane Characterization: Elsevier;* 2017:3-29.

16- Lhomme E, Lattanzi A, Dousset X, Minervini F, De Angelis M, Lacaze G, et al. Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology.* 2015;215:70-161.

References

1- Satpute SK, Kulkarni GR, Banpurkar AG, Banat IM, Mone NS, Patil RH, et al. Biosurfactant/s from *Lactobacilli* species: Properties, challenges and potential biomedical applications. *Journal of basic microbiology.* 2016;56(11):58-1140.

2- Perricone M, Bevilacqua A, Altieri C, Sinigaglia M, Corbo MR. Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages.* 2015;1(2):95-103.

3- Widyastuti Y, Febrisiantosa A. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food and Nutrition Sciences.* 2014;5(4):1-8.

4- Joshi SJ, Desai AJ. Biosurfactant's role in bioremediation of NAPL and fermentative production. *Biosurfactants: Springer;* 2010: 35-222.

5- Imani MM, Safaei M. Optimized synthesis of magnesium oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Journal of Nanotechnology.* 2019.

6- Pourahmad A, Movahedi N. Fabrication, characterization and antibacterial properties of mgo nanoparticles in zeolite matrix. *Iranian Journal of Medical Microbiology.* 2018;12(2):24-116.

7- Jafari B, Rezaie A, Alizadeh S. Isolation and identification of potentially probiotic bacteria from traditional dairy products of Ardabil region in Iran. *Ann Biol Res.* 2011;2:17-311.

8- Rayeni LT, Nezhad SS. Characterization of biosurfactant produced by probiotic bacteria isolated from human breast milk. *International Journal of Basic Science in Medicine.* 2018;3(1):18-24.

- MgO nanoparticles using *Aspergillus tubingensis* TFR-3. Journal of Bionanoscience. 2014;8(1):34-8.
- 22- Dobrucka R. Synthesis of MgO nanoparticles using *Artemisia abrotanum* herba extract and their antioxidant and photocatalytic properties. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science. 2018;42(2):55-547.
- 23- Xie Y, He Y, Irwin PL, Jin T, Shi X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. Applied and environmental microbiology. 2011;77(7):31-2325.
- 24- Sundrarajan M, Suresh J, Gandhi RR. A comparative study on antibacterial properties of MgO nanoparticles prepared under different calcination temperature. Digest journal of nanomaterials and biostructures. 2012; 7(3):9-983.
- 25- Li W-R, Xie X-B, Shi Q-S, Zeng H-Y, Ou-Yang Y-S, Chen Y-B. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. Applied microbiology and biotechnology. 2010;85(4):22-1115.
- 17- Tajalli M, Motaghi MM, Kariminik A. Identification and molecular detection of microbial flora of fermentation agent of different types of traditional dough products of Kerman province. Journal of Quality and Durability of Agricultural Products and Food Stuffs. 2021;1(1):40-52.
- 18- Jomehzadeh N, Javaherizadeh H, Amin M, Saki M, Al-Ouqaili MT, Hamidi H, et al. Isolation and identification of potential probiotic *Lactobacillus* species from feces of infants in southwest Iran. International Journal of Infectious Diseases. 2020;96:30-524.
- 19- Bandeira M, Giovanela M, Roesch-Ely M, Devine DM, da Silva Crespo J. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. Sustainable Chemistry and Pharmacy. 2020;15:100223.
- 20- Moorthy SK, Ashok C, Rao KV, Viswanathan C. Synthesis and characterization of MgO nanoparticles by Neem leaves through green method. Materials Today: Proceedings. 2015;2(9):8-4360.
- 21- Raliya R, Tarafdar J, Choudhary K, Mal P, Raturi A, Gautam R, et al. Synthesis of

Biosynthesis of Magnesium Oxide Nanoparticles by *E. Hirae* Isolated from Traditional Yogurt in Rafsanjan, Iran.

Ozra Hosseini-Naveh¹, Ashraf Kariminik*², Shahla Soltani-Nezhad³, Enayatollah Sheikhhosseini⁴

1- PhD student, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

3- Assistant Professor, Department of Microbiology, Jiroft Branch, Islamic Azad University, Jiroft, Iran

4- Associate Professor, Department of Chemistry, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

Corresponding author: a.kariminik@iauk.ac.ir

Received: 31/10/2022, Accepted: 26/11/2022

Abstract

There is a lot of evidence about the beneficial biological effects of probiotics in food and dairy products. Antimicrobial properties, ability to produce biosurfactant and biosynthesis of nanoparticles are among the significant effects of these organisms. The aim of this research is the biosynthesis of magnesium oxide nanoparticles by *Enterococcus hirai* from traditional yogurt. MRS agar culture medium was used to isolate probiotics. Biosurfactant-producing isolates were examined in terms of hemolysis, crude Oil Spreading Assay, Drop Collapse Assay and emulsification index, the best isolate for the production of magnesium oxide nanoparticles, size, antioxidant activity, FTIR and antibacterial effects were evaluated and identified by PCR. 9 isolates had probiotic properties, isolate L11 was selected with higher biosurfactant production ability. The antibacterial property of the produced biosurfactant was shown against Gram-positive and Gram-negative bacteria. This strain was also able to produce magnesium oxide nanoparticles. The formed nanoparticles with a size of 135 nm showed significant antibacterial and antioxidant effects. The best strain was introduced as *Enterococcus hirai*. According to the findings, it seems that this probiotic strain producing biosurfactant and magnesium oxide nanoparticles can be used in food and industrial industries.

Key words: Enterococcus Hirai, Magnesium Oxide Nanoparticles, Biosurfactant, Yogurt