

اثر نانوذرات اکسید نیکل بر روی میکروارگانیسم های آلوده کننده موجودات آبی

عسل نعیم آبادی^۱، مینا رمضانی^{۲*}، رامین محمدی آلوچه^۳

۱- کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۶

چکیده

ظهور فزاینده مقاومت آنتی بیوتیکی در میان گونه های رایج میکروارگانیسم ها، جامعه علمی را به جستجوی عوامل ضد میکروبی جدید ترغیب کرده است. در این بین از نانوذرات فلزی به عنوان عوامل ضد میکروبی بر علیه گونه های باکتریایی متعددی استفاده شده است. هدف از این مطالعه سنتز نانوذرات اکسید نیکل به روش هیدروترمال و بررسی خواص ضد میکروبی آنها می باشد. نانوذرات اکسید نیکل به روش هیدروترمال سنتز شد و سپس آنالیزهای XRD، EDX، SEM، FTIR، UV-vis جهت بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی این نانومواد انجام شد. فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی آن بر علیه باکتری گرم مثبت استرپتوکوکوس اینیایی و باکتری گرم منفی آئروموناس هیدروفیلا و قارچ فوزاریوم سولانی به کمک آزمون های MIC و MBC و چاهک گذاری بررسی گردید. سنتز بهینه نانوذرات اکسید نیکل در طول موج ۱۹۰ نانومتر، با اتصالات و پیوندهای مناسب بین عناصر اکسیژن و نیکل، ساختار بلوری مشخص در اندازه بین ۶۶ تا حدود ۱۰۰ نانومتر و تقریباً کروی شکل با خلوص قابل قبول، انجام پذیرفت. با توجه به مقاومت آنتی بیوتیکی دو گونه استاندارد استرپتوکوکوس اینیایی و آئروموناس هیدروفیلا، MIC نانوذره برای گونه استرپتوکوکوس اینیایی ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر و برای سوش گرم منفی آئروموناس هیدروفیلا، غلظت ۴۰۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر مشخص گردید. مقادیر مربوط به MBC نانوذرات اکسید نیکل مشابه MIC آنها ارزیابی گردید. از طرفی ارزیابی های مرتبط با فرآیند ضد قارچی نانوذرات اکسید نیکل حاکی از اثرات ضعیف این ترکیب علیه قارچ فوزاریوم سولانی بود. از این مطالعه نتیجه شد با توجه به اینکه باکتری های استرپتوکوکوس اینیایی و آئروموناس هیدروفیلا و قارچ فوزاریوم سولانی بعضاً در محیط های آبی و موجودات زنده ساکن این محیط ها ایجاد آلودگی و بیماری می نمایند، نتایج این پژوهش می تواند جالب توجه باشد اما می بایست مطالعات بیشتر، گسترده تر و تخصصی تر همراه با ارزیابی در شرایط طبیعی بدن (in vivo) در این خصوص صورت گیرد.

کلمات کلیدی: نانوذرات، اکسید نیکل، سنتز هیدروترمال، استرپتوکوکوس اینیایی، آئروموناس هیدروفیلا، فوزاریوم

سولانی

* نویسنده مسئول: مینا رمضانی

آدرس: گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

پست الکترونیک: mina.ramezani@gmail.com

مقدمه

استفاده از عوامل شیمیایی برای درمان و ضد عفونی، یکی از روش‌های اصلی پیشگیری و کنترل عوامل عفونی در چند دهه گذشته بوده است (Rice, 2009). یکی از مشکلات جدی که بر همه ارگانسیم‌ها تاثیر می‌گذارد، توسعه سریع مقاومت آنتی بیوتیکی است که به‌ویژه در گونه‌های آبرزی به چشم می‌خورد. در طول سال‌ها، گزارش‌های علمی درباره خطرات سلامتی مرتبط با استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در ماهی‌ها و دیگر موجودات آبرزی قطعی بوده‌اند (Sood et al., 2015). استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها، تأثیرات منفی بر سیستم‌های زیستی و محیط زیست می‌گذارد و اغلب منجر به ایجاد و گسترش الگوی با مقاومت دارویی بالا در بین پاتوژن‌ها می‌شود (Swain et al., 2014).

در میان نانوذرات اکسید فلزات واسطه (TMO)، به طور معمول، اکسید نیکل یکی از مهم‌ترین مواد اکسید فلز واسطه با ساختار شبکه مکعبی است که کاربردهای زیادی دارد. استفاده از نانوذرات به عنوان عوامل ضد میکروبی نه تنها نوید بخش غلبه بر مقاومت‌های میکروبی است بلکه از اثرات ناخواسته بر روی اکوسیستم‌ها نیز جلوگیری می‌کند و یا آنها را به حداقل می‌رساند (Song et al., 2019; Ali et al. and Gao, 2008; Deshpande et al., 2016). محققان فعالیت ضد میکروبی نانوذرات روی آلومینات و نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی آلومینات را علیه سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کولای ارزیابی کردند و فعالیت ضد باکتری بسیار خوبی را مشاهده نمودند که می‌تواند به عنوان یک ترکیبات ضدباکتریایی جدید در مطالعات بسته بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند (Taheri et al., 2020). نانوذرات به دلیل نسبت زیاد سطح به حجم، فعالیت سطحی بالایی از خود نشان می‌دهند (Nisar et al., 2019).

(2019; Zarenezhad et al., 2022). میل ترکیبی بالای

نیکل به اجزای حاوی سولفور و فسفر مانند DNA و پروتئین‌ها، تکثیر DNA را مختل کرده و باعث تغییر شکل پروتئین می‌شود (Radzig et al., 2013; Galdiero et al., 2015). بطور کلی فعالیت‌های ضد باکتریایی نانوذرات نیکل مربوط به محتوای یون نیکل است که به سلول باکتری نفوذ کرده و به سطح غشای سلولی باکتری و محیط درون سلولی می‌رسد (Galdiero et al., 2015). این هجوم کاتیون‌های نیکل اندامک-هایی مانند ریبوزوم‌ها را از بین می‌برد و بر متابولیسم باکتری‌ها تأثیر می‌گذارد (Radzig et al., 2013; Xing et al., 2015). مطالعه متون نشان می‌دهد که به دلیل جاذبه الکترواستاتیک بین سلولی با بار منفی و یون‌های نیکل با بار مثبت، نفوذ یون‌ها به داخل سلول اتفاق می‌افتد (Gomaji Chaudhary et al., 2015; Xing et al., 2016; Imran Din and Rani, 2015). فرآیندهای مربوط به تولید اکسیدهای فلزی تحت شرایط هیدروترمال یکی از مهم‌ترین جنبه‌های رویکرد هیدروترمال در تولید مواد است. مزیت این روش، تهیه نانوذرات با توزیع یکنواخت و توانایی کنترل اندازه ذرات می‌باشد. از دیگر مزایای این روش می‌توان به خلوص و همگنی بالای محصول، تقارن بلورها، توزیع بلورها، توزیع اندازه همگن، تک مرحله‌ای بودن فرآیند، امکان تولید نانوذرات با اندازه‌های مختلف و کم بودن مصرف انرژی اشاره نمود (Magaye and Zhao, 2012). *Streptococcus iniae* گونه‌ای از باکتری‌های گرم مثبت و کروی شکل است و از مهم‌ترین پاتوژن‌های ماهی‌ها محسوب می‌شود. عفونت در ماهی‌ها به شکل زخم‌های پوستی، متنگوانسفالی و سپتی سمی است. این عفونت در انسان‌ها نیز به صورت التهاب پوستی، سپسیس دیده می‌شود (Agnew and Barnes, 2007).



آمده به مدت ۵ ساعت در آون خشک گردید و در نهایت در دمای ۴۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت کلسینه شده تا نانوذره اکسید نیکل مورد نظر حاصل گردد (Tran, Park and Son, 2024).

ارزیابی نانوذرات اکسید نیکل تولید شده

به منظور ارزیابی نانوذرات اکسید نیکل تولید شده از طیف سنجی مرئی فرابنفش (UV)، تفرق یا پراش اشعه ایکس (XRD)، میکروسکوپی الکترونی روبشی (FE-SEM)، طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) یا (EDAX) و آنالیز مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) استفاده گردید.

در مرحله اول و پس از گذشت مدت ۲۴ ساعت از زمان واکنش و مشاهده تغییرات، به منظور تایید و بررسی صحت و وضعیت نانوذره اکسید نیکل سنتز شده، آنالیز طیف سنجی مرئی فرابنفش به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Biomate5, Thermo (USA) در طول موج بین ۱۹۰ تا ۹۰۰ نانومتر انجام پذیرفت (Rahaiee et al., 2020). جهت انجام آنالیز XRD در این پژوهش، مقدار ۰/۲ گرم نانوذرات اکسید نیکل با استفاده از دستگاه (PW1730, Philips (Netherlands) در آن لود شده و سپس ولتاژ ۴۰ KV و جریان ۴۰ mA دستگاه توسط لامپ cuka در دما ۱۰۰ تا ۱۰۰ درجه برای شناسایی ماهیت نانوذرات برقرار گردید (Javan et al., 2020). در نمودار طیفی XRD پیک های تیز نشان دهنده اندازه بلورک در مقیاس نانو هستند.

$$D = 0.9 \lambda / \beta \cos \theta$$

در این رابطه، λ طول موج پرتو X، β پهنای پیک در نیمه ارتفاع بیشینه (FWHM) بر حسب رادیان و θ زاویه پراش براگ است.

به منظور بررسی ریخت شناسی و اندازه نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش هیدروترمال در این پژوهش از

Aeromonas hydrophila نیز یک باکتری متحرک گرم منفی و میله ای شکل است و بیشتر در آب های شور یافت می شود. طیف گسترده ای از عفونت ها شامل مننژیت و اندوکاردیت را در انسان ایجاد می کند و همچنین نقش مهمی در بیماری زایی برای ماهی ها، قورباغه ها و دیگر حیوانات آبی دارد (Kashedikar and Chhabra, 2010). *Fusarium solani* مسئول اپیزوتیک های فاجعه آمیز در سخت پوستان آب شیرین و آب شور است و عمدتاً بر روی آبشش ها و کوتیکول تاثیر می گذارد. این قارچ از ضایعات با آبشش های سیاه نوعی میگوی پرورشی نیز جدا شده است (Mostafa Mahmoud, 2019). لذا این مطالعه با هدف سنتز نانوذرات اکسید نیکل به روش هیدروترمال و بررسی خواص ضد میکروبی و ضد قارچی آنها بر علیه باکتری های / استرپتوکوکوس / اینیایی و آئروموناس هیدروفیلا و قارچ فوزاریوم سولانی برای پیشگیری از ورود آنها به محیط زیست و مقابله با عفونت های ناشی از کلونیزاسیون آنها در برخی از جانوران نظیر ماهی ها و همینطور توقف تولید انواع توکسین در آنها، برای اولین بار به مرحله اجرا در آمد.

مواد و روش ها

سنتز نانوذرات اکسید نیکل به روش هیدروترمال

در این پژوهش از نیترات نیکل شش آب، پلی اتیلن گلیکول و اوره به منظور تهیه نانوذرات اکسید نیکل استفاده گردید. مقدار ۷ گرم نیترات نیکل را به ۲۰ میلی-لیتر آب مقطر افزوده و سپس به وسیله همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت هم زده شد. در مرحله بعد ۱/۵ گرم سورفاکتانت و اوره به محلول اضافه گردید. پس از آن محلول را به راکتور انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. رسوب بدست



دستگاه FESEM مدل MIRA II ساخت کشور جمهوری چک استفاده گردید. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و مطالعه نقطه به نقطه، جهت بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات پس از پوشش دهی با طلا در ولتاژ زیر ۳۰ KV و تحت فشار خلاء (10^{-5} Torr) مورد تصویربرداری FE-SEM قرار گرفتند. طی آنالیز EDS در مطالعه حاضر، مقدار ۰/۰۲ گرم از نانوذرات اکسید نیکل را در دستگاه FESEM مدل MIRA II ساخت کشور جمهوری چک لود نموده و خروجی های مرتبط با آن ثبت گردید (Javadi, Mohammadzadeh and Aghaeinejad-Meybodi, 2023). در روش طیف سنجی FT-IR، پرتو مادون قرمز (IR) از نمونه عبور می کند. بخشی از اشعه مادون قرمز توسط نمونه جذب و بخشی دیگر از داخل آن عبور می کند. در نتیجه طیف ها بر اساس جذب و عبور IR، خواص مولکول های نمونه را نشان می دهند. در این تحقیق از حالت جامد نمونه برای انجام آزمایش استفاده شده است، بدین ترتیب که مقدار ۱ میلی گرم از نمونه جامد را که کامل پودر شده با نسبت ۱ به ۱۰۰ با پتاسیم برمید کاملاً خشک، مخلوط کرده و سپس مقداری از آن ها را در قالب فلزی مخصوص ریخته و با دستگاه پرس هیدرولیک تحت فشار قرار می دهیم تا یک قرص شفاف به دست آید. سپس از دستگاه AVATAR, Thermo (USA) جهت خوانش نمونه ها در ناحیه طیف IR میانه ($4000-400$ cm⁻¹) استفاده گردید (Venkatachalapathy et al., 2022).

بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید نیکل

از سوش های استاندارد باکتری های /استرپتوکوکوس /ینیایی (PTCC 1887)، آئروموناس هیدروفیلا (PTCC 1890) و قارچ فوزاریوم سولانی (IBRC-M 30506)

تهیه شده از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران و سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، به منظور ارزیابی های ضد میکروبی نانوذرات اکسید نیکل استفاده گردید.

در ابتدا از کشت ۲۴ ساعته باکتری و قارچ مورد آزمایش، سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند (1×10^8 cfu/ml) تهیه گردید.

بررسی حساسیت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک

پس از کشت و آماده سازی نمونه های باکتری، حساسیت آنها نسبت به چند آنتی بیوتیک با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مورد آزمون قرار گرفت. بدین منظور برای باکتری /استرپتوکوکوس /ینیایی آنتی-بیوتیک های پنی سیلین (P)، ریفامپین (RA)، مروپنم (Men) و تتراسایکلین (Te) و برای باکتری آئروموناس هیدروفیلا آنتی بیوتیک های جنتامایسین (GM) و سفنازیدیم (CAZ) در نظر گرفته شد. در این مرحله پس از تهیه غلظت نیم مک فارلند از سویه های باکتریایی، کشت آن ها در محیط مولر هینتون آگار انجام گرفت. دیسک های آنتی بیوتیکی بر روی پلیت ها قرار داده شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. در نهایت با اندازه گیری قطر هاله های عدم رشد تشکیل شده، نتایج پس از مقایسه با جداول استاندارد CLSI 31st Edition 2021، گزارش گردید (Puneeth et al., 2022).

بررسی اثر ضد میکروبی به روش چاهک (Agar well diffusion)

از هر یک از سوش های باکتریایی /استرپتوکوکوس و آئروموناس، پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند با استفاده از محلول نمکی فیزیولوژیک، به کمک سواب پنبه ای استریل، کشت به



به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شدند و پس از طی این مدت، چاهک ها از نظر وجود کدورت باکتریال تفسیر گردید. جهت اندازه گیری حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) نیز از چاهک هایی که در مرحله تعیین MIC، رشد باکتری در آنها مشاهده نشده بود بر روی محیط کشت آگار تلقیح گردید و در صورت عدم رشد کلنی باکتریایی در پلیت، کمترین غلظت مربوط به چاهک ها، به عنوان حداقل غلظت باکتری کشی سنجش و به ثبت رسید (Ilbeigi, Kariminik and Moshafi, 2019).

نتایج

در طی سنتز نانوذرات اکسید نیکل به روش هیدروترمال، پس از خشک کردن آن، پودری سیاه رنگ حاصل شد که به عنوان نانوذرات اکسید نیکل جهت انجام مراحل بعدی در ظرف شیشه ای در بسته نگهداری گردید.

در ارزیابی نانوذرات اکسید نیکل به روش XRD همانطور که در نمودار شکل ۱ مشاهده می شود، برطبق استاندارد JCPDS No: 65-2901، در نواحی 75° - 79° - 63° - 43° - 37° 2θ طیف جذبی نانوذرات اکسید نیکل، پیک های واضحی وجود دارد که از دلایل تأیید و صحت سنتز موفق این نانوذرات می باشد. آنالیز ساختاری نشان می دهد که نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش هیدروترمال در این مطالعه دارای ساختار بلوری با شاخص های میلر (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱) و (۲۲۲) در شبکه مکعبی (FCC) است. همچنین وجود قله های تیز در الگوها نشان دهنده میزان بالایی از خصلت بلورینگی برای این نانوذرات می باشد (Ramírez-Meneses et al., 2014).

صورت یکنواخت در محیط مولر هینتون آگار انجام گرفت. سپس چاهک هایی به قطر ۸ میلی متر در محیط های کشت حفر شده و مقدار ۵۰ میکرولیتر از غلظت های ۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۸، ۶، ۴ میلی گرم در میلی لیتر نانوذرات اکسید نیکل به داخل چاهک ها انتقال داده شد.

برای قارچ فوزاریوم نیز روش مشابه و در محیط سابرو دکستروز آگار انجام پذیرفت با این تفاوت که غلظت های به کار رفته از نانوذرات معادل ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ میلی گرم در میلی لیتر بود.

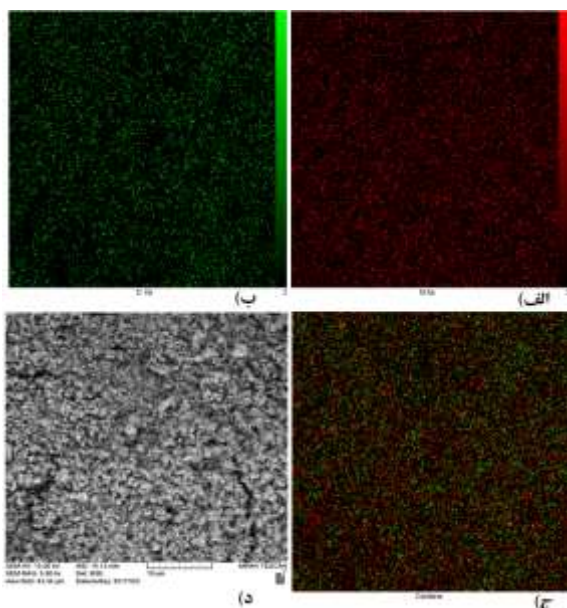
پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شدند و پس از طی این مدت قطر هاله های عدم رشد، اندازه گیری و ثبت گردید (Athanasiadis et al., 2009).

بررسی اثر ضد باکتریایی به روش میکرودايلوشن (MIC و MBC)

در این روش حداقل غلظت بازدارنده از رشد باکتری های مورد بررسی توسط نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده اندازه گیری و تعیین گردید. روش کار بدین صورت بود که همانند متد چاهک، از هر کدام از سوش های پاتوژن تهیه شده، سوسپانسیونی با کدورت ۰/۵ مک فارلند، تهیه گردید. سپس رقت های سریالی از نانوذره تهیه شد. این رقت ها در ۱۰ خانه از چاهک الایزا که هر کدام حاوی محیط کشت براث بودند اضافه شده و به ترتیب ۱، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴، ۱/۱۲۸، ۱/۲۵۶ و ۰ در نظر گرفته شدند. لذا غلظت های (بر حسب $\mu\text{g/ml}$) معادل ۴۰۹۶، ۲۰۴۸، ۱۰۲۴، ۵۱۲ و ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶ و ۰ برای نانوذرات اکسید نیکل حاصل گردید. سپس به هر کدام از چاهک ها و نیز چاهک شاهد (غلظت صفر) از سوسپانسیون باکتری های مربوطه افزوده شد. کنترل منفی حاوی محیط کشت می باشد. میکروپلیت ها

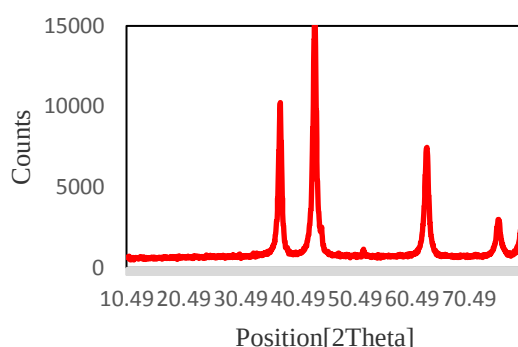


EDS (Mapping)، توزیع ذرات اکسیژن و نیکل به صورت مجزا و در ترکیب باهم را نشان داد.

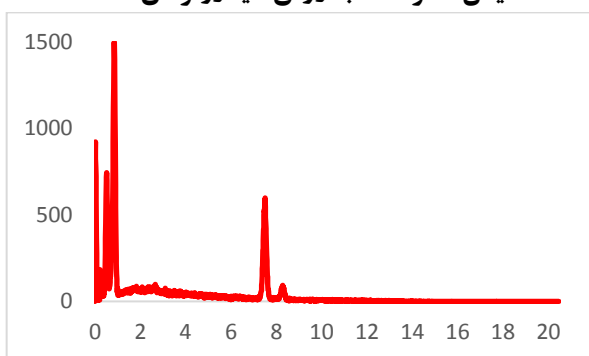


شکل ۳: تصاویر مربوط به Mapping آنالیز EDS نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش هیدروترمال. (الف) نیکل (ب) اکسیژن (ج) در ترکیب باهم (اکسید نیکل) (د) تصویر SEM در مقیاس ۱۰ میکرومتر (بزرگنمایی ۵/۰۰ kx)

شناسایی گروه‌های عملکردی موجود در نانوذرات اکسید نیکل و گروه‌های احیا کننده یونی موجود در آن در محدوده $400-4000\text{ cm}^{-1}$ نشان داد، وجود پیک در طول موج های 478 cm^{-1} ، 628 cm^{-1} و 717 cm^{-1} به اتصالات نیکل با اکسیژن (Ni-O) مرتبط است. همچنین پیک قوی 833 cm^{-1} مربوط به حضور مولکول‌های آب است که به خوبی حذف نشده‌اند. پیک‌های پهن و قوی در 1234 cm^{-1} تا 1465 cm^{-1} با ارتعاشات گروه‌های کربنات موجود در نانوذره در ارتباط می‌باشد. علاوه بر آن پیک-هایی در محدوده 3363 cm^{-1} تا 3594 cm^{-1} مشاهده می‌شود که دلیل آن ارتعاشات کششی O-H داخل مولکولی بین مولکول آب جذب شده و عنصر اکسیژن در اکسید نیکل می‌باشد (شکل ۴).



شکل ۱. طیف مربوط به آنالیز XRD نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش هیدروترمال

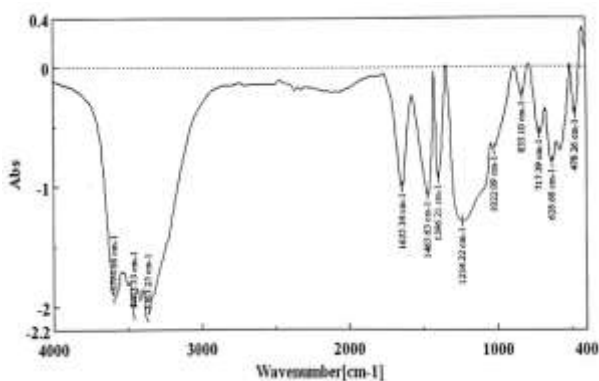


شکل ۲: طیف مربوط به آنالیز EDS نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش هیدروترمال

همچنین شناسایی فازهای موجود در نانوذرات اکسید نیکل و آنالیز عناصر موجود در نمونه سنتز شده با استفاده از EDS، نشان داد پیک‌های قوی موجود در نواحی با پتانسیل ورودی حدود ۱، ۷/۵ و ۸/۵ کیلو الکترون ولت (KeV) نشان دهنده بیشترین میزان عنصر نیکل بود. سیگنال قوی دیگر موجود مربوط به اکسیژن در ترکیب نانوذره اکسید نیکل بود که در نقطه 0.5 KeV حاصل شد. پیک‌های ضعیف دیگر قابل مشاهده در نمودار EDS مربوط به ترکیبات آلی و معدنی و ناخالصی‌های موجود در محلول نانوذرات اکسید نیکل بود (Makhlof et al., 2022) مشخص شد که ۷۲/۴۵ درصد نیکل و ۲۷/۵۵ درصد اکسیژن در نمونه وجود دارد (شکل ۲). همچنین آنالیز نقشه برداری

اثر نانوذرات اکسید نیکل بر روی میکروارگانیزم های آلوده کننده موجودات... (نعیم آبادی و همکاران)..... ۱۳۷.

طیف سنجی نور مرئی - فرابنفش آنالیز در محدوده‌ی ۱۹۰ تا ۹۰۰ نانومتر انجام گرفت که نانوذرات اکسید نیکل بیشترین جذب را در طول موج ۱۹۰ نانومتر و کمترین جذب را در طول موج ۲۳۷ نانومتر نشان دادند که این نشان دهنده وجود نانوذرات سنتز شده درون محلول می باشد. افزایش جذب به تدریج در سراسر طیف مرئی ادامه می‌یابد اما در پایان ناحیه UV رو به کاهش می‌رود (شکل ۴).

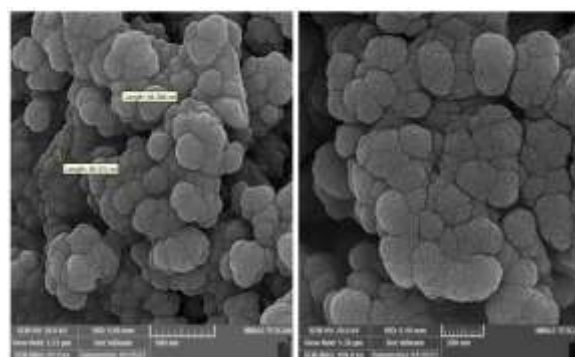


شکل ۴. طیف مربوط به آنالیز FT-IR نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش هیدروترمال

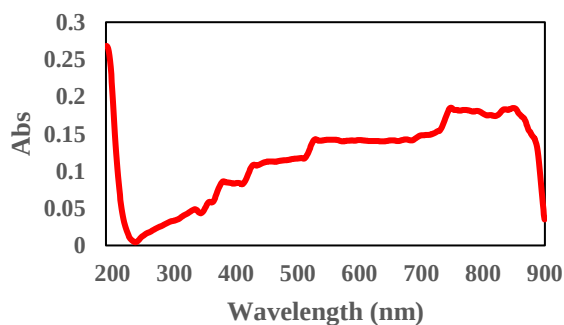
ارزیابی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید نیکل

در بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها مشخص گردید که از میان آنتی بیوتیک های مورد بررسی بر روی جدایه /ستریتوکوکوس/ینیایی، بیشترین حساسیت باکتری نسبت به آنتی بیوتیک ریفامپین با قطر ۲۵ میلی متر بود. آنتی بیوتیک های مروپنم و تتراسایکلین به ترتیب با قطر هاله ۲۲ و ۱۶ میلی متر بازدارندگی ارائه دادند که قطر ثبت شده برای تتراسایکلین کمتر از حد ایجاد حساسیت گزارش شده توسط CLSI بوده و باکتری /ستریتوکوکوس/ینیایی نسبت به آن مقاوم در نظر گرفته شد. همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی برای این باکتری در مقابل پنی سیلین و با عدم بروز قطر هاله عدم رشد مشاهده گردید.

برای آئروموناتس هیدروفیلا نیز هر دو آنتی بیوتیک جنتامایسین (GM) و سفتازیدیم (CAZ) قطر هاله مناسبی داشتند و بر روی این باکتری بازدارنده بوده و ایجاد حساسیت کامل نمودند (جدول ۱).



شکل ۵. تصاویر مربوط به بررسی مورفولوژیک نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده طی آنالیز FESEM



شکل ۶. طیف مربوط به آنالیز UV-vis نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش هیدروترمال

بررسی میکروسکوپ الکترونی FESEM نشان داد اندازه تقریبی نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده در محدوده بین ۶۶/۹۹۶ تا ۹۹/۵۳۱ نانومتر بوده است. علاوه بر آن معلوم گردید که نانوذرات بیشتر به شکل کروی می باشد (شکل ۵).

جدول ۱: قطر هاله عدم رشد باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک های مورد استفاده (بر حسب میلی متر)

نوع آنتی بیوتیک						سوش باکتری
سفتازیدیم	جنتامایسین	تتراسایکلین	مروپنم	ریفامپین	پنی سیلین	
-	-	۱۶	۲۲	۲۵	۰	استرپتوکوکوس اینیایی
۳۰	۲۵	-	-	-	-	آئروموناس هیدروفیلا

جدول ۲: قطر هاله عدم رشد باکتریایی ایجاد شده توسط نانوذرات اکسید نیکل در روش چاهک (میلی متر)

غلظت های مختلف نانوذره ($\frac{mg}{ml}$)									سوش باکتری
۱۰۰	۸۰	۶۰	۴۰	۲۰	۱۰	۸	۶	۴	
۱۴	۱۴	۱۳	۱۱	۱۱	۰	۰	۰	۰	استرپتوکوکوس اینیایی
۱۲	۱۲	۱۲	۱۱	۱۱	۰	۰	۰	۰	آئروموناس هیدروفیلا

جدول ۳: قطر هاله عدم رشد قارچی ایجاد شده توسط نانوذرات اکسید نیکل در روش چاهک (میلی متر)

غلظت های مختلف نانوذره ($\frac{mg}{ml}$)				قارچ
۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	
۰	۰	۰	۰	فوزاریوم سولانی

۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر و کمتر از آن نیز هیچ تأثیری در این روش بر روی باکتری مذکور نداشت (جدول ۲ و ۳).

برای آئروموناس هیدروفیلا نیز هر ۵ غلظت نانوذرات اکسید نیکل بازدارنده بود اما این بازدارندگی کمی ضعیف تر ارزیابی گردید. به طوری که غلظت ۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر و بیشتر از آن همگی قطر هاله ای به اندازه ۱۲ میلی متر و دو غلظت ۴۰ و ۲۰ نیز هر دو قطر ۱۱ میلی متری بر رشد باکتری آئروموناس داشتند. همچنین غلظت های کمتر از آن بر روی این باکتری بی تأثیر بود.

ارزیابی تأثیرات ضدقارچی نانوذرات اکسید نیکل نیز حاکی از آن بود که قارچ فوزاریوم سولانی نسبت به هیچ یک از غلظت های ۱۲/۵ تا ۱۰۰ میلی گرم به کار رفته نانوذره حساس نبود و قطر هاله عدم رشد ناچیزی مشاهده گردید. لذا می توان گفت که نانوذرات اکسید نیکل،

جدول ۴: نتایج مربوط به تعیین حداقل غلظت بازدارنده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) باکتریایی برای نانوذرات اکسید نیکل (بر حسب $\mu g/ml$)

MBC	MIC	سوش باکتری
۱۰۲۴	۱۰۲۴	استرپتوکوکوس اینیایی
۴۰۹۶	۴۰۹۶	آئروموناس هیدروفیلا

به منظور تعیین اثر ضد باکتری نانوذرات اکسید نیکل بر علیه سوش های استاندارد باکتری مورد مطالعه، مشخص گردید، باکتری استرپتوکوکوس اینیایی نسبت به آئروموناس حساسیت بیشتری در حضور نانوذره داشته و در غلظت های ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با ۱۴ میلی متر قطر، از رشد در محیط کشت باز می ماند. در غلظت ۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر، این مقدار بازدارندگی ۱۳ میلی متر بوده و دو غلظت ۴۰ و ۲۰ نیز با قطر هاله ۱۱ میلی متری، رشد استرپتوکوکوس را مهار کردند. غلظت



طی این روش مورد بررسی و علیه این سوش استاندارد، اثر ضد قارچی بسیار ناچیزی داشته است. در بررسی حداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری، مطابق نتایج حاصله، اثر چندانی طی این روش و در غلظت های تهیه شده از نانوذرات بر روی بازدارندگی رشد باکتری ها مشاهده نگردید و اکثر باکتری ها توانایی رشد در حضور غلظت های مختلف نانوذره اکسید نیکل در محیط کشت را داشتند. با این حال بیشترین تأثیر بازدارندگی نانوذره در غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر و بر روی گونه گرم مثبت استرپتوکوکوس اینیایی بود که این مقدار به عنوان MIC علیه باکتری مذکور به ثبت رسید. برای سوش گرم منفی آئروموناس هیدروفیلا نیز غلظت ۴۰۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر در محیط مایع بازدارنده بود. مقادیر مربوط به حداقل غلظت کشنده نیز برای هر دو باکتری مشابه حداقل غلظت بازدارنده آنها بود و لذا MBC نانوذرات اکسید نیکل نسبت به سوش های استرپتوکوک و آئروموناس، مشابه MIC آنها و به ترتیب برابر ۱۰۲۴ و ۴۰۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر ارزیابی گردید.

بحث

در این مطالعه نانوذرات اکسید نیکل با استفاده از روش هیدروترمال سنتز گردید. تکنیک هیدروترمال به دلیل ماهیت آسان و همه جانبه آن و نیز سنتز کنترل شده نانوذرات با خلوص و پراکندگی مناسب، یکی از بهترین روش ها برای سنتز نانوذرات می باشد. این در حالی است که برخی روش های شیمیایی یا فیزیکی سنتز، ممکن است اثرات نامطلوبی بر سلامت و محیط زیست بر جای گذارده و حین سنتز، مصرف انرژی بالایی داشته باشند (Al-Shawi et al., 2021; Rheima et al., 2021).

نتایج مطالعه ما بر تولید نانوذرات اکسید نیکل تولید شده به روش هیدروترمال نشان داد که بیشترین میزان جذب را طی تکنیک UV-vis در طول موج ۱۹۰ نانومتر نشان می دهند که این امر به نوعی مؤید وجود نانوذرات و تأیید فرآیند سنتز، در محلول به کار رفته می باشد. جهت تشخیص اتصالات به وجود آمده بین نیکل و اکسیژن در نانوذرات اکسید نیکل و نوع دیگری از ارزیابی های تحلیلی فرآیند سنتز، تکنیک FT-IR مورد استفاده قرار گرفت که طی آن وقوع این اتصالات به همراه پیوند ها و مولکول های دیگر موجود در محلول حاوی نانوذره محرز گردید. همچنین آنالیز XRD، ساختار بلوری و کریستالیزاسیون نانوذرات اکسید نیکل در خلوصی بسیار مناسب، را تأیید نمود. بررسی ویژگی های ضد میکروبی نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده نشان داد تأثیر بازدارندگی نانوذره در غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر و بر روی گونه گرم مثبت / استرپتوکوکوس اینیایی بود که این مقدار به عنوان MIC علیه باکتری مذکور به ثبت رسید. برای سوش گرم منفی آئروموناس هیدروفیلا نیز غلظت ۴۰۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر در محیط مایع بازدارنده بود. به عبارت دیگر گونه گرم مثبت / استرپتوکوکوس اینیایی با وجود مقاومت بیشتر نسبت به آنتی بیوتیک ها، در هر دو روش ضد میکروبی به کار رفته، یعنی تعیین قطر هاله بازدارنده و نیز حداقل غلظت های بازدارنده و گشوده، حساسیت بیشتری را نسبت به نانوذرات در مقایسه با گونه گرم منفی آئروموناس هیدروفیلا داشت.

در پژوهش انجام شده توسط Khashan و همکاران، محلول کلوئیدی نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده از طریق نوعی تکنیک فرسایشی بر روی نیکل غوطه ور در آب، مورد مطالعه قرار گرفت. یافته های این مطالعه نشان



نانوذرات خالص نشان می‌دهند (Alam et al., 2023).

در مطالعه Ilbeigi و همکاران، فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید نیکل در برابر برخی از سویه های باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات اکسید نیکل با استفاده از روش مایکروویو سنتز شدند. مشخص گردید در بین سویه های باکتریایی، بیشترین حساسیت در *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* با MIC و MBC به ترتیب ۰/۳۹ و ۰/۷۸ میلی گرم در میلی لیتر مشاهده شد. این باکتری به سفازولین، اریترومایسین، ریفامپیسین، آمپی سیلین، پنی سیلین و استرپتومایسین مقاومت بالایی داشت (Ilbeigi, Kariminikand Moshafi, 2019).

Ghetas و همکاران در سال ۲۰۲۲ به بررسی فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی و بیولوژیکی در برابر *Streptococcus agalactiae* و *Aeromonas hydrophila* جدا شده از ماهی تیلاپیا پرداختند. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تولید بیولوژیکی سبز نانوذرات نقره ایمن تر و موثرتر از روش شیمیایی در برابر باکتری های جداسازی شده از آبزیان می باشد (Ghetas et al., 2022). همچنین Shaalan و همکاران در سال ۲۰۱۷ بیان نمودند که نانوذرات نقره رشد *A. salmonicida* و *A. invadans* که جزء پاتوژن های آبزیان می باشند را در غلظت ۱۷ میکروگرم بر میلی لیتر مهار کردند. نانوذرات اکسید روی رشد *A. salmonicida*، *Y. ruckeri* و *A. invadans* را به ترتیب در غلظت های ۱۵/۷۵، ۵/۳۱ و ۳/۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر مهار کردند (Shaalan et al., 2017).

می‌دهد که نانوذرات اکسید نیکل می‌توانند نفوذپذیری دیواره سلولی در باکتری ها را تقویت کرده و تجمع آنتی بیوتیک آموکسی سیلین را در آن ها به طور قابل توجهی افزایش دهند، که خود حاکی از تأثیرات سینرژیستی (هم افزایی) نانوذرات اکسید نیکل به همراه آموکسی سیلین بر مهار رشد سویه های باکتریایی بوده است (Khashan et al., 2016). در پژوهش ما اثرات سینرژیستی نانوذرات اکسید نیکل با مواد یا متابولیت های دیگر نظیر آنتی بیوتیک ها بررسی نگردید اما حساسیت گونه های باکتری نسبت به آنتی بیوتیک ها سنجش شد. همچنین با مطابقت نتایج دو مطالعه، می‌توان به این نکته پی برد که گونه های گرم مثبت حساسیت بیشتری در حضور نانوذرات اکسید نیکل ارائه می دهند که این امر با ساختار دیواره سلولی آن ها و تک لایه بودن آن مرتبط می‌باشد. بطور کلی تصور می‌شود که نانوذرات اکسید نیکل به دلیل نیروهای الکترواستاتیکی باعث چسبندگی و زیست فعالی می‌شود. از آنجایی که دیواره های سلولی باکتری ها مولکول هایی با بار منفی هستند، هدف بالقوه یون های Ni^{2+} قرار می گیرند که از نانوذرات اکسید نیکل آزاد می شوند (Isticato and Ricca, 2016).

در مطالعه Alam و همکاران، نانوذرات اکسید نیکل پوشش داده شده با مولیبدن (Mo) با استفاده از یک روش سونوشیمیایی ساده سنتز شدند. این نانوذرات از نظر فعالیت ضد باکتریایی در برابر سویه های باکتریایی گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس*) و گرم منفی (*پسودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیا کلی*) نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند که طبق نتایج مشخص گردید نانوذرات اکسید نیکل دوپ شده با مولیبدن فعالیت ضد باکتریایی بهتری در مقایسه با



نویسندگان هیچ گونه تعارض ندارند.

منابع

1. Agnew, W. and Barnes, A.C. (2007) 'Streptococcus iniae: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination', *Veterinary microbiology*, 122(1-2), pp. 1-15.
2. Al-Shawi, S.G. et al. (2021) 'Synthesis of NiO nanoparticles and sulfur, and nitrogen co doped-graphene quantum dots/nio nanocomposites for antibacterial application', *Journal of Nanostructures*, 11(1), pp. 181-188.
3. Alam, M.W. et al. (2023) 'Effect of Mo doping in NiO nanoparticles for structural modification and its efficiency for antioxidant, antibacterial applications', *Scientific reports*, 13(1), p. 1328.
4. Ali, A.A. et al. (2019) 'Fabrication of solar cells using novel micro-and nano-complexes of triazole schiff base derivatives', *Journal of Southwest Jiaotong University*, 54(6).
5. Athanassiadis, B. et al. (2009) 'An in vitro study of the antimicrobial activity of some endodontic medicaments and their bases using an agar well diffusion assay', *Australian dental journal*, 54(2), pp. 141-146.
6. Deshpande, M.P. et al. (2016) 'Structural, thermal and optical properties of nickel oxide (NiO) nanoparticles synthesized by chemical precipitation method', *Advanced Materials Research*, 1141, pp. 65-71.
7. Galdiero, S. et al. (2015) 'Antimicrobial peptides as an opportunity against bacterial diseases', *Current Medicinal Chemistry*, 22(14), pp. 1665-1677.
8. Ghetas, H.A. et al. (2022) 'Antimicrobial activity of chemically and biologically synthesized silver nanoparticles against some fish pathogens', *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), pp. 1298-1305.

در این مطالعه بیشترین تأثیر بازدارندگی نانوذره در غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر در گونه گرم مثبت *استرپتوکوکوس اینیایی* بود. همچنین حداقل غلظت کشندگی نانوذرات اکسید نیکل مطابق MIC برابر ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر گزارش گردید. فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید نیکل را می توان به یون های نیکل آزاد شده از نانوذره نسبت داد. این یون های آزاد شده، نفوذپذیری غشاء را بیشتر کرده و استرس اکسیداتیو را افزایش می دهند که به نوبه خود باعث فعال شدن مسیرهای مرگ سلولی می شود (Kim et al., 2007; Shaalan et al., 2017).

نتیجه گیری

طی این پژوهش سنتز نانوذرات اکسید نیکل از طریق تکنیک هیدروترمال که ماهیت ساده ای داشته و روشی قابل کنترل به خصوص برای ذرات دارای خواص کریستالی بالا و همگن دارد، صورت گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، سنتز بهینه نانوذرات اکسید نیکل در طول موج ۱۹۰ نانومتر، با اتصالات و پیوندهای مناسب بین عناصر اکسیژن و نیکل، ساختار بلوری مشخص در اندازه بین ۶۶ تا حدود ۱۰۰ نانومتر و تقریباً کروی شکل با خلوص قابل قبول، انجام پذیرفت. همچنین مشخص شد که ۷۲/۴۵ درصد نیکل و ۲۷/۵۵ درصد اکسیژن در نمونه وجود دارد. نتایج مطالعه حاضر نقش بالقوه نانوذرات اکسید نیکل تولید شده به روش هیدروترمال را به عنوان عوامل ضد باکتریایی، نشان داد. بنابراین شاید بتوان از آنها به عنوان عوامل ضد عفونی کننده آب ها جهت کنترل سوش های باکتری آلوده کننده آبزیان و همچنین در صنایع مختلف زیست محیطی استفاده نمود.

تعارض منافع



18. Magaye, R. and Zhao, J. (2012) 'Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity', *Environmental toxicology and pharmacology*, 34(3), pp. 644–650.
19. Makhlof, M.E.M. et al. (2022) 'Suppression effect of *Ulva lactuca* selenium nanoparticles (USeNps) on HepG2 carcinoma cells resulting from degradation of epidermal growth factor receptor (EGFR) with an evaluation of its antiviral and antioxidant activities', *Applied Sciences*, 12(22), p. 11546.
20. Mostafa Mahmoud, M. (2019) 'Fusarium solani infection of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)', *Assiut Veterinary Medical Journal*, 65(161), pp. 50–59.
21. Nisar, P. et al. (2019) 'Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action', *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 24, pp. 929–941.
22. Puneeth, T.G. et al. (2022) 'Large scale mortality in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): natural co-infection with *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae*', *Iranian Journal of Veterinary Research*, 23(3), p. 219.
23. Radzig, M.A. et al. (2013) 'Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, pp. 300–306.
24. Rahaiee, S. et al. (2020) 'Green synthesis, characterization, and biological activities of saffron leaf extract-mediated zinc oxide nanoparticles: a sustainable approach to reuse an agricultural waste', *Applied Organometallic Chemistry*, 34(8), p. e5705.
25. Ramírez-Meneses, E. et al. (2014) 'Synthesis and electrochemical
9. Gomaji Chaudhary, R. et al. (2015) 'Synthesis of nickel nanoparticles: Microscopic investigation, an efficient catalyst and effective antibacterial activity', *Advanced Materials Letters*, 6(11), pp. 990–998.
10. Ilbeigi, G., Kariminik, A. and Moshafi, M.H. (2019) 'The antibacterial activities of NiO nanoparticles against some gram-positive and gram-negative bacterial strains', *International Journal of Basic Science in Medicine*, 4(2), pp. 69–74.
11. Imran Din, M. and Rani, A. (2016) 'Recent advances in the synthesis and stabilization of nickel and nickel oxide nanoparticles: a green adeptness', *International journal of analytical chemistry*, 2016.
12. Isticato, R. and Ricca, E. (2016) 'Spore surface display', *The Bacterial Spore: From Molecules to Systems*, pp. 349–366.
13. Javadi, M., Mohammadzadeh, H. and Aghaeinejad-Meybodi, A. (2023) 'Structural characterization, lattice features, and optical, and magnetic properties of Ni-Cr oxide nanocomposite'.
14. Javan, H. et al. (2020) 'Nickel nanoparticles decorated on carbon quantum dots as a novel non-platinum catalyst for methanol oxidation; a green, low-cost, electrochemically-synthesized electrocatalyst', *Chemical Engineering Science*, 217, p. 115534.
15. Kaskhedikar, M. and Chhabra, D. (2010) 'Multiple drug resistance in *Aeromonas hydrophila* isolates of fish', *Food Microbiol*, 28, pp. 157–168.
16. Khashan, K.S. et al. (2016) 'Synthesis, characterization and antibacterial activity of colloidal NiO nanoparticles.', *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 29(2).
17. Kim, J.S. et al. (2007) 'Antimicrobial effects of silver nanoparticles', *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine*, 3(1), pp. 95–101.



- against microbes associated with diseases in aquaculture', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, pp. 2491–2502.
32. Taheri, A., Ziaadini, M. and Gahramzei, M. (2020) 'Antibacterial activity of zinc aluminate nanoparticles against foodborne pathogenic bacteria of *E. coli* and *P. aeruginosa*', *Food Hygiene*, 10(2 (38)), pp. 95–108.
 33. Tran, T.T.B., Park, E.-J. and Son, J.-T. (2024) 'Optimization of hydrothermal synthesis of nickel oxide with flower-like structure', *Korean Journal of Chemical Engineering*, pp. 1–6.
 34. Venkatachalapathy, M. *et al.* (2022) 'Synthesis, morphological, structural, functional, optical and computational properties of nickel oxide nanoparticles using hydrothermal method', *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB)*, 17(4).
 35. Xing, K. *et al.* (2015) 'Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review', *Agronomy for Sustainable Development*, 35, pp. 569–588.
 36. Zarenezhad, E. *et al.* (2022) 'Nickel nanoparticles: applications and antimicrobial role against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections', *Antibiotics*, 11(9), p. 1208.
 - characterization of Ni nanoparticles by hydrazine reduction using hydroxyethyl cellulose as capping agent', *Electrochimica Acta*, 127, pp. 228–238.
 26. Rheima, A.M. *et al.* (2021) 'Evaluation of anti-biofilm formation effect of nickel oxide nanoparticles (NiO-NPs) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)', *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17(4), pp. 221–230.
 27. Rice, L.B. (2009) 'The clinical consequences of antimicrobial resistance', *Current opinion in microbiology*, 12(5), pp. 476–481.
 28. Shaalan, M.I. *et al.* (2017) 'In vitro assessment of the antimicrobial activity of silver and zinc oxide nanoparticles against fish pathogens', *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59, pp. 1–11.
 29. Song, X. and Gao, L. (2008) 'Facile synthesis and hierarchical assembly of hollow nickel oxide architectures bearing enhanced photocatalytic properties', *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(39), pp. 15299–15305.
 30. Sood, S. *et al.* (2015) 'Highly effective Fe-doped TiO₂ nanoparticles photocatalysts for visible-light driven photocatalytic degradation of toxic organic compounds', *Journal of colloid and interface science*, 450, pp. 213–223.
 31. Swain, P. *et al.* (2014) 'Antimicrobial activity of metal based nanoparticles

The impact of nickel oxide nanoparticles on microorganisms contaminating aquatic organisms

B Asal Naeimabadi¹, Mina Ramezani^{2*}, Ramin Mohammadi-Aloucheh³

1. Master student, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Associate Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

The increasing emergence of antibiotic resistance among common microorganism species has prompted the scientific community to search for new antimicrobial agents. Among these, metallic nanoparticles have been utilized as antimicrobial agents against various bacterial species. The aim of this study was to synthesize nickel oxide nanoparticles by the hydrothermal method and investigate their antimicrobial properties. Nickel oxide nanoparticles were synthesized by the hydrothermal method, and XRD, EDX, SEM, FTIR, and UV-vis analyses were performed to evaluate the physical and chemical properties of these nanomaterials. The antimicrobial and antifungal activities against the gram-positive bacterium *Streptococcus iniae*, the gram-negative bacterium *Aeromonas hydrophila*, and the fungus *Fusarium solani* were assessed using MIC and MBC assays and well diffusion method. Optimum synthesis of nickel oxide nanoparticles was achieved at a wavelength of 190 nanometers, with appropriate connections and bonds between oxygen and nickel elements, a crystalline structure with a size ranging from 66 to approximately 100 nanometers, and a nearly spherical shape with acceptable purity. Based on the antibiotic resistance of the standard strains *Streptococcus iniae* and *Aeromonas hydrophila*, the MIC of nanoparticles against *Streptococcus iniae* was determined to be 1024 micrograms per milliliter, and for the gram-negative strain *Aeromonas hydrophila*, the concentration was 4096 micrograms per milliliter. The corresponding MBC values of nickel oxide nanoparticles were similar to their MIC values. Furthermore, evaluations of the antifungal activity of nickel oxide nanoparticles indicated limited effects against *Fusarium solani*. In conclusions, Considering that *Streptococcus iniae*, *Aeromonas hydrophila* and *Fusarium solani* sometimes cause contamination and disease in aquatic environments and resident organisms, the results of this study could be of interest.

Keywords: Nanoparticles, Nickel Oxide, Hydrothermal Synthesis, *Streptococcus iniae*, *Aeromonas hydrophila*, *Fusarium solani*.

Keywords: Diabetes mellitus, Insulin resistance, Intestinal microbiota, Inflammation, Fatty acid oxidation

* Corresponding author: Mina Ramezani,

Address: Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

E. mail: mina.ramezani@gmail.com

