

Zestaw zadań nr 3: Wytwarzanie membrany PCW i badanie jej antybakteryjnych właściwości

Tłumaczenie Małgorzata Szmigielska

Polimer o nazwie polichlorek winylu (PCW) jest to tani i wytrzymały plastik używany do produkcji rur, różnego rodzaju oznakowań i ubrań. Często, aby zwiększyć jego elastyczność i ułatwić proces obróbki, dodaje się do niego różne środki zmiękczające (plastyfikatory). W tym ćwiczeniu, wytworzysz membrany PCW z i bez dodatku plastyfikatora i porównasz ich właściwości fizyczne i chemiczne.

Membrany o właściwościach antymikrobowych używane są w wielu technologiach medycznych. Robi się je poprzez dodanie do polimerów nanocząstek lub mikrocząstek srebra albo innych metali. W obecności tlenu (z powietrza) i wody, wolne cząstki srebra przekształcają się do jonów srebra (Ag^{2+}), które mają zdolność zahamowania procesu namnażania bakterii, wirusów, alg i grzybów^{w3, w4}.

Materiały

Rozpuszczalnik: oksolan (tetrahydrofuran, $(\text{CH}_2)_4\text{O}$)

Sproszkowany polichlorek winylu

Sebacynian dibutyli lub inny plastyfikator

Azotan srebra (AgNO_3)

Cytrynian trisodowy ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)

Agar odżywczy

Kultura bakteryjna (np. pałeczki okrężnicy na pożywce bulionowej)

Płytki grzejna

Mieszadło magnetyczne

Zlewki o pojemności 75 ml

Szklane podłoże (np. zlewka, szkiełko zegarowe, szkiełko podstawowe)

Cylinder pomiarowy

Pipeta Pasteura

Szpatułka

Szalki Petriego

Ezy

Przebieg eksperymentu

Uwaga odnośnie bezpieczeństwa: Wszystkie czynności powinny być wykonywane pod laboratoryjnym okapem wyciągowym. Tetrahydrofuran to wysoce łatwopalna ciecz, której opary mogą poważnie podrażnić oczy. Należy się z nią obchodzić ostrożnie, wszystkie czynności wykonując pod okapem wyciągowym i w rękawiczkach.

Materiał uzupełniający do:

Establish project (2011) Polimery w medycynie. *Science in School* **21**.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/polish

1) Wytwarzanie membrany PCW bez dodatku plastyfikatora

1. Podgrzej 20 ml rozpuszczalnika używając płytki grzejnej i mieszadła magnetycznego.
2. Powoli, cały czas mieszając, dodaj 1,5g sproszkowanego PCW.
3. Po około 10 minutach roztwór powinien stać się bardziej kleisty. Zdejmij zlewkę z płytki grzejnej.
4. Wyjmij mieszadło magnetyczne i odlej kilka mililitrów roztworu PCW na szklaną powierzchnię, tworząc cienką i najbardziej jak to możliwe równą warstwę (wykorzystaj zewnętrzną lub wewnętrzną powierzchnię zlewki, szkiełko zegarowe lub szkiełko podstawowe). Żeby upewnić się, że warstwa będzie cienka, obracaj ostrożnie szkiełkiem kiedy roztwór jest jeszcze gorący.
5. Pozostaw roztwór na szkiełku pod okapem wyciągowym do czasu wyparowania rozpuszczalnika – zajmie to około 15 minut. Po tym czasie, możesz bez trudu zdjąć membranę PCW ze szkiełka.

2) Wytwarzanie membrany PCW z dodatkiem plastyfikatora

Powtarzając czynności opisane wyżej, zrób jeszcze cztery membrany PCW, każdą z inną ilością plastyfikatora dodanego do podgrzewanego roztworu (zobacz Tabelkę nr 4).

Próbka nr	PCW (g)	Rozpuszczalnik (ml)	Sebacynian dibutyłu (ml)
1	1.5	20	0.5
2	1.5	20	1
3	1.5	20	2
4	1.5	20	3

Tabela 4: Tworzenie membran PCW z dodatkiem różnych ilości plastyfikatora

1. Porównaj pięć próbek membran PCW. Jak środek zmiękczający działa na plastik?
2. Co, twoim zdaniem, dzieje się z plastikiem po dodaniu większej ilości środka zmiękczającego?
3. Popatrz na obrazy poniżej, uzyskane za pomocą elektronowego mikroskopu skaningowego (ang. scanning electron microscopy – SEM). Czy twoja odpowiedź na Pytanie nr 2 była poprawna?
4. Membrany otrzymane w tym ćwiczeniu mogą być również użyte w poprzednim ćwiczeniu („Membrany z niewidocznymi otworami”) w celu zbadania wielkości ich „otworów”.

PVC_m001_nr(unplasticised PVC), P05_m001_nr (PVC with 0.5Ml plasticiser), P20_m007_nr_a(PVC with 2ml plasticiser): Obrazy SEM :a) PCW bez plastyfikatora, b) PCW z dodatkiem 0,5 ml plastyfikatora i c) PCW z dodatkiem 2 ml plastyfikatora. Kliknij na obraz żeby powiększyć.

Zdjęcie dzięki uprzejmości the Establish project

Materiał uzupełniający do:

Establish project (2011) Polimery w medycynie. *Science in School* **21**.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/polish

3) Wytwarzanie membrany PCW o właściwościach antibakteryjnych

Membrana PCW zawierająca cząstki srebra musi mieć duże otwory, dlatego właśnie potrzebny jest plastyfikator. Samo srebro dodawane jest pod postacią azotanu srebra, a jego redukcja z soli następuje pod wpływem cytrynianu trisodowego.

1. Podgrzej 20 ml rozpuszczalnika przy użyciu płytki grzejnej i mieszadła magnetycznego.
2. Dodaj 2,5 ml plastyfikatora, następnie powoli dodaj 1,5 g sproszkowanego PCW.
3. Dodaj 2,5 ml 10-milimolowego roztworu azotanu srebra i mieszaj przez 1-2 minuty.
4. Rozlej po połowie roztworu w dwie zlewki o pojemności 75 ml. Obracaj zlewką rozprowadzając roztwór w taki sposób, aby membrana miała kształt naczyńka. Membrana nie powinna przepuszczać wody, upewnij się więc, że nie ma w niej dziur.
5. Pozostaw zlewki pod okapem wyciągowym, aby rozpuszczalnik mógł wyparować, następnie ostrożnie wyjmij membrany. (To jest dosyć trudne, mając dwie membrany zwiększasz swoje szanse na sukces).
6. Przygotuj 5-milimolowy roztwór cytrynianu trisodowego i wlej go ostrożnie w jedną z membran w kształcie zlewki. Roztwór powinien przez nią przejść i w wyniku reakcji z azotanem srebra pozostawić na niej nano- i mikrocząstki srebra.
7. Zauważ, że kolor membrany się zmienił.
8. Pozostaw membranę do wyschnięcia pod okapem wyciągowym. Na obrazach SEM (po prawo) widoczne są wolne cząstki srebra rozproszone na membranie PCW.

*Fe10122_m05((PVC membrane with silver particles): Membrana PCW z mikro- i nanocząstkami srebra. Kliknij na obraz żeby powiększyć
Zdjęcie dzięki uprzejmości the Establish project*

Następnie możesz zbadać antibakteryjne właściwości przygotowanych membran.

1. Przygotuj płytkę agarową z kolonią bakteryjną: na szalkę Petriego z agarem odżywczym nanieś około 100 μ l bakterii (np. pałeczki okrężnicy na pożywce bulionowej) i eż rozprowadź je równo na płytce.
2. Umieść membranę impregnowaną srebrem (mniej więcej 1 cm^2) na płytce.
Albo, w celu porównania, umieść trzy kawałki membrany na płytce, w tym dwa kawałki zawierające cząstki srebra.
3. Przeprowadź inkubację płytki przez noc w temperaturze 37 °C, następnie zmierz strefę inhibicji wokół każdego kawałka membrany.

Uwaga dotyczące bezpieczeństwa: W czasie wszystkich badań z zakresu mikrobiologii należy używać wyłącznie wysterylizowanego sprzętu (wysterylizowanego w autoklawie lub szybkowarze albo poprzez zanurzenie w alkoholu etylowym i opalenie). Nożyczki do cięcia membrany również muszą być zdezynfekowane. Aby zapobiec zanieczyszczeniu krzyżowemu, przemyj eż środkiem przeciwbakteryjnym.

Materiał uzupełniający do:

Establish project (2011) Polimery w medycynie. *Science in School* 21.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/polish

Dzięki swoim antybakteryjnym właściwościom, membrany PCW mogą być używane w leczeniu ran i poparzeń oraz w przypadku zakażeń odpornym na metycylinę gronkowcem złocistym (MRSA) i pałeczką okrężnicy.

1. Dlaczego membrany PCW o właściwościach antybakteryjnych są szczególnie przydatne przy zakażeniach MRSA?
2. Jakie inne zastosowania membran PCW możesz wymienić?

Materiał uzupełniający do:

Establish project (2011) Polimery w medycynie. *Science in School* **21**.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/polish