

بررسی بازدارندگی تخریب زیستی نوعی پیوند دهنده پلی یورتان با بکارگیری برخی عوامل شیمیایی

Study on Inhibition of Biological Deterioration of a Type of Polyurethane Binder by Using Some Chemical Agents

روح‌ا کسری کرمانشاهی^۱، زهره صهبائی^۲، مجید میرمحمد صادقی^۱

۱- دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، صندوق پستی (۸۱۷۴۶۷۳۴۴) ۲- گروه تحقیقات و بهبود بهره‌وری شرکت آب و فاضلاب استان اصفهان،

صندوق پستی ۹۰

دریافت: ۸۰/۵/۱۴ پذیرش: ۸۱/۴/۱۰

چکیده

در این پژوهش، هدف جلوگیری از تخریب زیستی (باکتریایی)، یک نوع پیوند دهنده پلی یورتان پلی اتری (مورد استفاده در صنایع نظامی) به وسیله ۸ گونه باکتریایی به نامهای: سودوموناس آئروزیپوزا، سودوموناس پونیدا، نوکاردیا بروی کانتا، کورینه باکتریوم فلایوسنس، کورینه باکتریوم پرمناپولوم، بروی باکتریوم دیواریکانوم، میکروکوکوس رزوتوس و میکروکوکوس لئوس، با بکارگیری چند روش است.

روش اول شامل پوشاندن سطح پلیمر به وسیله عوامل شیمیایی ضد میکروبی یا به عبارتی دیگر بازدارنده‌های غیر رفاشی برای به تأخیر انداختن چسبندگی باکتریایی یا جلوگیری کامل از چسبندگی به سطح پلیمر با استفاده از محلولهای آهن (III) کلرید، سدیم هیپوکلریت و سدیم بی کربنات و روش دوم ایجاد خاصیت ضد میکروبی در پلیمر، به وسیله ترکیب کردن مواد اصلی تشکیل دهنده پلیمر با عامل ضد میکروبی (با غلظت کشنده باکتری عامل) در طی فرایند تولید پلیمر است. در این روش از محلول آهن (II) سولفات استفاده شده است. بررسی تخریب باکتریایی پلی یورتان موردنظر به کمک باکتریهای مورد آزمایش و عدم تخریب آن در مجاورت عوامل پایدار کننده در برابر حمله میکروبی با روش طیف سنجی ATR-FTIR انجام گرفت. در این پژوهش به منظور ارزیابی بهتر نتایج، پلی یورتان به عنوان تنها منبع کربن و انرژی تحت تأثیر تعلیق باکتریایی قرار گرفت، زیرا در غیر این صورت تولید آزمونهای تخریب کننده در سطح بالایی تحریک می شود و سرعت تخریب افزایش می یابد.

واژه های کلیدی: تخریب زیستی، پلی یورتان، بازدارندگی، عوامل شیمیایی، باکتری

Key Words: biological deterioration, polyurethane, inhibition, chemical agents, bacterium

مقدمه

تخریب پلی یورتانها به عنوان گروه مهمی از پلیمرها که امروزه تولید و مصرف آنها سرعت در حال افزایش است، توجه پژوهشگران پلیمر را به خود جلب کرده است. معمولترین نوع تخریب پلی یورتانها به وسیله

* مسئول مکاتبات، پیام نگار: rkasra@yahoo.com

واکنشهای آبکافت (هیدرولیز)، گرمکافت (ترمولیز)، اکسایش، نورکافت (فوتولیز) و میکروبی انجام می گیرد [۱]. با توجه به کاربردهای بسیار وسیع و متنوع پلی یورتانها در صنایع مختلف، دامنه نتایج نامطلوب حاصل از تخریب میکروبی این نوع پلیمر نیز بسیار

مجله علمی پژوهشی علوم و فنون پلیمر
سال پانزدهم، شماره سوم، مرداد - شهریور ۱۳۸۱

گسترده است و از استهلاک تجهیزات نظامی تا عفونتهای حاصل از استفاده سوندهای پلی یورتانی در پزشکی را که به نام عفونتها یا آلودگیهای سطحی پلاستیکی معروف است، در بر می گیرد. بنابراین، پایدار سازی این نوع پلیمر در برابر تخریب میکروبی از اهمیت زیادی برخوردار است.

برای پایدار سازی هر نوع پلیمر در برابر عوامل تخریب کننده و از آن جمله عوامل میکروبی، شناخت مکانیسم عوامل میکروبی آن پلیمر، ارتباط تخریب میکروبی آن با سایر عوامل تخریب کننده زیستی و غیر زیستی، عوامل مؤثر در تعیین سرعت تخریب، روشهای بررسی تخریب و خصوصاً ارتباط ساختار پلیمر با تخریب میکروبی ضروری است.

از آنجا که رشد و بقای میکروارگانیسم در محیط تا حد زیادی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می گیرد، در تخریب زیستی پلیمر به وسیله میکروارگانیسم نیز این عوامل نقش مهمی را ایفا می کنند. در بسیاری از حالات، تشخیص اینکه مکانیسم تخریب موادی که در معرض محیط خارج از آزمایشگاه اند، زیستی است یا محیطی مشکل است. مثلاً، پلی یورتانهای استری نسبت به حمله فارچی حساسیت زیادی دارند. با این حال، آب نیز به عنوان عامل مهم هیدرولیز کننده پیوندهای استری شناخته شده است. بنابراین، تشخیص این دو نوع عامل تخریب کننده از یکدیگر مشکل است [۲].

روشهای آزمایشگاهی بررسی قابلیت تخریب پلیمرها بر توانایی باکتریها و فارچها در استفاده از پلیمر به عنوان منبع کربن استوار است. درجه تخریب به وسیله مشاهده افزایش تعداد سلولهای رشد یافته روی پلیمر، تولید کربن دیوکسید، جذب اکسیژن، تشکیل محصولات تخریب و تغییرات در ساختار پلیمر اندازه گیری می شود [۳].

درباره پایدار سازی پلیمر در برابر تخریب میکروبی باید گفت که این کار به دو صورت قابل اجراء است [۲]:

تغییر و اصلاح ساختار شیمیایی پلیمر

در انجام این روش، توجه به دو نکته ضروری و حائز اهمیت است: (الف) ارتباط بین نوع گروههای شیمیایی و مقاومت آنها نسبت به حمله میکروبی و (ب) اختصاص داشتن ترکیب آنزیم با فعالیت آن. به عنوان نتیجه منطقی می توان گفت که مقاومت میکروبی یک پلیمر، در نتیجه ساختار شیمیایی آن بیش از مقاومت آن در نتیجه استفاده از عوامل ضد میکروبی است. هدف اصلی تغییر ساختار شیمیایی باید در جهت ساخت یک نوع پلیمر یا فرمولبندی یا تغییر فرمولبندی باشد که تضمین کننده یک یا هر دو عامل یاد شده است. با استفاده از این روش، افزایش مقاومت تا زمانی برقرار خواهد بود، که

میکروارگانیسم قادر به تحمل تغییرات ایجاد شده و ستر آنزیمهای جدید نباشد.

استفاده از بازدارنده

یک بازدارنده مناسب باید در غلظتهای کم علیه انواع زیادی از میکروارگانیسمها مؤثر بوده، ولی نباید برای انسان سمی باشد. در ضمن، باید دسترسی و استفاده از آن مقرون به صرفه باشد. فعالیت شیمیایی یک بازدارنده به قدرت تأثیر آن روی واکنشهای حیاتی سلول وابسته است. غیر از عوامل شیمیایی فعال در سطح، که روی نفوذپذیری غشای سلول مؤثرند، اکثر بازدارنده ها به عنوان بازدارنده های آنزیمی عمل می کنند، این بازدارنده ها به دو گروه تقسیم می شوند:

- بازدارنده های رقابتی (competitive inhibitor) که از نظر ساختار، مشابه سوبسترای آنزیم اند و بنابراین برای جایگاه فعال آنزیم با سوبسترای آنزیم رقابت می کنند.

- بازدارنده های غیر رقابتی (non competitive inhibitor) که لزوماً با سوبسترا برای جایگاه فعال رقابت ندارند، ولی از عمل کاتالیزوری آنزیم جلوگیری می کنند.

نکته حائز اهمیت این است که قبل از حمله آنزیمی میکروارگانیسم به پلیمر، چسبندگی و به دنبال آن تشکیل کلنی میکروبی بر سطح پلیمر اولین مرحله در مکانیسم تخریب میکروبی پلیمر است. بنابراین، اولین و در واقع اصلی ترین اقدام در جهت کنترل و پایدار سازی پلیمر در برابر تخریب میکروبی آن، جلوگیری از چسبندگی و تشکیل کلنی میکروبی بر سطح پلیمر است. به منظور جلوگیری از تشکیل کلنی بر سطح پلیمر، ابتدا باید چسبندگی باکتریایی را حذف کرد و برای حذف چسبندگی باکتریایی و به دنبال آن تشکیل فیلم زیستی بر سطح پلیمر می توان یکی از روشهای زیر را بکار برد [۴]:

- ایجاد خواص ذاتی ضد چسبندگی در پلیمر در طی فرایند تولید پلیمر
- پوشاندن سطح پلیمر به وسیله عوامل شیمیایی ضد میکروبی برای به تأخیر انداختن چسبندگی باکتریایی یا انهدام کامل میکروارگانیسم در هنگام تماس با پلیمر.

آندرسون و همکاران [۵] زیست پایداری و زیست تخریب پلی یورتان زیست پزشکی (biomedical) را بررسی کردند و نشان دادند که قطعات نرم پلی یورتان پلی اتر به وسیله رادیکالهای اکسیژن شکسته می شوند و اظهار داشتند که وجود اکسیژن در تشکیل زیست تخریب بسیار مؤثر است. همچنین، این پژوهشگران بیان داشتند که زیست تخریب پلی یورتان ممکن است به وسیله جایگزین کردن مواد شیمیایی مختلفی مانند پلی دی متیل سیلوکانها، پلی کربناتها و قطعات نرم هیدروکربن برای قطعات نرم پلی اتر متوقف گردد. نکته

از پلیمر تخریب یافته، ۸ گونه باکتریایی که از سایر گونه‌ها مؤثرتر بودند، انتخاب گردید و تخریب و پایداری پلیمر در ارتباط با این ۸ گونه بررسی شد. پلیمر تخریب یافته از شرکت پلیمر سازی مرکز تحقیقات مهندسی جهاد سازندگی کرج تهیه شد. این ۸ گونه باکتریایی در جدول ۱ ارائه شده است.

محیطهای کشت: محیط کشت مینیمم آگار (MA) دارای آمونیوم نترات (۲g/L)، دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات (۱/۵g/L)، منیزیم سولفات (۰/۵g/L) و آگار آگار (۱۵g/L، pH=۷) و محیطهای کشت ماده مغذی آگار (nutrient agre, NA) و برات (nutrient brath, NB) است.

محلولهای شیمیایی: محلول بافر فسفات، محلول سرم فیزیولوژی، محلولهای ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۲۴۰mmol/L آهن (III) کلرید (FeCl₃.6H₂O, MW=۲۷۰/۵)، محلولهای ۸، ۱۰ و ۱۵mmol/L آهن (II) سولفات (FeSO₄.7H₂O, MW=۲۷۸)، محلولهای ۸۰، ۹۶ و ۱۲۰g/L سدیم بی‌کربنات و محلولهای سدیم هیپوکلریت دارای ۵۸۷۱/۲۵، ۶۷۸۱/۳ و ۱۱۷۴۲/۵ ppm کلر فعال که همگی محصول شرکت مرک‌اند. فرمولبندی پلی‌یورتان مورد آزمایش: پلی‌یورتان مصرفی در این پژوهش در صنایع نظامی کاربرد دارد و از نوع سوخت جامد مرکب پلی‌یورتان- آمونیوم پرکلرات است که در آن پلی‌یورتان به‌عنوان پیونددهنده و بافت اصلی بلورهای اکسیدکننده آمونیوم پرکلرات را در برمی‌گیرد. سیستم پلی‌یورتانی از سه جزء، پلی‌اکسی پروپیلن گلیکول (PPG) به‌عنوان افزایش دهنده طول زنجیر (دی‌ال)، گلیسرول مونوریسیبولئات (GMRO) به‌عنوان عامل شبکه‌ای کننده (تری‌ال) و تولون دی‌ایزوسیانات (TDI) به‌عنوان عامل پخت تشکیل یافته است. کاتالیزور مورد استفاده، آهن (III) استیل استونات (FAA) است. مخلوط کردن مستقیم این سه جزء در کنار کاتالیزور FAA موجب تولید یک شبکه سه بعدی یورتانی می‌شود.

جدول ۱- باکتریهای مورد آزمایش.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	سودوموناس آئروژینوزا
<i>Pseudomonas putida</i>	سودوموناس پوتیدا
<i>Nocardia brevicatena</i>	نوکاردیابروی کاتنا
<i>Corynebacterium pourometabolum</i>	کورینه باکتریوم پرمتابولوم
<i>Corynebacterium flaviscense</i>	کورینه باکتریوم فلاوی‌سنس
<i>Brevibacterium divaricatum</i>	بروی باکتریوم دیواریکاتوم
<i>Micrococcus roseus</i>	میکروکوکوس رزئوس
<i>Micrococcus leutus</i>	میکروکوکوس لئوس

حائز اهمیت در نتایج پژوهش آنها این است که نهایتاً برای استفاده دراز مدت از پلی‌یورتان شناخت کامل مکانیسمهای زیست تخریب الاستومرهای پلی‌یورتان و به دنبال آن جلوگیری از وقوع این مکانیسمها ضروری است. هدف از انجام این پژوهش، جلوگیری از تخریب باکتریایی (bacterial deterioration) یک نوع پیوند دهنده پلی‌یورتان به وسیله هشت گونه باکتریایی بود، که قبلاً در مقاله دیگری [۶] به‌عنوان مؤثرترین باکتریهای تخریب کننده پلی‌یورتان معرفی شده‌اند.

برای بررسی و ارزیابی تخریب باکتریایی (زیستی) پلی‌یورتان و همچنین عدم تخریب آن در مجاورت عوامل پایدارکننده، روشهای مختلفی وجود دارد، اما آنچه در اکثر منابع علمی در این خصوص دیده می‌شود استفاده از روشهای طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوری با بازتابندگی کلی تضعیف شده (attenuated total reflectance-fourier transform infrared, ATR-FTIR) و میکروسکوپ الکترون پویشی (SEM) است. از آن جمله می‌توان به پژوهشهای ماتور و همکاران [۷] در خصوص زیست پایداری پلی‌یورتانهای تغییر یافته اشاره کرد که در آن برای تشخیص کیفیت زیست تخریب پلی‌یورتان از روش طیف سنجی ATR-FTIR و برای تشخیص کمیت تخریب از روش SEM استفاده شده است.

ویگیتز و همکاران [۸] نیز که زیست تخریب پلی‌اتر پلی‌یورتان (PEU) پوشش داخلی دستگاه تنظیم کننده مکعب را بررسی کردند از میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترون پویشی به منظور تعیین شکستهای سطحی پلیمر و از طیف‌سنجی ATR-FTIR جهت تجزیه پلی‌یورتان برای بررسی تخریب شیمیایی استفاده کردند. این پژوهشگران بیان داشتند که روش تجزیه ای ATR-FTIR نشان می‌دهد که تخریب شیمیایی PEU از طریق اکسایش قطعه نرم اتر انجام می‌گیرد. آنها این فرضیه را ارائه دادند که هیدروژن پروکسید از طریق پوشش خارجی به داخل پلیمر نفوذ می‌کند و سپس به رادیکالهای هیدروکسیل تجزیه می‌شود که این رادیکالها عامل اصلی تخریب ساختار شیمیایی پلی‌اتر پلی‌یورتان اند. در این پژوهش نیز، روش مورد استفاده برای ارزیابی میزان و کیفیت زیست تخریب پلی‌یورتان مورد آزمایش، روش طیف‌سنجی ATR-FTIR و در بعضی موارد میکروسکوپ الکترون پویشی است.

تجربیی

مواد

مواد مصرفی در این پژوهش شامل باکتریها، محیطهای کشت، محلولهای شیمیایی و پلی‌یورتان است که به ترتیب معرفی می‌شوند. باکتریهای مورد آزمایش: از بین میکروارگانیسمهای جدا شده

دستگاهها

برای بررسی ساختار محصولات تخریب از طیف سنخ ATR-FTIR مدل IFA-88 ساخت آلمان استفاده شده است. عكسهای SEM به وسیله میکروسکوپ الکترونی ساخت کمبریج مدل S 330 تهیه شد. ابعاد قطعات اولیه نمونه حدود $20 \times 20 \times 3$ cm بود که این قطعات به وسیله دستگاه برش به دو صورت $2 \times 10 \times 1$ cm و $2 \times 1 \times 30$ cm بریده شد.

روشها

بررسی اثر عوامل شیمیایی بر رشد باکتریهای مورد آزمایش: به منظور تعیین غلظت مؤثر عوامل شیمیایی ضد میکروبی مورد استفاده در این پژوهش، از روش رقت لوله‌ای (tube dilution) استفاده شد [9]. این روش یکی از دقیقترین روشهای تعیین حساسیت باکتریها نسبت به مواد ضد میکروبی بشمار می‌رود. به کمک این روش حداقل غلظت ماده بازدارنده که قابلیت مهار رشد باکتریها را دارد (minimum inhibitor concentration, MIC) و حداقل غلظت ماده ضد میکروبی که توانایی کشتن 99/9 درصد از یک ارگانیسم را دارد (minimum bacteriocide concentration, MBC) معین می‌گردد. در مورد سدیم هیپوکلریت لازم بود قبل از تعیین MIC و MBC، غلظت سدیم هیپوکلریت موجود در آب زاول آزمایشگاهی به روش یدومتری معین شود [10].

بررسی اثر تغییرات pH بر رشد باکتریهای مورد آزمایش: از آنجا که pH عامل بسیار مهمی در فعالیت عوامل شیمیایی ضد میکروبی است، رشد باکتری در pH های مختلف بررسی شد. برای این منظور، 10 لوله آزمایش تهیه شد. محدوده pH از 2/8 تا 10 بود. مواد لازم برای ایجاد pH از 2/8 تا 7/6 ماده مغذی برات، سیتریک اسید (0/1M) و پتاسیم ارنوفسفات (0/2 M) و مواد لازم برای ایجاد pH از 8/4 تا 10 ماده مغذی برات، سود (0/2 M) و بوریک اسید (0/2 M) بود. پس از تهیه مجموعه 10 تایی محلول pH، 0/1 ml از محیط کشت باکتریایی 24 ساعته (بر حسب سرعت رشد باکتریایی این زمان متفاوت است) به هر کدام از لوله‌ها تلقیح و با محتویات لوله بطور کامل مخلوط شد. پس از قراردادن لوله‌ها در گرمخانه $30-25^{\circ}\text{C}$ به مدت 24، 48 و 72 ساعت (بر حسب سرعت رشد باکتری) کدورت لوله‌ها نشان دهنده رشد باکتری در pH مربوط و نبود کدورت، نشان دهنده عدم رشد در آن pH بود. در ضمن، برای دستیابی به نتیجه دقیقتر، 0/1 ml از لوله‌های فاقد کدورت روی محیط کشت مغذی آگار دار پخش گردید که در صورت عدم تشکیل کلنی، عدم رشد باکتری در pH مزبور تأیید شد.

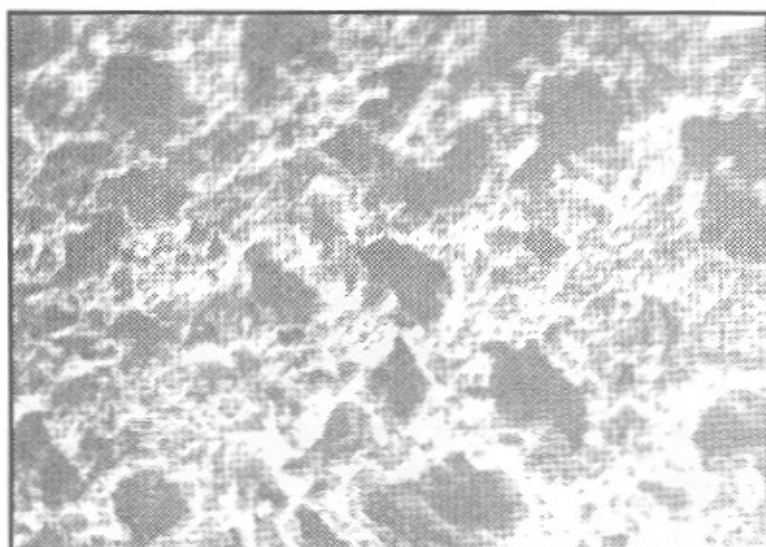
ستتر پلیمر: ابتدا کاتالیزور بخت (آهن (III) استیل استونات) به میزان مناسب در تولون دی ایزوسیانات (TDI) حل شده و محلول 2/5 درصد کاتالیزور در TDI حاصل می‌شود. TDI به مدت 1/5 ساعت در مجاورت کاتالیزور فرار می‌گیرد و در دمای 35°C به کمک همزن مخلوط می‌شود و سپس، محلول در مجاورت هوای محیط سرد شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد.

نمونه‌های سوخت الاستومریورتان در مخلوط‌کن یک کیلویی مجهز به سیستم خلاء تهیه می‌شود. ابتدا، مواد مایع بجز محلول کاتالیزور در TDI درون مخلوط‌کن ریخته شده و مخلوط می‌شود، سپس، مقادیر مناسب آمونیوم پرکلرات به مخلوط‌کن افزوده می‌شود و تحت شرایط خلاء همزدن ادامه می‌یابد، سپس، محلول کاتالیزور در TDI اضافه می‌شود و همزدن حدود 10 دقیقه دیگر ادامه پیدا می‌کند. آنگاه، خمیر بدست آمده داخل ورق آلومینیومی به ابعاد تقریبی 10×20 cm ریخته شده و در داخل گرمخانه به مدت 48 ساعت فرار می‌گیرد و پس از این مدت در مجاورت هوای محیط سرد می‌گردد. اشاره می‌شود که ستتر پلی‌یورتان مورد آزمایش در این پژوهش در مرکز تحقیقات مهندسی جهاد سازندگی انجام گرفت.

سترون سازی اولیه قطعات بریده شده پلیمر: در این پژوهش برای سترون سازی قطعات پلیمر، اژدو روش سترون سازی با بخار فرمالدهید [11] و سترون سازی به وسیله گرما [12] استفاده شد. قطعات پس از سترون سازی، به عنوان تنها منبع کربن در محیط کشت مینیم آگار مورد استفاده قرار گرفت.

تعداد قطعات پلیمر موجود در هر محیط: به ازای هر پلیت (ظرف مخصوص کشت باکتری) مینیم آگار که دارای 25 ml محیط کشت است، 2g پلیمر در آن قرار گرفت که این نسبت در واقع 8 درصد وزنی - حجمی است.

حجم و رقت تلقیح باکتریایی اضافه شده در هر محیط: رقت تلقیح باکتریایی موجود در هر پلیت، 10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر بود. برای تهیه چنین رقتی، طبق برسیهای انجام شده در این پژوهش مشخص گردید که کشت 18 ساعته باکتریهای سودوموناس آنروزیوزا، سودوموناس بوئیدا، کورینه باکتریوم برمتابولوم، کورینه باکتریوم فلاوی سنس و بروی باکتریوم دیواریکاتوم و کشت 48 ساعته نوکاردیا بروی کاتا و کشت 72 ساعته باکتریهای میکروکوکوس رزنوس و میکروکوکوس لنوس دارای غلظتی بود، که تلقیح 2 درصد آن در محیط مینیم آگار می‌توانست رقت 10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر را فراهم کند. طبق آزمایشهای



شکل ۱- عکس میکروسکوپی سطح نمونه پلیمر با باکتری سودوموناس آئروژینوزا با بزرگنمایی ۱۰۰، مدت قرار گرفتن در گرمخانه ۳ ماه، دما ۲۵°C.

میکروسکوپ الکترونی در زیر خلاصه شده است [۱۵]:

- خشک کردن نمونه در دستگاه خشک کن در نقطه بحرانی (CO₂ Critical Point Drying).
- چسباندن نمونه روی عامل نگهدارنده (Stub) آلومینیومی.
- پوشاندن نمونه ابتدا به وسیله لایه‌ای از کربن و سپس لایه‌ای از طلا و پالادیم در دستگاه پوشش دهنده.
- قرار دادن عامل نگهدارنده دارای نمونه در جایگاه خاص خود در میکروسکوپ الکترون پوششی و سپس مشاهده سطح نمونه.

بررسی چسبندگی یا عدم چسبندگی باکتری به سطح پلیمر: برای بررسی چسبندگی یا عدم چسبندگی باکتریهای مورد آزمایش به سطح پلی پورتان نیز از دستگاه میکروسکوپ الکترون پوششی استفاده شد [۱۶، ۱۷].

نتایج و بحث

بررسی نخریب باکتریایی پلی پورتان

بطور کلی، باکتریهای مورد آزمایش از نظر تأثیر روی ساختار مولکولی پلی پورتان به ۴ دسته تقسیم می‌شوند: دسته اول باکتریایی که پس از یک ماه قرار گرفتن در گرمخانه در دمای ۲۵°C بر نواحی مختلف ساختار مولکولی پلیمر موثرند. به عبارت دیگر، رشد این باکتریها روی پلی پورتان موجب کاهش پیک جذبی

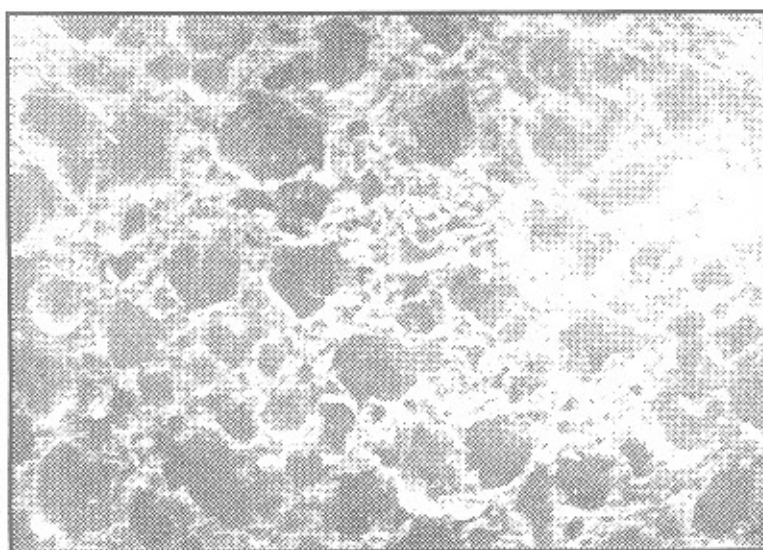
انجام شده، تعداد باکتری موجود در این کشتهای ۱۸، ۴۸ و ۷۲ ساعته برابر ۱۰^۷ × ۵ در میلی لیتر بود.

پس از قرار گرفتن باکتریهای یاد شده در مدت زمان مشخص در گرمخانه، محیطهای NB واجد باکتری (با دور ۲/۵ × ۱۰۰۰ rpm) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵°C سانتریفوژ شد و پس از سه بار شستشو با بافر فسفات و سرانجام تهیه تعلیق در همان بافر، برای تلقیح ۲ درصد، ۰/۵ ml از آن به محیط کشت مینیم آگار واجد پلیمر تلقیح شد. اشاره می‌شود کلیه مراحل یاد شده در شرایط کاملاً گندزدا (aseptic) انجام گرفت.

سترون سازی سطحی قطعات پلیمر: پس از فرار دادن کلیه پلیتها به مدت ۱، ۳ و ۴ ماه در دمای ۲۵°C در گرمخانه، قطعات پلیمر در شرایط سترون برداشت شد. پس از سترون سازی سطحی [۱۳] کلیه قطعات، بسته‌های دارای قطعات به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۵۰°C خشک شدند.

بررسی شیمیایی ساختار مولکولی پلیمر: در این پژوهش، برای بررسی شیمیایی ساختار مولکولی پلی پورتان، قبل و بعد از انجام کلیه مراحل انجام شده، از روش طیف سنجی ATR-FTIR [۱۴] استفاده شد. دستگاه به کار برده شده، دستگاه طیف سنج FTIR بود [۱۰].

بررسی فیزیکی ساختار سطحی پلیمر: در این پژوهش، برای بررسی فیزیکی ساختار سطحی پلیمر از دستگاه میکروسکوپ الکترونی پوششی استفاده شد. مراحل آماده سازی نمونه برای مشاهده با



شكل ۲- عكس ميكروسكوپى سطح نمونه پليمر شاهد پس از سترون سازى سطحى با بزرگنمايى ۱۰۰، مدت قرار گرفتن در گرمخانه ۳ ماه، دما ۲۵°C.

كاهش جذب اين دو پيوند مربوط به اثر رشد باكتري ميكروكوكوس رزنوس است.

دسته سوم باكتريهائى كه در ناحيه C-H پلي يورتان بيش از ناحيه C-O مؤثرند، درصد كاهش پيك جذب در ناحيه C-H، در اثر رشد باكتريهائى يادشده، بيش از درصد كاهش در ناحيه C-O است. در مورد باكتريهائى مورد آزمون، تنها باكتري سودوموناس پوتيدا پس از قرار گرفتن در گرمخانه در دماي ۲۵°C به مدت يك ماه اين حالت را نشان مي دهد. البته، رشد باكتري سودوموناس آئروژينوزا روى پلي يورتان كه در دماي ۴°C به مدت ۴ ماه در يخچال قرار گرفته بود نيز روى ناحيه C-H بيش از ناحيه C-O مؤثر بود. با توجه به بالا بودن اثرى پيوند C-H نسبت به C-O اين نتيجه بسيار جالب توجه است، ولي به هر حال به منظور تأييد قطعى نياز به پژوهشهاى بيشتر و استفاده از امكانات دستگاهى مجهزتر است.

دسته چهارم باكتريهائى كه همانند گروه اول بر كليۀ نواحى ساختار مولكولى پليمر مؤثرند، اما درصد اثر آنها بر پلي يورتان نسبتاً كم است. باكتريهائى نو كارد بامروى كاتنا و كورينه باكتريوم فلاوى سنس (پس از قرار گرفتن در گرمخانه در دماي ۲۵°C به مدت يك ماه) در اين گروه قرار مي گيرند.

نتايج بررسيهائى مختلف روى خواص فيزيكى و شيميايى الاستومرهاى پلي يورتان خصوصاً نوع پلي استر آن، در طى فرايندهائى تخریب ميكروبي نشان مي دهد كه تجزيه زيستى

طيف IR در تمام نواحى به ميزان كم و بيش يكسان مي شود. اين باكتريهائى عبارتند از: سودوموناس آئروژينوزا و بروى باكتريوم ديواريكاتوم با اثر تخریب كندگى نسبتاً شديد در كليۀ نواحى پليمر و كورينه باكتريوم پرمتابولوم و ميكروكوكوس لتوس با اثر تخریب كندگى كمتر، اما در كليۀ نواحى پليمر تفريفاً يكسان است. هر چند عكس ميكروسكوپ الكترون پويشى مربوط به اثر باكتري سودوموناس آئروژينوزا (پس از ۳ ماه قرار گرفتن در گرمخانه) بر ساختار سطحى پليمر (شكل ۱)، كه نشان دهنده افزايش قطر منافذ پليمر نسبت به پليمر شاهد (شكل ۲) است تا حدودى تأييد كننده نتايج بررسى طيف IR باكتري يادشده (تخریب در كليۀ نواحى ساختار مولكولى پليمر) است، اما ناييد قطعى مسئله به پژوهشهاى بيشترى در اين زمينه نياز دارد.

دسته دوم باكتريهائى كه پس از يك ماه قرار گرفتن در دماي ۲۵°C در گرمخانه در ناحيه C-O پلي يورتان، بيش از ناحيه C-H مؤثر است. به عبارت ديگر، در طيف IR مربوط به رشد باكتريهائى ياد شده روى پلي يورتان، درصد كاهش پيك در ناحيه C-O بيش از ناحيه C-H است.

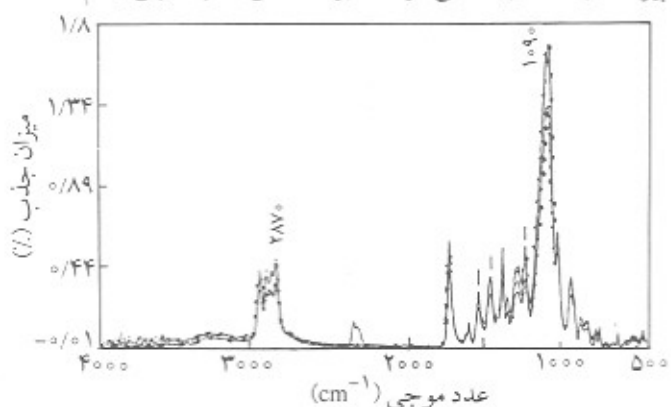
باكتري ميكروكوكوس رزنوس در اين گروه قرار مي گيرد. باكتري سودوموناس آئروژينوزا علاوه بر گروه اول، در اين گروه نيز مي تواند جاي گيرد. البته، اختلاف درصد كاهش جذب مربوط به پيوندهائى C-H و C-O در مورد اين باكتري كمتر از اختلاف درصد

طیف‌سنجی IR و کروماتوگرافی لایه نازک انجام گرفت [۲۰]. پیشنهاد کردند که آبکافت پلی‌یورتان موجب تولید دی‌اسیدها، دی‌آمینها و دیولها می‌شود. دی‌اسیدها و دیولها در نتیجه آبکافت پلی‌استرودی‌آمینها در نتیجه آبکافت واحدهای یورتان حاصل می‌شوند. ظاهر شدن پیک کربونیل در ناحیه 1685 cm^{-1} ، در طی تخریب، نشان دهنده تشکیل گروههای کربوکسیل است. کاهش نسبی پیک جذبی C-H، کاهش گروههای CH_2 پلی‌یورتان را نشان می‌دهد.

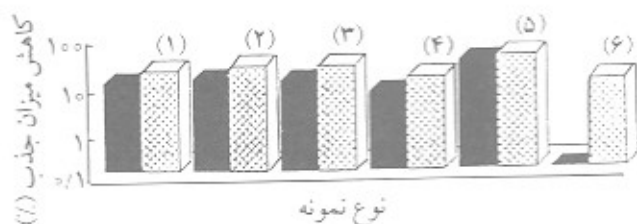
دی‌اسیدها و احتمالاً الکلها بخش اصلی گروههای CH_2 پلی‌یورتان را تشکیل می‌دهند. بنابراین، کاهش نسبی جذب پیوند C-H در طی تخریب میکروبی نشان دهنده کاهش گروههای دی‌اسید و دیول از پلیمر است که این خود بر آبکافت ناحیه پلی‌استر پلی‌یورتان دلالت می‌کند. تمام نتایج پژوهش یاد شده خصوصاً کاهش نسبی تعداد پیوند C-H پلی‌یورتان در طی تخریب میکروبی با نتایج اثر باکتریهای مورد آزمایش روی خواص شیمیایی پلی‌یورتان، تا حد زیادی مطابقت دارد.

بررسی اثر عوامل شیمیایی بر ساختار مولکولی پلی‌یورتان

شکل ۳ براساس درصد کاهش جذب طیف IR در نواحی 2870 cm^{-1} (پیوند C-H)، 1090 cm^{-1} (پیوند C-O) و نسبت این دو کاهش در نتیجه تأثیر عوامل شیمیایی رسم شده است و شکل ۴ بخوبی نشان دهنده تأثیر این عوامل بر پلی‌یورتان است. آنچه در کل می‌توان نتیجه گرفت این است که اثر این عوامل بر ساختار شیمیایی پلی‌یورتان تقریباً کم است. محلول سدیم هیپوکلریت (دارای 1600 ppm کلر فعال) با pH برابر $7/8$ موجب افزایش جذب IR تقریباً در کلیه نواحی پلی‌یورتان پس از یک ماه قرار گرفتن در گرمخانه در دمای 25°C می‌شود. اما محلول سدیم هیپوکلریت (دارای 32 ppm کلر فعال) با pH برابر $7/1$ در همان شرایط موجب کاهش شدت جذب در نواحی پیوندهای C-H و C-O می‌شود، اما میزان کاهش جذب جزئی و کم است.



شکل ۴- اثر عوامل شیمیایی مختلف بر پلی‌یورتان و مقایسه آن با پلیمر شاهد: (—) پلیمر شاهد، (●) پلیمر + آهن (II) سولفات، (*) پلیمر + آهن (III) کلرید و (▲) پلیمر + سدیم بی‌کربنات.



درصد کاهش C-O	۸	۹/۸	۹	۵	۲۱/۸	۰
درصد کاهش C-H	۱۵	۱۸/۷	۱۹	۱۰/۲	۲۸/۲	۷/۶

شکل ۳- اثر عوامل شیمیایی مختلف بر پلیمر شاهد و بررسی میزان درصد کاهش جذب پیوند: C-O (■) و CH (□) برای نمونه های: (۱) پلیمر + باکتری، (۲) پلیمر + 4°C ، (۳) پلیمر + سدیم هیپوکلریت، (۴) پلیمر + آهن (III) کلرید، (۵) پلیمر + آهن (II) سولفات و (۶) پلیمر + سدیم بی‌کربنات.

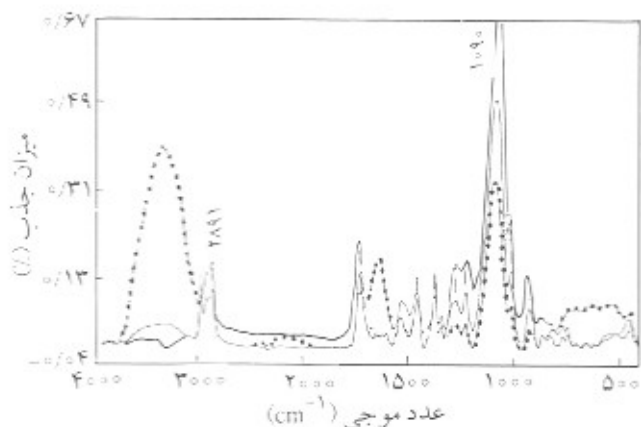
پلی‌یورتانها اصولاً موجب ایجاد تغییرات شیمیایی در ساختار پلیمر می‌شود [۱۱]. فیلپ در سال ۱۹۷۸ تخریب میکروبی اسفنجهای انعطاف‌پذیر پلی‌یورتان به وسیله میکروارگانیسمهای خاک را به وسیله طیف‌سنجی زیر قرمز مورد بررسی قرار داد [۱۸]. او نشان داد که در مورد اسفنج پلی‌استر پلی‌یورتان با مخلوطی از میکروارگانیسمهای خاک پس از ۳۰ روز قرار گرفتن در گرمخانه، دو پیک ایزوسیانات در نواحی 2315 و 2120 cm^{-1} تقریباً بطور کامل ناپدید می‌شود و از نوار جذبی قوی ناحیه کربونیل استر و گروههای یورتان در ناحیه 1715 cm^{-1} تنها یک پیک ضعیف باقی می‌ماند. او پیشنهاد کرد که نواحی اوره، آمید، یورتان و ایزوسیانات بعد از نواحی استری یا اتری مورد حمله میکروبی قرار می‌گیرند.

مارتنز و همکاران در سال ۱۹۸۱ تجزیه و آزاد شدن آمینهای آروماتیک سمی را از اسفنجهای پلی‌یورتان دارای ^{14}C در شرایط تخریب میکروبی مورد بررسی قرار دادند [۱۹]. آنها برای نشان دادن آمینهای آروماتیک آزاد شده در نتیجه آبکافت پلی‌یورتان از روش کروماتوگرافی لایه نازک تابشی (radio-thin-layer) استفاده کردند. در دمای محیط، مقدار آمین آزاد شده ناچیز و جزئی بود، اما در دماهای بالاتر (50°C) آمینهای آروماتیک در غلظتهای کم تشخیص داده شد. آنها پیشنهاد کردند که در دماهای محیط، آمینهای تولید شده به وسیله میکروارگانیسمها مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما در دماهای بالاتر شرایط برای رشد میکروارگانیسم مساعد نیست و بنابراین امکان تجمع آمین وجود دارد.

باتیرانا و سیل در سال ۱۹۸۵ در طی پژوهشهایشان روی تغییرات خواص شیمیایی پلی‌یورتان در نتیجه تخریب میکروبی که به وسیله

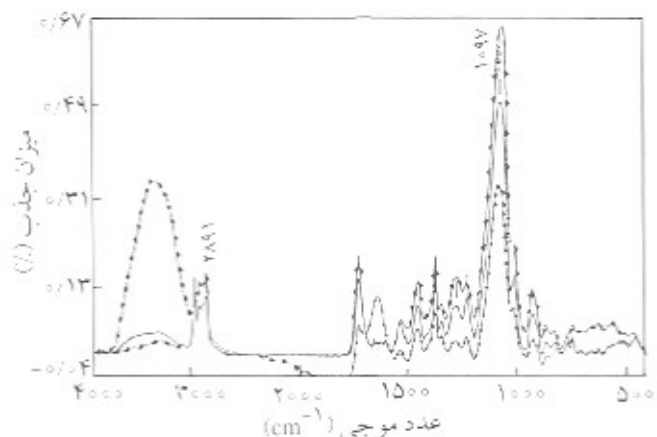
جدول ۲- بررسی اثر عوامل شیمیایی بر مهار رشد باکتریهای روی پلی یورتان.

C-O-C-H	پلیمر + باکتری + سدیم سیترینات			پلیمر + باکتری + آون (III) سولفات			پلیمر + باکتری + کلرید (III) کلرید			پلیمر + باکتری + NaCl			پلیمر + باکتری			درصد کاهش جذب یوئید نسبت آن	ماکتری
	C-O	C-H	C=O	C-O-C-H	C-H	C=O	C-O-C-H	C-H	C=O	C-O-C-H	C-H	C=O	C-O-C-H	C-H	C=O		
۰/۹۹	۲۰/۷	۳۱/۶	۱۲	۰/۶۲	۲۰	۱۸	۰/۸۹	۲۰	۱۸	۰/۸	۱۵/۶	۱۲/۵	۱/۱۱	۲۲	۲۹	۲۹	سودوموناس آئروزیوزا
-	-	-	-	-	-	۲/۶	۰/۲۵	۱۰	۲/۶	۰/۰۹۲	۹/۲	۰/۹	-	۳۴	۰	۰	سودوموناس یونیدا
۰/۹	۲۷/۵	۳۴	۲۱	۱/۱۸	۲۵	-	-	-	-	۱/۰۱	۲۷	۲۷/۲	۰/۹۴	۱۵/۲	۱۲/۵	۱۲/۵	نوکاردا بروی کانتا
۱/۲۲	۲۰	۲۸	۹/۹	۰/۵	۱۲/۵	۹/۶	۰/۵	۱۲	۹/۶	۰/۵۷	۱۲/۵	۷	۰/۶	۱۲	۷/۲	۷/۲	کوردینه باکتریوم فلاوی سنسی
۰/۷	۲۵	۱۷	-	-	-	-	-	-	-	۲۳	۱۶	۲/۶	۱/۰۸	۲۵	۲۷	۲۷	کوردینه باکتریوم پرمیتابولوم
-	۷/۶	۰	۲۵/۷	۰/۶	۲۵	۰	-	۱۷/۹	۰	۰/۹۸	۵۳	۵۲	۱/۰۵	۲۳	۲۶	۲۶	بروی باکتریوم دیواریکاتوم
۱/۲	۲۰/۵	۲۵	۲۱	۱/۲	۳۱/۵	۱۷/۵	۰/۱۷	۱۸	۱۷/۵	۰/۹۸	۲۸	۲۷/۶	۱/۲۶	۲۰	۳۸	۳۸	میکروکوکوس رزنوس
۰/۸	۷/۲	۱۸	۲	۰/۲	۷/۵	۵	۰/۲	۱۲	۵	۰/۷	۱۹	۱۲/۵	۰/۷۵	۲۸	۲۱	۲۱	میکروکوکوس لئوس

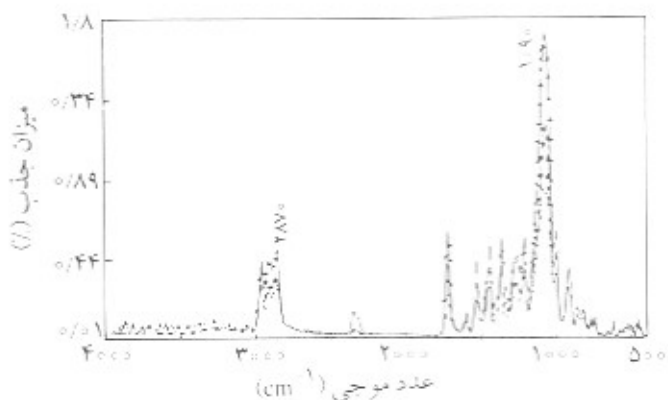


شکل ۷- بررسی اثر محلول سدیم هیپوکلریت در جلوگیری از تخریب میکروبی پلی یورتان به وسیله باکتری نوکاردیابروی کائنا با مقایسه طیف IR نمونه های مختلف: (-) پلیمر شاهد، (●) پلیمر + باکتری و (-) پلیمر + سدیم هیپو کلریت + باکتری.

ناپایداری آهن دو ظرفیتی (Fe^{2+}) و تمایل آن به ترکیب با اکسیژن یا اکسید شدن یکی از دلایل احتمالی تخریب به کمک این عامل است. از آنجا که از اهداف اصلی این پژوهش، کاربرد عوامل شیمیایی، جلوگیری از چسبندگی و تشکیل کلتی باکتریایی بود، بنابراین می بایست تا حد امکان از نفوذ آن به داخل پلیمر، که حداقل موجب شکستگی پیوندهای بین مولکولی می شود، جلوگیری می شد. اما، بی شکل بودن پلیمر مورد آزمایش در این پژوهش نفوذ مواد مختلف را به داخل آن امکان پذیر می کرد. با وجود اینکه عوامل ضد میکروبی دامنه وسیعی دارند و شامل اسیدها، استرها، الکلهای آندهیدها، فنولها، هالوژنها، ترکیبات آلی جیوه، ترکیبات چهار نایی



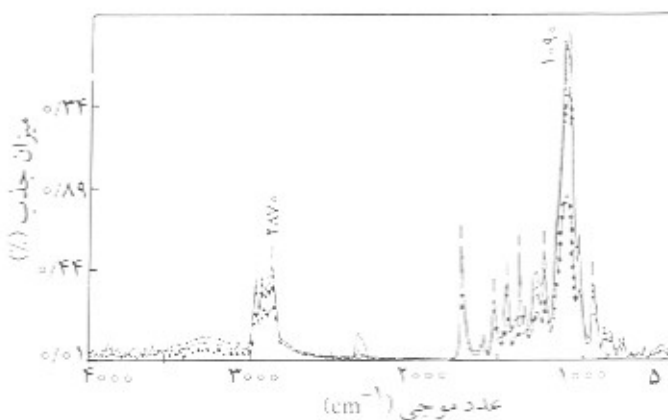
شکل ۸- بررسی اثر محلول سدیم هیپوکلریت در جلوگیری از تخریب میکروبی پلی یورتان به وسیله باکتری میکروکوکوس رزنوس با مقایسه طیف IR نمونه های مختلف: (-) پلیمر شاهد، (●) پلیمر + باکتری و (▲) پلیمر + سدیم هیپوکلریت + باکتری.



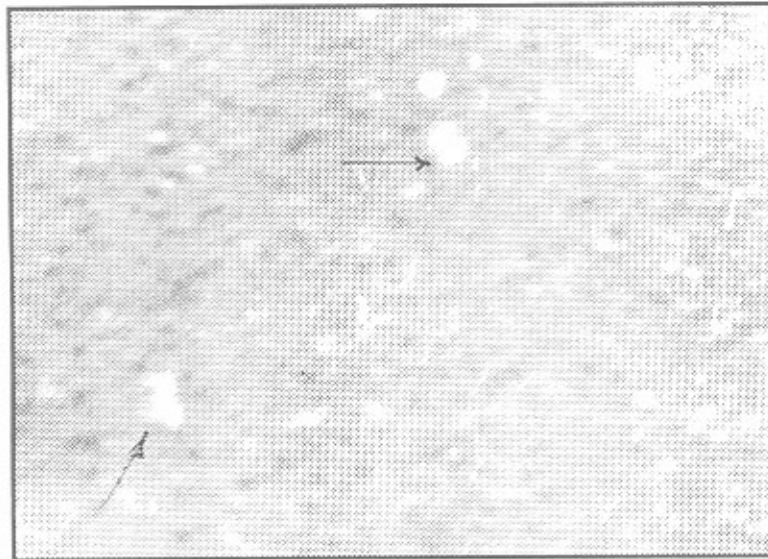
شکل ۵- بررسی اثر محلول سدیم بی کربنات در جلوگیری از تخریب میکروبی پلی یورتان به وسیله باکتری سودوموناس آنروژینوزا با مقایسه طیف IR نمونه های مختلف: (-) پلیمر شاهد، (●) پلیمر + باکتری و (▲) پلیمر + سدیم بی کربنات + باکتری.

اثر محلولهای آهن (III) ۷۶۷۰ ppm کلرید (pH=۷/۴) و ۵۰۰۰ ppm سدیم بی کربنات (pH=۱۰/۲) بر خواص شیمیایی پلی یورتان پس از گرفتن در گرمخانه در دمای ۲۵°C جزئی و کم است (شکلهای ۵ و ۶). درصد تأثیر محلول سدیم بی کربنات بر ناحیه C-O صفر و بر ناحیه C-H بسیار جزئی است و محلول آهن (III) کلرید نیز بر هر دو ناحیه فوق تأثیر بسیار جزئی دارد.

طیف IR پلی یورتان دارای ۷ mmol/L آهن (۱۹۴۶ ppm) (II) سولفات نسبت به طیف پلیمر شاهد (بدون آهن (II) سولفات) پس از یک ماه قرار گرفتن در گرمخانه در دمای ۲۵°C در نواحی C-O و C-H کاهش جذب نشان می دهد. با وجودی که این مقدار کاهش، بیش از کاهش حاصل از سایر عوامل شیمیایی است، ولی میزان آن زیاد نیست.



شکل ۶- بررسی اثر محلول آهن (III) کلرید در جلوگیری از تخریب میکروبی پلی یورتان به وسیله باکتری سودوموناس آنروژینوزا با مقایسه طیف IR نمونه های مختلف: (-) پلیمر شاهد، (●) پلیمر + باکتری و (▲) پلیمر - آهن (III) کلرید - باکتری.



شکل ۹- عکس میکروسکوپی چسبندگی باکتری نوکاردیا بروی کاتنا به سطح پلی بورتان.

- جلوگیری از عمل آنزیمهای تجزیه کننده ساختار شیمیایی پلیمر از طریق غیر فعال کردن این آنزیمها و
 - تخریب دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی باکتری.
 غلظت بالای آهن، کاهش تولید توکسین A، آلکالین پروتئاز، الاستاز و رنگدانه های غیر پروتئینی فلورسین و بیوساین، را در سودوموناس آنروژینوزا سبب می شود [۲۱].
 محلول سدیم بی کربنات به عنوان پک عامل باکتری کش قلیایی عمل کرده و با استفاده از یونهای OH⁻، تخریب دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی باکتری را سبب می شود.

نتیجه گیری

نتایج بررسیهای انجام شده نشان می دهد که اثر مهارکنندگی پلی بورتان دارای آهن (II) سولفات بر رشد باکتریهای میکروکوکوس لتوس و کورینه باکتریوم فلاوی سنس تقریباً بطور کامل است. در ضمن، این عامل قادر است رشد باکتری سودوموناس آنروژینوزا را نیز تا حدودی مهار کند. اما، بطور کلی اثر مهارکنندگی این عامل بر رشد باکتریهای مورد آزمایش روی پلی بورتان کمتر از سایر عوامل است.

مکانیسم اثر باکتری کشی آهن (II) سولفات از طریق مداخله در واکنشهای آنزیمی سلول باکتری اعمال می شود. این عامل در ترکیب با ماتریس، تنها در نقاطی که در سطح پلیمر وجود دارد

آمونیم، هیدروژن پروکسید و بسیاری از عوامل دیگرند، ماهیت شیمیایی و بی شکل بودن پلی بورتان مورد آزمایش استفاده از این عوامل را، به عنوان عوامل مهار کننده محدود می کرد و بنابراین بیشتر از عوامل شیمیایی استفاده شد که از نظر ماهیت شیمیایی با پلیمر اختلاف داشتند.

اثر عوامل شیمیایی در مهار رشد باکتریهای مورد آزمایش روی پلی بورتان در جدول ۲ اثر عوامل شیمیایی مورد آزمایش در مهار رشد باکتریهای مورد نظر روی پلی بورتان خلاصه شده است. شکل ۱ مهار رشد باکتری سودوموناس آنروژینوزا روی پلی بورتان را، که به وسیله محلول سدیم هیپوکلریت انجام گرفته است بخوبی نشان می دهد. شکلهای ۷ و ۸ نیز نشان می دهند که در نمونه مربوط به اثر مهارکنندگی محلول سدیم هیپوکلریت (۱۶۰۰ ppm)، افزایش جذب در کلیه نواحی ساختار مولکولی پلی بورتان وجود دارد. بنابراین، برای بررسی اثر مهارکنندگی این عامل به پژوهشهای بیشتر و دستگاههای مجهزتر و روشهای دیگر (اعلاوه بر طیف سنجی FTIR) نیاز است.

نتایج نشان می دهد که اثر مهارکنندگی محلولهای ۷۶۷۹ppm آهن (III) کلرید و ۵۰۰۰۰ppm سدیم بی کربنات بر رشد باکتریهای مورد آزمایش روی پلی بورتان تقریباً کامل است. پوشاندن پلی بورتان به وسیله محلولهای یادشده از طریق مکانیسمهای زیر از رشد باکتریها روی پلیمر جلوگیری بعمل می آورد:

- جلوگیری از چسبندگی باکتریها به پلی بورتان.

میکروسکوپ الکترون پویشی و مطالعه روی پلیمر و همچنین روی چسبندگی باکتری، این آزمایشها نتیجه بخش نبود (شکل ۹). بنابراین، در صورت استفاده از روشی که در آن ضمن آماده‌سازی نمونه برای مشاهده با میکروسکوپ الکترون پویشی چسبندگی باکتری به پلیمر حفظ شود، روش میکروسکوپ الکترون پویشی یکی از بهترین روشها برای ارزیابی اثر بازدارندگی عوامل فیزیکی یا شیمیایی مختلف بر چسبندگی باکتری به پلیمر خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری مرکز تحقیقات مهندسی جهاد سازندگی تهران در تهیه طیفهای زیر قرمز قدردانی می شود.

مراجع

- Gajewski V., Uniroyal Chenucal.; *Chemical degradation of polyurethane*; 1990.
- Hawkins. W.L.; *Polymer Stabilization*; USA, Part Biological Stability of Polymers , 278-393, 1972.
- Aminabhavi T.M. and Balundgi R.H., "A Review on Biodegradable Plastics" *Polym. Plast. Technol. Eng.*; 29, 3, 235, 1990.
- Peters G., "New Considerations in the Pathogenesis of Coagulase-negative Staphylococcal Foreign Body Infections" *J. Antimicrob Chemother* ; 21, 139,48, 1988.
- Anderson M. J., Hiltner A., Wiggins M. J., Schubert M. A., Collier T. O., John Kao W. and Mathur A. B., "Recent Advances in Biomedical Polyurethane Biostability and Biodegradation" *Polym. Inter.*; 46, 3, 163-71, 1998.
- کسری کرمانشاهی روحا، صهبائی زهره، "پایدار نمودن نوعی پلیمر یورتان در برابر تخریب زیستی باکتریایی"، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، بخش میکروبیولوژی، ۱۳۷۳.
- Anshu B. M., Collier T.O., John Kao W., Wiggins M., Schubert M.A., Hiltner A. and Anderson M.J., "In Vivo Biocompatibility and Biostability of Modified Polyurethanes" *J. Biomedical*

قادر است از چسبندگی باکتری به سطح پلیمر جلوگیری کند. همچنین، به علت پیوند شدن با پلیمر قادر نیست وارد سلول شود، بلکه مکانیسم اثر باکتری کشی خود را تنها از طریق واکنش با آنزیمهای خارج سلول، آن هم در نقاطی که در سطح پلیمر وجود دارد اعمال می کند. دلایل احتمالی یاد شده تا حدودی می تواند عدم مهار کنندگی این عامل را، با وجود غلظت زیاد (باکتری کشی برای کلیه باکتریهای مورد آزمایش)، در مورد بعضی از باکتریهای آزمایش شده توجیه کند. با وجود اینکه در این پژوهش برای تهیه نمونه‌ای که بتوان به وسیله میکروسکوپ الکترون پویشی چسبندگی باکتری را به پلی یورتان، به عنوان شاهدی بر عدم چسبندگی آن در مجاورت عوامل فیزیکی یا شیمیایی، مشاهده کرد آزمایشهای زیاد و مختلفی انجام گرفت، اما متأسفانه به علت اثر مواد تثبیت کننده و مواد دیگر مورد استفاده در مراحل مختلف فرایند، تهیه نمونه برای مشاهده با

Research; 36, 2, 246-57, 1997.

- Wiggins M. J., Wilkoff B., Anderson M. J. and Hiltner A., "Biodegradation of Polyether Polyurethane Inner Insulation in Bipolar Pacemaker Leads" *J. Biomedical Materials Research* ; 58, 3, 302-7, 2001.
- Bailey and Scott's; *Diagnostic Microbiology*; 10th ed., Sahn D.F. and Weissfeld A.S. (Eds.), Mosby, USA, 1998.
- Skoog D. A., West D. M. and James H. F.; *Fundamentals of Analytical Chemistry*; 7th ed., Philadelphia, PA: Saunders College, 1995.
- Pathirana R.A. and Seal K.J., "Studies on Polyurethane Deteriorating Fungi I. Part 3. Physicomechanical and Weight Changes During Fungal Deterioration" *Inter. Biodeterioration*; 21, 1, 41-9, 1985.
- Price D.L., Sawant A.D. and Ahearn D.G. "Activity of an Insoluble Antimicrobial Quaternary Amine Complex in Plastics" *J. Ind. Microbiol.*; 8, 82-90, 1991.
- Klopffer W., "Polymers/Properties and Applications 7"; *Introduction to polymer Spectroscopy*; Springer, Verlag Berlin Heidelberg, New York, Germany, 1984.

۱۴. کسری کرمانشاهی، روحا، نایب مهرناز، "جداسازی و شناسایی باکتریهای مؤثر بر روی پلیمر پلی یورتان و تأثیر آنها بر روی پلیمرهای مشابه سالم" دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش میکروبیولوژی، ۱۳۷۰.
15. Sawyer L. C. and Grubb D. T.; *Polymer Microscopy*; USA, Chapman and Hall, Cambridge, 1987.
16. Martinez-Martinez L., Pascual A. and Perea E. J., "Kinetics of Adherence of Mucoid and Non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* to Plastic Catheters" *J. Medical Microbiology*; **34**, 7-12, 1991.
17. Peters G., Locci R. and Pulverer G., "Adherence and Growth of Coagulas-negative Staphylococci on Surface of Intervenous Catheters" *J. Infection Diseases*; **196**, 4, 1982.
18. Filip Z., "Decomposition of Polyurethane in a Garbage Landfill Leakage Water and by Soil Microorganism" *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotech.* ; **5**, 225-31, 1978.
19. Martens R., Domsch K.H., "Microbial Degradation of Polyurethane Foams and Isocyanate Based Polyureas in Different Media" *Water, Air and Soil Pollution*; **15**, 503-9, 1981.
20. Pathirana R.A. and Seal K.J., "Studies on Polyurethane Deteriorating Fungi, 4. A Note on the Spectro-chemical Changes During Fungal Deterioration" *Inter. Biodeterioration*; **21**, 2, 1985
21. Pamela A. S. Charles D. C. and Barbara H. I., "Pseudomonas aeruginosa Mutants Altered in their Sensitivity to the Effect of Iron on Toxic A or Elastase Yields" *J. Bacteriology Aug*; 783-81, 1982.