

Ficha de trabalho 3: sintetizando e investigando PVC antibacteriano

Traduzido por Maria João Fonseca

O polímero policloreto de vinilo (PVC) é um plástico durável e económico utilizado em tubagens, sinais rodoviários e roupa. Frequentemente são adicionados plastificantes para o tornar mais flexível e fácil de manipular. Nesta actividade, irás fazer uma membrana de PVC com e sem plastificante, e comparar as suas propriedades físicas e químicas.

As membranas antimicrobianas são utilizadas em muitas tecnologias médicas, e são produzidas através da incorporação de micropartículas de prata e de outros metais nos polímeros. Na presença de oxigénio (no ar) e água, as partículas de prata elementar reagem, formando iões prata (Ag^{2+}), que podem degradar paredes celulares, inibir a reprodução celular e perturbar o metabolismo de algumas bactérias, vírus, algas e fungos^{w3, w4}.

Materials

Solvente: oxolane (tetrahydrofurano, $(\text{CH}_2)_4\text{O}$)

Pó de PVC

Sebacato de dibutilo ou outro plastificante

Nitrato de prata (AgNO_3)

Citrato trissódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)

Agar nutritivo

Cultura bacteriana (por exemplo, *E. coli* num caldo nutritivo)

Uma placa de aquecimento

Um agitador magnético

Gobelés de 75 ml

Um suporte de vidro (por exemplo, um gobelé, vidro de relógio ou lâmina de vidro)

Um cilindro graduado

Uma pipeta de Pasteur

Uma espátula

Placas de Petri

Ansas de inoculação

Procedimento

Nota de segurança: Todos os procedimentos devem ser realizados numa hotte. O tetrahydrofurano é um líquido altamente inflamável e o seu vapor pode causar severas irritações oculares. Deve ser manipulado cuidadosamente numa hotte e devem ser usadas luvas quando este for utilizado.

Material de apoio para:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* 21.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/portuguese

1) Fazer PVC sem um plastificante

1. Usando a placa de aquecimento e um agitador magnético, aquecer 20 ml de solvente.
2. Adicionar 1.5g de pó de PVC lentamente, e agitando.
3. Após cerca de 10 min, a solução deve tornar-se mais viscosa. Retirar o gobelé da fonte de aquecimento.
4. Remover o agitador magnético e verter alguns mililitros da solução de PVC, sobre o suporte de vidro (dentro ou fora do gobelé, ou por cima da lâmina de vidro ou do vidro de relógio), formando uma camada tão fina e homogénea quanto possível. Para assegurar a fina camada, rodar o suporte de vidro cuidadosamente enquanto a solução ainda estiver quente.
5. Deixar o suporte e o PVC na hotte até à evaporação do solvente; isto demora cerca de 15 min. A membrana de PVC pode então ser facilmente destacada do suporte de vidro.

2) Fazer PVC com um plastificante

Repetir os procedimentos descritos em cima para fazer mais quatro membranas de PVC, cada uma das quais com uma quantidade diferente de plastificante adicionado ao solvente aquecido (ver Tabela 4).

Amostra nº.	PVC (g)	Solvente (ml)	Sebacato de dibutilo (ml)
1	1.5	20	0.5
2	1.5	20	1
3	1.5	20	2
4	1.5	20	3

Tabela 4: Fazer membranas de PVC com diferentes quantidades de plastificante

1. Compara as tuas cinco amostras de membranas de PVC. Que efeito confere o plastificante ao plástico?
2. O que é que pensas que acontece ao plástico quando se adiciona mais plastificante?
3. Tendo em consideração a imagem de microscopia electrónica de varrimento (SEM) apresentada em baixo, a tua resposta à Questão 2 estava correcta?
4. Estas membranas podem ser utilizadas na actividade anterior ('Membranas com poros invisíveis') para investigar o tamanho relativo dos 'poros'.

PVC_m001_nr(unplasticised PVC), P05_m001_nr (PVC with 0.5ml plasticiser), P20_m007_nr_a(PVC with 2ml plasticiser): Imagens de PVC obtidas por SEM: a) sem plastificante, b) com 0.5 ml de plastificante e c) com 2 ml de plastificante.

Carregar na imagem para ampliar

Imagem cortesia de the Establish project

Material de apoio para:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* 21.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/portuguese

3) Fazer PVC antibacteriano

A preparação de PVC contendo partículas de prata implica que as membranas tenham poros maiores, utilizando-se por isso um plastificante. A prata é adicionada sob a forma de nitrato de prata, que é então reduzido, utilizando citrato de sódio.

1. Usando a placa de aquecimento e um agitador magnético, aquecer 20 ml de solvente.
2. Adicionar 2.5 ml de plastificante, e de seguida adicionar lentamente 1-5 g de pó de PVC.
3. Adicionar 2.5 ml de nitrato de prata 10 mM e agitar durante 1-2 min.
4. Dividir a solução por 2 gobelés de 75 ml. Rodar rapidamente cada um dos gobelés de forma a que o interior fique revestido com solução, formando uma membrana com o formato do gobelé. Assegurar que não existem falhas, uma vez que a membrana deve ser capaz de conter água.
5. Deixar os gobelés na hotte até à evaporação do solvente, e de seguida remover cuidadosamente as membranas. (Isto é consideravelmente difícil; preparando dois, aumentas a tua probabilidade de ter sucesso.)
6. Prepara uma solução 5 mM de citrato de sódio e verte cuidadosamente numa das membranas em formato de gobelé. A solução deve passar através da membrana (segura-a por cima de um gobelé), ao reagir com o nitrato de prata, dando origem a nano- ou micropartículas de prata.
7. Repara na alteração de cor da membrana.
8. Deixar a membrana secar na hotte. Imagens características de SEM (direita) mostram a presença de prata elementar dispersa numa membrana de PVC.

*Fe10122_m05((PVC membrane with silver particles): Micro- e nanopartículas de prata numa membrana de PVC. Carregar na imagem para ampliar
Imagem cortesia de the Establish project*

De seguida, podes investigar as propriedades antibacterianas das membranas preparadas.

1. Preparar uma placa de meio com uma cultura bacteriana: numa placa de Petri contendo agar nutritivo, inocula cerca de 100 µl da tua cultura bacteriana (por exemplo, *E. coli* em caldo nutritivo) e utiliza uma ansa de inoculação para os espalhar pela placa de forma homogénea.
2. Coloca na placa aproximadamente 1 cm² da tua membrana de PVC impregnada de prata.

Alternativamente, para permitir uma comparação, coloca na placa três pedaços de membrana de PVC, um dos quais não tratado com prata.

3. Incubar a placa a 37 °C durante a noite, e de seguida medir a zona de inibição em torno de cada pedaço de membrana.

Nota de segurança: Como em todos os estudos microbiológicos, devem ser sempre utilizados materiais esterilizados (quer numa autoclave, quer numa panela de pressão, ou mergulhados em etanol e depois flamejados). Isto inclui as tesouras que usas para

Material de apoio para:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* 21.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/portuguese

cortar a membrana. Para evitar contaminações cruzadas, lava as ansas de inoculação com detergente antibacteriano antes de as usar.

As propriedades antibacterianas destas membranas tornam-nas úteis para o tratamento de feridas e queimaduras, bem como infecções com bactérias tais como *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) e *E. coli*.

1. Porque é que as membranas de PVC antibacteriano são particularmente úteis no tratamento de infecções por MRSA?
2. De que outras aplicações para as membranas antibacterianas de PVC te consegues lembrar?

Material de apoio para:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* **21**.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/portuguese