

## Foglio di lavoro per studenti 3: sintetizzare e studiare il PVC antibatterico

Il polimero polivinilcloruro (PVC) è una plastica economica e durevole utilizzata per tubature, insegne e abbigliamento. Spesso gli vengono aggiunti plastificanti per renderlo più flessibile e facile da manipolare. In questa attività, produrrete una membrana di PVC con e senza plastificante, quindi confronterete le loro proprietà chimiche e fisiche.

Le membrane antimicrobiche sono utilizzate in molte tecnologie mediche, e sono prodotte incorporando nei polimeri nanoparticelle o microparticelle d'argento o altri metalli. In presenza di ossigeno (dell'aria) e acqua, le particelle elementari dell'argento reagiscono formando ioni d'argento ( $\text{Ag}^+$ ), i quali possono rompere le pareti cellulari, inibire la riproduzione cellulare e disturbare il metabolismo in alcuni batteri, virus, alghe e funghi<sup>3</sup>, w4.

### Materiali

Solvente : ossolano (tetraidrofurano,  $(\text{CH}_2)_4\text{O}$ )  
Polvere di PVC  
Sebacato di dibutile o altri plastificanti  
Nitrato d'argento ( $\text{AgNO}_3$ )  
Citrato trisodico ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ )  
Agar nutriente  
Coltura batterica (ad esempio E. coli in un terreno nutritivo)  
Una piastra riscaldante  
Un agitatore magnetico  
Beakers da 75 ml  
Una superficie di vetro (ad esempio un beaker, un vetro d'orologio o un vetrino)  
Un cilindro graduato  
Una pipetta Pasteur  
Una spatola  
Piastrine di Petri  
Anelli di inoculazione

### Procedimento

**Note di sicurezza:** tutti i passaggi devono essere effettuati sotto cappa. Il tetraidrofurano è un liquido ed un vapore

altamente infiammabile che può provocare serie irritazioni oculari. Maneggiare con cura sempre sotto cappa e utilizzando i guanti

### 1) Produzione di PVC senza plastificante

1. Usando la piastra riscaldante e un agitatore magnetico, scaldare 20 ml di solvente
2. Aggiungere lentamente 1.5 g di PVC in polvere, mescolando.
3. Dopo circa 10 minuti, la soluzione dovrebbe risultare più viscosa. Togliere il beaker dalla piastra riscaldante.
4. Rimuovere l'agitatore magnetico e versare alcuni millilitri della soluzione di PVC finemente e il più uniformemente possibile sul substrato di vetro (all'interno o all'esterno del beaker o sul vetrino o sul vetro d'orologio). Per garantire uno strato sottile, ruotare con attenzione il substrato di vetro mentre la soluzione è ancora calda.
5. Lasciare il substrato e il PVC sotto cappa per consentire l'evaporazione del solvente; ciò richiede circa 15 minuti. La membrana in PVC può quindi essere facilmente rimossa dal substrato di vetro.

### 2) Produzione di PVC con un plastificante

Ripetere i passaggi sopra riportati per ottenere altre quattro membrane di PVC, ognuna con un differente quantitativo di plastificante aggiunto al solvente caldo (vedere la Tabella 4)

1. Confrontate i vostri cinque campioni di membrana di PVC. Quali effetti ha il plastificante sulla plastica?
2. Cosa pensate che accada alla plastica quando viene aggiunto più plastificante?
3. Facendo riferimento alle immagini al microscopio elettronico a scansione (SEM) sotto riportate, la vostra risposta alla Domanda 2 era corretta?

4. Queste membrane possono essere usate nell'attività precedente ('Membrane con fori invisibili') per studiare la grandezza relativa dei 'fori'.

### 3) Produzione di PVC antibatterico

La preparazione del PVC contenente particelle di argento richiede una membrana con fori più larghi, motivo per il quale si utilizza un plastificante. L'argento viene aggiunto sotto forma di nitrato d'argento, il quale viene poi ridotto utilizzando il citrato di sodio.

1. Utilizzando la piastra riscaldante e l'agitatore magnetico, riscaldare 20 ml di solvente.
2. Aggiungere 2.5 ml di plastificante, successivamente aggiungere lentamente 1.5 g di polvere di PVC.
3. Aggiungere 2.5 ml 10 mM di nitrato d'argento e mescolare per 1-2 min.
4. Ripartire la soluzione in due beaker da 75 ml. Ruotare velocemente entrambi i beaker cosicché l'interno venga ricoperto di soluzione, formando una membrana con la forma del beaker. Assicurarsi che non ci siano spazi vuoti, in modo tale che la membrana possa trattenere l'acqua.
5. Lasciare i beakers sotto cappa per permettere al solvente di evaporare, quindi rimuovere con cautela le membrane. (Questa operazione è abbastanza difficile; facendone due, si aumentano possibilità di successo.)
6. Preparare una soluzione di 5 mM di citrato di sodio e versarla con attenzione in una delle membrane a forma di beaker. La soluzione dovrebbe passare attraverso la membrana (tenetela sopra un beaker), reagendo con il nitrato di argento, dando nano- o micro particelle di argento.
7. Osservare la variazione di colore della membrana.
8. Lasciare asciugare la membrana sotto cappa. La tipica immagine SEM (a destra) mostra la presenza d'argento elementare disperso in una membrana di PVC.

micro e nanoparticelle d'argento in una membrana di PVC.

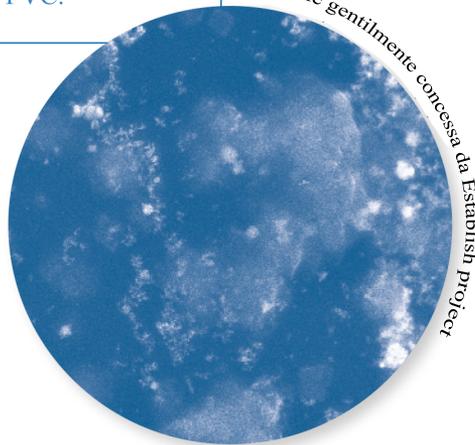


Immagine gentilmente concessa da Establish project

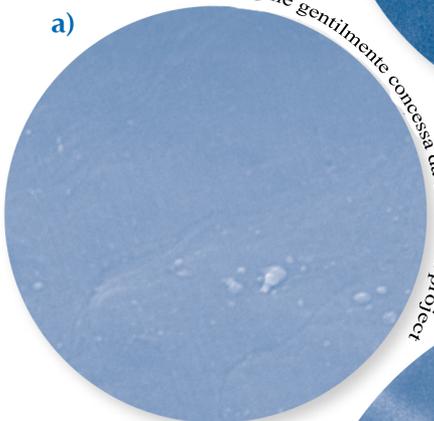


Immagine gentilmente concessa da Establish project

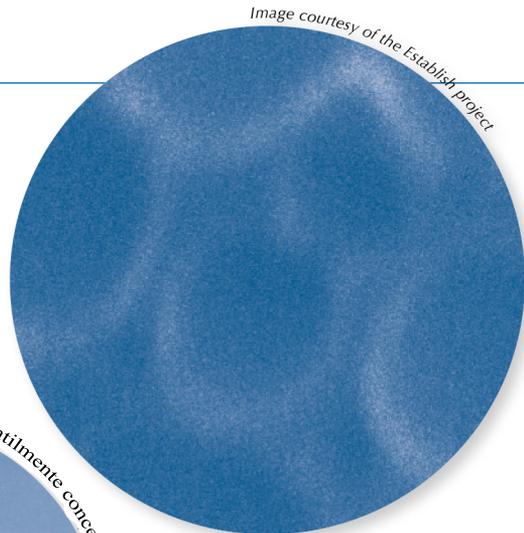


Image courtesy of the Establish project

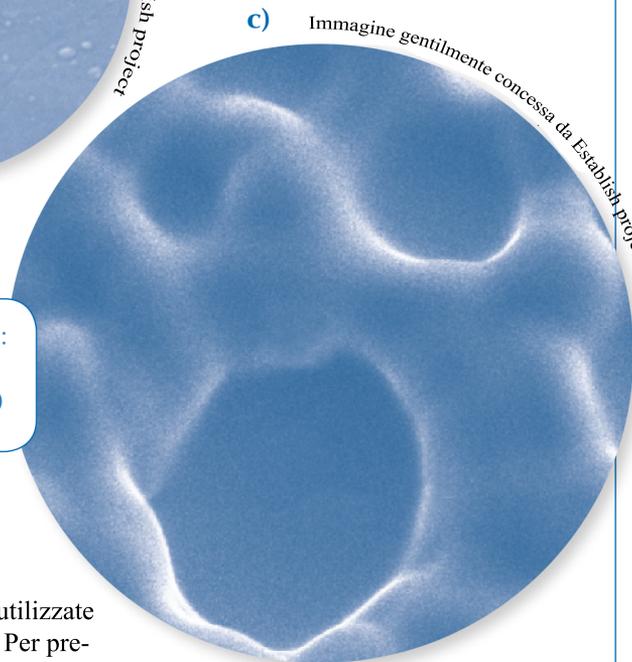


Immagine gentilmente concessa da Establish project

Successivamente, è possibile esaminare le proprietà antibatteriche delle membrane preparate.

1. Preparare una piastra di agar con una colonia batterica: in una piastra di Petri contenente agar nutrizionale, depositare circa 100 µl della coltura batterica (es. E.Coli in un brodo nutriente) e usare un'ansa di inoculazione per spargerli uniformemente sulla piastra.
2. Posizionare approssimativamente 1 cm<sup>2</sup> della membrana di PVC impregnata di argento sulla piastra.
3. Incubare la piastra per una notte a 37 °C, poi misurare la zona di inibizione attorno ad ogni pezzo di membrana.

**Nota di sicurezza:** come per tutti gli studi microbici, bisognerebbe sempre utilizzare attrezzatura sterilizzata (anche sterilizzata in un'autoclave o in una pentola a pressione, o immersa in etanolo e poi passata su fiamma). anse di inoculazione prima di utilizzarle.

immagini al SEM di PVC: a) non plastificato, b) con 0.5 ml di plastificante e c)

Questo include le forbici utilizzate per tagliare la membrana. Per prevenire una contaminazione incrociata, effettuare un lavaggio antibatterico delle anse di inoculazione prima di utilizzarle.

Le proprietà antibatteriche di queste membrane le rendono utili per trattare ferite e bruciateure, e anche infezioni batteriche come, ad esempio, quelle da *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) e da *E.coli*.

Campione n°.	PVC (g)	Solvente (ml)	Dibutyl sebacate
1	1.5	20	0.5
2	1.5	20	1
3	1.5	20	2
4	1.5	20	3

**Tabella 4:** Produzione di membrane di PVC con differenti quantità di plastificante

1. Perché le membrane antibatteriche di PVC sono particolarmente utili per il trattamento delle infezioni MRSA?
2. Quali altre applicazioni delle membrane antibatteriche in PVC potreste trovare?