

Öğrenci çalışma kağıdı 3: antibakteriyel PVC sentezlenmesi ve incelenmesi

Tercüme eden: Tuğçe Kaymaz, Hikmet Geçkil (İnönü Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü)

Polimer polivinil klorür (PVC) borularda, tabelalarda ve kaplamada kullanılan ucuz ve dayanıklı bir plastiktir. Çoğu kez onu daha esnek ve işlenmesi daha kolay yapmak için plastikleştirici maddeler eklenir. Bu etkinlikte hem plastikleştirici ile hem de plastikleştirici olmadan bir PVC membranı yapacaksınız daha sonra onların fiziksel ve kimyasal özelliklerini karşılaştıracağız.

Antimikrobiyal membranlar birçok tıbbi teknolojiye kullanılır ve nanopartiküller ya da gümüş mikropartikülleri veya diğer metallerin polimerlere katılmasıyla üretilirler. Oksijen (havadaki) ve su varlığında elementel gümüş parçacıkları hücre duvarlarını yıkabilen, hücre bölünmesini engelleyebilen ve bazı bakterilerde, virüslerde, alglerde ve mantarlarda ^{w3, w4} metabolizmayı bozabilen gümüş iyonlarını (Ag^{2+}) oluşturmak üzere tepkimeye girerler.

Malzemeler

Çözücü: oksolan(tetrahidrofur, $(CH_2)_4O$)

PVC tozu

Dibütil sebasat ya da bir diğer plastikleştirici

Gümüş nitrat ($AgNO_3$)

Trisodyum sitrat ($Na_3C_6H_5O_7$)

Agar besini

Bakteri kültürü (örneğin besin et suyu içindeki *E.coli*)

Istııcı

Manyetik karıştırıcı

75 ml'lik beherler

Cam altlığı(örneğin beher, saat camı ya da lam)

Dereceli silindir

Pastör pipeti

Spatula

Petri kapları

İnokülasyon özeleri

Supporting material for:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* **21**: 28-35.

www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers

Yöntem

Güvenlik notu:Tüm basamaklar çeker ocağı altında uygulanmalıdır.Tetrahidrofuran oldukça yanıcı ve buharı ciddi göz tahrişine neden olabilen bir sıvıdır ve sadece çeker ocak altında dikkatlice dokununuz ve onu kullanırken gözlük takınız.

1) Plastikleştirici olmadan PVC yapımı

1. Isıtıcı ve manyetik karıştırıcı kullanarak 20 ml çözücü ısıtınız.
2. Karıştırırken yavaşça 1.5g PVC tozu ekleyiniz.
3. Yaklaşık 10 dk sonra çözelti daha koyu olmalıdır.Beheri ısıdan uzaklaştırınız.
4. Manyetik karıştırıcıyı çıkarınız ve birkaç ml PVC çözeltisinden mümkün olduğunca eşit şekilde cam altlığın üzerine ince şekilde dökünüz (beherin içine ya da dışına veya lam ya da saat camı üzerine) ince bir tabaka olduğundan emin olmak için çözelti hala sıcakken cam altlığı dikkatlice döndürünüz.
5. Altlığı ve PVC'yi çözücünün buharlaşmasına izin vermek için çeker ocağın altında bırakınız;bu yaklaşık 15 dk almaktadır..PVC membran daha sonra cam altlıktan kolayca uzaklaştırılabilir.

2) Plastikleştirici ile PVC yapımı

Isıtılan çözücüye eklenen her biri farklı miktarda plastikleştiriciye sahip olan dört PVC membranı daha yapmak için yukarıdaki adımları tekrar ediniz.(Tablo 4'e bakınız)

Örnek no.	PVC (g)	Çözücü (ml)	Dibütil sebasat (ml)
1	1.5	20	0.5
2	1.5	20	1
3	1.5	20	2
4	1.5	20	3

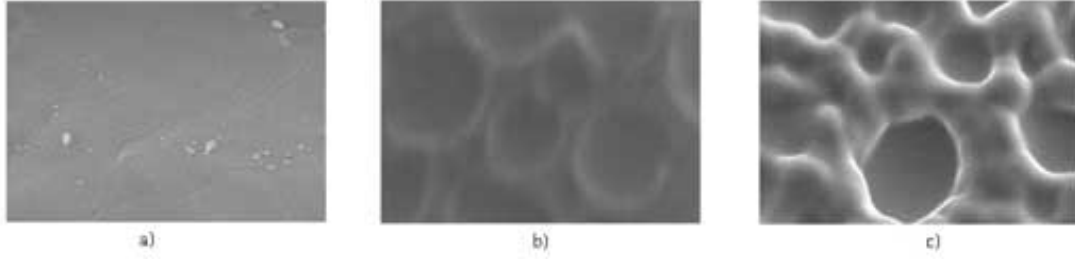
Tablo 4:Farklı miktarlarda plastikleştiricisi olan PVC membranları oluşturma

1. PVC membranınızın beş örneğini karşılaştırınız. Plastikleştiricinin plastik üzerinde ne gibi bir etkisi vardır?
2. Daha fazla plastikleştirici eklendiğinde plastiğe ne olacağını düşünürsünüz?
3. Aşağıdaki taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntülerine göre Soru 2'ye olan cevabınız doğru mudur?
4. Bu membranlar bir önceki etkinlikte deliklerin bağlı boyutlarını incelemek üzere kullanılabilirler ('Görünmez delikleri olan membranlar').

Supporting material for:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* **21**: 28-35.

www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers



PVC'nin SEM görüntüleri: a) plastikleştirilmeyen, b) 0.5 ml plastikleştiricisi olan ve c) 2 ml plastikleştiricisi olan Establish projesi izniyle

3) Antibakteriyel PVC yapımı

Gümüş parçacıklar içeren PVC'nin hazırlanması membranın büyük delikleri olmasını gerektirir. Bu yüzden plastikleştirici kullanılır. Gümüşün kendisi daha sonra sodyum sitrat kullanılarak indirgenmiş gümüş nitrat şeklinde eklenir.

1. Isıtıcı ve manyetik karıştırıcıyı kullanarak 20 ml çözücüyü ısıtınız.
2. 2.5 ml plastikleştirici ekleyiniz, daha sonra yavaşça 1.5 g PVC tozu ekleyiniz.
3. 2.5 ml 10 mM gümüş nitrat ekleyiniz ve 1-2 dk karıştırınız.
4. İki 75 ml'lik beherler arasında çözeltiyi paylaşınız. İçi çözelti ile kaplanan her beheri çabucak döndürünüz böylece beherin şeklini alan bir membran oluşturmuş olursunuz. Membranın suyu tutabiliyor olması gerektiğinden boşluklar olmadığından emin olunuz.
5. Çözücünün buharlaşmasına izin vermek için beherleri çeker ocakta bırakınız, daha sonra dikkatli bir şekilde membranları kaldırmamız (Bu oldukça zordur, iki tane yaparak başarı şansınızı arttırınız.)
6. 6. 5 mM sodyum sitrat çözeltisi hazırlayınız ve bunu beher şeklindeki membranlardan birine dikkatlice dökünüz. Çözelti gümüş nitratla tepkimeye girerek gümüş nano ya da mikropartikülleri oluşturarak beherin üzerinde tutulan membrandan geçmelidir.
7. Membrandaki renk değişimini kaydediniz.
8. Membranın çeker ocakta kurumasına izin veriniz. Karakteristik SEM görüntüleri (sağda) PVC membrana yayılan elementel gümüşün varlığını gösterir.

Fe10122_m05((gümüş parçacıklı PVC membran): PVC membrandaki gümüş mikro-ve nanopartiküller Establish projesi izniyle

Hazırlanan membranların antibakteriyel özelliklerini daha sonra inceleyebilirsiniz.

1. Bakteri kolonisi bulunan bir agar kabı hazırlayınız: agar besini bulduran bir Petri kabına yaklaşık 100 µl bakteri kültüründen (örneğin besin et suyundaki *E.coli*) koyunuz ve onu kaba eşit şekilde yaymak için bir inokülasyon özesi kullanınız.
2. Yaklaşık olarak 1 cm² gümüş emdirilmiş PVC membranını kaba yerleştiriniz.

Supporting material for:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* **21**: 28-35.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers

Alternatif olarak bir kıyaslama sağlamak için üç parça PVC membranını gümüş uygulanmamış bir kaba yerleştiriniz.

3. Kabı 37°C'de bir gece inkübe ediniz, daha sonra membranın her parçası etrafındaki inhibisyon bölgelerini ölçünüz.

Güvenlik notu: Tüm mikrobiyal çalışmalarda olduğu gibi her zaman steril araçlar kullanılmalıdır (ister bir otoklav veya düdüklü tencerede steril edilir ya da etanole batırılıp daha sonra ateşlenir). Membranı kesmek için kullandığınız makas da steril olmalıdır. Çapraz kontaminasyonu önlemek için inokülasyon özesini kullanmadan önce antibakteriyel losyon ile yıkayın.

Bu membranların antibakteriyel özelliği, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*(MRSA) ve *E. coli* gibi bakteri enfeksiyonlarının yanı sıra yaraların ve yanıkların tedavi edilmesini sağlamalıdır.

1. Antibakteriyel PVC membranları niçin özellikle MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde yararlıdır?
2. Antibakteriyel PVC membranların başka hangi uygulamalarını bulabilirsiniz?

Supporting material for:

Establish project (2011) Polymers in medicine. *Science in School* **21**: 28-35.
www.scienceinschool.org/2011/issue21/polymers