

## *Effect of Zinc Phosphate Nanoparticles in Combination with Glass Ionomer Cements on Streptococcus mutans*

Mona Sadeghi Aqbash<sup>1</sup>,  
Mostafa Rahimnejad<sup>2</sup>,  
S.Masoomeh Pourali<sup>3</sup>

<sup>1</sup>MSc Student in Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Biotechnology, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran

<sup>3</sup>PhD in Chemistry, Department of Chemical Engineering, Faculty of Biotechnology, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran

(Received January 7, 2017 Accepted June 10, 2017)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Improvement of anti-bacterial properties of restorative materials to deal with microbes causing secondary caries of tooth has attracted interest of many researchers. Thus, in this study the antibacterial effect of zinc phosphate nanoparticles, synthesized with biological method, was investigated by adding it to glass ionomer cement against the *Streptococcus mutans*.

**Materials and methods:** Synthesis of the nanoparticles was carried out using two main sources of zinc nitrate and diammonium hydrogen phosphate in presence of *Enterobacter aerogenes*. Furthermore, their antimicrobial effect was investigated by adding different concentrations of nanoparticles (0, 1, 2, 3, and 5%) to glass ionomer. In addition, bacterial cultures of 0.5 McFarland and its medium were added to the above mixture and were incubated in 37°C. After 3, 6, and 24 hr they were cultured on agar plates to grow. In the end, the number of bacterial colonies grown on the plates was counted and compared.

**Results:** Adding nanoparticles to glass ionomer improved its antibacterial effect and this effect enhanced when the concentrations of nanoparticles increased.

**Conclusion:** Synthesized nanoparticles are appropriate to be added to the glass ionomer cements because of their impressive effect on inhibiting the growth of bacteria and sharing same coloring with teeth.

**Keywords:** biosynthesis, zinc phosphate nanoparticles, anti-bacterial properties, glass ionomer, *Streptococcus mutans*

## بررسی اثر افزودن نانوذرات فسفات روی به سمان گلاس آینومر بر استرپتوکوک موتانس

منا صادقی آقباش<sup>1</sup>  
مصطفی رحیم نژاد<sup>2</sup>  
سیده معصومه پورعلی<sup>3</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** بهبود خاصیت ضد باکتریایی موادی که برای ترمیم دندان استفاده می‌شوند، برای مقابله با میکروب‌هایی که در دندان سبب پوسیدگی ثانویه می‌گردند، از زمینه‌های مورد توجه محققان زیادی می‌باشد. در این مطالعه، اثر ضد باکتریایی ناشی از افزودن نانوذرات فسفات روی سنتز شده به روش بیولوژیکی، به یک نوع سمان گلاس آینومر علیه باکتری استرپتوکوک موتانس مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** جهت سنتز نانوذرات از دو منبع نیترات روی و دی آمونیوم هیدروژن فسفات در حضور باکتری اترئوباکتر آئروژنز استفاده گردید. سپس اثر ضد میکروبی آن با اضافه کردن غلظت‌های مختلف نانوذره (0، 1، 2، 3 و 5 درصد) به گلاس آینومر مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که به گلاس آینومر حاوی درصد‌های مختلف نانوذره، باکتری در غلظت 0/5 مک‌فارلند و محیط کشت مناسب باکتری اضافه گردید و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس در ساعت‌های 3، 6 و 24 از رشد آن، بر روی محیط کشت جامد، کشت و پس از رشد، شمردن و مقایسه‌ی تعداد کلونی‌های رشد یافته باکتری‌ها انجام گردید.

**یافته‌ها:** افزودن نانوذرات به گلاس آینومر، اثر آنتی‌باکتریال آن را بهبود بخشید و این اثر با افزایش غلظت نانوذرات سنتز شده افزایش نشان داده است.

**استنتاج:** نانوذرات سنتز شده فسفات روی به دلیل مهار چشم‌گیر رشد باکتری و هم‌رنگ بودن با دندان، برای افزودن به گلاس آینومر گزینه‌ی مناسبی می‌باشند.

**واژه‌های کلیدی:** بیوسنتز، نانوذرات فسفات روی، خواص آنتی‌باکتریال، گلاس آینومر، استرپتوکوک موتانس

### مقدمه

می‌باشند (1، 2). مهم‌ترین گونه باکتری مسئول پوسیدگی دندان، باکتری استرپتوکوک موتانس می‌باشد که یک کوکسی گرم مثبت است (3، 4). تاکنون 25 گونه استرپتوکوک دهانی شناخته شده‌اند که هر کدام در جایگاه‌های خاصی از دهان حضور دارند. عدم تعادل

پوسیدگی دندان یک بیماری عفونی است که در آن عوامل پاتولوژیک متنوع هم‌چون حضور باکتری‌های اسیدوزنیک چون استرپتوکوک موتانس، لاکتوباسیلوس و استرپتوکوک سوربین، اختلال عملکرد بزاق و کربوهیدرات‌های موجود در رژیم غذایی مؤثر

Email: Rahimnejad\_mostafa@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** مصطفی رحیم نژاد - دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، دانشکده مهندسی شیمی، گروه بیوتکنولوژی

1. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران

2. دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران

3. دکتری شیمی، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران

تاریخ دریافت: 1395/10/18 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1396/3/7 تاریخ تصویب: 1396/3/20

اکسیدروی ملاحظه نمی‌شود (1). نانوذرات اکسیدروی در هنگام افزوده شدن به مواد ترمیمی برای جلوگیری از پوسیدگی ثانویه در مطالعات زیادی مورد بررسی قرار گرفته‌اند که نتایج خوبی را نشان داده‌اند (16، 6، 3، 1). با توجه به خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات فلزی به خصوص نانوذرات روی که مشکلات نانوذرات نقره را هم ندارند، مطالعه خواص ضد میکروبی نانوذرات فسفات روی سنتز شده به روش بیولوژیکی هنگامی که با گلاس آینومر ترکیب می‌شوند، در برابر باکتری‌های استرپتوکوک موتانس، با استفاده از تست تماس مستقیم برای اولین بار در دستور کار قرار گرفت. هدف از این بررسی، ارزیابی بهبود خواص آنتی‌باکتریال گلاس آینومر در حضور غلظت‌های مختلف نانوذرات فسفات روی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### سنتز نانوذرات

#### بیوسنتز

گونه باکتریایی انتروباکتر آئروژنز PTCC1221 از بانک میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی تهیه شد و در 200 میلی لیتر محیط کشت YEPD با ترکیب 2 درصد گلوکز (مرک، آلمان)، 2 درصد پپتون گوشت (لیو، ایتالیا) و 1 درصد عصاره مخمر (شارلو، اسپانیا) که قبلاً در اتوکلاو در دمای 121 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه استرون گردید، به مدت 24 ساعت، در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، در شیکر انکوباتور با دور 130 دور بر دقیقه رشد داده شد. پس از رشد باکتری، به منظور جدا کردن محیط کشت از سلول‌های باکتری، از سانتریفیوژ در 3400 دور بر دقیقه به مدت 10 دقیقه استفاده گردید و مایع بالای آن دکانته شد و سلول‌های باکتری سه مرتبه با آب مقطر استریل، شستشو داده شده و به 100 میلی لیتر محلول نیترات روی (مرک، آلمان) 34/4 میلی مولار که از قبل تهیه و استرون شده بود، اضافه گردید. در این مرحله، نمونه در شیکر انکوباتور

بین فلور دهانی سبب بروز بیماری‌های دهان و دندان می‌شود (5). پوسیدگی ثانویه یکی از علل اصلی شکست ترمیم‌های دندانی است (6). از جمله موارد ترمیمی می‌توان به آمالگام، کامپوزیت و گلاس آینومر اشاره کرد که هر کدام دارای مزایا و معایبی هستند که اصلی‌ترین ایراد آمالگام، مسئله زیبایی و در کامپوزیت، انقباض آن در اثر پلیمریزاسیون است که موجب تخریب باند داخل عاج و پوسیدگی ثانویه می‌گردد (7). جهت رفع این مشکلات، سیمان گلاس آینومر که همرنگ دندان است، در سال 1972 توسط ویلسون و کنت معرفی شد (8).

در طول مرحله درمان، ابزارهای دندان پزشکی به تنهایی قادر به حذف پوسیدگی عاج نیستند و باکتری‌های پوسیدگی‌زا می‌توانند در زیر رستوریشن‌های دندانی زنده بمانند و روند پوسیدگی در این مرحله باعث شکست رستوریشن‌ها خواهد شد (9). برای توسعه خواص آنتی‌باکتریال گلاس آینومر، استفاده از مواد مختلفی چون هیدروکلر هگزیدین، کلرید بنزالکونیوم، کلریدستیل پیریدینیوم و نانوذرات تیتانیم اکسید گزارش شده‌اند. اما مهم‌ترین عامل آنتی‌باکتریال برای ترکیب با گلاس آینومر نانوذرات فلزی می‌باشند، زیرا در خواص مکانیکی آن تغییر ایجاد نمی‌کنند (6). همه نانوذرات دارای خواص منحصر به فرد کاتالیزوری، نوری الکترونیکی، مغناطیسی و ضد میکروبی برای بهبود زخم و خواص ضد التهابی می‌باشند (10، 12). از بین نانوذرات از جمله نانوذرات فلزی مورد استفاده برای بهبود خواص آنتی‌باکتریال گلاس آینومر، طلا، نقره و روی را می‌توان نام برد (2) که در بین آن‌ها نانوذرات نقره تاثیرگذارترین نانوذرات در برابر باکتری‌های موتانس هستند (3). علاوه بر این در خواص مکانیکی ماده ترمیمی تغییر به وجود نمی‌آورند، اما خواص ضد میکروبی آن‌ها بعد از مدتی از بین می‌رود و حتی در غلظت‌های اندک هم در کامپوزیت مورد استفاده، تغییر رنگ به وجود می‌آورند (13، 15) که این مشکل در نانوذرات

در دمای 30 درجه سانتی گراد و دور 130 دور بر دقیقه به مدت نیم ساعت قرار داده شد. سپس 100 میلی لیتر محلول 20 میلی مولار دی آمونیوم هیدروژن فسفات سترون به صورت قطره قطره طی مدت زمان 30 دقیقه به محلول اضافه گشت و pH محیط به کمک آمونیاک 25-28 درصد در 8/5 تنظیم گردید و متعاقباً محلول 2 ساعت دیگر در شیکر انکوباتور در دمای 30 درجه سانتی گراد و دور 130 دور بر دقیقه قرار داده شد و بعد از آن در 30 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت بی حرکت ماند. پس از دو روز محلول در 3400 دور بر دقیقه به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ گشته و رسوبات حاصله چندین بار توسط آب دیونیزه شستشو داده شد و در 60 درجه سانتی گراد به مدت 1 روز خشک گردید و در آخر در 600 درجه سانتی گراد به مدت 2 ساعت کلسینه شد.

#### شناسایی فازهای موجود در ماده سنتز شده

فازهای تشکیل شده، درصد بلوری شدن و متوسط اندازه بلورهای نانوذرات تولید شده به وسیله آنالیز XRD با دستگاه (X'Pert MPD)، فیلیپس هلند (با لامپی از جنس آند مس با طول موج  $\alpha$  (CuK $\alpha$ ) حدود  $1^\circ$  5406/1 و در 40 کیلو ولت و 30 میلی آمپر با طول زاویه 0/02 درجه بر ثانیه در بازه زاویه براگ  $2\theta > 80^\circ$  انجام شد. متوسط اندازه بلورها با استفاده از معادله شرر محاسبه گردید.

#### فعالیت آننتی باکتریال نانوذرات سنتز شده در

##### ترکیب با گلاس آینومر

در این تحقیق از گلاس آینومر سلف لوتینگ نوع 1 (مدنتال، امریکا) استفاده شد. برای آماده سازی نمونه ها جهت انجام تست تماس مستقیم، تعداد 15 نمونه گلاس آینومر حاوی درصد های وزنی 0، 1، 2، 3 و 5 درصد از نانوذرات سنتز شده، به نحوی که هر گروه شامل سه نمونه بود، تهیه شد. به این صورت که در گروه

0 درصد وزنی (نمونه کنترل) پودر و مایع گلاس آینومر به نسبت 2 گرم به 1/5 میلی لیتر از مایع با هم مخلوط و در گروه های بعدی میزان 1، 2، 3 و 5 درصد نانوذره به پودر گلاس آینومر اضافه شد. سپس روی یک اسلب با یک اسپاتول مناسب با مایع ترکیب و سریعاً به ویال انتقال داده شد. بدین صورت که دیواره های آن به خوبی با ماده حاصله پوشیده شد و از آن جا که گلاس آینومر مورد استفاده سلف کیور بود، نیاز به کیور مجدد آن نبود.

#### تهیه باکتری

30 میلی لیتر از محیط کشت آماده ی BHIB (لیو، ایتالیا) طبق دستور کارخانه سازنده آماده و در 121 درجه سانتی گراد به مدت 15 دقیقه استریل گشت. تعدادی از کلونی های باکتری استریتو کوک موتانس که روی پلیت بلاد آگار رشد یافته بود، به محیط کشت انتقال داده شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری در 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت رشد یافت. بعد از 24 ساعت، این محیط کشت با 3400 دور بر دقیقه سانتریفیوژ گشته، مایع رویی آن دکانت و سلول های باقی مانده 3 مرتبه با آب استریل شستشو داده شد تا تمام محیط کشت موجود در آن ها شسته شود. سپس با اضافه کردن سرم فیزیولوژی (سدیم کلرید 0/9 درصد)، کدورت آن ها به صورت چشمی به شاخص استاندارد 0/5 مک فارلند رسید.

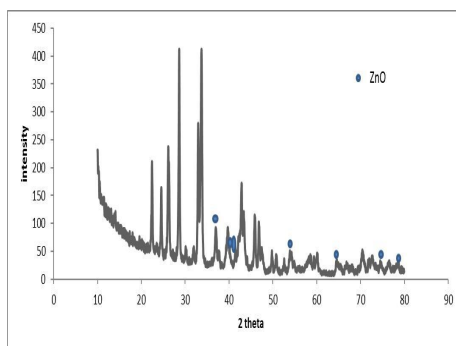
#### افزودن باکتری به ویال ها

به هر ویال، میزان 10 میکرو لیتر از باکتری و 250 میکرو لیتر محیط کشت استریل BHIB اضافه شد تا باکتری با تغذیه کردن از این محیط رشد نماید. سپس درب ظرف ها کاملاً بسته شده و در انکوباتور 37 درجه سانتی گراد قرار داده شد تا میزان رشد آن ها مورد بررسی قرار گیرد.

کشت داده شده بر روی پلیت، که در این تحقیق 10 میکرولیتر بود، تعداد کلونی‌های رشد یافته روی پلیت و میزان رقیق‌سازی باکتری قبل از کشت دادن به روی پلیت، با توجه به رابطه 1، تعداد باکتری‌ها در هر مرحله محاسبه شد. سپس در هر گروه آزمایشی، میانگین و انحراف معیار داده‌ها محاسبه و گزارش شدند و 0/05 <math>p</math> معنی‌دار تلقی شد.

## یافته‌ها

آنالیز آزمون پراش اشعه X الگوی پراش اشعه X در شکل شماره 1 نشان داده شده است که ساختار کریستالی، وجود فازهای فسفات روی به فرم  $\alpha\text{-Zn}_3(\text{Po}_4)_2$  و  $\gamma\text{-Zn}_3(\text{Po}_4)_2$  با ساختار مونوکلینیک را نشان می‌دهد که پیک‌های آن‌ها در شکل نشان داده شده و پیک‌های  $\alpha\text{-Zn}_3(\text{Po}_4)_2$  با داده‌های کریستالوگرافی مرجع JCDPS 29-1390 و پیک‌های  $\gamma\text{-Zn}_3(\text{Po}_4)_2$  با مرجع JCDPS 30-1490 مطابقت دارد. هم‌چنین تعداد کمی از پیک‌های اکسیدروی با ساختار هگزاگونال مشاهده شد که با مرجع JCDPS 36-1451 منطبق است و در شکل شماره 1 با علامت دایره نشان داده شده است. مابقی پیک‌ها مربوط به فسفات روی می‌باشد. میانگین اندازه کریستال‌های سنتز شده با استفاده از فرمول شرر بین 30-35 نانومتر به دست آمد.



شکل شماره 1: الگوی پراش پرتو ایکس

بررسی رشد باکتری در ویال‌های حاوی گلاس آنیومر در زمان‌های 3، 6 و 24 ساعت، میزان 10 میکرولیتر از مایع درون ویال‌ها برداشته شد و بعد از رقیق‌سازی مناسب (تعداد کلونی‌های شمارش شده بر روی پلیت آگار باید بین 30 تا 300 کلونی باشد، زیرا کلونی‌های کم‌تر از 30 یا بیش‌تر از 300 از نظر آماری معتبر نمی‌باشند، بنابراین باکتری قبل از کشت بر روی پلیت به باید رقیق گردد (17)، بر روی پلیت بلاک آگار کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از این مدت تعداد کلونی‌های رشد یافته روی سطح پلیت‌ها شمارش گردید.

## رقیق‌سازی باکتری

برای رقیق‌سازی باکتری، 9 برابر میزان باکتری برداشته شده در هر مرحله به آن سرم فیزیولوژی اضافه شد تا باکتری به رقت 1-10 برسد. در این تحقیق، باکتری‌های برداشته شده از ویال در بعضی مراحل به رقت 2-10 و در بعضی موارد به رقت 1-10 رسیدند تا میزان مناسبی از کلونی مورد نظر روی پلیت حاصل شود. سپس با استفاده از رابطه شماره 1، تعداد باکتری‌های اولیه در هر مرحله محاسبه شد.

$$\text{رابطه 1} \quad X = a * \frac{b}{c}$$

در این رابطه،  $a$  حجم کشت داده شده بر روی پلیت آگار،  $b$  تعداد کلونی و  $c$  رقت در آن مرحله است.

## جمع‌آوری داده‌ها

برای جمع‌آوری اطلاعات از آزمایشات صورت گرفته، تعداد کلونی‌های رشد یافته روی سطح پلیت آگار در تمامی نمونه‌ها شمارش و با توجه به حجم

## نتایج تست آنتی باکتریال

تغییر در ویژگی‌های فیزیکی آن از طریق تغییر در نسبت پودر به مایع می‌توان آن را در طیف گسترده‌ای از استفاده‌های کلینیکی به کار گرفت (18). از مزایای این سمان انجام پیوند با دندان است که علت این امر پیوند هیدروژنی است که گروه‌های کربوکسیل موجود در پلی اسیدها با کلسیم آپاتیت مینا و عاج ایجاد می‌کنند (19). هم‌چنین ضریب انبساط حرارتی آن نزدیک به ساختار دندان و به خصوص عاج است (21)، (20) و با انواع سمیت‌ها زیست‌سازگار می‌باشد (22). اما به دلیل خواص مکانیکی پایین از جمله مقاومت پایین در مواجهه با فشار و کشش کم و استحکام خمشی کم در مقایسه با آمالگام و کامپوزیت به طور کامل جایگزین این دو ماده نشده است (23).

یکی از مهم‌ترین مزیت‌های سمان گلاس آینومر خاصیت آزادسازی تدریجی فلوراید است که می‌تواند در مدت زمان طولانی نیز پایدار باشد (24). فلوراید یک ماده ضد میکروبی است که سبب کاهش پوسیدگی در دندان از طریق کاهش متابولیسم با مهار آنزیم‌های دخیل در آن و رشد میکروارگانیسم‌هایی مانند موتانس است (25، 26). میزان خواص آنتی‌باکتریال که ناشی از آزاد شدن فلوراید می‌باشد با کاهش pH افزایش می‌یابد که تصور می‌شود این امر به خاطر حلالیت سطحی باشد (24، 27). با توجه به این که پوسیدگی در دندان یک بیماری عفونی است، از بین بردن باکتری‌هایی که سبب پوسیدگی می‌شوند یک عمل درمانی محسوب می‌شود (28). با این - که گلاس آینومرها اثر ضد باکتریایی بر روی میکروارگانیسم‌ها دارند، اما نمی‌توانند از گسترش پلاک و توسعه پوسیدگی و بیماری‌های پرودنتال به‌طور کامل جلوگیری کنند (29).

مطالعات گوناگونی که توسط افراد مختلف بر روی گلاس آینومرها انجام شده نشان می‌دهد که اثر ضد میکروبی گلاس آینومر خالص برای مهار کردن

نتایج به‌دست آمده از تست تماس مستقیم نشان می‌دهد، نانوذرات فسفات روی به‌طور معنی‌داری (0/05)  $p <$  سبب کاهش رشد باکتری‌های موتانس می‌شوند و این مانع با افزایش درصد وزنی نانوذرات، بیش‌تر می‌شود. این کاهش حتی در گلاس آینومر حاوی 1 درصد وزنی نانوذرات دیده می‌شود و با اضافه شدن درصد وزنی آن‌ها شدت می‌گیرد. جدول شماره 1، میانگین تعداد کلونی‌های رشد یافته در ساعت‌های 3، 6 و 24 و جدول شماره 2 Logcfu/ml داده‌ها در هر مرحله را نشان می‌دهد.

## جدول شماره 1: میانگین کلونی‌های باکتری‌های رشد کرده

در درصد‌های وزنی مختلف نانوذرات فسفات روی در فواصل

## زمانی مختلف

درصد وزنی نانو ذرات در گلاس آینومر	میانگین باکتری‌های رشد کرده بعد از 3 ساعت	میانگین باکتری‌های رشد کرده بعد از 6 ساعت	میانگین باکتری‌های رشد کرده بعد از 24 ساعت
%0	1370000 ± 700	1560000 ± 700	2730000 ± 1100
%1	1020000 ± 600	1080000 ± 600	1870000 ± 1300
%2	630000 ± 600	650000 ± 700	1120000 ± 1200
%3	245000 ± 500	256000 ± 500	40000 ± 800
%5	53000 ± 200	54000 ± 200	82000 ± 300

## جدول شماره 2: logcfu/ml میانگین کلونی‌های

باکتری‌های رشد کرده در درصد‌های وزنی مختلف نانوذرات

## فسفات روی در فواصل زمانی مختلف

درصد وزنی نانو ذرات در گلاس آینومر	میانگین باکتری‌های رشد کرده بعد از 3 ساعت	میانگین باکتری‌های رشد کرده بعد از 6 ساعت	میانگین باکتری‌های رشد کرده بعد از 24 ساعت
%0	6/13	6/15	6/43
%1	6/01	6/03	6/27
%2	5/79	5/81	6/04
%3	5/38	5/40	5/60
%5	4/72	4/73	4/91

## بحث

سمان گلاس آینومر یکی از مواد ترمیمی است که با توجه به فرمولاسیون شیمیایی مختلف آن و امکان

که علاوه بر بهبود خاصیت آنتی‌باکتریال، هیچ تغییر نامساعدی در خواص مکانیکی گلاس آینومر ایجاد نکرد (6).

با توجه به خاصیت ضد میکروبی نانوذرات روی، در این مطالعه خاصیت آنتی‌میکروبی نانوکامپوزیت فسفات روی و اکسیدروی که به روش بیولوژیکی سنتز شدند، از طریق تست تماس مستقیم انجام شد که نشان داد نمونه گلاس آینومر حاوی این نانوذرات به طور قابل ملاحظه‌ای سبب افزایش خاصیت آنتی‌میکروبی سمان مورد بررسی در برابر رشد باکتری‌های موتانس شدند و این ممانعت از رشد باکتری با افزایش درصد وزنی نانوذرات در سمان افزایش پیدا کرد. با توجه به این که باکتری به همراه محیط کشت به ویال سمان گذاری شده اضافه می‌شود، انتظار می‌رود که در ساعت 24 ام، باکتری به میزان قابل توجهی رشد کرده باشد اما کاهش سرعت رشد باکتری در هنگام اضافه شدن نانوذرات به سمان در مقایسه با نمونه‌های بدون نانوذره، حتی از همان ساعت‌های ابتدایی کاملاً مشهود است. بیش‌ترین بازدارندگی در درصد وزنی 5 درصد به دست آمد و از مقایسه داده‌های جدول شماره 2، روند افزایشی مهارکنندگی به هنگام افزایش درصد وزنی نانوذرات دیده می‌شود.

از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که همان‌طور که انتظار می‌رفت، نانوذرات فسفات روی نیز مانند نانوذرات اکسیدروی بر روی باکتری‌های موتانس که سبب پوسیدگی دندان می‌شوند، خاصیت ضد میکروبی دارند. به علاوه به سبب هم رنگ بودن با دندان برای اضافه شدن به سمان‌های گزینه‌ای مناسب هستند.

### سپاسگزاری

از دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل به دلیل حمایت‌های مالی و تجهیزات تشکر و سپاسگزاری به عمل می‌آید.

باکتری بسیار ناچیز است (28). بنابراین مواد مختلفی هم‌چون نانوذرات فلزی برای توسعه خاصیت آنتی‌باکتریال گلاس آینومر به آن اضافه می‌شوند. بیش‌تر این نانوذرات خواص آنتی‌باکتریال بسیار قوی دارند. می‌توان اظهار داشت که آنتی‌بیوتیک‌ها شاید شش ارگانسیم بیماری‌های مختلف را می‌کشند اما نانومواد می‌توانند 650 سلول را از بین ببرند (30). خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات بستگی مستقیم به میزان مساحت سطح آن‌ها دارد و هرچه ذرات کوچک‌تر و در نتیجه سطح تماس آن‌ها بیش‌تر شود، اثر میکروب‌کشی آن‌ها بیش‌تر خواهد بود (31). در بین نانوذرات، روی فعالیت ضد باکتریایی بسیار قوی از خود نشان می‌دهد (32) و خاصیت ضد باکتریایی آن به طور گسترده به یون  $Zn^{2+}$  برمی‌گردد.  $Zn^{2+}$  یک عامل فعال‌کننده سولفو هیدریل می‌باشد و بسیاری از فعالیت‌های آنتی‌باکتریال آن به خاطر واکنش با سولفو هیدریل می‌باشد (34، 33). به علاوه بسیاری از باکتری‌ها می‌توانند فلزات سنگین را از کیلیت خارج نمایند و محیط بدون یون را به وجود آورند. روی به‌عنوان یک مهارکننده برای تولیدات اسیدی توسط پلاک دندان انسان در محیط‌های آزمایشگاهی و غیر آزمایشگاهی به شمار می‌رود (35). هی و همکاران نشان دادند که زینک گلیکولیز بسیاری از ارگانسیم‌ها را مهار می‌کند (36). D. Cummin و همکاران دریافتند که  $Zn^{2+}$  یک مهارکننده برای باکتری‌های موتانس در حضور فلوراید در pH های پایین است (32). به علاوه فعالیت ضد میکروبی اکسیدروی در برابر باکتری‌های استرپتوکوک سوربین نشان داده شد (37). هم‌چنین اثر ضد باکتریای اکسید روی در حضور گلاس آینومر در مطالعات زیادی مورد بررسی قرار گرفت Jatania و همکارانش اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسیدروی را در گلاس آینومر رزین بهبود یافته بررسی کردند که نشان داد با افزایش غلظت اکسید روی، اثر ضد میکروبی آن افزایش می‌یابد (38). Vanajassun و همکاران نانوذرات اکسیدروی را به سمان گلاس آینومر کانوشنال افزودند

## References

1. Aydin Sevinç B, Hanley L. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010; 94(1): 22-31.
2. Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DCC, Martínez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén AdJP, et al. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Nanomedicine*. 2008; 4(3): 237-440.
3. Hojati ST, Alaghemand H, Hamze F, Babaki FA, Rajab-Nia R, Rezvani MB, et al. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. *Dent Mater*. 2013; 29(5): 495-505.
4. Ryan KJ, Ray CG, McGraw Hill. *Medical microbiology*. 4th ed. New York City McGraw Hill. 2004.
5. Loesche WJ. *Microbiology of dental decay and periodontal disease*. 4th ed. Texas: The University of Texas Medical Branch at Galveston. 1996.
6. Vanajassun PP, Nivedhitha M, Nishad N, Soman D. Effects of Zinc Oxide Nanoparticles in Combination with Conventional Glass Ionomer Cement: In vitro Study. *Adv Hum Biol*. 2014; 4(3): 31-36.
7. Prabhakar A, Thejokrishna P, Kurthukoti A. A comparative evaluation of four restorative materials to support undermined occlusal enamel of permanent teeth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2006; 24(3): 122-126.
8. Deepalakshmi M, Poorni S, Miglani R, Rajamani I, Ramachandran S. Evaluation of the antibacterial and physical properties of glass ionomer cements containing chlorhexidine and cetrimide: An in-vitro study. *Indian J Den Res*. 2010; 21(4): 552-556.
9. Yesilyurt C, Er K, Tasdemir T, Buruk K, Celik D. Antibacterial activity and physical properties of glass-ionomer cements containing antibiotics. *Oper Dent*. 2009; 34(1): 18-23.
10. Ingle A, Gade A, Pierrat S, Sonnichsen C, Rai M. Mycosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium acuminatum* and its activity against some human pathogenic bacteria. *Current Nanoscience*. 2008; 4(2): 141-144.
11. Taylor P, Ussher A, Burrell R. Impact of heat on nanocrystalline silver dressings: Part I: Chemical and biological properties. *Biomaterials*. 2005; 26(35): 7221-7229.
12. Durán N, Marcato PD, Alves OL, De Souza GL, Esposito E. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *J Nanobiotechnology*. 2005; 3(1): 3-8.
13. Kawashita M, Tsuneyama S, Miyaji F, Kokubo T, Kozuka H, Yamamoto K. Antibacterial silver-containing silica glass prepared by sol-gel method. *Biomaterials*. 2000; 21(4): 393-398.
14. Syafiuddin T, Hisamitsu H, Toko T, Igarashi T, Goto N, Fujishima A, et al. In vitro inhibition of caries around a



- resin composite restoration containing antibacterial filler. *Biomaterials*. 1997; 18(15): 1051-1057.
15. Yamamoto K, Ohashi S, Aono M, Kokubo T, Yamada I, Yamauchi J. Antibacterial activity of silver ions implanted in SiO<sub>2</sub> filler on oral streptococci. *Den Mater*. 1996; 12(4): 227-229.
  16. Niu L, Fang M, Jiao K, Tang L, Xiao Y, Shen L, et al. Tetrapod-like zinc oxide whisker enhancement of resin composite. *Journal of dental research*. 2010; 89(7): 746-750.
  17. Zhang N, Weir MD, Chen C, Melo MA, Bai Y, Xu HH. Orthodontic cement with protein-repellent and antibacterial properties and the release of calcium and phosphate ions. *J Dent*. 2016; 50: 51-59.
  18. Barandehfard F, Rad MK, Hosseinnia A, Khoshroo K, Tahiri M, Jazayeri H, et al. The addition of synthesized hydroxyapatite and fluorapatite nanoparticles to a glass-ionomer cement for dental restoration and its effects on mechanical properties. *Ceram Int*. 2016; 42(15): 17866-17875.
  19. Lin A, McIntyre N, Davidson R. Studies on the adhesion of glass-ionomer cements to dentin. *J Dent Res*. 1992; 71(11): 1836-1841.
  20. Weiner R. Liners, bases, and cements: an in-depth review, Part 2. *Dent Today*. 2008; 27(8): 48, 50, 52 passim; quiz 55.
  21. Leinfelder K. Characteristics of a new glass ionomer material. *Inside Dent*. 2006; 2(1): 42-44.
  22. Elsaka SE, Hamouda IM, Swain MV. Titanium dioxide nanoparticles addition to a conventional glass-ionomer restorative: influence on physical and antibacterial properties. *J Dent*. 2011; 39(9): 589-598.
  23. Weerheijm K, De Soet J, Van Amerongen W, De Graaff J. The effect of glass-ionomer cement on carious dentine: an in vivo study. *Caries research*. 1993; 27(5): 417-423.
  24. Sidhu SK, Nicholson JW. A review of glass-ionomer cements for clinical dentistry. *J Funct Biomater*. 2016; 7(3): 16.
  25. Koo H, Sheng J, Nguyen P, Marquis RE. Co-operative inhibition by fluoride and zinc of glucosyl transferase production and polysaccharide synthesis by mutans streptococci in suspension cultures and biofilms. *FEMS Microbiol Lett*. 2006; 254(1): 134-140.
  26. Breaker R. New insight on the response of bacteria to fluoride. *Caries Res*. 2012; 46(1): 78-81.
  27. Griffin E, Donly KJ, Erickson RC. Caries inhibition of three fluoride-releasing liners. *Am J Dent*. 1992; 5: 293-295
  28. Gupta A, Sinha N, Logani A, Shah N. An ex vivo study to evaluate the remineralizing and antimicrobial efficacy of silver diamine fluoride and glass ionomer cement type VII for their proposed use as indirect pulp capping materials-Part I. *J Conserv Dent*. 2011; 14(2): 113-116.
  29. Farret MM, de Lima EM, Mota EG, Oshima HM, Barth V, de Oliveira SD.

- Can we add chlorhexidine into glass ionomer cements for band cementation? *Angle Orthod.* 2011; 81(3): 496-502.
30. Sosa IO, Noguez C, Barrera RG. Optical properties of metal nanoparticles with arbitrary shapes. *J Phys Chem B.* 2003; 107(26): 6269-6275.
  31. Holister P, Weener J-W, Román C, Harper T. Nanoparticles. *Technology White Papers.* Michigan:Cientifica .2003
  32. Cocco AR, da Rosa WLdO, da Silva AF, Lund RG, Piva E. A systematic review about antibacterial monomers used in dental adhesive systems: Current status and further prospects. *Dent Mater.* 2015; 31(11): 1345-1362.
  33. Cummins D. Zinc citrate/Triclosan: a new anti-plaque system for the control of plaque and the prevention of gingivitis: short-term clinical and mode of action studies. *J Clin Periodontol.* 1991; 18(6): 455-461.
  34. Oppermann RV, Rolla G, Johansen JR, Assev S. Thiol groups and reduced acidogenicity of dental plaque in the presence of metal ions in vivo. *Scand J Dent Res.* 1980; 88(5): 389-396.
  35. Harrap G, Best J, Saxton C. Human oral retention of zinc from mouthwashes containing zinc salts and its relevance to dental plaque control. *Arch Oral Biol.* 1984; 29(2): 87-91.
  36. He G, Pearce E, Sissons C. Inhibitory effect of ZnCl<sub>2</sub> on glycolysis in human oral microbes. *Arch Oral Biol.* 2002; 47(2): 117-129.
  37. Farrugia C, Camilleri J. Antimicrobial properties of conventional restorative filling materials and advances in antimicrobial properties of composite resins and glass ionomer cements—a literature review. *Dent Mater.* 2015; 31(4): e89-e99.
  38. Jatania A, Shivalinga B. An in vitro study to evaluate the effects of addition of zinc oxide to an orthodontic bonding agent. *Eur J Dent.* 2014; 8(1): 112-117.