

Original Article

Effect of adding zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite on antibacterial properties and flexural strength of self-curing acrylic resin used in removable orthodontic appliances

Mahdiyeh Esmailzadeh¹, Baharak Divband², Fatemeh Yeganeh Sefidan³, Mona Gholami⁴, Mojgan Kachoei^{5*}

¹Student of Dentistry, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Dental and Periodontal Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran / Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³Department of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴Postgraduate Student of Orthodontics, Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁵Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran / Dental and Periodontal Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: drkachoei@gmail.com

Received: 11 Jan 2021 Accepted: 6 Feb 2021 First Published online: 23 Jun 2021

Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3):274-282

Abstract

Background: Self-curing acrylic resins, mainly composed of Polymethyl Methacrylate (PMMA), are widely used to manufacture removable orthodontic appliances. Self-curing acrylic resins have higher porosity than heat-curing acrylic resins leading to a susceptible place for microbial plaque colonization. Due to some of these microorganisms' activities, a very unpleasant odor is emitted from orthodontic base plates, which has adverse effects on patients' cooperation. This study aimed to investigate the antimicrobial properties of cold-curing PMMA acrylic resin containing ZnO nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluating its mechanical properties.

Methods: The synthesized nanocomposite ZnO/4A zeolite was added to SR Triplex® Cold orthodontic self-curing acrylic resin powder with 2wt% and 4wt% concentrations. X-ray diffraction (XRD), Field Emission Scanning Electron Microscopy (FE-SEM), energy dispersive X-ray (EDX), MAP analysis, and Dynamic light scattering (DLS) were performed to investigate the sample's characteristics. Direct test method was used to assess the antibacterial properties of the fabricated acrylic samples against three bacterial strains *Streptococcus mutans*, *Klebsiella Pnemoniae*, and *Esherichia coli*. Flexural strength was evaluated by a three-point bending test, and One-way ANOVA and Tukey's post hoc test were used for statistical evaluation of data. The p-value of less than 0.05 was considered significant.

Results: The addition of ZnO/4A in 2wt% and 4 wt% concentrations lead to more than 99% destruction of colonies in all three types of microorganisms. The mean flexural strength of acrylic specimens containing 2wt% and 4wt% of ZnO/4A significantly lower than the control group. Despite the considerable reduction, all mean values are greater than 50 MPa.

Conclusion: The ZnO/4A zeolite nanocomposite due to its potent antibacterial properties and minimal toxicity can reduce the unfavorable odor of orthodontic base plates consequently increases patient cooperation and reaching the desired result.

Keywords: Polymethyl Methacrylate, Metal nanoparticles, Removable orthodontic appliance, Zeolite

How to cite this article: Esmailzadeh M, Divband B, Yeganeh Sefidan F, Gholami M, Kachoei M. [Effect of adding zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite on antibacterial properties and flexural strength of self-curing acrylic resin used in removable orthodontic appliances]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3):274-282. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر افزودن نانوذرات اکسید روی پشیتیانی شده داخل زئولیت A4 بر خواص ضد باکتریایی و استحکام خمشی رزین آکریلی خود سخت شونده مورد استفاده در دستگاه‌های متحرک ارتودنسی

مهديه اسمعیل زاده¹، بهارک دیوبند^۲، فاطمه یگانه سفیدان^۳، مونا غلامی^۴، مژگان کچویی^{۵*}

^۱ دانشجو دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲ مرکز تحقیقات لثه و دندان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، گروه شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
^۳ گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۴ دستیار تخصصی بالینی ارتودنسی، بخش ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۵ گروه ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران/مرکز تحقیقات لثه و دندان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
 *نویسنده مسئول؛ ایمیل: drkachoei@gmail.com
 دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۴/۲
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳):۲۷۴-۲۸۲

چکیده

زمینه: رزین‌های آکریلی پلی‌متیل متاکریلات (PMMA) خودسخت شونده به شکل گسترده‌ای در ساخت دستگاه‌های متحرک ارتودنسی استفاده می‌شوند. ساختار این پلیمر آکریلی خودسخت شونده نسبت به انواع گرماسخت آن متخلخل‌تر بوده و محلی مناسب برای کلونیزاسیون پلاک میکروبی فراهم می‌کند. به دلیل فعالیت‌های متابولیکی برخی از این میکروارگانیسم‌ها بوی نامساعدی از سطح بیس پلیت‌های ارتودنسی متصاعد می‌شود که می‌تواند همکاری بیماران را مختل کند. هدف از این مطالعه تولید و افزودن نانوذرات اکسید روی پشیتیانی شده داخل شبکه زئولیت A4 (Zn/4A) به ترکیب این پلیمر آکریلی و بررسی خواص ضدباکتریایی و استحکام خمشی آن است.

روش کار: نانوذرات اکسید روی پشیتیانی شده داخل زئولیت A4 پس از تولید با درصدهای وزنی ۲ و ۴ درصد به پودر رزین آکریلی پلی‌متیل متاکریلات خود سخت شونده SR Triplex® Cold اضافه شد. آنالیزهای پراش پرتو ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی، توزیع انرژی پرتو ایکس و پراکندگی نور دینامیکی از نمونه‌های آکریل نوترکیب تهیه شد. خواص ضد میکروبی با تکنیک تماس مستقیم (Direct contact) روی سه سوش باکتریایی استرپتوکوکوس موتانس، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی بررسی شد. استحکام خمشی نمونه‌ها با تست three-point bending انجام شد. برای ارزیابی آماری داده‌ها از تست one-way ANOVA و Tukey's post hoc test استفاده و p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها: افزودن نانوکامپوزیت Zn/4A در هر دو غلظت ۲ و ۴ درصد وزنی به ترکیب آکریل پلی‌متیل متاکریلات خود سخت شونده منجر به تخریب بیش از ۹۹ درصد کلنی‌های هر سه نوع سوش باکتریایی گردید. میانگین استحکام خمشی نمونه‌های آکریلی حاوی نانوکامپوزیت Zn/4A با درصدهای وزنی ۲ و ۴ درصد به طور معناداری کمتر از گروه کنترل است ولی تمام مقادیر بیشتر از ۵۰ مگاپاسکال به دست آمد.

نتیجه‌گیری: افزودن نانوکامپوزیت Zn/4A در هر دو درصد وزنی ۲ و ۴ درصد به ترکیب پلی‌متیل متاکریلات خودسخت شونده به دلیل خاصیت ضدباکتریایی و سمیت حداقلی باعث از بین رفتن کلنی‌های باکتریایی و بوی نامساعد از بیس پلیت‌های ارتودنسی شده و با ارتقا همکاری بیمار منجر به بهبود نتایج درمان می‌گردد.

کلید واژه‌ها: پلی‌متیل متاکریلات، دستگاه متحرک ارتودنسی، زئولیت، نانوذرات فلزی

نحوه استناد به این مقاله: اسمعیل زاده م، دیوبند ب، یگانه سفیدان ف، غلامی م، کچویی م. تاثیر افزودن نانوذرات اکسید روی پشیتیانی شده داخل زئولیت A4 بر خواص ضد باکتریایی و استحکام خمشی رزین آکریلی خود سخت شونده مورد استفاده در دستگاه‌های متحرک ارتودنسی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳):۲۷۴-۲۸۲

حق تالیف برای مولفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کربیتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

رزین‌های آکریلی خودسخت شونده که به طور عمده از پلی‌متیل متاکریلات ((polymethylmetacrylat (PMMA) تشکیل شده‌اند به شکل گسترده‌ای در ساخت دستگاه‌های متحرک ارتودنسی استفاده می‌شوند (۱). پلی‌متیل متاکریلات به دلیل ویژگی‌های مطلوبی مانند خاصیت مکانیکی قابل قبول، زیست سازگاری، در دسترس بودن، مقرون به صرفه بودن، کارکرد آسان و زیبایی مطلوب به شکل گسترده‌ای در ساخت دنچرهای کامل و پارسیل و نیز دستگاه‌های متحرک ارتودنسی استفاده شده است (۲) و (۳). از دستگاه‌های متحرک ارتودنسی برای جابجایی اندک دندان‌ها، به عنوان نگهدارنده پس از درمان‌های ثابت ارتودنسی و نیز جهت درمان‌های رشدی فک استفاده می‌شود (۴).

در کنار مزایای بسیار زیاد این دستگاه‌ها، از معایب آن‌ها می‌توان به تجمع بیشتر بیوفیلم میکروبی روی سطوح دندانی، نواحی اجزا نگهدارنده و به خصوص بیس پلایت آکریلی اشاره کرد. پلی‌متیل متاکریلات در فرایند پلیمریزاسیون دچار تخلخل‌هایی در ساختار خود می‌شود که این میزان از تخلخل به نسبت تبدیل مونومر به پلیمر - که توسط کارخانه تعیین می‌گردد - وابسته و متغیر است (۳، ۵).

در مطالعات نشان داده شده است که آکریل‌های خودسخت شونده به دلیل درجه پایین پلیمریزاسیون، تخلخل بیشتری نسبت به آکریل‌های گرماسخت داشته و مکان مناسبی برای کلونیزاسیون پلاک میکروبی و چسبندگی میکروارگانیسم‌هایی چون استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکنز هستند. این میکروارگانیسم‌ها قادرند ۱ تا ۲ نانومتر درون بیس آکریلی نفوذ کنند (۴، ۶ و ۷).

با فعالیت‌های متابولیکی برخی از این میکروارگانیسم‌ها بوی بسیار نامناسبی از بیس پلایت‌های ارتودنسی منتشر می‌شود که بر همکاری بیماران تحت درمان ارتودنسی اثر نامطلوبی دارد (۸ و ۹). همچنین استفاده از دستگاه‌های متحرک ارتودنسی می‌تواند فلور میکروبی دهان را تغییر داده و تعداد کلنی‌های استرپتوکوک موتانس را افزایش دهد. از این رو در بیماران ارتودنسی استفاده از مواد شیمیایی ضد میکروبی مانند دهانشویه کلرهگزیدین گلوکونات توصیه شده است چراکه مسواک زدن معمول به تنهایی قادر به حذف کامل میکروارگانیسم‌ها از تمامی نواحی گیر پلاک نیست. این ماده در مقایسه با سایر مواد شیمیایی ضد میکروبی، استاندارد طلایی است اما به دلیل عوارض جانبی آن مانند ایجاد تغییر حس چشایی و نیز تغییر رنگ دندان‌ها برای استفاده طولانی مدت در بسیاری از بیماران قابل قبول نیست (۷).

نکات کاربردی

در این مطالعه مشخص شد که افزودن نانوذرات زیست سازگار اکسید روی داخل شبکه ژئولیت A۴ به ترکیب پلیمر سازنده بیس پلایت‌های ارتودنسی، خاصیت ضد باکتریایی مطلوبی به آن می‌بخشد که بوی نامطبوع را از بین برده و همکاری بیمار را افزایش می‌دهد.

به دلیل وجود چنین محدودیت‌هایی، افزودن موادی به ساختار بیس پلایت آکریلی که خاصیت ضد میکروبی داشته و بتواند مانع تشکیل کلونی‌های باکتریایی روی آن شود و در عین حال ویژگی‌های مکانیکی آن را تضعیف نکند، مورد توجه قرار گرفت. در مطالعه فرهادیان و همکاران، نانوذرات نقره به بیس پلایت آکریلی دستگاه‌های نگهدارنده ارتودنسی (Retainers) افزوده شد. در این مطالعه نشان داده شد افزودن این نانو ذرات با سایز ۴۰ نانومتر و با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام به بیس پلایت آکریلی منجر به کاهش قابل توجه تشکیل کلونی باکتری استرپتوکوک موتانس می‌شود. از مشکلات استفاده از این نانوذره، توجه به مقدار و نحوه تولید این نانوذرات برای سمیت حداقلی همراه خاصیت ضد میکروبی حداکثری است (۱۰). همچنین در مطالعه غفاری و همکاران، افزودن نانوذرات نقره با غلظت ۵ درصد وزنی به آکریل PMMA گرماسخت، منجر به کاهش استحکام کششی رزین آکریلی می‌شود (۱۱). در مطالعات پیشین خاصیت ضد میکروبی نانوذره اکسید روی بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ ثابت شده است (۱۲ و ۱۳)؛ همچنین زیست سازگاری و غیرسمی بودن آن منجر به استفاده گسترده آن در وسایل آرایشی و بهداشتی شده است (۱۴). در مطالعه سیرک و همکاران افزودن این نانو ذره به PMMA گرماسخت منجر به خاصیت ضدقارچی (کاندیدا آلبیکنز) بیس دنچر و در نتیجه کاهش دنچر استوماتیتیس شده است (۱۵). در مطالعه دیگر سیرک و همکاران، خواص مکانیکی این دنچر بیس جدید بررسی و مشخص شد افزودن این نانوذره بر خاصیت مکانیکی رزین آکریلی مانند سختی، تاثیر نامطلوبی نداشته است (۱۶). ژئولیت‌های ضد باکتریایی امروزه بسیار مطالعه شده‌اند. ژئولیت‌ها ذرات سیلیکات با ساختاری کریستالی هستند که در ساختار خود فضاها خالی با ابعادی برابر ۱۰-۳ آنگستروم دارند و این فضاها محل مناسبی برای تبادل کاتیون‌های ضد میکروبی همانند نقره و روی هستند (۱۷). امروزه با گسترش تولید ژئولیت‌ها از آنها به عنوان پشتیبانی کننده برای بهبود عملکرد یون‌های اکسید فلزی که خاصیت ضد میکروبی دارند استفاده می‌شود (۱۸). هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد میکروبی رزین آکریلی پلی‌متیل متاکریلات خودسخت شونده SR Triplex® Cold حاوی نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده در حفرات ژئولیت A۴، بر سه گونه باکتریایی استرپتوکوکوس

ست شده به بیس پلیت ارتودنسی از تکنیک نمک‌پاش (sprinkle-on) استفاده شد. مطابق دستور کارخانه به ازای هر ۱۳ گرم پودر ۱۰ میلی‌لیتر مونیومر مایع استفاده شد.

آنالیز الگوی پراش پرتو ایکس XRD

الگوی پراش پرتو ایکس برای بررسی ساختار کریستالی نمونه‌های پودری رزین آکرلی مخلوط شده با نانوکامپوزیت Zn/4A با دستگاه Bruker D5000 x-ray powder diffraction system (سیمنز، آلمان) انجام شد. ژنراتور تولید اشعه X در ۴۰ کیلووات و ۳۰ میلی‌آمپر تنظیم شد. تشعشعات بازتابی از نمونه‌ها در دمای محیط و در محدوده زاویه $\theta=4-70^\circ$ ثبت و نمودار مربوط به شدت بازتابش آنها رسم شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) و آنالیز Element mapping (MAP) توزیع انرژی پرتوی ایکس (EDX)

برای بررسی مورفولوژی و آنالیز ریزساختار نانوکامپوزیت Zn/4A تولید شده و همچنین بررسی پودر مخلوط شده آکرل با نانوکامپوزیت قبل و بعد از پلیمریزه شدن از Field Emission Scanning Electron Microscope (تسکان، برنو، جمهوری چک) که مجهز به Energy Dispersive X-ray (EDX) بود استفاده شد. از طیف‌سنجی پراکندگی پرتو ایکس (EDAX) برای تجزیه و تحلیل ساختاری و آنالیز عناصر موجود در نمونه‌ها استفاده شد. نمونه‌های SEM قبل از مطالعه با روکش طلا آماده‌سازی شدند و دستگاه SEM در ۵ کیلوولت و EDX در ۱۵ کیلوولت تنظیم شد. آنالیز MAP به کمک Wavelength-Dispersive X-Ray spectroscopy system (WDS) انجام شد تا از توزیع یکنواخت نانوذرات و عناصر در نمونه‌های پلیمری اطمینان حاصل شود.

پراکندگی نور دینامیکی (DLS)

برای ارزیابی اندازه، فراوانی، پراکندگی و همچنین پتانسیل زتا و ارزیابی پایداری نانوکامپوزیت Zn/4A ساخته شده، از دستگاه dynamic light scattering (DLS) Zetasizer Nano ZS ZEN 3600 (شرکت تجهیزاتی مالورن، انگلیس) استفاده شد و در طول موج ۶۳۳ نانومتر تنظیم شد. از آب مقطر برای تهیه سوسپانسیون نانوکامپوزیت Zn/4A طی ارزیابی استفاده شد. اندازه ذرات با شاخص ID (intensity distribution) مشخص شد و برای ارزیابی پراکندگی ذرات از polydispersity index (PDI) استفاده شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام تست ضد میکروبی

پلیت کشت ۶ خانه استریل تهیه و داخل هر یک از چاهک‌ها با توجه به نسبت‌های توصیه شده کارخانه سازنده میزان ۱۰ میلی‌لیتر مونیومر ریخته شد. ۱۳ گرم پودر پلیمری حاوی نانوکامپوزیت Zn/4A با دو درصد وزنی ۲ و ۴ درصد با تکنیک نمک‌پاش (sprinkle on) به مایع مونیومر اضافه شد. تمامی نمونه‌ها

موتانس، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی و سنجش استحکام خمشی آن است.

روش کار

مطالعه حاضر به صورت تجربی و آزمایشگاهی انجام شده و با کد اخلاق IR.TBZMED.VCR.REC.1398.350 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز تصویب شده است. نانو ذرات اکسید روی پشیتیانی شده در ژئولیت A₄ مطابق مطالعات مشابه پیشین تولید می‌شود (۱۸) و از این پس در این مقاله با نام اختصاری نانوکامپوزیت Zn/4A یاد می‌شود.

تولید ژئولیت حاوی نانو اکسید روی (Zn/4A)

برای تولید ژئولیت حاوی نانو اکسید روی، ابتدا ژئولیت A₄ به روش هیدروترمال و با ظروف تفلونی مشخص، تولید شد. در مرحله اول اسید سیلیسیک، آلومینیوم نیترات، تمپلیت و واکنشگرهای قلیایی را برای تشکیل شبکه اولیه ژئولیت در یک بشر ریخته، پس از تشکیل شبکه اولیه ژئولیت در بشر، دو سوم ظروف تفلونی را با مواد یادشده پر کرده و یک سوم بقیه خالی گذاشته شد. سپس ظروف تفلونی را در دما و فشار ثابت قرار دادیم تا شبکه نهایی ژئولیت A₄ در اثر کریستالیزه شدن تشکیل شود. در مرحله بعد، رسوب ژئولیت تشکیل شده را از ظروف تفلونی خارج کرده و برای کاهش پی اچ چندین بار شستشو شد. در مرحله آخر برای خروج تمپلیت از ژئولیت، در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت کلسینه شد. سپس از روش تبادل یونی برای آماده سازی نانوذرات اکسید روی داخل شبکه ژئولیت A₄ استفاده شد. محلولی با غلظت ۰/۱۷ گرم زینک استات دهیدرات (Merck, Zn (CH₃CHOO) 2.2H₂O) تهیه شد و با نسبت ۵:۹۵ (درصد وزنی / وزنی) به سوسپانسیون ژئولیت A₄ اضافه شد، در نهایت بعد از تبادل یونی، ذرات تولیدی با سانتریفیوژ جدا شده و در دمای اتاق خشک شد. سپس داخل کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد کلسینه شده و نانو کامپوزیت ژئولیت A₄ حاوی اکسید روی (Zn/4A) تولید شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها

در این مطالعه از رزین آکرلی خودسخت شونده ارتودنسی Ivoclar Vivadent AG, FL-9494) SR Triplex® Cold (Schaan/Liechtenstein) استفاده شد. برای افزودن نانو ذرات ساخته شده به ترکیب آکرل، پودر نانوکامپوزیت تولید شده Zn/4A با درصدهای وزنی ۲ و ۴ به پودر آکرل SR Triplex® Cold افزوده شد. در ابتدا به شکل دستی مخلوط شد و برای اطمینان از مخلوط‌سازی یکنواخت نمونه‌ها به مدت ده دقیقه در دستگاه آمالگاماتور مخلوط شدند. برای تشابه ساخت نمونه‌های آکرلی

نگهدارنده ۵۰ سانتی متر تنظیم شد. پنج نمونه به شکل نواری به طول ۶۴، عرض ۰,۲ ± ۱۰ و ارتفاع ۰,۲ ± ۳,۳ میلی متر ساخته شدند. حداکثر نیروی لازم برای شکست هر نمونه از روی دستگاه به نیوتن خوانده و در فرمول (۱) جایگذاری شد. در فرمول، F بیشترین نیروی لازم جهت شکست نمونه، I فاصله بین پشتیبان‌های دستگاه، b پهنای نمونه‌ها و h ارتفاع نمونه‌ها است. مقدار استحکام خمشی نهایی برحسب مگاپاسکال گزارش شد. برای ارزیابی آماری داده‌ها از تست ANOVA یک طرفه و Tukey's post hoc test استفاده شد و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

$$\text{Flexural strength} = 3Fl/2bh^2 \quad (1)$$

یافته‌ها

الگوی پراش پرتو ایکس مربوط به نمونه پودر رزین آکریلی حاوی نانوکامپوزیت تولید شده Zn/4A در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۱ پودر زئولیت حاوی نانوذرات اکسیدروی با ساختار و رتزیست شش ضلعی پیک‌هایی در 20 = 7.30, 10.3, 12.6, 21.9, 24.2, 27.3, 30.1, 34.4 مشاهده شده برای زئولیت اکسید روی با داده‌های استاندارد (JCPDS, 79-0207) مطابقت دارد که نشانگر کریستاله شدن خوب نانوکامپوزیت تولید شده است.

شکل ۲ نشانگر تصاویر FE-SEM از آکریل پلیمریزه شده حاوی نانوکامپوزیت Zn/4A است. در آکریل پلیمریزه شده، نانوکامپوزیت مورد نظر هم در لایه‌های سطحی و هم داخل ساختار آکریل پخش شده است. نتایج آنالیز EDX و MAP نیز با تصاویر SEM سازگاری دارد. با توجه به شکل ۳ وجود عناصر کربن و اکسیژن تاییدکننده حضور ذرات پلی‌متیل متاکریلات و وجود عناصر سیلیسیوم و آلومینیوم و روی حاکی از حضور نانوذرات اکسید روی در زئولیت است. در تصاویر مربوط به آنالیز EDS-mapping اتم‌های عناصر موجود تقریباً توزیع یکنواختی را نشان می‌دهند و البته شواهدی از انباشتگی ذرات تولید شده در برخی مناطق نمونه دیده می‌شود (شکل ۴).

نتایج حاصل از پراکندگی نور دینامیکی از سوسپانسیون پودر نانو کامپوزیت Zn/4A در داخل آب مقطر در شکل ۵ نشان داده شده است. مطابق نمودار توزیع و پراکندگی اندازه ذرات، پروفایل اندازه نانو کامپوزیت Zn/4A میانگین ۲۹۵ نانومتر را نشان می‌دهد و با نتایج پیش‌بینی شده با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی همخوانی داشت. همچنین بار سطحی نانوکامپوزیت‌های ساخته شده براساس پتانسیل زتا منفی ۴۵,۹ میلی‌ولت است که این پتانسیل زتا بالا حاکی از پایداری خوب ذرات در محلول آبی است.

به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند تا به خوبی پلیمریزه شوند. در یکی از چاهک‌ها آکریل بدون نانوذره به عنوان کنترل مثبت قرار داده شد و نیز برای اطمینان از صحت انجام تست ضد میکروبی، یک نمونه آکریلی حاوی نانو ذرات نقره با غلظت بالا - که در مطالعات قبلی (۱۹) خاصیت ضد میکروبی آن ثابت شده است - به عنوان کنترل منفی قرار داده شد.

برای ارزیابی خواص ضد میکروبی نمونه‌های آکریلی ساخته شده از تکنیک دایرکت تست و کلنی کانت استفاده شد. پلیت کشت شش خانه که در هرچاهک آن نمونه‌های آکریلی حاوی نانوذرات ست شده قرار داده شده بود به طور کامل با اتانول ۷۰ درصد شستشو شده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در زیر نور UV قرار داده شد تا استریل شوند. از سه سوش باکتریایی اشرشیاکلی (Escherichia coli ATCC 25922)، استرپتوکوکوس موتانس (Streptococcus mutans PTCC 1683) و کلبسیلا پنومونیه (Klebsiella pneumonia ATCC 700603) برای ارزیابی خواص ضد میکروبی استفاده شد. سوش‌های باکتریایی به طور جداگانه و در شرایط استریل روی محیط کشت BHI آگار (Brain Heart Infusion agar, Merck, Darmstadt, Germany) برای ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه کشت داده شدند. پس از دوره انکوباسیون از سویه‌های مورد نظر غلظت استاندارد نیم مک فارلند ($1.5 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$) به محیط کشت BHI broth (مرک، دارمستاد، آلمان) تلقیح و سوسپانسیون اولیه آماده شد. در شرایط استریل از غلظت تهیه شده، ۱۰۰۰ میکرولیتر - که تقریباً معادل 1.5×10^8 تعداد کلنی باکتریایی در هر میلی‌لیتر است - به هر یک از چاهک‌های حاوی نانوذره و چاهک بدون نانوذره که به‌عنوان کنترل (رشد سویه) در نظر گرفته شده بود انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از دوره انکوباسیون جهت بررسی رشد و عدم رشد میکروارگانیسم‌ها از تمام چاهک‌ها تقریباً ۲۰ لاند به محیط کشت BHI آگار انتقال یافت. جهت شمارش تعداد کلنی باکتری‌ها، رقت‌سازی شد. از هر رقت، ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت کشت استاندارد BHI آگار تلقیح و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تعداد کلنی شمارش و تعداد کلنی‌ها به صورت CFU/mL گزارش شد. مراحل برای هر یک از سوش‌های باکتریایی به صورت مشابهی تکرار شد.

بررسی استحکام خمشی

باری ارزیابی استحکام خمشی نمونه‌های آکریلی ساخته شده از تست three-point bending با دستگاه universal testing machine (Hounsfield H5K-S, England) استفاده و مطابق استاندارد ایزو شماره (ISO 20795-1(2008)) عمل شد. کراس هد دستگاه با سرعت پنج میلی‌متر در دقیقه و فاصله بین پایه‌های

جدول ۱: مقایسه شمارش تعداد کلنی های باکتریایی تشکیل شده در هر میلی لیتر روی نمونه های آکریلی

سوش باکتریایی	غلظت اولیه (CFU/ml)	کنترل (پلی متیل متاکریلات)	پلی متیل متاکریلات ZnO/4A+ (۲٪)	پلی متیل متاکریلات ZnO/4A+ (۴٪)
اشریشیا کلی	$1/5 \times 10^8$	$3/4 \times 10^{11}$.	.
استرپتوکوکوس موتانس	$1/5 \times 10^8$	$4/7 \times 10^{11}$.	.
کلبسیلا پنومونیه	$1/5 \times 10^8$	$2/4 \times 10^{11}$	9×10^7	.

جدول ۲: مقادیر استحکام خمشی نمونه های آکریلی گروه های تست و گروه کنترل برحسب مگاپاسکال

گروه مورد مطالعه	تعداد نمونه	میانگین استحکام خمشی (مگاپاسکال)	انحراف معیار
پلی متیل متاکریلات (ZnO/4A 2%+)	۵	$62/64^*$	$\pm 4/41$
پلی متیل متاکریلات (ZnO/4A 4%+)	۵	$65/74^*$	$\pm 7/44$
کنترل	۵	۸۵/۸۵	$\pm 4/58$

*اختلاف معنادار با گروه کنترل برحسب آنالیز تعقیبی توکی ($p < 0/05$)

خاصیت ضد میکروبی

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی آکریل سلف کیور حاوی نانو ذرات ZnO/4A روی سه سوش باکتریایی اشریشیا کلی (Escherichia coli)، استرپتوکوکوس موتانس (Streptococcus mutans) و کلبسیلا پنومونیه (Klebsiella pneumonia) انجام شد و نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی های باکتری تشکیل یافته در جدول ۱ آورده شده است. مطابق جدول، رزین آکریلی حاوی ZnO/4A ۲ و ۴ درصد بر هر سه سوش باکتریایی موثر است و منجر به از بین رفتن آنها می شود. رزین آکریلی حاوی ZnO/4A با غلظت ۴ درصد منجر به از بین رفتن ۱۰۰ درصد کلنی های هر سه نوع میکروارگانیسم می شود و در مورد ZnO/4A با غلظت ۲ درصد فقط تشکیل تعداد کمی کلنی در مورد میکروارگانیسم کلبسیلا پنومونیه دیده شد که در مقایسه با نمونه کنترل به مقدار قابل ملاحظه ای کمتر است.

استحکام خمشی

نتایج مربوط به استحکام خمشی نمونه ها در جدول ۲ آورده شده است. میانگین استحکام خمشی در نمونه های آکریلی حاوی ۲ و ۴ درصد وزنی Zn/4A در مقایسه با نمونه کنترل - که پلی متیل متاکریلات فاقد Zn/4A است - به صورت معناداری کمتر است ($p < 0/05$)، در حالی که تفاوت مقادیر استحکام خمشی بین پلی متیل متاکریلات حاوی ۲ درصد Zn/4A و ۴ درصد Zn/4A معنادار نیست ($p < 0/05$) ولی با وجود کاهش معنادار میانگین های استحکام خمشی در گروه های تست (پلی متیل متاکریلات حاوی ۲ درصد Zn/4A و ۴ درصد Zn/4A) در مقایسه با گروه کنترل (پلی متیل متاکریلات بدون Zn/4A) تمامی مقادیر بالای ۵۰ مگاپاسکال هستند که از نظر استاندارد ایزو شماره ((ISO 20795:1(2008 قابل قبول است.

بحث

هدف از مطالعه حاضر افزودن نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده داخل شبکه ژئولیت A۴ به ترکیب پودر آکریل خودسخت شونده SR Triplex® Cold و بررسی خواص ضدباکتریایی و استحکام خمشی آن پس از فرآیند پلیمریزاسیون بود. رزین آکریلی پلی متیل متاکریلات خودسخت شونده ماده رایج در ساخت بیس پلیت های متحرک ارتودنسی است. این ماده بعد از پلیمریزاسیون و سخت شدن به دلیل تبخیر مونومر باقیمانده ای که وارد فرآیند پلیمریزاسیون نشده است ساختاری متخلخل می یابد. باکتری های متنوعی در فلور میکروبی حفره دهان وجود دارند و روی سطوح مختلفی قادر به کلونیزاسیون هستند. بیس پلیت آکریلی دستگاه های متحرک ارتودنسی نیز با توجه به ساختار ناصاف و تخلخل های بسیار ریز (porosities) با وجود فرآیندهای فینیشینگ و پالیشینگ همچنان محل مناسبی برای رشد باکتری های متنوع دهانی است. تجمع باقیمانده های مواد غذایی همراه کلونیزاسیون میکروارگانیسم ها روی بیس پلیت آکریلی منجر به فعالیت های متابولیکی میکروارگانیسم ها می شود. یکی از محصولات جانبی حاصل از فعالیت های متابولیکی باکتری های پروتئولیتیک، بی هوازی و گرم منفی، سولفورهای فرار (volatile sulfide compounds, VSCs) مانند هیدروژن سولفید و متیل مرکاپتان هستند (۲۰). از آنجایی که دستگاه های متحرک ارتودنسی برای درمان های رشدی فک (فانکشنال) باید برای ساعات زیادی در دهان بیمار قرار داشته باشند و از سویی بیماران در حال درمان با این دستگاه ها اغلب از رده سنی پایینی هستند، نتایج مطلوب درمانی وابستگی زیادی به همکاری بیمار دارد. در بسیاری از موارد یکی از دلایل عدم همکاری بیمار و نبود رغبت و انگیزه برای استفاده از دستگاه متحرک، بوی نامطلوبی است که پس از چند ماه استفاده از دستگاه تولید می شود و همکاری بیمار را مختل ساخته و

ولی متخلخل مانند ژئولیت‌ها است و این تکنیک در بهبود خواص ضد میکروبی این نانوذرات موثر است. امروزه برای افزایش خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید فلزی با هدف کاهش انباشتگی و توده‌ای شدن (aggregation) و شسته شدن (leaching) آنها از روی سطح و یا داخل ترکیبات صنعتی و یا مواد دندانی از تکنیک‌های تولید مختلفی مانند قرار دادن آنها در یک بافت زمینه متخلخل مانند ژئولیت استفاده شده است (۱۸، ۲۵). ژئولیت‌ها نانوساختارهای آلومینوسیلیکاتی متخلخل سه بعدی هستند که از چهارضلعی‌های SiO_4 و AlO_4 تشکیل شده‌اند. این چهارضلعی‌ها توسط اتم‌های اکسیژن به هم متصل می‌شوند و یک ساختار کریستالی با حفرات و کانال‌هایی در اندازه اتمی تشکیل می‌دهند (۱۸). این ساختار ویژه امکان تماس مستقیم این کاتیون‌ها با میکروارگانیسم‌های موجود در محیط را فراهم می‌کند (۱۷). خاصیت ضد میکروبی ژئولیت‌های ادغام شده با این کاتیون‌های ضد میکروبی در مواد دندانی اثبات شده است (۱۷، ۲۱). این ماده غیرسمی و زیست سازگار بوده، خاصیت ضد میکروبی بلند مدت داشته و بدون طعم و مزه است (۱۸، ۲۶). این خصوصیات مطلوب منجر به استفاده گسترده ذرات ژئولیت شده است (۲۵)، بنابراین در این مطالعه نانوذرات اکسید روی به کمک ژئولیت A_4 پشتیبانی شده و به پلیمر پلی متیل متاکریلات افزوده شد. بر اساس مطالعات گذشته یکی از خصوصیات مهم در تعیین میزان پایداری و رفتار ذرات بسیار ریز مانند نانوذرات در محیط‌های آبی، پتانسیل زتا آنها است و هرچه مقدار بالاتری داشته باشد ذرات پایداری بیشتری دارند و تمایل کمتری برای توده‌ای شدن دارند. مقادیر پتانسیل زتا در بازه ± 40 تا ± 60 میلی‌ولت برای نانوذرات پایداری خوبی را همراه دارد (۲۷). مطابق نتایج مطالعه حاضر، نانوکامپوزیت $\text{Zn}/4\text{A}$ تولید شده با پتانسیل زتا منفی 45.9 پایداری خوبی دارد. از بین خصوصیات مکانیکی رزین‌های آکریلی، استحکام خمشی (flexural strength) اهمیت بالایی دارد و یک استاندارد حداقلی برای همه پلیمرهای دندانی - که شامل رزین‌های آکریلی نیز می‌شود - توسط سازمان استاندارد جهانی (ISO 20795 2008) تعیین شده است (۲۸). در نتیجه افزودن هرگونه ماده‌ای به بیس پلیت آکریلی ارتودنسی باید از نظر استحکام خمشی بررسی شود تا در کاربرد بالینی شکست نخورد. در مطالعه کازمیرو (۱۷) تاثیر افزودن نانوذرات سیلور زینک ژئولیت (Irguard B5000) بر سه نوع آکريل تجاری استفاده شده برای ساخت دینچرهای کامل بی‌دندانی (آکريل سخت شونده با امواج ماکروویو Onda-Cryl، آکريل‌های گرماسخت Lucitone 550 و QC20) از نظر خواص ضد میکروبی و استحکام خمشی بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد افزودن مقادیر بیش از $2/5$ درصد ژئولیت به هر سه نوع آکريل به‌طور معنی‌داری باعث کاهش استحکام خمشی نسبت به گروه کنترل شده است. اما در مقادیر کمتر از 5 درصد تمام اعداد

درمان را با شکست مواجه می‌کند (۴، ۷ و ۱۰). مطالعات قبلی که روی دینچرهای پروتزی که به‌طور معمول از پلی متیل متاکریلات گرماسخت ساخته می‌شوند انجام گرفته، نشان می‌دهند که بیشترین میکروارگانیسمی که روی بیس‌های آکریلی تکثیر داشته، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی هستند (۸). همچنین در مطالعات مختلفی علت بوی نامساعد از حفره دهان را تکثیر باکتری‌های گرم منفی مانند خانواده انتروباکتریاسه بیان کرده‌اند (۹). در نتیجه در مطالعه حاضر دو نوع باکتری از خانواده انتروباکتریاسه شامل کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی برای ارزیابی خواص ضد میکروبی آکريل نوترکیب، انتخاب و بررسی شد. یکی دیگر از باکتری‌های موجود در حفره دهان باکتری استرپتوکوک موتانس است که در مطالعات مختلف عامل اصلی پوسیدگی‌های دندانی گزارش شده است (۴، ۷). در این مطالعه با افزودن نانوکامپوزیت تولید شده $\text{Zn}/4\text{A}$ با درصد‌های وزنی ۲ و ۴ درصد به ترکیب رزین پلی متیل متاکریلات، کلنی‌های هر سه نوع سوش باکتریایی اشرشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکوکس موتانس به‌طور معناداری از بین رفتند. در مطالعه کارآزمایی بالینی فرهادیان و همکاران (۱۰) نانوذرات نقره را به بیس پلیت آکریلی نگهدارنده‌های ارتودنسی افزوده و تاثیر آن را بر تشکیل کلنی باکتری استرپتوکوک موتانس سنجیدند و به این نتیجه رسیدند که افزودن این نانوذرات به‌طور معناداری باعث کاهش چشمگیر کلنی‌های تشکیل یافته این باکتری شده است که همسو با نتایج مطالعه ما است. در مطالعه فرهادیان و همکاران تاثیر افزودن نانوذرات نقره به بیس پلیت آکریلی بر خواص مکانیکی آن بررسی نشده است. در این مطالعه استحکام خمشی نمونه‌های آکریلی حاوی نانوکامپوزیت $\text{ZnO}/4\text{A}$ برای بررسی تغییرات مکانیکی احتمالی ارزیابی شد. در مطالعات قبلی افزودن نانوذرات نقره به آکريل‌های خودسخت شونده و یا گرماسخت PMMA به آن خاصیت ضد میکروبی خوبی داده است (۱۱، ۱۷، ۲۱). با این حال با توجه به سمی بودن نقره باید در هنگام افزودن این نانوذرات میزان ره‌آیش یون‌های نقره ارزیابی شده و نانوذرات نقره باید در اندازه و غلظت محدودی استفاده شوند و این موضوع اندکی چالش‌انگیز است. خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی در مطالعات متعددی ثابت شده است (۱۲، ۲۲-۲۴). همچنین در مطالعات مشخص شده است که نانوذرات ZnO تا غلظت 100 پی‌پی‌ام سمی بودن قابل ملاحظه‌ای برای سلول‌های انسانی نداشته و در بسیاری از صنایع کاربرد دارند (۲۳). بنابراین انتخاب این نانوذره برای بهبود خواص ضد میکروبی مواد دندانی معقول به نظر می‌رسد. نانوذرات اکسید روی در صنایع غذایی قابل استفاده بوده و مسمومیتی برای انسان ندارند و از نانوذرات ایمن با خاصیت ضد میکروبی هستند (۱۸، ۲۳). یکی از تکنیک‌های جدید برای افزودن نانوذرات اکسید فلزی به مواد پلیمری استفاده از یک پشتیبانی کننده و نگهدارنده با ابعادی بزرگتر

قدردانی

از مرکز تحقیقات لثه و دندان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به دلیل حمایت مالی از پژوهش تشکر می‌کنیم.

ملاحظات اخلاقی

طرح پژوهشی مطالعه حاضر با کد اخلاقی IR.TBZMED.VCR.REC.1398.350 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز تایید شده است.

منابع مالی

منابع مالی مطالعه حاضر توسط مرکز تحقیقات لثه و دندان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تامین شده است.

منافع متقابل

مولفان اظهار می‌کنند که هیچ منافع متقابلی از تالیف و انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

م ک ایده پردازی و طراحی مطالعه را عهده داشت. ب ک، ف ی س، م ا، به‌طور مشترک در آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام تست‌های آزمایشگاهی و تحلیل داده‌ها همکاری کردند. م غ، م ا جمع‌آوری داده‌ها و ارزیابی مطالعات پیشین و نگارش پیش‌نویس مقاله را عهده داشتند. همه نویسندگان در نقد و بررسی محتوای فکری پیش‌نویس مقاله مشارکت داشتند و آن را تایید کرده‌اند.

به دست آمده از استحکام خمشی با ایزو شماره ISO 1567 مطابقت داشته و بیش از ۶۵ مگاپاسکال بوده است. نتایج مطالعه ما نیز نشان داد افزودن نانوکامپوزیت تولید شده Zn/4A به آکريل خودسخت شونده SR Triplex® Cold در هردو درصد وزنی ۲ و ۴ درصد باعث کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل می‌شود ولی تمام مقادیر بالای ۵۰ مگاپاسکال بوده و با ایزو شماره (ISO 20795-1 2008) مطابقت دارد. دلیل تفاوت مقادیر استاندارد حداقلی برای استحکام خمشی در دنچرها و بیس پلیت‌های ارتودنسی این است که بیس پلیت‌های ارتودنسی برخلاف دنچرها در هنگام تغذیه از دهان خارج می‌شوند، در نتیجه نیازی به تحمل نیروهای جویدنی سنگین ندارند و داشتن حداقل استحکام خمشی ۵۰ مگاپاسکال از نظر بالینی قابل قبول است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه فعلی، افزودن نانوذرات اکسید روی - که داخل شبکه ژئولیت A₄ قرار داده شده‌اند (Zn/4A) - به ترکیب پلی‌متیل متاکریلات خود سخت شونده SR Triplex® Cold - که در ساخت بیس پلیت‌های ارتودنسی استفاده می‌شود - خاصیت ضد میکروبی قوی به آن می‌دهد. با از بین رفتن کلونی‌های باکتریایی بوی نامساعد ناشی از فعالیت‌های متابولیکی آنها و خطر پوسیدگی دندان‌ها کاهش یافته و همکاری بیماران افزایش می‌یابد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده موفقیت‌های درمانی ناشی از استفاده از این بیس پلیت‌ها به صورت بالینی بررسی شود.

References

- Borzabadi-Farahani A, Borzabadi E, Lynch E. Nanoparticles in orthodontics, a review of antimicrobial and anti-caries applications. *Acta Odontol. Scand* 2014;72(6):413-7. doi: 10.3109/00016357.2013.859728
- Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Prosthetic polymers and resins. In: Phillips' science of dental materials: Elsevier, St. Louis, Missouri, 12th edition.
- Shirkavand S, Moslehifard E. Effect of TiO₂ nanoparticles on tensile strength of dental acrylic resins. *JODDD* 2014;8(4):197.
- Lessa FCR, Enoki C, Ito IY, Faria G, Matsumoto MAN, Nelson-Filho P. In-vivo evaluation of the bacterial contamination and disinfection of acrylic baseplates of removable orthodontic appliances. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 2007;131(6):705. e11-. e17. doi: 10.1016/j.ajodo.2006.09.042
- Ghahremani L, Shirkavand S, Akbari F, Sabzikari N. Tensile strength and impact strength of color modified acrylic resin reinforced with titanium dioxide nanoparticles. *J. Clin. Exp.* 2017;9(5):e661. doi: 10.4317/jced.53620
- Kuroki K, Hayashi T, Sato K, Asai T, Okano M, Kominami Y, et al. Effect of self-cured acrylic resin added with an inorganic antibacterial agent on *Streptococcus mutans*. *Dent. Mater. J* 2010;29(3):277-85. doi: 10.4012/dmj.2009-076
- Peixoto ITA, Enoki C, Ito IY, Matsumoto MAN, Nelson-Filho P. Evaluation of home disinfection protocols for acrylic baseplates of removable orthodontic appliances: A randomized clinical investigation. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 2011;140(1):51-7. doi: 10.1016/j.ajodo.2009.12.036
- Silva SS, Ribeiro MdO, Gomes FIF, Chaves HV, Zanin ICJ, Barbosa FCB. Occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads isolated from the dental prostheses biofilm. *J. Appl. Oral Sci.* 2016;24(5):462-71. doi: 10.1590/1678-775720160032

9. Goldberg S, Cardash H, Browning H, Sahly H, Rosenberg M. Isolation of Enterobacteriaceae from the mouth and potential association with malodor. *J. Dent. Res.* 1997;76(11):1770-5. doi: 10.1177/00220345970760110801
10. Farhadian N, Mashoof RU, Khanizadeh S, Ghaderi E, Farhadian M, Miresmaeili A. Streptococcus mutans counts in patients wearing removable retainers with silver nanoparticles vs those wearing conventional retainers: A randomized clinical trial. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 2016;149(2):155-60. doi: 10.1016/j.ajodo.2015.07.031
11. Ghaffari T, Hamed-rad F. Effect of silver nanoparticles on tensile strength of acrylic resins. *JODDD.* 2015;9(1):40. doi: 10.15171/joddd.2015.008
12. Gondal MA, Alzahrani AJ, Randhawa MA, Siddiqui MN. Morphology and antifungal effect of nano-ZnO and nano-Pd-doped nano-ZnO against Aspergillus and Candida. *J. Environ. Sci. Health A.* 2012;47(10):1413-8. doi: 10.1080/10934529.2012.672384
13. Khan MF, Hameedullah M, Ansari AH, Ahmad E, Lohani M, Khan RH, et al. Flower-shaped ZnO nanoparticles synthesized by a novel approach at near-room temperatures with antibacterial and antifungal properties. *Int J Nanomedicine.* 2014;9:853. doi: 10.2147/ijn.s47351
14. Ågren MS. Zinc in wound repair. *Arch Dermatol* 1999;135(10):1273-a-4.
15. Cierech M, Wojnarowicz J, Szmigiel D, Bączkowski B, Grudniak AM, Wolska KI, et al. Preparation and characterization of ZnO-PMMA resin nanocomposites for denture bases. *Acta Bioeng Biomech.* 2016;18(2). doi: 10.3390/nano8050305
16. Cierech M, Osica I, Kolenda A, Wojnarowicz J, Szmigiel D, Łojkowski W, et al. Mechanical and physicochemical properties of newly formed ZnO-PMMA nanocomposites for denture bases. *Nanomaterials.* 2018;8(5):305. doi: 10.3390/nano8050305
17. Casemiro LA, Martins CHG, Pires-de-Souza FdCP, Panzeri H. Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite-part I. *Gerodontology.* 2008;25(3):187-94. doi: 10.1111/j.1741-2358.2007.00198.x
18. Azizi-Lalabadi M, Ehsani A, Divband B, Alizadeh-Sani M. Antimicrobial activity of Titanium dioxide and Zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluation the morphological characteristic. *Sci Rep.* 2019;9(1):1-10. doi: 10.1038/s41598-019-54025-0
19. Kassae M, Akhavan A, Sheikh N, Sodagar A. Antibacterial effects of a new dental acrylic resin containing silver nanoparticles. *J. Appl. Polym. Sci.* 2008;110(3):699-703. doi: 10.1002/app.28762
20. Krespi YP, Shrimme MG, Kacker A. The relationship between oral malodor and volatile sulfur compound-producing bacteria. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2006;135(5):671-6. doi: 10.1016/j.otohns.2005.09.036
21. Kawahara K, Tsuruda K, Morishita M, Uchida M. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. *Dental Materials.* 2000;16(6):452-5. doi: 10.1016/s0109-5641(00)00050-6
22. Behroozian A, Kachoei M, Khatamian M, Divband B. The effect of ZnO nanoparticle coating on the frictional resistance between orthodontic wires and ceramic brackets. *JODDD.* 2016;10(2):106. doi: 10.15171/joddd.2016.017
23. Norouzzadeh Helali Z, Esmailzadeh M. A comparative study of antibacterial effects of mouthwashes containing Ag/ZnO or ZnO nanoparticles with chlorhexidine and investigation of their cytotoxicity. *NMJ.* 2018;5(2):102-10.
24. Kachoei M, Nourian A, Divband B, Kachoei Z, Shirazi S. Zinc-oxide nanocoating for improvement of the antibacterial and frictional behavior of nickel-titanium alloy. *Nanomedicine.* 2016;11(19):2511-27. doi: 10.2217/nmm-2016-0171
25. Azizi-Lalabadi M, Alizadeh-Sani M, Divband B, Ehsani A, McClements DJ. Nanocomposite films consisting of functional nanoparticles (TiO₂ and ZnO) embedded in 4A-Zeolite and mixed polymer matrices (gelatin and polyvinyl alcohol). *Food Res. Int* 2020;137:109716. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109716
26. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo M, Murata H, Nakanoda S. Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against Candida albicans growth and/or acid production. *J. Oral Rehabil.* 1997;24(5):350-7. doi: 10.1111/j.1365-2842.1997.tb00339.x
27. Yazdkhasti S, Monshi A, Doostmohammadi A. Preparation, Characterization and Comparative Study of Antibacterial Properties of Ag-TiO₂ and ZnO-TiO₂ Nanoparticles. *Journal of Advanced Materials in Engineering (Esteghlal).* 2016;34(4):43-52 (Persian). doi: 10.18869/acadpub.jame.34.4.43
28. Ahmed MA, El-Shennawy M, Althomali YM, Omar AA. Effect of titanium dioxide nano particles incorporation on mechanical and physical properties on two different types of acrylic resin denture base. *WJNSE.* 2016;6(3):111-9. doi: 10.4236/wjnse.2016.63011