



بررسی اثر ضد باکتریایی بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره در کنترل باکتری باسیلوس (*Bacillus spp.*)

محمود نفیسی بهابادی^۱، فاطمه حسین پور دلاور^{۱*}، مریم میربخش^۲،

خدابخش نیکنام^۳، سیدعلی جوهری^۴

^۱ گروه شیلات و آبی پروری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس بوشهر

^۲ مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده میگوی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر

^۳ گروه شیمی آلی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه خلیج فارس بوشهر

^۴ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج

(دریافت مقاله: ۹۳/۶/۳۱ - پذیرش مقاله: ۹۳/۱۲/۲۱)

چکیده

زمینه: فناوری نانو، رشته‌ای از دانش کاربردی و فناوری است که جستارهای گسترده‌ای را پوشش می‌دهد. استفاده از فناوری نانو و نانوذرات نقره در سال‌های اخیر به منظور کنترل بیماری‌های باکتریایی مورد مطالعه و پژوهش قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ضدباکتریایی بسترهای فیلتر سرامیکی حاوی نانو ذرات نقره در کنترل باکتری باسیلوس (*Bacillus spp.*) در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ابتدا خواص ضد باکتریایی کلئید نانوذرات نقره با استفاده از روش رقیق سازی در محیط مایع (براث میکرو دایلوژشن) بررسی شد. پس از اطمینان از توان بازدارندگی کلئید نانوذرات نقره، تأثیر بسترهای فیلتر سرامیکی حاوی نانوذرات نقره برای کنترل باکتری مذکور در شرایط برون تن از طریق تست‌های آنتی‌بیوگرام روی پلیت و آنتی‌بیوگرام داخل لوله بررسی شد. **یافته‌ها:** در این مطالعه، مشاهده شد که کلئید نانوذرات نقره اثرگذاری مطلوب و مناسبی را بر باکتری مورد آزمایش دارد به‌طوری که حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری مذکور، غلظت ۳/۹ میلی گرم در لیتر و حداقل غلظت باکتری کشی، غلظت ۳۱/۲۵ میلی گرم در لیتر محاسبه شد. همچنین در آزمون‌های آنتی‌بیوگرام روی پلیت و آنتی‌بیوگرام داخل لوله کاهش قابل مقایسه‌ای از باکتری‌ها در مقابل بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که بسترهای فیلتر سرامیکی حاوی نانوذرات نقره دارای اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند، بنابراین با تعمیم نتایج این مطالعه می‌توان از این بسترهای فیلتر سرامیکی در تصفیه و فیلتراسیون آب آشامیدنی و کنترل بیماری‌های ناشی از بیماری‌زاهای انسانی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: سرامیک، ضد باکتری، آنتی‌بیوگرام، نانوذرات نقره، *Bacillus spp.*

* بوشهر، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه شیلات و آبی پروری

مقدمه

دسترسی به منابع آب آشامیدنی سالم در بسیاری از کشورهای دنیا به خصوص در نواحی روستایی به یک مسئله مهم و حیاتی و یک چالش عمده تبدیل شده است (۱). بدون شک در صورت عدم تأمین آب سالم، سلامت و رفاه جامعه به خطر خواهد افتاد. مطابق گزارش سازمان جهانی بهداشت^۱ در سال ۲۰۰۸ میزان مرگ و میر مرتبط با بیماری‌های منتقله از آب بیش از ۵ میلیون نفر در سال بوده است، به همین دلیل حذف این عوامل از آب آشامیدنی، یکی از نگرانی‌های صنعت آب در سطح جهان است (۲ و ۳).

یکی از ویژگی‌های مهم آب شرب، کیفیت میکروبی آن است، به‌طوری که وجود باکتری‌های شاخص در آب به معنی حضور میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشد (۴). پاتوژن‌های میکروبی در آب و غذا به‌طور تخمینی سالانه در ایالات متحده ۶/۵ تا ۳۳ میلیون نفر را بیمار می‌کنند و ۲/۹ تا ۶/۷ میلیارد دلار خسارت وارد می‌نمایند. در این میان ۲۵ تا ۵۵ درصد هزینه‌ها مربوط به بیماری‌های حاصل از باکتری‌های گرم مثبت است (۵). باسیلوس‌ها از باکتری‌های گرم مثبت و هوازی در محیط آبی بوده که حضور این باکتری‌ها در همه جا تهدید بالقوه‌ای در گستره وسیعی از مواد غذایی می‌باشند و یکی از عوامل مسمومیت در انسان شناخته شده‌اند (۶ و ۷). با توجه به ساختمان ویژه باسیلوس‌ها و همچنین مقاومت آن‌ها به بسیاری از عوامل ضد میکروبی، حذف این عوامل از آب آشامیدنی، یکی از نگرانی‌های صنعت آب در سطح جهان است و وجود این باکتری‌ها در آب تصفیه و ضد عفونی شده، زنگ خطری برای پیشگیری از

آپیدمی‌ها و ایجاد شرایط بهداشتی برای حفظ سلامت جامعه است (۵ و ۸).

متداول‌ترین روش‌های حذف میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از آب شامل گندزدایی فیزیکی و شیمیایی از طریق جداسازی توسط صافی غشایی، پرتو فرابنفش، پرتو یونیزان، حرارت، امواج فراصوت، استفاده از کلر و مشتقات آن و ازن زنی است. روش‌های گندزدایی شیمیایی آب از محدودیت‌هایی همچون ایجاد مزه و بوی نامطبوع، تولید فراورده‌های جانبی و غیره برخوردار می‌باشند (۹-۱۱).

در سال‌های اخیر استفاده از فناوری نانو به عنوان یک فناوری جدید، مؤثر و دوستدار محیط زیست در حذف آلاینده‌های میکروبی از آب مطرح شده است و به نظر می‌رسد که استفاده از آن می‌تواند بسیاری از مشکلات ناشی از روش‌های متداول تصفیه آب را مرتفع سازد. گسترش فناوری نانو در چند دهه‌ی گذشته، فرصت‌هایی را برای کشف تأثیرات ضدباکتریایی نانو ذرات فلزی ایجاد کرده است. محققین معتقدند که نانو ذرات فلزی علاوه بر اثر مهار ذره، به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم زیادی که دارند تأثیرات ضد باکتریایی زیادی از خود نشان می‌دهند. بر اساس تحقیقات انجام شده، نانو ذرات نقره در مقایسه با دیگر نانوذرات فلزی، فعالیت ضد باکتریایی بیشتری دارد (۱۲).

نانوذرات نقره به دلیل پایداری بالا و طیف وسیع فعالیت ضدباکتریایی از مدت‌ها پیش مورد توجه بوده‌اند (۱۳). اخیراً استفاده از ترکیبات حاوی نقره مثل کلئوئید نقره، پوشش‌های نقره و نانو ذرات نقره به‌عنوان مواد ضد باکتریایی با کارایی بالا و با عوارض جانبی کمتر در صنایع مختلف در حال گسترش است و تحقیقات مختلفی تأثیر فعالیت ضد میکروبی

¹ WHO

نانوذرات نقره را تأیید کرده‌اند. این ذرات سبب پاسخ ایمنی و مقاومت میکروبی در انسان نمی‌شوند و این از مزیت‌های فناوری نانو می‌باشد (۱۴).

فناوری نانو و مهندسی، فرصت‌های مناسبی را جهت توسعه فرآیندهای تصفیه در راستای کاهش هزینه‌ها و افزایش اثربخشی و دوستدار محیط زیست بودن فرآیندهای تصفیه آب فراهم نموده است (۳ و ۱۵)، اما متأسفانه در سال‌های اخیر، استفاده از نانوذرات به صورت سوسپانسیون با توجه به مشکل جداسازی آن‌ها همواره موجب نگرانی‌های زیادی شده است (۳ و ۱۶). به همین دلیل مطالعه حاضر استفاده از فناوری نانو را به صورت غیرمستقیم و در قالب پوشش دهی نانوذرات نقره بر روی بسترهای فیلتری مختلفی مثل سرامیک متخلخل و سپس استفاده از این بسترهای فیلتری برای تصفیه آب آشامیدنی پیشنهاد می‌نماید که مشکلات ناشی از کاربرد نانوذرات به صورت سوسپانسیون و تولید محصولات جانبی ناشی از گندزدهای متداول در حذف آلاینده‌های میکروبی را نخواهد داشت.

سرامیک‌های متخلخل از اکسیدهای دیرگداز (نسوز) مثل آلومینا، تیتانیا و زیرکونیا و غیره ساخته شده‌اند و نسبت به سایر موادی که به عنوان بسترهای فیلتری استفاده می‌شوند، دارای مزایایی همچون مقاومت شیمیایی، دمایی و مقاومت به تغییرات اسیدیته می‌باشند و نیز در حین کار تغییر شکل نمی‌دهند. اگرچه سرامیک‌های متخلخل به خودی خود می‌توانند به عنوان بسترهای فیلتری در فیلترهای تصفیه آب استفاده شوند و مانعی فیزیکی برای حذف باکتری‌ها محسوب شوند، اما قادر به کشتن آن‌ها نیستند. بنابراین در صورت استفاده از آن‌ها در سیستم‌های تصفیه آب، باید به صورت مرتب و دوره‌ای تمیز و گاهی تعویض شوند.

از طرفی میکروارگانیسم‌ها می‌توانند به سطح این سرامیک‌های متخلخل متصل شده و باعث رشد بیوفیلم در آن‌ها شوند و یکی از راهکارهای احتمالی برای مبارزه با این پدیده، پوشش‌دهی بسترهای سرامیکی با نانوذرات نقره است (۱۷).

مطالعات مختلفی در رابطه با قابلیت استفاده از فیلترهای پوشش یافته با نانوذرات نقره در تصفیه آب آشامیدنی گزارش شده است. به‌عنوان مثال اسمیت (Smith) و اویندل کرار (Oyanedel-Craver) (۲۰۰۸)، اثرات ضد باکتری فیلترهای سرامیکی حاوی کلوئید نقره و بدون کلوئید نقره را در مقابل باکتری /شریشیا کلای بررسی کردند. نتایج به دست آمده نشان داد که تیمارهای کلوئید نقره باعث بهبود کیفیت در عمل فیلترها شده به‌طوری که فیلترهای سرامیکی غوطه‌ور در محلول کلوئید نقره نسبت به حالت رنگ شده با کلوئید نقره قابلیت بالاتری را در حذف باکتری‌ها نشان داد (درصد حذف به ۱۰۰ درصد رسید) (۱۸). در مطالعه دیگری ال وی (Lv) و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت ضدباکتریایی فیلترهای سرامیکی محتوی نانو ذرات نقره را در مقابل /شریشیا کلای بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که یون‌های نقره نقش مهمی در فعالیت ضد باکتریایی این فیلترها ایفا می‌کنند (۱۷). همچنین چن (Chen) و همکاران (۲۰۱۰)، همین آزمایشات را با بسترهای سیلیکاتی از نوع استیل ضد زنگ در مقابل /شریشیا کلای انجام دادند و به نتایج کاملاً مشابهی دست یافتند (۱۹). اگر چه مطالعات مختلفی وجود دارد که از نانو ذرات نقره به صورت پوشش‌دهی بر روی بسترهای مختلف برای کاربردهای ضد میکروبی استفاده شده است (۲۱-۱۷)، با این وجود انجام تحقیقات تکمیلی در این زمینه‌ها ضروری است. هدف

خریداری و در آزمایشگاه با اعمال نیروی فیزیکی به ابعاد کوچکتر (۱×۱×۲ سانتی متر) تبدیل گردید.



شکل (۱) تصویر سرامیک متخلخل

فرایند پوشش دهی سرامیک ها با نانوذرات نقره قطعات سرامیکی به مدت ۲۰ دقیقه داخل محلول پیرانا (شامل اسید سولفوریک ۹۸ درصد و هیدروژن پروکساید ۳۰ درصد با نسبت ۱:۳) که به آرامی در حال جوشیدن بود غوطه ور شد؛ سپس به منظور عامل دار کردن سطح سرامیک ها از طریق تعدیل گروه های آمینی در سطوح مجاری سرامیک های متخلخل، فیلترها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول اتانولی محتوی ۱ درصد APTES غوطه ور شدند. لازم به ذکر است که اسیدیته محلول باید در حدود ۵/۵-۳/۵ تنظیم گردد که این امر با اضافه کردن محلول آبی CH_3COOH محقق گردید. سپس سرامیک های متخلخل با اتانول شسته شده و در شرایط خلاء در آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت حداقل ۲ ساعت قرار داده شد تا به اتصال کامل ملکول های APTES بر روی سرامیک های متخلخل کمک کند. قطعات سرامیکی طی دو زمان ۱۸ و ۲۴ ساعت در محلول کلئید نانوذرات نقره غوطه ور گردیدند. سپس سرامیک ها به وسیله اتانول شستشو داده شدند تا نانوذراتی که به خوبی به سطح سرامیک ها متصل نشده اند رها شوند و در پایان در معرض هوای آزاد قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند (۱۷).

از پژوهش حاضر، امکان سنجی استفاده از بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره در مهار باکتری باسیلوس در شرایط آزمایشگاهی با هدف ساخت فیلترهای تصفیه آب شرب پوشش یافته با این نانوذرات در آینده می باشد.

مواد و روش ها

سوش باکتری

باکتری مورد مطالعه *Bacillus spp.* به عنوان یکی از باکتری های شاخص آلودگی آب (۸) از بخش میکروبی شناسی آبیان پژوهشکده میگوی کشور در بوشهر تهیه شد.

نانوذرات نقره

در این پژوهش از کلئید نانو ذرات نقره ساخت شرکت نانو نصب پارس با نام تجاری نانوسید (Nanocid) L2000 استفاده گردید. مشخصات این کلئید قبلاً به طور کامل مورد سنجش قرار گرفته و گزارش شده است (۲۲ و ۲۳). بر اساس نتایج مطالعات مذکور، به طور خلاصه کلئید مورد استفاده حاوی نانو ذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ میلی گرم در لیتر، پتانسیل زتای $53/33 \pm 7/86$ میلی ولت و اسیدیته ۲/۴۰ بود؛ همچنین میانگین قطر نانو ذرات نقره در کلئید مذکور ۱۶/۶ نانومتر می باشد. نانو نقره مذکور توسط سازمان ثبت اختراعات ایالات متحده آمریکا با شماره ۲۰۰۹۰۰۱۳۸۲۵ به ثبت رسیده است (۲۴).

سرامیک متخلخل

سرامیک متخلخل با ترکیب سیلیکون کاربید (با بیش از ۶۰ درصد سیلیس در ترکیب خود) و ابعاد ۴×۴×۲ سانتی متر از شرکت تجاری فارس ریزان مواد در تهران

تعیین ویژگی‌های سرامیک‌های پوشش یافته با نانو ذرات نقره

جهت حصول اطمینان از نحوه مناسب پوشش دهی و تعیین ویژگی‌های نانو ذرات پوشش یافته بر روی بسترهای سرامیکی، خصوصیات آن‌ها توسط روش‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. به منظور شناسایی پیوندهای تشکیل شده در بسترهای سرامیکی پس از عامل‌دار کردن با گروه‌های آمینی، آنالیز طیف سنجی مادون قرمز به وسیله دستگاه FT-IR 460 Plus انجام شد. همچنین برای اطمینان از حضور بنیان‌های آمینی در فیلتر مایه‌های تیمار شده با محلول اتانولی حاوی ۱ درصد APTE، آنالیز تجزیه عنصری C.H.N.O انجام شد؛ در این روش مقدار ترکیبات نیتروژن، کربن و هیدروژن موجود در بستر با سوزاندن نمونه‌ها در کوره اندازه‌گیری می‌گردد. ماهیت کریستالی نانو ذرات نقره پوشش داده شده روی بسترهای سرامیکی توسط دستگاه پراش پرتو ایکس (XRD) مدل Bruker D8 Advance با تابش $\text{CuK}\alpha$ و با طول موج $1.5461 \text{ \AA}$ آنکستروم بررسی شد. مورفولوژی و اندازه ذرات قرار گرفته روی بسترهای فیلتر سرامیکی با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل EM-3200 بررسی شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی نانو ذرات نقره، از روش رقیق‌سازی در محیط مایع در دو سری از لوله‌های کوچک و بزرگ حاوی محیط کشت مولر هیتون براث نمکی با نسبت‌های سریالی متفاوت عمل شد (لوله‌های بزرگ حاوی ۹ سی‌سی و لوله‌های کوچک حاوی ۱ سی‌سی محیط کشت بودند). در لوله‌های کوچک از رقت‌های $1/2 - 1/1024$ و در لوله‌های بزرگ از رقت‌های $10^{-1} - 10^{-7}$ کلونید

نانو ذرات نقره استفاده گردید. به تمام لوله‌ها ۱ سی‌سی از سوسپانسیون باکتری باسیلوس (معادل غلظت 0.5×10^8 مک فارلند) اضافه شد و تمام لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور 30°C درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، سپس نتایج بررسی شدند. اولین لوله‌ای که در آن عدم رشد مشاهده شد به عنوان MIC تعیین شد و تمام لوله‌های بدون کدورت نیز بر روی محیط تریپتیک سوی آگار نمکی کشت داده شدند و MBC نانو ذرات نقره برای باکتری مذکور تعیین شد (۲۵).

آزمون‌های آنتی‌بیوگرام

حساسیت باکتری مذکور به فیلتر مایه‌های پوشش یافته با نانو ذرات نقره با استفاده از آزمون آنتی‌بیوگرام بر روی پلیت و آنتی‌بیوگرام داخل لوله مورد بررسی قرار گرفت.

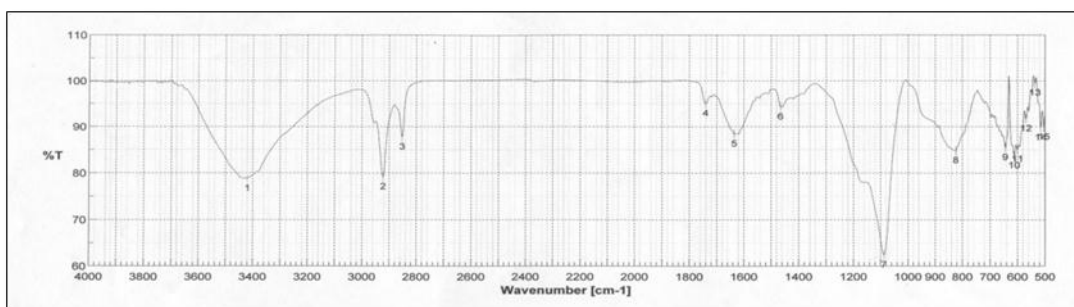
در آزمون آنتی‌بیوگرام روی پلیت، قطعات سرامیکی پوشش داده شده با نانو ذرات نقره بر روی سطح پلیت‌های محتوی محیط کشت مولر هیتون آگار نمکی و باکتری *Bacillus spp.* (معادل 0.5×10^8 مک فارلند) قرار داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت گرم خانه‌گذاری در دمای 30°C درجه سانتی‌گراد، اندازه هاله عدم رشد اطراف سرامیک محتوی نانو ذرات نقره که باکتری‌ها نتوانسته بودند رشد کنند با نمونه شاهد (سرامیک‌های فاقد نانو ذرات نقره) مقایسه گردید (۱۷).

برای انجام آزمایش آنتی‌بیوگرام داخل لوله، در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر محیط مایع تریپتیک سوی براث نمکی، ۱ سی‌سی از سوسپانسیون باکتریایی باسیلوس معادل 0.5×10^8 مک فارلند تلقیح گردید، سپس قطعاتی به ابعاد $1 \times 1 \times 2$ سانتی‌متر از بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانو ذرات نقره درون آن انداخته شد. پس از گذشت ۲، ۴، ۶ و ۲۴ ساعت، از محیط کشت داخل لوله بر روی محیط

یافته‌ها

ویژگی‌های بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره

نتایج طیف سنجی مادون قرمز در شکل ۲ نشان داده شده است. در مورد سیلیکا (SiO_2)، پیک اصلی شامل فرکانس کششی در محدوده 1100 cm^{-1} برای Si-O- و فرکانس خمشی در محدوده تقریبی 800 cm^{-1} برای Si-C می‌باشد که نشان از حضور بالای سیلیکا در فوم‌هاست. همچنین پیک پهنی که در 3400 cm^{-1} مشاهده می‌شود مربوط به گروه OH می‌باشد که درگیر پیوندهای هیدروژنی است و نشان از ایجاد ترکیب OH در سطوح فوم‌های سرامیکی پس از غوطه‌وری نمونه‌ها در محلول پیرانا است.



شکل ۲) طیف FT-IR بسترهای فیلتر سرامیکی پس از عامل دار کردن با پیش ماده APTES

جدول ۱ نشان داده شده است. این بررسی مقایسه‌ای اثبات می‌کند که اتصال گروه OH با بسترهای فیلتری سیلیکاتی مورد استفاده و اتصال باند NH_2 با گروه‌های OH ایجاد شده در بسترهای فیلتر سرامیکی حاضر با موفقیت به انجام رسیده است.

جدول ۱) نتایج حاصل از آنالیز تجزیه عنصری

ترکیبات مورد سنجش	متوسط ماده‌ی مؤثره (درصد)
نیتروژن	۰/۳۸۰۱
کربن	۵/۰۱
هیدروژن	۰/۳۷۷۵

کشت تریپتیک سوی آگار نمکی کشت داده شد؛ پس از شمارش پرگنه‌های باکتریایی، به منظور تعیین اثر سرامیک‌های مورد استفاده بر روی باکتری مورد آزمایش، تعیین و مقایسه فراوانی باکتریایی کل در نمونه‌های تیمار و کنترل صورت گرفت (۱۷).

آنالیز آماری

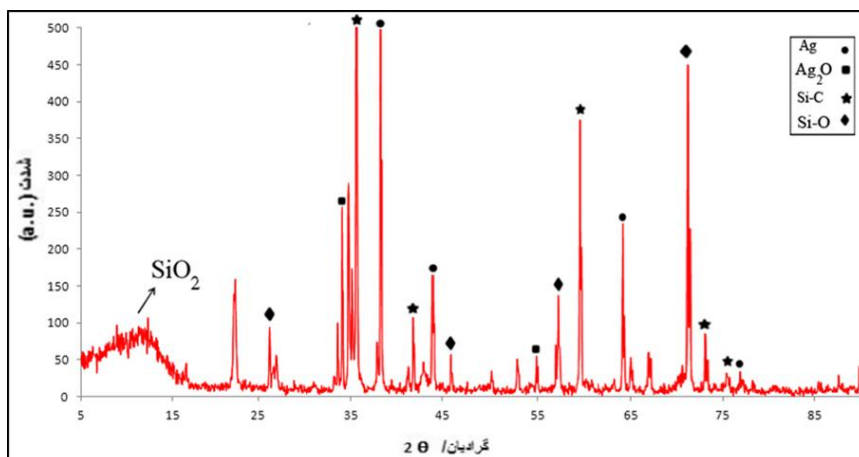
تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS، X'Pert High Score ۲۰۰۳ و Excel ۲۰۱۰ انجام شد. برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه در سطح ۹۵ درصد و آزمون دانکن استفاده شد.

حضور بالای گروه‌های OH در سطح سرامیک‌ها مانع از به‌دست آمدن طیف مناسب FT-IR گردید در حدی که فرکانس‌های مربوط به پیوندهای گروه‌های آمینی و نقره در سطح بسترهای فیلتر سرامیکی مشاهده نگردید. در واقع میزان بالای OH ایجاد شده، پیوندهای آمینی و نانوذرات نقره را تحت پوشش خود قرار می‌دهد و مانع از دیده شدن و شناسایی پیوندهای تشکیل شده می‌گردد.

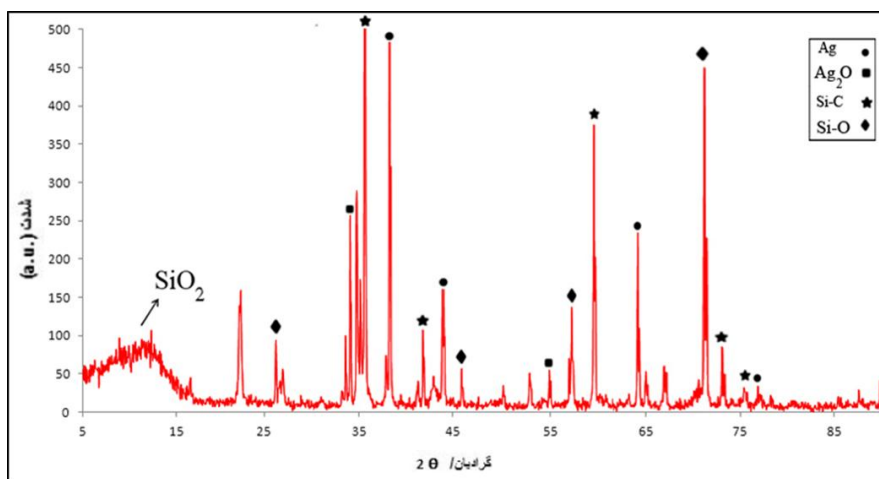
ارتباط بین گروه‌های آمینوسیلان و سطح مجاری بسترهای فیلتر سرامیکی توسط آنالیز تجزیه عنصری C.H.N.O ثابت گردید. نتایج مربوط به این آنالیز در

است که وجود قله‌های ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ به ترتیب در زوایای ذکر شده، غالباً به علت حضور ذرات نقره در مقیاس نانو است، همچنین درجه کریستالی نمونه ها، ساختار بلوری fcc (face centered cubic) را در آن‌ها نشان می‌دهد.

الگوهای پراش اشعه ایکس مربوط به بسترهای فیلتر سرامیکی پس از پوشش‌دهی با نانوذرات نقره در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی منحنی‌های پراش اشعه ایکس نشان دهنده‌ی ساختار کریستالی نانوذرات نقره در زاویه 2θ ، $38/2^\circ$ ، $44/5^\circ$ و $64/4^\circ$ و $77/1^\circ$ درجه می‌باشد. از نتایج مشهود



شکل ۳) طیف XRD بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش‌دهی شده با نانوذرات نقره در حضور پیش ماده APTES، پس از ۲۴ ساعت غوطه‌وری در کلونید نانوذرات نقره



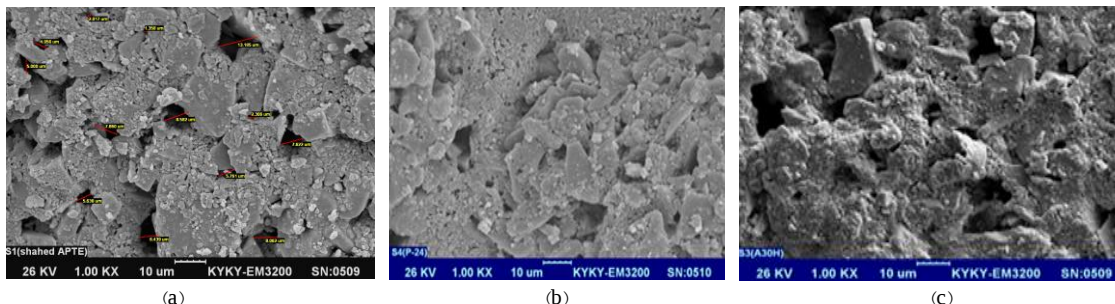
شکل ۴) طیف XRD بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش‌دهی شده با نانوذرات نقره در حضور پیش ماده APTES، پس از ۱۸ ساعت غوطه‌وری در کلونید نانوذرات نقره

فوم‌های سرامیکی با نانو ذرات نقره است، حضور نانوذرات نقره کروی شکل در تصاویر میکروسکوپ الکترونی (شکل ۵) کاملاً مشهود می‌باشد.

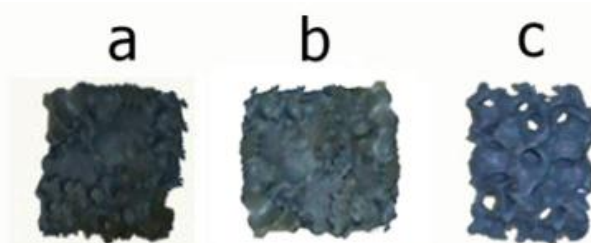
تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح بسترهای فیلتر سرامیکی معمولی و پوشش یافته با نانوذرات نیز نشان دهنده پوشش‌دهی مناسب سطوح

همان‌طور که در شکل ۶ مشهود است با افزایش زمان غوطه‌وری، رنگ بسترهای فیلتر سرامیکی به تیرگی بیشتر می‌گراید.

در این پژوهش، از نظر ظاهری تغییر رنگ محسوسی در بسترهای فیلتر سرامیکی پس از غوطه‌وری در کلوئید نانوذرات نقره در حضور پیش ماده آمینوسیلان در مقایسه با نمونه‌های شاهد مشاهده گردید؛



شکل ۵) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح بسترهای فیلتر سرامیکی (a: سرامیک معمولی؛ b: بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش‌دهی شده با نانوذرات نقره در حضور APTES، پس از ۱۸ ساعت غوطه‌وری در کلوئید نانوذرات نقره؛ c: بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش‌دهی شده با نانوذرات نقره در حضور APTES، پس از ۲۴ ساعت غوطه‌وری در کلوئید نانوذرات نقره).



شکل ۶) تصویر فوم‌های سرامیکی معمولی و پوشش یافته با نانوذرات نقره (a: قطعه سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره از طریق غوطه‌وری به مدت ۲۴ ساعت در کلوئید نانوذرات نقره؛ b: قطعه سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره از طریق غوطه‌وری به مدت ۱۸ ساعت در کلوئید نانوذرات نقره؛ c: قطعه سرامیکی معمولی)

نتایج تست‌های آنتی‌بیوگرام

نتایج به‌دست آمده در این بررسی حاکی از حساسیت بالای باکتری باسیلوس به نانوذرات نقره در هر دو زمان پوشش‌دهی نانوذرات نقره بر روی بسترهای فیلتر سرامیکی (۱۸ و ۲۴ ساعت) است. بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد باکتری باسیلوس، در بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره که به مدت ۲۴ ساعت در کلوئید نانوذرات نقره غوطه‌ور گردیدند (A-24 hr) مشاهده شد (به طور متوسط ۲۵/۰۳ میلی‌متر) و کم‌ترین قطر هاله عدم رشد باکتری باسیلوس برای بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته

نتایج تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و

حداقل غلظت کشندگی (MBC)

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کمترین غلظت مهار کنندگی رشد برای باکتری باسیلوس (*Bacillus spp.*) در هر دو رقت به ترتیب ۳/۹ میلی‌گرم در لیتر (در لوله‌های کوچک) و ۴ میلی‌گرم در لیتر (در لوله‌های بزرگ) می‌باشد. همچنین میزان MBC در هر دو رقت به ترتیب ۳۱/۲۵ (در لوله‌های کوچک) و ۴۰ (در لوله‌های بزرگ) میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید.

بحث

نانوذرات نقره با مکانیسم‌های مختلف و حتی متفاوت از پادزیست‌ها رشد میکروارگانیسم‌ها را مهار و کنترل می‌کنند و این امر لزوم تحقیقات جامع تر در حیطه فناوری نانو را گوشزد می‌نماید. این مسأله افزایش روزافزون مقالات انتشار یافته در زمینه خصوصیات ضد میکروبی نانوذرات را توجیه می‌کند.

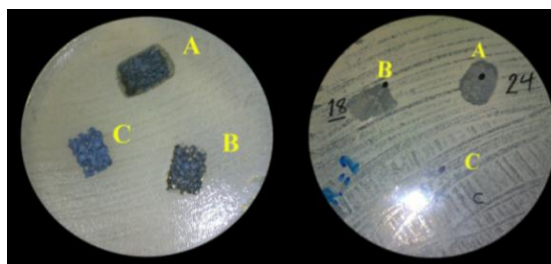
یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که کلونید نانوذرات نقره دارای اثر ضد باکتریایی بسیار مطلوبی در مقابل باکتری باسیلوس می‌باشد، به‌طوری که در غلظت‌های بسیار کمی از نانوذرات نقره باکتری‌های باسیلوس نابود شده‌اند. همچنین مشخص گردید که شدت سمیت یا اثر ضدباکتریایی نانوذرات به نوع باکتری نیز بستگی دارد و این نتیجه‌ای است که در مطالعات قبلی ما نیز اثبات شده است (۱۴) و مشخص گردید که باکتری باسیلوس نسبت به باکتری گرم منفی و بیرویه‌ها روی حساس تر می‌باشد. این نتیجه با نتایج یانگ (Young) و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز همخوانی دارد، به‌طوری که در آن مطالعه باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس فاقد اسپور به دلیل توانایی جذب بالای نانوذرات به عنوان گونه حساس تر شناخته شده‌اند (۲۶). در مطالعات دیگر، یون (Yoon) و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۲۷) و روپارلیا (Ruparelia) و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۲۸) اظهار داشتند که باسیلوس سوبتیلیس حساسیت بیشتری نسبت به /شریشیا کلای به هر دو نانوذرات نقره و مس دارد. این مسأله که در بعضی مطالعات باکتری‌های گرم مثبت به عنوان گونه‌های حساس تر شناخته شده‌اند و در بعضی دیگر خلاف این موضوع اثبات می‌شود، می‌تواند ناشی از ویژگی‌های فردی و سویه‌ای باکتری‌ها باشد (۲۹). نتیجه پژوهش حاضر با نتایج

با نانوذرات نقره با ۱۸ ساعت غوطه‌وری (A-18 hr) به دست آمد (به‌طور متوسط ۲۱/۳۲ میلی‌متر). این در حالی است که در تیمارهای محتوی بسترهای فیلتر سرمایی فاقد نانوذرات نقره، هاله عدم رشد باکتری مشاهده نگردید ($P \leq 0.05$) (شکل ۷). همچنین نتایج آزمایش آنتی‌بیوگرام داخل لوله نشان داد که بعد از تماس باکتری در زمان‌های ۲، ۴، ۶ و ۲۴ ساعت با بسترهای فیلتر سرمایی پوشش یافته با نانوذرات در مقایسه با نمونه‌های شاهد هیچ باکتری و کدورتی مشاهده نشد.

جدول ۲) مقایسه میانگین اندازه هاله عدم رشد باکتری باسیلوس در بسترهای فیلتر سرمایی پوشش یافته با نانوذرات نقره

فیلترهای سرمایی	مقایسه میانگین هاله عدم رشد
A-24 hr*	۲۵/۰۳±۰/۱۵۲ a
A-18 hr**	۲۱/۳۲±۰/۷۶ b
شاهد (معمولی)	۰۰/۰۰±۰۰/۰۰ c

* بسترهای فیلتر سرمایی پوشش یافته با نانوذرات نقره از طریق غوطه‌وری به مدت ۱۸ ساعت در کلونید نانوذرات نقره. ** بسترهای فیلتر سرمایی پوشش یافته با نانوذرات نقره از طریق غوطه‌وری به مدت ۲۴ ساعت در کلونید نانوذرات نقره. مقادیر نشان دهنده $\text{Mean} \pm \text{SD}$ حاصل از سه بار تکرار آزمایش هستند.



شکل ۷) اندازه هاله ایجاد شده اطراف قطعات سرمایی در مقابل باکتری باسیلوس کشت شده در محیط کشت مولر هیتون آگار. (A) قطعات بسترهای فیلتر سرمایی پوشش یافته با نانوذرات نقره از طریق غوطه‌وری به مدت ۲۴ ساعت در کلونید نانوذرات نقره، (B) قطعات بسترهای فیلتر سرمایی پوشش یافته با نانوذرات نقره با غوطه‌وری به مدت ۱۸ ساعت در کلونید نانوذرات نقره و (C) قطعات سرمایی معمولی (فاقد نانوذرات نقره).

مطالعه زو (Zhou) و همکاران (۲۰۰۲) متفاوت بود که این تفاوت درصد حذف در باکتری‌های مورد مطالعه می‌تواند به عواملی همچون ترکیبات موجود در دیواره سلولی آن‌ها، وجود یا عدم وجود فرم مقاوم باکتری مانند اسپور، برهمکنش گیرنده‌های لیگاندی، ROS (گونه‌های اکسیژن فعال)، عوامل فتوکاتالیکی و همچنین بار سطحی باکتری و نانوذره مرتبط باشد (۳۰).

یکی از نتایج قابل بحث در این مطالعه این بود که در آزمایش‌هایی که در محیط‌های مایع و محلول‌های نمکی بر روی باکتری‌ها صورت می‌گیرد، احتمالاً به علت وجود نمک‌ها در محیط کشت اثر تجمع‌پذیری نانوذرات در سوسپانسیون (Agglomeration و Aggregation) افزایش می‌یابد که این امر باعث افزایش قطر نانوذرات می‌شود و افزایش قطر به نوبه خود باعث نفوذ کمتر این مواد به باکتری‌ها می‌شود؛ در نتیجه سمیت واقعی این مواد کمتر از مقدار واقعی محاسبه خواهد شد و بنابراین شناسایی عوامل و مکانیسم‌های فیزیولوژیک تأثیرگذار بر رابطه سمیت نانو ذرات مختلف، از جمله نانو نقره، باید مورد توجه و بررسی بیشتری قرار گیرد.

در بخش دوم این پژوهش، اثر بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره بر رشد یک باکتری گرم مثبت شاخص در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره دارای اثر ضد باکتریایی بر باکتری مورد آزمایش است، در صورتی که همان باکتری به خوبی در حضور بسترهای فیلتر سرامیکی معمولی رشد نمود. به عبارت دیگر برخلاف اثر ضد باکتریایی بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره، فیلترهای معمولی هیچ گونه اثر ضد باکتریایی از خود نشان ندادند.

در مورد اثر مدت زمان غوطه وری بسترها در کلونید نانو ذرات نقره بر ویژگی‌های ضد میکروبی آن‌ها، نتایج گویای این مطلب است که بین دو زمان آزمایش شده تفاوت قابل توجه بوده است ($P \leq 0.05$). نتایج به‌دست آمده از تعیین خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره قرار گرفته بر روی بسترهای فیلتر سرامیکی نیز نشان داد که به احتمال زیاد شدت پیک‌های ۱۱۱ و ۲۰۰ در الگوهای XRD، با قدرت باکتری کشی رابطه‌ای مستقیم دارد؛ چرا که با افزایش زمان غوطه‌وری در کلونید از ۱۸ به ۲۴ ساعت هم ارتفاع پیک‌های مذکور و هم درصد حذف باکتری افزایش داشته است. در مورد حساسیت باکتری مذکور در تست هاله عدم رشد ایجاد شده مشخص شد که باکتری باسیلوس در مقابل بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره از طریق غوطه وری ۱۸ ساعته در کلونید نانو نقره، نسبت به بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات از طریق غوطه‌وری ۲۴ ساعته در کلونید نانو نقره، حساس‌تر بوده است که با مطالعات ال وی (Lv) و همکاران در سال ۲۰۰۹ مطابقت داشت (۱۷). به هر حال نحوه تأثیرگذاری مدت زمان غوطه‌وری، بر عملکرد بسترهای فیلتر سرامیکی نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

بر اساس نتایج مطالعاتی که تا به امروز در مورد اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره منتشر شده است دو مکانیسم ضد باکتریایی پیشنهاد می‌شود: ۱- باکتری‌ها مستقیماً توسط یون‌های نقره رها شده از سطح بسترهای فیلتر سرامیکی پوشش یافته با نانوذرات نقره کشته می‌شوند (اثرات باکتری‌کشی). گزارش شده است که یون نقره (بار مثبت) به دیواره سلولی با بار منفی می‌چسبد و باعث تغییر در نفوذپذیری دیواره سلولی می‌شود، این عمل باعث تغییر ماهیت

منتقله از آب آلوده مفید واقع شود همچنین با توجه به عوارض جانبی پادزیست‌ها می‌تواند جایگزین مناسبی نیز برای آن‌ها باشد. بنابر نتایج این تحقیق امید می‌رود که بتوان در آینده از این مکانیسم در پاک‌سازی سطوح و فضاهای آزمایشگاهی و پوشش‌هایی که احتمال آلودگی در آن می‌رود استفاده نمود که مطمئناً افق‌های جدیدی را خواهد گشود.

نتیجه‌گیری

نانو ذرات نقره دارای قابلیت ضدباکتریایی قابل ملاحظه‌ای در شرایط برون تن بر روی سویی گرم مثبت مورد مطالعه می‌باشد و در ادامه لازم است بررسی‌های وسیع‌تر و دامنه داری انجام شود تا غلظت مؤثر این نانوذره در شرایط درون تن بر باکتری‌های مورد نظر و اثرات جانبی آن در این غلظت مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله از ریاست محترم پژوهشی پژوهشکده میگوی کشور جناب آقای دکتر بابک قائدینا، گروه شیمی دانشکده علوم دانشگاه خلیج فارس و مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس دانشگاه خلیج فارس بوشهر به خاطر حمایت‌های مالی از این طرح و فراهم نمودن امکانات لازم و همچنین جناب آقای مهندس عباس جمالی و سرکار خانم دکتر معصومه باوادی که در انجام این طرح ما را یاری فرمودند سپاسگزاری می‌نمایند.

پروتئین‌ها و تحریک نابودی و زوال سلولی و مرگ آن‌ها می‌شود. فعالیت ضدباکتریایی یون نقره باعث تغییر در مکانیسم‌های همانندسازی دئوکسی‌ریبو نوکلئیک اسید (DNA) و باعث غیرطبیعی شدن اندازه، محتویات سیتوپلاسمی و اجزاء سلولی و لایه‌های خارجی سلول‌های حساس می‌شود (۱۷).
۲- باکتری‌ها پس از تشکیل بیوفیلم بر روی بسترهای فیلتر سرامیکی از سطح آن‌ها همراه با یون‌های نقره جدا می‌شوند اما هنوز زنده‌اند. اگرچه آن‌ها نمی‌توانند به شکل کلونی در سطح پلیت‌های آگار رشد کنند چون یون‌های نقره بر روی توانایی همانندسازی باکتری در محیط کشت اثر می‌گذارد (اثر باکتریو استاتیک)، در داخل سلول یون‌های نقره مانع از رشد باکتری با فسفوریلاسیون (واکنش فسفوری شدن) تیروزین که از اجزاء پپتیدی مهم برای بقا و تقسیمات سلولی است می‌گردد (۲۱).

نتایج پژوهش حاضر با نتایج حاصل از ال وی و همکاران (۲۰۰۸ و ۲۰۰۹) (۱۷ و ۲۱) و چن و همکاران (۲۰۱۰) (۱۹) که به ترتیب اثرات فوم‌های سرامیکی، شیشه‌ای و استیل نقره اندود را بر /شریشیا کلاسی و جین (Jain) و پارادپ (Pradeep) (۲۰۰۴) (۱۴)، فونگ فنگ (Phoung Phong) و همکاران (۲۰۰۹) (۸) که تأثیر فوم‌های پلی اورتان محتوی نانو نقره را جهت حذف باکتری /شریشیا کلاسی و باسیلوس سوبتیلیس مطالعه نمودند و همچنین نتایج دیگر مطالعه ما بر باکتری ویبریو هاروی مطابقت کامل دارد (۱۴). با توجه به این که فناوری نانو در شاخه‌های مختلف علوم کاربردهای گوناگونی دارد تعمیم نتایج این مطالعه می‌تواند در پیش‌گیری بسیاری از بیماری‌های باکتریای

References:

1.Mpenyana-Monyatsi L, Mthombeni NH, Onyango MS, et al. Cost-effective filter

materials coated with silver nanoparticles for the removal of pathogenic bacteria in

- groundwater. International J Environ Res Public Health 2012; 9: 244-271.
2. Shannon MA, Bohn PW, Elimelech M, et al. Science and technology for water purification in the coming decades. Nature 2008; 452: 301-310.
 3. Masoumbeigi H, Rezaee A, Khataee AR, et al. Photocatalytic removal of Escherichia coli and Streptococcus faecalis from water using immobilized ZnO nanoparticles. Qom University Med Sci J 2013; 4: 24-36. (Persian)
 4. Sobsey MD, Handzel T, Venczel L. Chlorination and safe storage of household drinking water in developing countries to reduce waterborne disease. Water Sci Technol 2003; 47: 221-228.
 5. Morgan SM, Galvin M, Kelly J, et al. Development of a lactacin 3147-enriched whey powder with inhibitory activity against foodborne pathogens. J Food Protection 1999; 62: 1011-1016.
 6. Jay J, Loessner M, Golden D. Bacillus cereus gastroenteritis. Modern Food Microbiology, 7th ed, Springer Science, Inc, New York, USA; 2005: p. 583-590.
 7. Sharma YK, Yngard RA, Lin Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. Advances Colloid Interface Sci 2009; 145: 83-96.
 8. Phoung NTP, Thanh NVK, Phuong PH. Fabrication of antibacterial water filter by coating silver nanoparticles on flexible polyurethane foam. J Physics: Conference Series 2009; 187: 1-8.
 9. Atabakhsh P, Amin M, Mortazavi H, et al. Identification of total and fecal coliforms and heterotrophic to microbiological method and E. coli O157: H7 to immunological, and real time PCR methods in Isfahan water treatment plant. Iranian J Health Environ 2010; 3: 335-346. (Persian)
 10. Kraft A. Electrochemical water disinfection: A short review. Johnson Matthey Technology Review 2008; 52: 177-185.
 11. Rezaee A, Kashi G, Jonidi Jafari A, et al. Investigation of E. coli removal from polluted water using electrolysis method. Iranian J Health Environment 2011, 4: 201-212. (Persian)
 12. Lloyd JR. Microbial reduction of metals and radionuclides. FEMS Microbiology Reviews 2003; 27: 412-425.
 13. Ghahremani M, Kalbassi M, Soltani M, et al. Application of granule and filament silver zeolite (zeomic) in water filtration system for infection control of Streptococcus iniae in fry rainbow trout. Iranian Veterinary J 2013; 4: 83-93. (Persian)
 14. Hosseinpour Delavar F. The effect of filters containing silver nanoparticles on the bacterial load of water used to proliferation the western white shrimp (Litopenaeus vannamei) to control contamination by Vibrio harveyi. A thesis submitted in partial fulfillment for the degree of Master of Science, Persian Gulf University of Bushehr 2014; 142. (Persian)
 15. Savage N, Diallo MS. Nanomaterials and water purification: Opportunities and Challenges. J Nanoparticle Res 2005; 7: 331-342.
 16. Jimenez AE, Estrada CA, Cota AD, et al. Photocatalytic degradation of DBSNa using solar energy. Solar Energy Materials & Solar Cells 2000; 60: 85-95.
 17. Lv Y, Liu H, Wang Zh, et al. Silver nanoparticles-decorated porous ceramic composite for water treatment. J Membrane Sci 2009; 331: 50-56.
 18. Oyanedel-Craver VA, Smith JA. Sustainable colloidal-silver-impregnated ceramic filter for point-of-use water treatment. Environ Sci Technol 2008; 42: 927-933.
 19. Chen L, Zheng L, Lv Y, et al. Chemical assembly of silver nanoparticles on stainless steel for antimicrobial applications. Surface Coatings Technol 2010; 204: 3871-3875.
 20. Jain P, Pradeep T. Potential of silver nanoparticles-coated polyurethane foams as an antibacterial water filter. Biotechnology Bioengineering 2005; 90: 59-63.
 21. Lv Y, Liu H, Wang Z, et al. Antibiotic glass slide coated with silver nanoparticles and its antimicrobial capabilities. Polymers Advanc Technol 2008; 19: 1455-1460.
 22. Asghari S, Johari SA, Lee JH, et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in Daphnia magna. J Nanobiotechnology 2012; 14: 10-14.

23. Johari S, Kalbassi M, Soltani M, et al. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian J Fisheries Sci* 2013; 12: 76-95.
24. Nia JR. Preparation of colloidal nanosilver. Google patents 2011.
25. Finegold SM, Martin WJ. *Diagnostic microbiology*. 6nd ed. Missouri: The C. V. Mosby Company Inc; 1982: p. 532-659.
26. Young K, Jeong H. Antimicrobial characteristics of silver aerosol nanoparticles against *Bacillus subtilis* bioaerosols. *Environ Engin Sci* 2008; 25: 289-295.
27. Yoon K, Byeon JH, Park J, et al. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Science Total Environ* 2007; 373: 572-575.
28. Ruparelia JP, Kumar Chatterjee A, Duttagupta SP, et al. Use of zero-valent iron nanoparticles in inactivating microbes. *Water Res* 2009; 20: 435243-5251.
29. Maness PC. Bactericidal activity of photocatalytic TiO_2 reaction: to ward an understanding of its killing mechanism. *Applied Environ Microbiol* 1999; 65: 40-94.
30. Zhou H, Smith D. Advanced technologies in water and wastewater treatment. *J Environ Engin Sci* 2002; 1: 247-264.

Original Article

Assessing antibacterial effect of filter media coated with silver nanoparticles against *Bacillus* spp.

*M. Nafisi Bahabadi*¹, *F. Hosseinpour Delavar*^{1*}, *M. Mirbakhsh*²,
*KH. Niknam*³, *S.A. Johari*⁴

¹ Department of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

² Iranian Fisheries Science Research Institute, Shrimp Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran

³ Department of Sciences, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

⁴ Department of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

(Received 22 Sep, 2014 Accepted 12 Mar, 2015)

Abstract

Background: Nanotechnology is a field of applied science and technology covering a broad range of topics. Use of nanotechnology and especially silver nanoparticles in control of bacterial diseases and infections has been studied in the recent years. The aim of the present study was to investigate the in vitro antibacterial effect of filter media coated with silver nanoparticles against *Bacillus* spp.

Materials and methods: In this research, first, the antibacterial effects of silver nanoparticles against mentioned bacteria were evaluated by microdilution method in Broth medium. After confidence of inhibitory effect of colloidal silver nanoparticles, antibacterial effect of filter media coated with silver nanoparticles was evaluated via in vitro microbiology tests (zone of inhibition test and test tube test).

Results: Present study showed that colloidal silver nanoparticles have good antimicrobial effects against tested bacteria, so that MIC and MBC of silver nanoparticles for *Bacillus* spp. were calculated 3.9 and 31.25 mg/L, respectively. Also significant decrease was observed in bacterial growth after exposure to filter media coated with silver nanoparticles in test tube test and zone of inhibition test ($P \leq 5\%$).

Conclusion: The results of this research indicate that filter media coated with silver nanoparticles have considerable antimicrobial effects; therefore they could possibly be used as excellent antibacterial water filters and would have several applications in other sectors.

Key words: Antibacterial, Antibiogram, *Bacillus* spp., Ceramic, silver nanoparticles

*Address for correspondence: Persian Gulf University, College of Agriculture & Natural Resources, Department of Aquaculture & Fisheries Sciences, Bushehr, Iran. Email: fhosseinpour18@gmail.com