

Studentský pracovní list 3: výroba a zkoumání antibakteriálního PVC

Preložila Zdena Tejkalová

Polymer polyvinylchlorid (PVC) je levný a odolný plast, využívaný na potrubí, cedule a oblečení. Pro zvýšení pružnosti a snadnější manipulaci jsou do něj často přidávána změkčovadla. V této úloze vytvoříte PVC membránu se změkčovadlem i bez něj a potom porovnáte jejich fyzikální a chemické vlastnosti.

Antimikrobiální membrány jsou využívány v mnoha medicínálních technologiích a jsou vyráběny zabudováváním nanočástic nebo mikročástic stříbra či dalších kovů do polymerů. V přítomnosti kyslíku (na vzduchu) a vody elementární stříbrné částice reagují za vzniku stříbrných iontů (Ag^+), které mohou rozbít buněčnou stěnu, inhibovat buněčnou reprodukci a narušit metabolismus některých bakterií, virů, řas a hub^{w3, w4}.

Výchozí suroviny

Rozpouštědlo: THF (tetrahydrofuran, $(\text{CH}_2)_4\text{O}$)

Práškový PVC

Dibutyl-sebakát nebo jiné změkčovadlo

Dusičnan stříbrný (AgNO_3)

Citronan trisodný ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)

Živný agar

Bakteriální kultura (např. E. coli v živné půdě)

Plotýnka Magnetické míchadlo

75 ml kádinky

Skleněná podložka (např. kádinka, hodinové sklo nebo podložní sklíčko)

Odměrný válec

Pasteurova pipeta

Špachtle

Petriho misky

Očkovací smyčky

Postup

Bezpečnostní poznámka: Vše by mělo probíhat v digestoři.

Tetrahydrofuran je vysoce hořlavá kapalina, která může způsobit vážné podráždění očí. Zacházejte s ní opatrně, pouze v digestoři a v rukavicích.

1) Výroba PVC bez změkčovače

1. Použijte plotýnku, magnetické míchadlo a zahřívajte 20 ml rozpouštědla.
2. Za stálého míchání pomalu přidávejte 1.5 g PVC prášku.

Doplňující materiál k:

Establish project (2011) Polymery v medicíně. *Science in School* 21.

www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/czech

- Po zhruba 10 minutách by roztok měl zvizkóznět. Sundejte kádinku z plotýnky.
- Vyndejte magnetické míchadlo a v co nejtenčí a rovnoměrné vrstvě nalijte několik mililitrů roztoku PVC na skleněnou podložku (vnitřek či vnějšek kádinky nebo podložní sklíčko či hodinové sklo. Abyste si zajistili skutečně slabou vrstvu, otáčejte skleněnou podložkou, dokud je roztok horký.
- Nechte podklad a PVC v digestoři než se rozpouštědlo odpaří, zabere to zhruba 15 minut. PVC membránu lze potom snadno vyjmout ze skleněného podkladu.

2) Výroba PVC se změkčovadlem

Vytvořte čtyři membrány opakováním postupu seshora, každou s rozdílným množstvím změkčovadla, přidaného do zahřívajícího rozpouštědla (viz Tabulka 4).

Vzorek číslo	PVC (g)	Rozpouštědlo (ml)	Dibutyl-sebakát (ml)
1	1.5	20	0.5
2	1.5	20	1
3	1.5	20	2
4	1.5	20	3

Tabulka 4: Tvorba PVC membrán s různým množstvím změkčovadla

- Porovnejte svých pět vzorků PVC membrán. Jaký efekt má změkčovadlo na plast?
- Co si myslíte, že se stane s plastem po přidání většího množství změkčovadla?
- Po zhlédnutí obrázků ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM), byly vaše odpovědi na otázku 2 správné?
- Tyto membrány mohou být využity v předchozí aktivitě („Membrány s neviditelnými dírami“) pro zjištění relativnosti velikosti „děr“.

PVC_m001_nr(neměkčený PVC), P05_m001_nr (PVC s 0.5Ml změkčovadla), P20_m007_nr_a(PVC s 2 ml změkčovadla): SEM snímky PVC: a) neměkčený, b) s 0.5 ml změkčovadla a c) s 2 ml změkčovadla
Obrázok so súhlasom projektu Establish

3) Výroba antibakteriálního PVC

Výroba antibakteriálního PVC, obsahujícího stříbrné částice, vyžaduje membránu s velkými mezerami, což je důvod proč použijeme změkčovadlo. Stříbro je přidáno ve formě dusičnanu stříbrného, který je pak redukován citronanem sodným.

- Použijte plotýnku, magnetické míchadlo a zahřívajte 20 ml rozpouštědla.
- Přidejte 2.5 ml změkčovadla, potom přidávejte 1.5 g PVC prášku.
- Přidejte 2.5 ml 10 mM dusičnanu stříbrného a míchejte 1-2 min.
- Roztok rozdělte do dvou 75 ml kádinek. Rychlými krouživými pohyby pokryjte vnitřek, čímž získáte membránu ve tvaru kádinky. Ujistěte se, že v membráně nemáte žádné trhlinky, musí udržet vodu.

Doplňující materiál k:

Establish project (2011) Polymery v medicíně. *Science in School* 21.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/czech

5. Nechte kádinku v digestoři, aby se rozpouštědlo odpařilo, potom opatrně vyjměte membrány. (To je docela obtížné; pokud to uděláte ve dvou, vaše šance na úspěch se zvýší).
6. Připravte 5mM roztok citronanu sodného a opatrně ho nalijte do jedné membrány ve tvaru kádinky. Měl by projít přes membránu (držte ji nad kádinkou), reagovat s dusičnanem stříbrným za vzniku stříbrných nano- nebo mikročástic.
7. Zaznamenejte barevnou změnu na membráně.
8. Nechte membránu vyschnout v digestoři. Typický SEM obrázek (vpravo) ukazuje přítomnost elementárního stříbra dispergovaného na PVC membráně.

Fe10122_m05(Membrána z PVC se stříbrnými částicemi): Stříbrné mikro- a nanočástice v membráně z PVC

Obrázok so súhlasom projektu Establish

Nyní můžete zkoumat antibakteriální vlastnosti vyrobených membrán.

1. Připravte si agarovou misku s bakteriální kulturou: na Petriho misku se živným agarem umístěte 100 μ l bakteriální kultury (např. *E. coli* v živné půdě) a použijte očkovací smyčku k rozetření po celé misce.
2. Na podložku dejte přibližně 1 cm^2 stříbrem impregnované PVC membrány.
Souběžně, kvůli srovnání, umístěte na podložku další tři kousky PVC membrány, z nichž jedna je neošetřená stříbrem.
3. Nechte podložku inkubovat přes noc při 37 °C, potom změřte inhibiční zónu kolem každého kousku membrány.

Bezpečnostní poznámka: Jako u všech mikrobiálních studií, celou dobu by mělo být používáno sterilizované náčiní (buď sterilizováno v autoklávu nebo tlakovém hrnci, nebo namočené v etanolu a pak vyžíhané). To zahrnuje i nůžky, kterými stříháte membránu. Abyste zabránili křížové kontaminaci, omyjte očkovací smyčku před použitím antibakteriálním prostředkem.

Antibakteriální vlastnosti těchto membrán je činí užitečnými při ošetřování ran a popálenin, včetně infekcí bakteriemi jako například methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) či *E. coli*.

1. Proč jsou antibakteriální PVC membrány užitečné v léčbě infekcí MRSA?
2. Které další možné antibakteriální PVC membrány lze nalézt?

Doplňující materiál k:

Establish project (2011) Polymery v medicíně. *Science in School* **21**.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers/czech