

# Characteristics of titanium nano-oxide (IV) as potent polymethyl metacrylate modifier\*

## Charakterystyka nanotlenku tytanu (IV) jako potencjalnego modyfikatora polimetakrylanu metylu\*

**Mariusz Cierech<sup>1</sup>, Jacek Wojnarowicz<sup>2</sup>, Adam Kolenda<sup>1</sup>, Witold Łojkowski<sup>2</sup>,  
Elżbieta Mierzińska-Nastalska<sup>1</sup>, Paweł Zawadzki<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Katedra Protetyki Stomatologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Department of Prosthodontics, Medical University of Warsaw  
Head: prof. E. Mierzińska-Nastalska

<sup>2</sup> Instytut Wysokich Ciśnień, Polska Akademia Nauk w Warszawie  
Institute of High Pressure Physics, Polish Academy of Sciences  
Head: prof. W. Łojkowski

<sup>3</sup> Klinika Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej, Chirurgii Jamy Ustnej i Implantologii,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Department of Cranio-Maxillofacial Surgery, Oral Surgery and Implantology, Medical University  
of Warsaw  
Head: dr. n. med. P. Zawadzki

---

---

### KEY WORDS:

titanium dioxide nanoparticle, polymethyl methacrylate (PMMA), *Candida* biofilm

---

---

### HASŁA INDEKSOWE:

nanocząsteczki ditlenku tytanu, polimetakrylan metylu (PMMA), *Candida* biofilm

---

---

### Summary

**Introduction.** *The aging of the population, as is currently observed, has wide-ranging implications. One of them is an increasing demand for prosthetic treatment of old people with missing teeth using acrylic partial or complete dentures. A denture base made of polymethyl metacrylate (PMMA) creates specific conditions in the oral cavity that predispose patients to develop denture stomatitis complicated by fungal infection. Attempts have recently been made to modify the surface of polymerized acrylic resin by a hydrophilic layer that disrupts the adhesion of microorganisms or to modify the whole chemical composition. In the era of nanotechnology it is*

---

---

### Streszczenie

**Wstęp.** *Wraz ze starzeniem się społeczeństwa i występowaniem braków zębowych zwiększa się zapotrzebowanie na leczenie protetyczne z zastosowaniem protez częściowych lub całkowitych. Płyta protezy wykonana z polimetakrylanu metylu (PMMA) stwarza specyficzne warunki w jamie ustnej predysponujące do powstawania stomatopatii protetycznych powikłanych infekcją grzybiczą. Obecnie próbuje się stworzyć na powierzchni PMMA hydrofilną warstwę utrudniającą adhezję drobnoustrojów lub modyfikować cały skład chemiczny tworzywa. W dobie rozwoju nanotechnologii uzasadnione jest szukanie nanowiązań chemicznych z zamiarem ich inkor-*

---

\* This work was partially funded under the EU FP7 SHYMAN project (grant agreement no. FP7-NMP4-LA-2012-280983), coordinated by E. Lester (The University of Nottingham, United Kingdom; www.shyman.eu).

\* Praca była częściowo finansowana w ramach projektu EU FP7 SHYMAN (grant agreement no. FP7-NMP4-LA-2012-280983), koordynowanego przez E. Lester (The University of Nottingham, United Kingdom; www.shyman.eu).

reasonable to look for chemical nanocompounds with the intention of incorporating them into PMMA and to use their microbiological properties.

**Aim of the study.** Characteristics of nanoparticles (NPs) of titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ) before their potential use as a modifier for PMMA as an alternative material for denture bases.

**Material and methods.**  $\text{TiO}_2$  nanoparticles (Lot No: SHY-179, Promethean Particles Ltd., UK) were used as the experimental material. The average size and size distribution of the crystallites were determined by X-ray powder diffraction (XRD). The density of NPs was determined by helium pycnometer and a specific area using the linear equation form isotherm BET (Brunauer-Emmett-Teller). The average particle size was determined by the calculation results of the specific surface area and density. The NP morphology is based on images from a scanning electron microscope (SEM).

**Results.** Tested  $\text{TiO}_2$  – NPs had an average particle size of about 9 nm, a mean crystallite size of 5-6 nm, a density of  $3.16 \text{ g/cm}^3$  and a surface area of  $215 \text{ m}^2/\text{g}$ . SEM studies showed high homogeneity of the nanoparticles, both in size and shape.

**Conclusions.** Properties of characterized NPs and the research results of other authors presented in this publication give us a reason to believe that a possible incorporation of NPs into polymethyl methacrylate will activate the antifungal function.

poracji do PMMA i wykorzystania posiadanych właściwości mikrobiologicznych.

**Cel pracy.** Charakterystyka nanocząstek ditlenku tytanu ( $\text{TiO}_2$ ) przed potencjalnym zastosowaniem jako modyfikatora dla PMMA jako alternatywnego materiału na płyty protez stomatologicznych.

**Materiał i metody.** Materiałem do badań były nanocząstki  $\text{TiO}_2$  (Nr partii: SHY-179, Promethean Particles Ltd, United Kingdom). Średnią wielkość oraz rozkład wielkości kryształitów określono na podstawie badania proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej (X-ray powder diffraction – XRD). Gęstość nanocząstek została określona metodą piknometrii helowej a powierzchnia właściwa za pomocą liniowej formy równania izotermi BET (Brunauer-Emmett-Teller). Średnią wielkość cząstek wyznaczono także poprzez przeliczenie wyników powierzchni właściwej oraz gęstości. Morfologia nanocząstek została przedstawiona na podstawie obrazów ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

**Wyniki.** Badane nanocząstki (NC)  $\text{TiO}_2$  wykazały średnią wielkość cząstek około 9 nm, średnią wielkość kryształitów 5-6 nm, gęstość  $3,16 \text{ g/cm}^3$  i powierzchnię właściwą  $215 \text{ m}^2/\text{g}$ . Badania SEM wykazały dużą homogenność nanocząstek zarówno w wielkości, jak i kształcie.

**Wnioski.** Właściwości scharakteryzowanych NC oraz przedstawione w publikacji badania innych autorów dają podstawę sądzić, iż po ewentualnej inkorporacji do polimetakrylanu metylu będą one spełniać funkcje przeciwwgrzybicze.

## Background

Despite continuous development of new technologies and a growing progress in the field of material science an alternative to polymethylmethacrylate material for denture bases has not as yet been found. The material under study has acceptable mechanical properties from a clinical point of view and its main advantages are ease of processing and the ability to add new portion of material, eg. during repair or relining denture. A common problem faced

## Wstęp

Pomimo ciągłego rozwoju nowych technologii i stałego postępu w dziedzinie materiałoznawstwa nadal nie znaleziono alternatywy dla polimetakrylanu metylu – materiału na płyty protez stomatologicznych. Tworzywo to posiada akceptowalne z klinicznego punktu widzenia właściwości mechaniczne a do jego głównych zalet należą łatwość obróbki oraz możliwość dodawania nowych porcji materiału np. podczas napraw lub podścielania

by the patients using acrylic prosthesis with a large base is the prosthetic field inflammation known as denture stomatitis.<sup>1</sup> They are related to the specific conditions offered by the restoration in the mouth, the state of the patient's immune system, but also to the PMMA surface that due to strong hydrophobic properties and roughness facilitates the bacterial-fungal biofilm formation. Therefore, it is a growing interest among research teams about the possibility of modifying PMMA to hinder the adhesion of microorganisms. Owing to the rapid and constant progress in the field of nanotechnology attempts are made to add various nanoparticles to PMMA with the intention of using their antimicrobial efficacy. The modification of the material with silver nanoparticles with confirmed antibacterial properties for both gram positive, gram negative and resistant strains to antibiotics is the best known so far.<sup>2</sup> Compared to substances containing Ag at the microscale in their composition NPs have a lower cyto- and genotoxicity and compared to antibiotics they are less prone to the formation of multiresistant strains.<sup>3</sup> Li et al.<sup>4</sup> showed reduction of biological activity and biomass of biofilm with an increasing concentration of Ag-NPs colloid. Anti-adhesive properties against *Candida* showed PMMA resin modified by a 5% content of nanoparticles. Microscopic analysis revealed that the 2% silver content samples already showed disorder in the formation of biofilm, while at 5% the analysed average thickness of the biofilm and the number of live cells showed only a few cells of *Candida*. Antifungal properties were confirmed by Torres et al.,<sup>5</sup> who exhibited neither cytotoxicity nor genomic toxicity and by Suganyai et al.,<sup>6</sup> who also pointed out that the material may be used in geriatric patients or patients with disorders in the immune system. De Castro et al.,<sup>7</sup> modified PMMA by introducing the silver vanadium whose content of 10% showed a statistically significant decrease in metabolic activity of *C. albicans* and *S. mutans*, which was also confirmed by the confocal microscopy study. At the same time NP

uzupełnienia. Częstym problemem, z którym zmagają się pacjenci użytkujący akrylowe protezy z rozległą płytą są stany zapalne podłoża protetycznego zwane stomatopatiami protetycznymi.<sup>1</sup> Związane są one ze specyficznymi warunkami jakie stwarza uzupełnienie protetyczne w jamie ustnej, stanem układu odpornościowego pacjenta ale także właściwościami powierzchni PMMA, która ze względu na silne właściwości hydrofobowe oraz chropowatość ułatwia formowanie biofilmu bakteryjno-grzybiczego. Dlatego obserwuje się wzrost zainteresowania zespołów badawczych możliwościami modyfikacji PMMA, mających na celu utrudnienie adhezji drobnoustrojów. Ze względu na stały postęp w dziedzinie nanotechnologii próbuje się dodawać do tworzywa akrylowego różne nanocząstki z zamiarem wykorzystania ich właściwości mikrobiologicznych. Najlepiej poznana dotychczas jest modyfikacja tworzywa za pomocą nanocząstek (NC) srebra o potwierdzonych właściwościach antybakteryjnych zarówno dla bakterii gram dodatnich, gram ujemnych, jak i szczepów opornych na stosowane antybiotyki.<sup>2</sup> Zastosowanie NC Ag w porównaniu z substancjami zawierającymi w swoim składzie srebro w mikroskali wykazuje mniejszą cyto- i geno-toksyczność, a w porównaniu z antybiotykami mniejszą skłonność do powstawania szczepów opornych na leczenie.<sup>3</sup> Badania Li i wsp.<sup>4</sup> wykazały redukcję bioaktywności oraz biomasy biofilmu wraz ze zwiększającą się koncentracją NC Ag w koloidzie. Antyadhezyjne właściwości wobec *Candida* wykazywało tworzywo akrylowe modyfikowane 5% zawartością NC. Analiza mikroskopowa wykazała, iż zaburzenie w formowaniu biofilmu powodowały już próbki o zawartości Ag 2% (średnia grubość biofilmu i ilość żywych komórek), a przy zawartości 5% było obecnych tylko kilka komórek *Candida*. Przeciwgrzybicze właściwości potwierdzili w swojej pracy także

additive did not altered substantially mechanical properties, such as hardness or roughness, but the bending strength decreased already after adding 1% of a nanofiller. The authors point out that the basic problem still remains in the NP uniform distribution in a polymer matrix. *Wady et al.*<sup>8</sup> have demonstrated antibacterial and antifungal properties of Ag-NP solution to *C. albicans*, but after the creation of the nanocomposite, contrary to the above described tests, there was no statistically significant difference in the adhesion and biofilm formation of *C. albicans*. There are, however, not known reports on the clinical use of biomaterials containing silver nanoparticles. The main limitation is a strong brown discoloration after Ag-NP incorporation into PMMA associated with the oxidation processes, which prevent considerably the possibilities of clinical use of the new nanobiomaterial.

There is another type of nanoparticles, titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>), and attempts have also been made to incorporate them into polymethyl methacrylate. Studies show significant activity of TiO<sub>2</sub> against microorganisms, such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Giardia lamblia*, or *Lactobacillus acidophilus*.<sup>9,10,11</sup> Under UV radiation and chemical reactions resulting from its influence TiO<sub>2</sub> exhibits photocatalytic activity, involving the production of reactive oxygen species and damaging the cell wall of microorganisms.<sup>12</sup> It has also been attempted to use the coexistence of TiO<sub>2</sub>-NPs and silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>). SiO<sub>2</sub> as a porous substance, makes possible the absorption and stabilization of other molecules, eg. TiO<sub>2</sub> in its interior. This observation has been explored, among others, by *Sodagar et al.*,<sup>13</sup> who introduced TiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub> nanoparticles as well as TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> conglomerate into PMMA. Antibacterial studies have been carried out for *L. acidophilus* and *S. mutans* in three different lighting conditions (lack of light, daylight and UVA radiation). For 1%

*Torres i wsp.*<sup>5</sup> nie wykazując jednocześnie cyto- i geno-toksyczności oraz *Suganya i wsp.*,<sup>6</sup> którzy dodatkowo zwrócili uwagę, iż materiał ten może zostać użyty w przypadkach pacjentów geriatrycznych lub z zaburzeniami układu immunologicznego. *De Castro i wsp.*,<sup>7</sup> wprowadzili do PMMA zmodyfikowane wanadem srebro, które przy 10% zawartości wykazało istotny statystycznie spadek aktywności metabolicznej *C. albicans* i *S. mutans*, co zostało także potwierdzone w badaniu mikroskopem konfokalnym. Dodatek NC jednocześnie nie zmienił istotnie właściwości mechanicznych, takich jak twardość czy chropowatość, natomiast odporność na zginanie zmniejszyła się już po dodaniu 1% nanowypełniacza. Autorzy zwracają uwagę, iż nadal podstawowym problemem pozostaje równomierne rozmieszczenie NC w matrycy polimerowej. *Wady i wsp.*<sup>8</sup> wykazali działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze roztworu NC Ag w odniesieniu do *C. albicans*, jednakże po stworzeniu nanokompozytu, w odróżnieniu od przedstawionych powyżej badań, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w adhezji i formowaniu biofilmu przez *C. albicans*. Nie są natomiast znane doniesienia dotyczące klinicznego zastosowania biomateriałów zawierających nanocząstki srebra. Podstawowym ograniczeniem są mocne, brązowe przebarwienia PMMA po inkorporacji NC związane z procesami utleniania srebra, co znacznie ogranicza możliwości zastosowania klinicznego nowego nanobiomateriału.

Kolejnym rodzajem nanocząstek, w przypadku których zostały podjęte próby ich inkorporacji do polimetakrylanu metylu są NC ditlenku tytanu (TiO<sub>2</sub>). Badania wykazują istotne działanie TiO<sub>2</sub> przeciwko mikroorganizmom, takim jak *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Giardia lamblia*, czy *Lactobacillus acidophilus*.<sup>9,10,11</sup> Ditlenek tytanu wykazuje pod wpływem promieniowania UVA i zachodzących pod

of the TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub>-PMMA nanocomposite in conditions of UVA radiation a significant drop in the amount of *L. acidophilus* colony (98.6 ± 0.4%) and *S. mutans* (97.9 ± 0.3%) was observed. The shown activity is most likely related to the operation of TiO<sub>2</sub> photocatalytic activity. It is also possible to form the TiO<sub>2</sub> NP layer on the surface of the polymerized PMMA. *Arai et al.*<sup>14</sup> observed a statistically significant decrease in growth of both *C. albicans* and *S. sanguis* after the modification mentioned above. The possibility of introducing platinum into the PMMA nanoparticles has also been described,<sup>15</sup> indicating very good results of microbiological tests against *S. mutans* and *S. sobrinus*. Nanocomposite containing 200 mg/l NP reduced the cell adhesion of 88.9% for *S. mutans* and 88.2% for *S. sobrinus*.

In recent publications the authors of this study have described the possibility of incorporating zinc oxide (ZnO) nanoparticles into PMMA and the major problem with uniform distribution of the filler in a polymer matrix.<sup>16</sup> The studies have shown antifungal properties of both PMMA-ZnO nanocomposites and the ZnO-NP layer sputtered on the earlier polymerized PMMA. The deposition of fungal biofilm on the surface of nanocomposites decreased significantly with increasing concentration of ZnO-NP.<sup>17</sup> In addition, the scientific confirmation of one of the theories on the mechanism by which ZnO-NPs exerts its activity, namely via increasing the oxidative stress and reactive oxygen species in the microorganism cells, may explain fungicidal activity of the zinc oxide nanoparticles.

## Purpose

The objective of the study was to characterize titanium dioxide nanoparticles (Promethean Particles Ltd, UK) before their potential use as a modifier for PMMA as an alternative material for denture bases.

jego wpływem reakcji chemicznych działanie fotokatalityczne, polegające na produkcji reaktywnych form tlenu i uszkodzeniu ściany komórkowej mikroorganizmów.<sup>12</sup> Próbuje się także wykorzystać koegzystencję NC TiO<sub>2</sub> i ditlenku krzemu. SiO<sub>2</sub> jako substancja porowata, daje możliwość absorpcji i stabilizacji w swoim wnętrzu innych molekuł np. TiO<sub>2</sub>. Zostało to zbadane m.in. przez *Sodagar* i wsp.,<sup>13</sup> gdzie wprowadzono do PMMA nanocząstki TiO<sub>2</sub> oraz SiO<sub>2</sub>, jak również konglomerat TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub>. Badania antybakteryjne przeprowadzono dla *L. acidophilus* i *S. mutans* w trzech różnych warunkach oświetlenia (brak światła, światło dzienne oraz promieniowanie UVA). Dla 1% nanokompozytu TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub>-PMMA w warunkach promieniowania UVA zaobserwowano znaczny spadek kolonii *L. acidophilus* (98,6±0,4%), a dla *S. mutans* (97,9±0,3%). Wykazane działanie jest najprawdopodobniej związane z działaniem fotokatalitycznym TiO<sub>2</sub>. Na powierzchni spolimeryzowanego PMMA istnieje także możliwość wytworzenia warstwy z NC TiO<sub>2</sub>. *Arai* i wsp.,<sup>14</sup> zaobserwowali istotny statystycznie spadek wzrostu zarówno *C. albicans* jak i *S. sanguis* po w/w modyfikacji. Opisano także możliwości wprowadzenia do PMMA nanocząstek platyny,<sup>15</sup> wykazując bardzo dobre wyniki badań mikrobiologicznych w stosunku do *S. mutans* i *S. sobrinus*. Nanokompozyt o zawartości NC 200 mg/L zredukował adhezję komórek o 88,9% dla *S. mutans* i 88,2% w przypadku *S. sobrinus*.

Autorzy obecnej pracy we wcześniejszych publikacjach opisali możliwości inkorporacji do PMMA NC tlenku cynku i główne problemy związane z równomiernym rozmieszczeniem wypełniacza w matrycy polimerowej.<sup>16</sup> Badania wykazały antygrzybicze właściwości zarówno nanokompozytów PMMA – NC ZnO, jak i napyłonej warstwy NC ZnO na spolimeryzowany PMMA. Odkładanie biofilmu grzybiczego na powierzchni kompozytów zmniejszało się istotnie statystycznie wraz ze wzrostem koncentracji

## Material and methods

### Receiving TiO<sub>2</sub> NP

Water suspension of TiO<sub>2</sub> (Batch number: SHY-179) was delivered directly by the producer, Promethean Particles Ltd (UK). TiO<sub>2</sub> dry powder was obtained by rapid cooldown of the suspension with liquid nitrogen and its subsequent drying in the lyophiliser (Lyovac GT-2, SRK Systemtechnik GmbH).

### Morphologic characteristics

The morphology of NPs was determined using the scanning electron microscopy (SEM) (ZEISS, Ultra Plus). The samples were coated with a thin carbon layer using the sputter coater (SCD 005/CEA 035, BAL-TEC).

### X-ray powder diffraction

Diffraction patterns of the X-ray powder diffraction (XRD) were gathered at room temperature within the range of 2 theta angle from 10° to 100° with the step of 0.02°, using the X-ray powder diffractometer, operating with the copper lamp ( $CuK_{\alpha 1}$ ), (X'Pert PRO, Panalytical). Based on the diffraction patterns, the size of crystallites was determined ( $D_{hkl}$ ) using Scherrer's formula,<sup>18</sup>

$$D_{hkl} = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta_{hkl}}$$

where:  $D_{hkl}$  – volume weighted crystallite size, [nm];  $\beta$  – broadening of the  $hkl$  diffraction peak measured at half its maximum intensity [rad];  $K$  – shape factor,  $K \approx 1$ ;  $\lambda$  – wave length of the X-rays dependent on the lamp type [nm];  $\theta_{hkl}$  – Bragg diffraction angle

### Crystallite size distribution

The analysis of XRD peak profile was performed according to the analytical formula for polydispersive powders using application *Nanopowder XRD Processor Demo* (<http://>

NC ZnO (Ciarech i wsp.<sup>17</sup> Dodatkowo potwierdzono w badaniach jedną z teorii mechanizmu działania NC ZnO, polegającą na zwiększaniu stresu oksydacyjnego i reaktywnych form tlenu w komórkach drobnoustrojów, co może być wyjaśnieniem działania grzybobójczego nanocząstek tlenku cynku.

## Cel pracy

Charakterystyka nanocząstek ditlenku tytanu (Promethean Particles Ltd, United Kingdom) przed potencjalnym zastosowaniem ich jako modyfikatora dla PMMA jako alternatywnego materiału na płyty protez stomatologicznych.

## Material i metody

### Otrzymanie NC TiO<sub>2</sub>

Wodna zawiesina NC TiO<sub>2</sub> (Nr partii: SHY-179) została dostarczona przez firmę Promethean Particles Ltd (United Kingdom). Suchy proszek NC TiO<sub>2</sub> otrzymano poprzez gwałtownie schłodzenie zawiesiny ciekłym azotem a następnie suszenie jej w liofilizatorze (Lyovac GT-2, SRK Systemtechnik GmbH).

### Charakterystyka morfologiczna

Morfologię NC określono za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) (ZEISS, Ultra Plus). Próbkę napyłano warstwą węgla przy użyciu napyłarki (SCD 005/CEA 035, BAL-TEC).

### Proszkowa dyfrakcja rentgenowska

Dyfraktogramy proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej (XRD) zbierano w temperaturze pokojowej w zakresie kąta 2 theta od 10° do 100° z krokiem 0,02°, przy użyciu proszkowego dyfraktometru rentgenowskiego, pracującego z lampą miedziową ( $CuK_{\alpha 1}$ ), (X'Pert PRO, Panalytical). Na podstawie dyfraktogramów wyznaczono wielkość krystalitów ( $D_{hkl}$ ) używając równania Sherrera:<sup>18</sup>

*science24.com/xrd/*, © Pielaszek Research). While Scherrer's method provides a single size parameter, this technique provides four parameters: average crystallite size, error of the average crystallite size, dispersion of size and error of dispersion of sizes. Hence, a full crystallite size distribution curve and an estimation of "thickness" of this curve (error bars) are obtained. The on-line tool Nanopowder XRD Processor Demo is a webpage where diffraction files can be directly dropped. Files are processed on a server to extract the crystallite size distribution for XRD peaks. Unlike the standard fitting, the tool does not act in the reciprocal space at all, but solves sets of equations in a few auxiliary spaces simultaneously. This allows an analysis of XRD data with heavily convoluted reciprocal space peaks.

#### *Measurement of density and specific surface area*

Density measurements were carried out using the helium pycnometer (AccuPyc II 1340 FoamPyc V1.06, Micromeritics), in accordance with ISO 12154:2014 at a temperature of  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . The specific surface area of NPs was determined using the analysis of nitrogen adsorption isotherm by the BET (Brunauer-Emmett-Teller) method (Gemini 2360, V 2.01, Micromeritics), in accordance with ISO 9277:2010. Prior to performing measurements of both density and specific surface area, the samples were subject to 2h desorption in a desorption station (FlowPrep, 060 Micromeritics), at a temperature of  $150^\circ\text{C}$  with the flow of helium of 99.999% purity. Based on the determined specific surface area and density, the average size of particles was determined, with the assumption that all particles are spherical and identical. The following equation was used for calculating the average particle size:<sup>18</sup>

$$D_{hkl} = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta_{hkl}}$$

gdzie:  $D_{hkl}$  – średnia wielkość krystalitów w kierunku prostopadłym do płaszczyzny (hkl), [nm];  $\beta$  – szerokość linii dyfrakcyjnej mierzona w połowie refleksu, zależna od wielkości krystalitów [rad];  $K$  – stała Scherrera zależna od kształtu krystalitu,  $K \approx 1$ ;  $\lambda$  – długość fali promieniowania rentgenowskiego zależna od rodzaju lampy [nm];  $\theta_{hkl}$  – kąt Bragga, kąt odbłyску.

#### *Rozkład wielkości krystalitów*

Analizę pików rentgenowskich wykonano korzystając z analitycznego wzoru na ich profil dla proszków polidispersyjnych przy użyciu aplikacji *Nanopowder XRD Processor Demo* (<http://science24.com/xrd/>, © Pielaszek Research). Podczas, gdy metoda Scherrera daje pojedynczy parametr wielkości, użyta metoda daje cztery liczby: średnią wielkość krystalitu, błąd średniej wielkości krystalitu, dyspersje/rozrzut wielkości krystalitów w proszku oraz błąd dyspersji wielkości krystalitów. W ten sposób otrzymuje się pełną krzywą rozkładu wielkości krystalitów wraz z oszacowaniem "grubości" krzywej (słupki błędów). Aplikacja *Nanopowder XRD Processor Demo*, pozwala na bezpośrednie "wrzucenie" (drag and drop) plików dyfrakcyjnych do okienka przeglądarki. Dane są przeliczane na serwerze w celu uzyskania rozkładu wielkości krystalitów. W przeciwieństwie do standardowego fitowania, narzędzie to nie prowadzi obliczeń w przestrzeni odwrotnej, ale rozwiązuje układy równań w przestrzeniach pomocniczych. To pozwala na analizę nawet takich danych dyfrakcyjnych, które posiadają bardzo splecione, nakładające się piki.

#### *Pomiar gęstości i powierzchni właściwej*

Pomiary gęstości wykonano przy użyciu piknometru helowego (AccuPyc II 1340 FoamPyc

$$D = \frac{N \cdot 1000}{SSA \cdot \rho}$$

Equation for calculating the average particle size, where:  $D$  – average size of particles; diameter [ $\mu\text{m}$ ];  $N$  – shape coefficient being 6 for the sphere;  $SSA$  – specific surface area),  $a_s$  – IUPAC symbol;  $\rho$  – density.

## Results

Representative SEM images of  $\text{TiO}_2$ -NPs are presented in Figure 1. They show the  $\text{TiO}_2$  particles of spherical shape. Figures 1a and 1b show homogeneity of  $\text{TiO}_2$  particles. The average particle size, as estimated on the basis of Figure 1b, is about 20-30 nm. However, at higher magnification in Figure 1c, particles that are about 5-10 nm in diameter can be seen. The structures shown in Figure 1b may be agglomerates, which consist of smaller particles having a size of about 5-10 nm. XRD research showed no presence of foreign phases in the sample of  $\text{TiO}_2$ , and all the diffraction peaks were attributed solely to the anatase phase of  $\text{TiO}_2$  (Fig. 2). In the form of anatase  $\text{TiO}_2$  has a tetragonal structure of cell structure (JCPDS 21-1272, space group I41 / amd) with two network parameters  $a$  and  $c$  (Tab. 1). The average size of the  $\text{TiO}_2$  NPs calculated based on the results of the density and specific surface area was 9 nm (Tab. 2). The average grain size, calculated on the basis of XRD using Sherrer's equation, was 5 nm (Tab. 2). The web application of Nanopowder XRD Processor Demo is based on the theory of diffraction that helped to determine the average size and size distribution of the crystallites.  $\text{TiO}_2$ -NPs size obtained by XRD Nanopowder Processor Demo, showed a crystallite size of  $6 \pm 1$  nm with a narrow distribution in the range from 3 nm to 10 nm (Fig. 3). The theoretical density of micropowder  $\text{TiO}_2$

V1.06, Micromeritics), zgodnie z normą ISO 12154:2014 w temperaturze  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Powierzchnia właściwa nanocząstek została wyznaczona przy użyciu analizy izotermy adsorpcji azotu metodą Brunauer-Emmett-Teller (BET) (Gemini 2360, V 2.01, Micromeritics), zgodnie z normą ISO 9277:2010. Przed wykonaniem pomiarów zarówno gęstości jak i powierzchni właściwej próbki poddawano 2h desorpcji w stacji desorpcyjnej (FlowPrep, 060 Micromeritics), w temperaturze  $150^\circ\text{C}$  przy przepływie helu o czystości 99,999%. Na podstawie wyznaczonej powierzchni właściwej oraz gęstości obliczono średnią wielkość cząstek, zakładając, że wszystkie cząstki są sferyczne i identyczne. Do obliczenia średniej wielkości cząstek użyto następującego równania:<sup>18</sup>

$$D = \frac{N \cdot 1000}{SSA \cdot \rho}$$

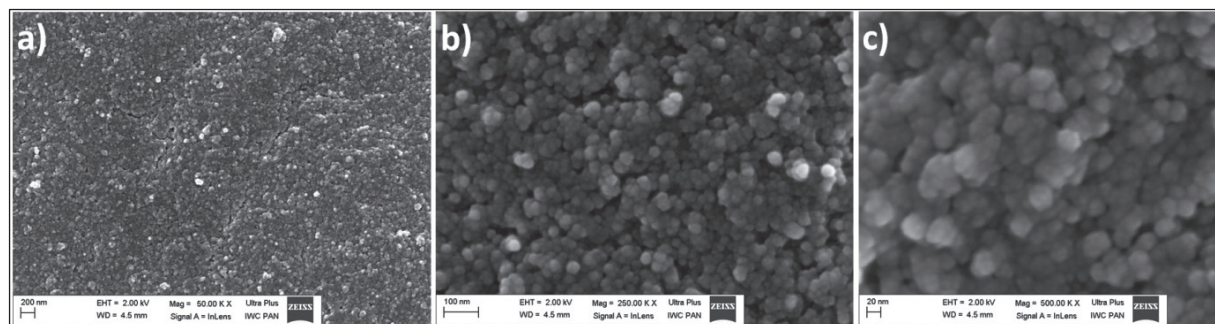
Równanie do obliczenia średniej wielkości cząstek, gdzie:  $D$  – średni rozmiar cząstek; średnica [nm];  $N$  – współczynnik kształtu, dla sfery przyjmuje wartość 6;  $SSA$  – powierzchnia właściwa (ang. specific surface area),  $a_s$  – symbol IUPAC;  $\rho$  – gęstość.

## Wyniki

Reprezentatywne obrazy SEM NC  $\text{TiO}_2$  zostały przedstawione na rycinie 1. Pokazują one cząstki  $\text{TiO}_2$  o kształcie sferycznym. Na rycinach 1a i 1b można zauważyć jednorodność cząstek  $\text{TiO}_2$ . Średnia wielkość cząstek, oszacowana na podstawie ryciny 1b wynosi około 20-30 nm. Jednak przy większym powiększeniu na rycinie 1c można dostrzec cząstki, które mają około 5-10 nm średnicy. Struktury widoczne na rycinie 1b są prawdopodobnie aglomeratami, które składają się z mniejszych cząstek o wielkości około 5-10 nm.

Badania XRD próbek nie wykazały obecności





**Fig. 1. Scanning electron microscope image of  $\text{TiO}_2$  nanoparticles.**

Ryc. 1. Obraz nanocząstek  $\text{TiO}_2$  w skaningowym mikroskopie elektronowym.

**Table 1.** Structural and physical properties of bulk  $\text{TiO}_2$  polymorphs (Yang i wsp.,<sup>22</sup> Gázquez i wsp.<sup>23</sup>)

Name	Crystal Form	Space group	Density ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	Refractive index (nD)	Unit cell ( $\text{Å}$ )
Rutile	Tetragonal	$P4_2/\text{mnm}$	4.13	2.609	$a = 4.59, c = 2.96$
Anatase	Tetragonal	$I4_1/\text{amd}$	3.79	2.488	$a = 3.79, c = 9.51$
Brookite	Orthorhombic	Pbca	3.99	2.583	$a=9.17, b = 5.46, c=5.14$
$\text{TiO}_2$ (B)	Monoclinic	C2/m	3.64	–	$a = 12.17, b = 3.74, c = 6.51, \beta = 107.29^\circ$

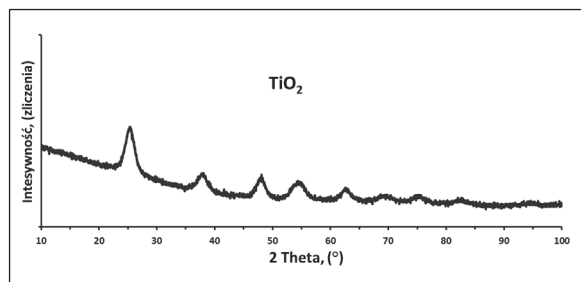
**Table 2.**  $\text{TiO}_2$  nanoparticles characteristics

Sample	Specific Surface area (BET) ( $\text{as} \pm \sigma, \text{m}^2/\text{g}$ )	Density ( $\rho \pm \sigma, \text{g}/\text{cm}^3$ )	The average grain size: SSA BET, ( $d \pm \sigma, \text{nm}$ )	The average crystallite size: Nanopowder XRD Processor Demo ( $d \pm \sigma, \text{nm}$ )	The average crystallite size: Scherer's equation, XRD ( $d, \text{nm}$ )
$\text{TiO}_2$	$215 \pm 3$	$3,16 \pm 0,03$	$9 \pm 1$	$6 \pm 1$	5

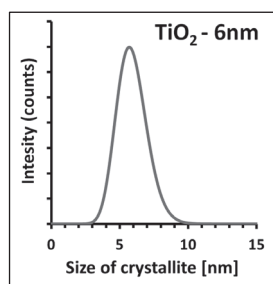
anatase form is  $3.79 \text{ g}/\text{cm}^3$ . The density of the obtained  $\text{TiO}_2$ -NPs sample was  $3.16 \text{ g}/\text{cm}^3$ , and it is lower by about 16.7% from the theoretical value. The specific surface of  $\text{TiO}_2$ -NPs amounted to  $215 \text{ m}^2/\text{g}$ .  $\text{TiO}_2$ -NPs of such a large specific surface area can be used, for example, as an active catalysts applied in visible light and can show a high microbiological activity.

obcych faz w próbce  $\text{TiO}_2$ , a wszystkie piki dyfrakcyjne zostały przypisane wyłącznie fazie anatazu  $\text{TiO}_2$  (ryc. 2).  $\text{TiO}_2$  w formie anatazu posiada strukturę o tetragonalnej budowie komórki (JCPDS 21-1272, grupa przestrzenna  $I4_1/\text{amd}$ ) z dwoma parametrami sieci  $a$  i  $c$  (tab. 1).

Średni rozmiar NC  $\text{TiO}_2$  wyliczony w oparciu o wyniki powierzchni właściwej i gęstości wynosił  $9 \text{ nm}$  (tab. 2). Średni rozmiar krystalitów



**Fig. 2. XRD examination of TiO<sub>2</sub> nanoparticles.**  
Ryc. 2. Dyfraktogram XRD nanocząstek TiO<sub>2</sub>.



**Fig. 3. TiO<sub>2</sub> crystallite size distribution obtained by XRD Nanopowder Processor Demo.**  
Ryc. 3. Rozkład wielkości kryształitów TiO<sub>2</sub> na podstawie Nanopowder XRD Processor Demo.

## Discussion

Theoretically, the introduction of titanium dioxide into polymethyl methacrylate should impede fungal biofilm formation due to the exhibited microbiological activity.<sup>9,10,11</sup> Before the procedure of incorporating nanoparticles into a polymer matrix they should be precisely characterised. In the potential antibacterial or antifungal activity, besides the type and concentration of nanoparticles, a large role is played by two parameters, the size of the particles and their surface area. This was confirmed in the studies carried out by *Raghupathi et al.*<sup>19</sup> who indicate that the microbial activity of nanoparticles is directly proportional to the concentration and inversely proportional to their diameter. Furthermore, they found that particles larger than 100 nm showed only a bacteriostatic activity, and particles of smaller diameter also had bactericidal properties.

wyliczony na podstawie badań XRD przy użyciu równania Sherrera wynosił 5 nm (tab. 2). Aplikacja internetowa *Nanopowder XRD Processor Demo* oparta na teorii dyfrakcji pozwoliła wyznaczyć średni rozmiar jak i rozkład wielkości kryształitów. Na rycinie 3 znajduje się rozkład wielkości NC TiO<sub>2</sub> otrzymany dzięki *Nanopowder XRD Processor Demo*, który charakteryzował się wielkością kryształitów 6±1 nm o wąskim rozkładzie mieszczącym się w przedziale od 3 nm do 10 nm (ryc. 3).

Gęstość teoretyczna mikroproszku anatazu TiO<sub>2</sub> wynosi 3.79 g/cm<sup>3</sup>. Gęstość otrzymanej próbki NC TiO<sub>2</sub> wynosiła 3,16 g/cm<sup>3</sup>, i jest niższa o około 16,7% od wartości teoretycznej. Powierzchnia właściwa NC TiO<sub>2</sub> wynosiła 215 m<sup>2</sup>/g. NC TiO<sub>2</sub> o tak dużej powierzchni właściwej mogą zostać użyte np. jako katalizatory aktywne stosowane w świetle widzialnym jak również posiadać dużą aktywność mikrobiologiczną.

## Dyskusja

Wprowadzenie nanotlenku tytanu do polimetakrylanu metylu teoretycznie powinno utrudnić formowanie biofilmu grzybiczego ze względu na wykazywaną aktywność mikrobiologiczną.<sup>9,10,11</sup> Przed procedurą inkorporacji nanocząstek do matrycy polimerowej konieczna jest ich dokładna charakterystyka. Na potencjalne działanie antybakteryjne czy antygrzybicze, poza rodzajem i stężeniem nanocząstek, dużą rolę odgrywają dwa parametry: rozmiar cząstek oraz ich powierzchnia właściwa. Potwierdzono to w badaniach *Raghupathi i wsp.*<sup>19</sup> wykazując, iż działanie mikrobiologiczne nanocząstek było wprost proporcjonalne do stężenia i odwrotnie proporcjonalne do ich średnicy. Co więcej, autorzy stwierdzili, iż cząstki większe od 100 nm wykazywały działanie tylko bakteriostatyczne, natomiast cząstki o mniejszej średnicy posiadały także właściwości bakteriobójcze.

As depicted by the above studies the size of TiO<sub>2</sub> nanoparticles oscillating in the range of 5-9 nm gives rise to expectations of a strong microbial activity. When comparing different methods of conversion of XRD results (Sherrer's formula and Nanopowder XRD Processor Demo), identical results were obtained, fitting in the standard deviation of the methods. The average size calculated from specific surface area and density is most representative in terms of the amount of the tested sample. However, the results of average particle size obtained thanks to that method can be burdened with a bias arising from the adopted simplification that all particles are spherical and identical. Differences between average particle size and average crystallite size may result from the limitations of the methods or from the polycrystallinity of TiO<sub>2</sub>. One TiO<sub>2</sub> particle may be built of several crystallites. It is worth mentioning that after the introduction of nanoparticles into a polymer matrix they have tend to form conglomerates which can significantly weaken the antifungal activity (Ciarech et al.).<sup>16</sup>

The potent microbial action of nanoparticles compared to their chemical counterparts in microscale is possible thanks to the particle surface area relative to its volume.<sup>20</sup> In their previous studies the authors<sup>17</sup> showed a high antifungal activity of zinc oxide nanoparticles with a specific surface area of 39 m<sup>2</sup>/g. Specific surface area of titanium nanooxide amounting to 215 m<sup>2</sup>/g, showed in this studies, provides the basis for possible strong antifungal properties. However, we should have in mind the research conducted by *Hamzeh* and *Sunahara*<sup>21</sup> who demonstrated the increased cytotoxicity of titanium oxide NPs with their increasing specific surface area.

The theoretical density of micropowder TiO<sub>2</sub> anatase form is 3.79 g/cm<sup>3</sup>. The density of the resulting TiO<sub>2</sub> sample was 3.16 g/cm<sup>3</sup>, being lower by about 16.7% from the theoretical

Wykazana w powyższych badaniach wielkość nanocząstek TiO<sub>2</sub> oscylująca w granicach 5-9 nm daje podstawę do oczekiwania silnej aktywności mikrobiologicznej. Porównując różne sposoby przeliczeń wyników XRD (Sherrera oraz *Nanopowder XRD Processor Demo*) otrzymano wręcz identyczne wyniki, mieszczące się w odchyleniu standardowym metod. Średni rozmiar wyliczony z powierzchni właściwej i gęstości jest najbardziej reprezentatywny pod względem wielkości przebadanej próbki, jednak wynik otrzymany dzięki tej metodzie może być obarczony błędem wynikającym z przyjętego uproszczenia, że wszystkie cząstki są sferyczne i identyczne. Różnice pomiędzy średnią wielkością cząstek a średnią wielkością krystalitów mogą wynikać z ograniczeń metod lub też z polikrystaliczności TiO<sub>2</sub>. Jedna cząstka TiO<sub>2</sub> może być zbudowana z kilku krystalitów. Należy natomiast pamiętać, iż nanocząstki po wprowadzeniu do matrycy polimerowej mają tendencję do tworzenia konglomeratów, co znacznie może osłabić ich działanie przeciwgrzybicze.<sup>16</sup>

Potencjalne działanie mikrobiologiczne nanocząstek w porównaniu do ich chemicznych odpowiedników w mikroskali jest możliwe dzięki dużej powierzchni cząstki w stosunku do jej objętości.<sup>20</sup> Autorzy we wcześniejszych badaniach<sup>17</sup> wykazali dużą przeciwgrzybiczą aktywność nanocząstek tlenku cynku o powierzchni właściwej 39 m<sup>2</sup>/g. Wykazana w przeprowadzonych badaniach powierzchnia właściwa nanotlenku tytanu wynosząca 215 m<sup>2</sup>/g daje podstawę dla możliwych, silnych właściwości przeciwgrzybiczych. Należy natomiast mieć na uwadze badania *Hamzeh* i *Sunahara*,<sup>21</sup> którzy wykazali wzrost cytotoxyczności nanocząstek tlenku tytanu wraz ze wzrostem ich powierzchni właściwej.

Gęstość teoretyczna mikroproszku anatazu TiO<sub>2</sub> wynosi 3,79 g/cm<sup>3</sup>. Gęstość otrzymanej próbki TiO<sub>2</sub> wynosiła 3,16 g/cm<sup>3</sup>, i jest

value. The difference between the nano and macro density of materials may result from several reasons, such as surface defects, a possible presence of hydroxides or impurities,  $\text{TiO}_2$  being non-stoichiometric, or content of various admixtures. The suspension was not rinsed before drying, thus a lower density of  $\text{TiO}_2$  NPs than the theoretical density may result from the presence of unrinsed impurities in the form of surfactants serving for water suspension stabilisation. It should be remembered that the amorphous phase is not detected by the XRD test and the limit of detectability of a foreign crystalline phase in the diffraction method can be even 5-6%, which prevents the detection of small quantities of impurities, if any, in the  $\text{TiO}_2$  sample.

It should also be taken into account that the addition of nanoparticles can disrupt the internal structure of the polymer hence possible deterioration of the biomaterial mechanical properties. *Shibata et al.*<sup>24</sup> point out that the irradiation by UVA light of PMMA composite with  $\text{TiO}_2$  particles (size greater than 400 nm) results in reduced flexural strength. The authors also emphasize that after 360 h exposure value of the bending for 5% of the composite stiffness satisfied the ISO 1567 requirements. The addition of  $\text{TiO}_2$  particles in nanometric scale can affect the polymer structure in a different way, and needs further investigations.

The properties of characterized NPs and presented publications of other authors give reason to believe that a possible incorporation of NPs into polymethyl methacrylate will activate the antifungal function. Possible clinical applications of the prepared nanocomposite need further research.

niższa o około 16,7% od wartości teoretycznej. Różnica pomiędzy gęstością nano a makro materiałów może wynikać z kilku przyczyn, między innymi: defektów powierzchni, możliwej obecności wodorotlenków lub zanieczyszczeń, niestechiometryczności  $\text{TiO}_2$ , zawartości różnorodnych domieszek. Zawiesina przed suszeniem nie była płukana, zatem mniejsza gęstość nanocząstek  $\text{TiO}_2$  od gęstości teoretycznej może wynikać z obecności niewypłukanych zanieczyszczeń np. w postaci środków powierzchniowo czynnych służących do stabilizowania zawiesiny wodnej. Należy pamiętać, że faza amorficzna jest nie wykrywana przez badanie XRD a granica wykrywalności obcej fazy krystalicznej w metodzie dyfraktometrycznej może wynosić nawet do 5-6% at, co uniemożliwiło ewentualne wykrycie małych ilości zanieczyszczeń w próbce  $\text{TiO}_2$ .

Należy także wziąć pod uwagę, iż dodatek nanowypełniacza może zaburzyć strukturę wewnętrzną polimeru przez co pogorszeniu ulegną właściwości mechaniczne biomateriału. *Shibata i wsp.*<sup>24</sup> zwracają uwagę, iż naświetlanie światłem UVA kompozytu PMMA z cząstkami  $\text{TiO}_2$  (wielkość powyżej 400 nm) powoduje spadek odporności na zginanie. Autorzy podkreślają jednocześnie, iż dla w/w 5% kompozytu po 360h ekspozycji wartości odporności na zginanie sprostały wymaganiom stawianym w normie ISO 1567. Dodatek cząstek  $\text{TiO}_2$  w skali nanometrycznej może jednak wpływać na strukturę polimeru w sposób odmienny i wymaga dalszych badań.

Właściwości scharakteryzowanych nanocząstek oraz przedstawione w publikacji badania innych autorów dają podstawę sądzić, iż po ewentualnej inkorporacji do polimetakrylanu metylu będą one spełniać funkcje przeciwgrzybicze. Możliwe kliniczne wykorzystanie tak wytworzonego nanokompozytu wymaga jednak dalszych badań.

## Acknowledgment

We would like to thank Promethean Particles Ltd (UK) for the delivery of the TiO<sub>2</sub> suspension.

## Podziękowania

Dziękujemy firmie Promethean Particles Ltd (UK) za dostarczenie zawiesiny TiO<sub>2</sub>.

---

## References / Piśmiennictwo

1. *Spiechowicz E, Mierzwińska-Nastalska E*: Oral cavity candidosis, Med Tour Press International, 1998.
2. *Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramirez JT, Yacaman MJ*: The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 2005; 16: 2346-2353.
3. *de Lima R, Seabra AB, Duran N*: Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. *J Appl Toxicol* 2012; 32: 867-879.
4. *Li Z, Sun J, Lan J, Qi Q*: Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. *Gerodontology* 2014; 33: 209-216.
5. *Torres LSA, Mendieta I, Nuñez-Anita RE, Cajero-Juárez M, Castaño VM*: Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for denture. *Int J Nanomed* 2012; 7: 4777-4786.
6. *Suganya S, Ahila SC, Kumar BM, Kumar MV*: Evaluation and comparison of anti-Candida effect of heat cure polymethylmethacrylate resin enforced with silver nanoparticles and conventional heat cure resins: An in vitro study. *Indian J Dent Res* 2014; 25: 204-207.
7. *de Castro DT, Valente ML, da Silva CH, Watanabe E, Siqueira RL, Schiavon MA, Alves OL, Dos Reis AC*: Evaluation of antibiofilm and mechanical properties of new nanocomposites based on acrylic resins and silver vanadate nanoparticles. *Arch Oral Biol* 2016; 67: 46-53.
8. *Wady AF, Machado AL, Zucolotto V, Zamperini CA, Berni E, Vergani CE*: Evaluation of *Candida albicans* adhesion and biofilm formation on a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles. *J Appl Microbiol* 2012; 112: 1163-1172.
9. *Choi JY, Kim KH, Choy KC, Oh KT, Kim KN*: Photocatalytic antibacterial effect of TiO<sub>2</sub> film formed on Ti and TiAg exposed to *Lactobacillus acidophilus*. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007; 80: 353-359.
10. *Shibata T, Hamada N, Kimoto K, Sawada T, Sawada T, Kumada H*: Antifungal effect of acrylic resin containing apatite-coated TiO<sub>2</sub> photocatalyst. *Dent Mater J* 2007; 26: 437-444.
11. *Lee JH, Kang M, Choung SJ, Ogino K, Miyata S, Kim MS*: The preparation of TiO<sub>2</sub> nanometer photocatalyst film by a hydrothermal method and its sterilization performance for *Giardia lamblia*. *Water Res* 2004; 38: 713-719.
12. *Fonseca SM, Barker AL, Ahmed S, Kemp TJ, Unwin PR*: Direct observation of oxygen depletion and product formation during photocatalysis at a TiO<sub>2</sub> surface using scanning electrochemical microscopy. *Chem Commun* 2003; 21: 1002-1003.
13. *Sodagar A, Khalil S, Kassaei MZ, Shahrudi AS, Pourakbari B, Bahador A*: Antimicrobial properties of poly (methyl methacrylate) acrylic resins incorporated with silicon dioxide and titanium dioxide nanoparticles on cariogenic bacteria. *J Orthod Sci* 2016; 5: 7-13.
14. *Arai T, Ueda T, Sugiyama T, Sakurai K*: Inhibiting microbial adhesion to denture base acrylic resin by titanium dioxide coating. *J*

- Oral Rehab 2009; 36: 902-908.
15. *Nam K*: Characterization and bacterial anti-adherent effect on modified PMMA denture acrylic resin containing platinum nanoparticles. *J Adv Prosthodont* 2014; 6, 207-214.
  16. *Cierech M, Wojnarowicz J, Szmigiel D, Bączkowski B, Grudniak A, Wolska I, Łojkowski W, Mierzwińska-Nastalska E*: Preparation and characterization of ZnO-PMMA resin nanocomposites for denture bases. *Acta Bioeng Biomech* 2016; 18: 31-41.
  17. *Cierech M, Kolenda A, Grudniak A, Wojnarowicz J, Woźniak B, Gołaś M, Swoboda-Kopeć E, Łojkowski W, Mierzwińska-Nastalska E*: Significance of polymethyl methacrylate (PMMA) modification by zinc oxide nanoparticles for fungal biofilm formation. *Int J Phar* 2016; 510: 323-335.
  18. *Wojnarowicz J, Mukhovskiy R, Pietrzykowska E, Kusnieruk S, Mizeracki J, Łojkowski W*: Microwave solvothermal synthesis and characterization of manganese doped ZnO nanoparticles. *Beilstein J Nanotechnol* 2016; 7: 721-732.
  19. *Raghupathi KR, Koodali RT, Manna AC*: Size- dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir* 2011; 27: 4020-4028.
  20. *Moriarty P*: Nanostructured materials. *Rep Prog Phys* 2001; 64: 297-381.
  21. *Hamzeh M, Sunahara GI*: In vitro cytotoxicity and genotoxicity studies of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles in Chinese hamster lung fibroblast cells. *Toxicol In Vitro* 2013; 27: 864-873.
  22. *Yang Z, Choi D, Kerisit S, Rosso KM, Wang D, Zhang J, Graff G, Liu J*: Nanostructures and lithium electrochemical reactivity of lithium titanites and titanium oxides: A review. *J Power Sourc* 2009; 192: 588-598.
  23. *Gázquez MJ, Bolívar JP, Garcia-Tenorio R, Vaca F*: A Review of the Production Cycle of Titanium Dioxide Pigment. *Mat Sci and Appl* 2014; 5: 441-458.
  24. *Shibata T, Hamada N, Kimoto K, Sawada T, Sawada T, Kumada H, Umemoto T, Toyoda M*: Antifungal effect of acrylic resin containing apatite-coated TiO<sub>2</sub> photocatalyst. *Dent Mater J* 2007; 26: 437-444.

Zaakceptowano do druku: 1.02.2017 r.

Adres autora: 02-006 Warszawa, ul. Nowogrodzka 59.

© Zarząd Główny PTS 2017.