زیست تخریب پلیمرهای پلی یورتان توسط قارچها

Biodegradation of Polyurethanes by Fungi

روحا کسری کرمانشاهی ،مجید میرمحمد صادقی ،مینو ذوالنوریان

دانشگاه‌اصفهان ، جهاد سازندگی تهران

چکیده

در این تحقیق زیست تخریب پلی یورتان ،نوع الاستومر پلی اتری به وسیله هشت گونه قارچ که قبلا تخریب یافته و نیز از جایگاههای مختلف نظیر هوای محل ساخت و نگهداری این پلیمر جداسازی شده بود ،مورد مطالعه قرار گرفت.

این قارچها شامل گونه‌های آسپرژیلوس ،پنی سیلیم ،کلادوسپوریم ،فوزاریم ،آلترناریا و مخمر بودند.

برای بررسی اثر هریک از قارچها ،پلیمر سالم به مدت شش ماه در تاریکی و در دمای ۳۰°C تحت تاثیر هریک از قارچها در اتو نگهداری شد.سپس ،رشد قارچ روی پلیمر و تغییرات ساختاری پلیمر مورد بررسی قرار گرفت.برای مطالعه تغییرات ساختاری از روش ATR-IR استفاده شد.

نتایج نشان می‌دهد که تغییرات ساختار بستگی به نوع قارچها و شرایط محیطی اعمال شده در آزمایش دارد.

واژه‌های کلیدی: زیست تخریب، پلی یورتان ،ATR - IR ،کشت ،قارچ

Key Words: biodegradation, polyurethane, ATR - IR, cultivation, fungi

مقدمه

زیست تخریب پلیمرها شامل واکنشهایی است که در اثر تهاجم موجودات زنده مانند: قارچها ،باکتریها ،حشرات و کرمها روی می‌دهد. این اصطلاح معمولا به فسادهایی محدود می‌شود ،که توسط میکروارگانیسمها صورت می‌گیرد ،ولی وقتی تخریبهای ناشی از موجودات زنده را کلا در نظر بگیریم عبارت زیست تباهی (biodeterioration) به کار برده می‌شود.

مطالعه واکنشهای زیست تخریبی پلیمرها از آن جهت اهمیت دارد که پیوندهای قابل هیدرولیز شدن در این پلیمرها توسط آنزیمهای میکروارگانیسمی هیدرولیز می‌شود.معمولا پلیمرهای آلیفاتیک (خطی) حساستر از انواع آروماتیک‌اند [۱].پلی یورتان از جمله پلیمرهایی است که مورد حمله میکروارگانیسمها قرار می‌گیرد.پلی یورتانها مجموعه جدیدی از پلیمرهای بسیار مهم‌اند که طی سه سال گذشته مصرف آنها در صنایع گوناگون به سرعت افزایش یافته است [۲].این پلیمرها با گروه شیمیایی $-NH-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-$ شناسایی می‌شوند.در ساختار این پلیمرها عوامل استری ،اتری و آمیدی وجود دارد.به طور کلی ،مواد اولیه‌ای که در تشکیل انواع الاستومرهای پلی یورتان به کار می‌رود شامل دی ایزوسیاناتها ،پلی الها ،دیولهای با زنجیر طولانی و دی آمینها می‌باشند.همچنین ،برای افزایش سرعت واکنش به میزان معین و مناسب

از کاتالیزورها استفاده می‌شود [۳].

تحقیقات نشان می‌دهد که برخلاف بیشتر پلاستیکها ،پلی یورتانها مکررا تحت تاثیر مستقیم میکروارگانیسمها قرار می‌گیرند.در سال ۱۹۶۸ داربای و کاپلان حساسیت پلی یورتانها را نسبت به قارچها مشخص کردند [۴].و در سال ۱۹۸۴ پاتیرانا وسیل تخریب پلی یورتان را به وسیله بعضی از قارچها نشان دادند [۶ و ۵].مطالعات نشان می‌دهد که انواع پلی یورتان پلی استری در مقایسه با انواع پلی اتری نسبت به حمله زیست شناختی حساسترند [۱].با توجه به کاربرد فراوان این دسته از پلیمرها در صنایع مختلف اتومبیل سازی ،نظامی ،رنگ ، چسب و پوشش و همچنین لوازم پزشکی و منزل باید انواع تخریبهایی که در این مواد صورت می‌گیرد و علت آنها شناسایی شود تا بدین وسیله از تغییر و فاسد شدن آنها جلوگیری به عمل آید.

تجربی

مواد

مواد مورد استفاده شامل سه نوع محیط کشت (cultivation) اختصاصی قارچها به نامهای مالت آگار (MEA) و (mycological pepton, P.L.A Lab.Lemco Agar)،که محیط کشتهای غنی می‌باشند ،و همچنین مینیمم آگار (minimum Agar) بود که محیط کشتی فقیرتر جهت رشد قارچها محسوب می‌شود.ماده فرمالین (۳۷%) نیز برای استریل کردن پلیمر آلوده به قارچ مورد استفاده قرار گرفت.پلی یورتان به کار برده شده در این تحقیق الاستومر پلی اتر یورتان بود.یورتان مزبور در ۵۰°C پخت شده و در آن دی اکتیل فتالات به عنوان روان کننده و نمک پرکلرات به عنوان اکسید کننده نیز به کار رفته بود.نمونه مورد آزمایش از بخش تحقیقات جهاد سازندگی تهران به دست آمد.قارچهای به کار رفته شامل گونه‌های پنی سیلیم (Penicillium)، آسپرژیلوس (Aspergilus)، فوزاریم (Fusarium)، کلادوسپوریم (Cladosporium)، مخمر (Yeast) و آلترناریا (Alternaria) در طرحی دیگر از پلیمرهای تخریب یافته و نیز فضای محل نگهداری این پلیمرها جداسازی و شناسایی شد.فعالیت آنزیمی آنها نیز مورد بررسی قرار گرفت [۷].

روشها

در نخستین قسمت از نظر میکروبیولوژیکی رشد قارچهای مزبور روی پلیمر پلی یورتان به کار رفته به روش زیر بررسی شد:

ابتدا قارچهای جدا شده از پلیمر تخریب یافته و فضای محل نگهداری آنها روی قطعاتی (۱cm × ۱cm) از پلیمر پلی یورتان که سطح آنها توسط بخارات فرمالین به مدت سه ساعت استریل و شسته شده بود ،قرار گرفت.آن گاه ،این قطعات در ظرفهای مخصوص (plate) حاوی محیط کشت عصاره مالت آگار یا محیطی که فاقد مواد غذایی آلی و دارای املاح نمکی آگاردار بود قرار گرفتند.ظروف به مدت ۴ هفته در دمای ۲۵°C تا ۳۰°C اتوگذاری (incubation) شدند. پس از طی این مدت در مورد هر یک از قارچها که قدرت استفاده از پلیمر را در شرایط آزمایش داشتند ،رشدی در سطح ظرف آشکار شد که نتایج به دست آمده در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ - نتایج ارزیابی رشد قارچ روی محیط مالت آگار (MEA) و محیط حاوی املاح نمکی آگاردار (min agar)

قارچ	مدت زمان اتوگذاری (روز) دما ۲۵°C تا ۳۰°C	%میزان رشد در محیط MEA	min agar
آسپرژیلوس نیجر	۷	۲۵	۱۰
	۱۴	۵۰	۲۵
	۲۱	۹۰	۴۰
	۷	۲۰	۱۰۹
آسپرژیلوس فلاووس	۱۴	۴۰	۲۰
	۲۱	۹۰	۲۰
	۷	۳۰	۲۰
گونه‌ای از آسپرژیلوس	۱۴	۵۰	۴۰
	۲۱	۹۰	۶۰
پنی سیلیم	۷	۲۰	۵
	۱۴	۴۰	۲۰
	۲۱	۷۵	۴۰
آلترناریا	۷	۲۰	۵
	۱۴	۵۰	۱۰
	۲۱	۷۵	۱۰
	۷	۱۰	۵
کلادوسپوریم	۱۴	۲۵	۱۰
	۲۱	۵۰	۱۰
	۷	۳۰	۱۰
فوزاریم	۱۴	۵۰	۲۰
	۲۱	۷۵	۳۰
	۷	۱۰	۵
مخمر	۱۴	۳۵	۱۰
	۲۱	۵۰	۱۰

به کارگیری دو نوع محیط در این روش به دلایل زیر است:

۱ - اندازه‌گیری قدرت تولید کلنی (colony) روی محیط کشت عصاره مالت آگار برای تعیین اثر قارچ‌کشی احتمالی پلیمر پلی یورتان.

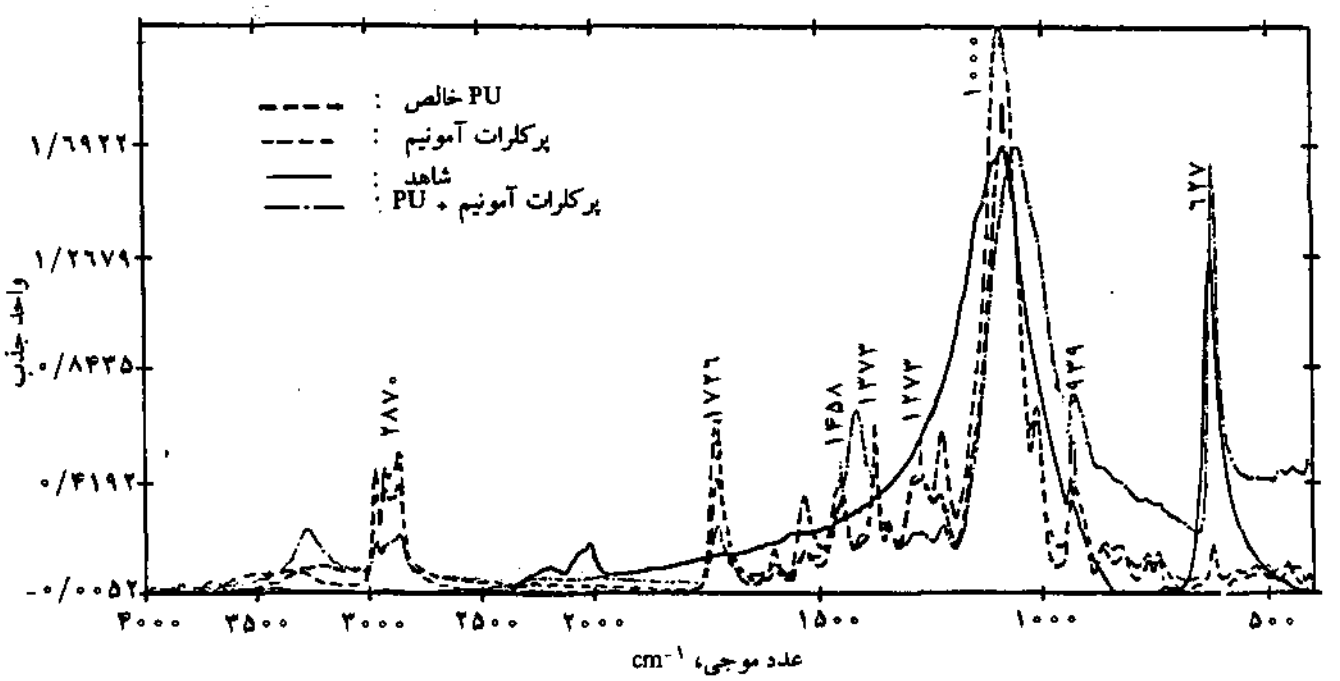
۲ - قابلیت استفاده از نمکهای معدنی آگاردار در محیط مینیمم آگار.

در قسمت دوم برای بررسی تغییرات انجام شده در ساختار شیمیایی نمونه‌های پلی اتری پلیمر پلی یورتان از روش باز تابندگی کلی تضعیف شده، ATR (Attenuated Total Refelection) با به کار بردن یک طیف سنج زیر قرمز IR استفاده شد [۸].در این مرحله چون هر قارچ به تنهایی مورد آزمایش قرار گرفت ،برای استریل کردن سطح اولیه پلیمر و جلوگیری از آلودگیهای ثانویه سطح آن به ترتیب زیر استریل شد.ابتدا قطعات پلیمر به اندازه ۰/۵mm × ۲cm × ۲cm ، بریده و سپس با فرمالین به مدت سه ساعت استریل شد [۹].۲ گرم از این قطعات به ظرفهایی به قطر ۱۰ سانتیمتر با مقدار محیط کشت کافی منتقل شد.آزمایش روی هر نمونه قارچ سه بار تکرار شد و تعداد پلیمرها در هر آزمایش ٦ قطعه بود زیرا در هر ماه یک قطعه از آنها جهت تهیه IR مورد استفاده قرار می‌گرفت و چون مدت مورد نظر شش ماه بود در نتیجه در هر آزمایش ٦ قطعه به کار گرفته شد تا شرایط برای همه آنها یکسان باشد.ظرفهای مخصوص کشت به وسیله ۰/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون اسپور قارچهای مورد آزمایش جهت تجدید کشت تلقیح شده، و به مدت ٦ ماه در دمای ۲۵°C تا ۳۰°C اتوگذاری شد.با توجه به اینکه مدت زمان در نظر گرفته شده برای اندازه گیری تغییرات در ساختار پلیمر شش ماه بود ،از این رو در پایان هر ماه برای تعیین میزان این تغییرات یک نمونه پلیمر مورد ارزیابی قرار گرفت.برای حذف قارچ از سطح پلیمر مورد آزمایش بعد از طی مدت زمان ضروری و به دست آوردن طیفهای IR ،نمونه‌ها طبق روش مرجع ۵ استریل شدند.

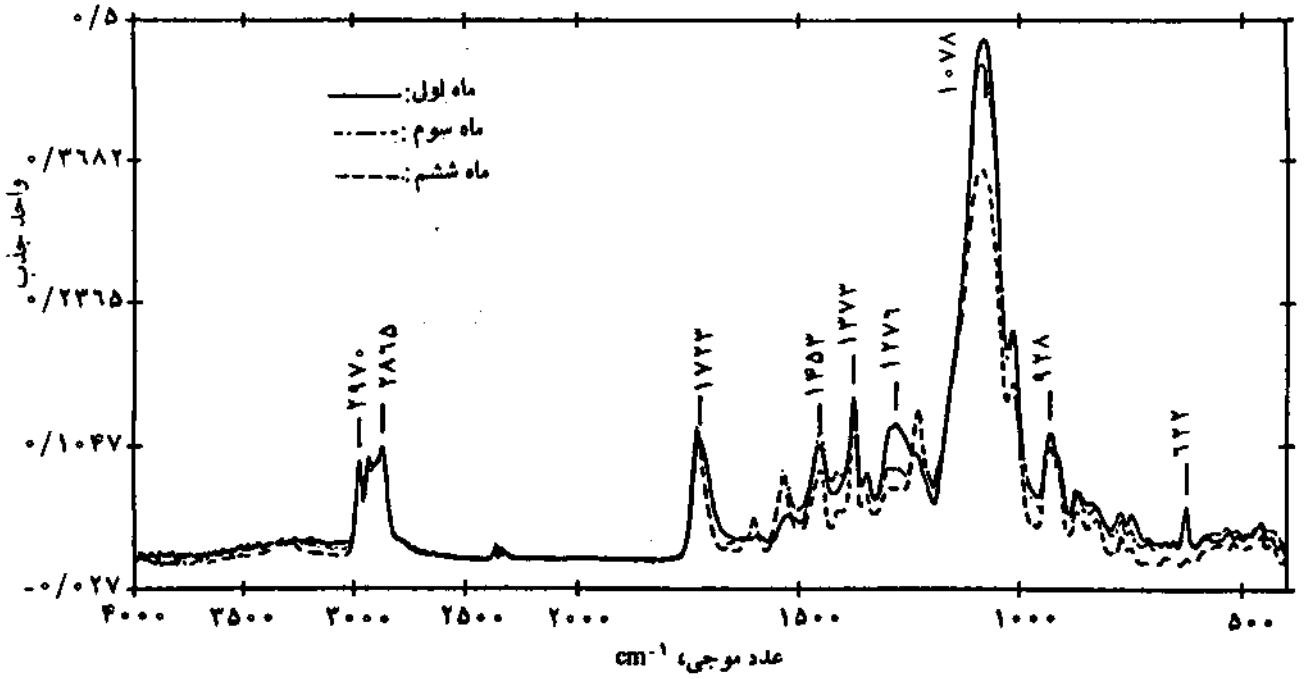
بحث و نتایج

در جدول ۱ رشد قارچها در محیط کشت مالت آگار حاوی پلیمر و محیط کشت با املاح نمکی آگاردار که دارای پلیمر به عنوان تنها منبع کربن بود ارزیابی و مقایسه شده است.نتایج نشان می‌دهد که از قارچهای یاد شده در شرایط آزمایش گونه‌های آسپرژیلوس (شامل آسپرژیلوس نیجر ،آسپرژیلوس فلاووس و گونه‌ای از آسپرژیلوس) بیشترین درصد رشد را در محیط کشت مالت آگار حاوی پلیمر دارد.یعنی بعد از ۷ ، ۱۴ و ۲۱ روز اتوگذاری مرتبا به میزان رشد آنها افزوده می‌شود.به طوری که بعد از ۲۱ روز میزان رشد آنها به ۹۰ درصد می‌رسد.گروه دوم از نظر رشد شامل قارچهای پنی سیلیم، آلترناریا و فوزاریم است که در محیط مالت آگار بعد از ۲۱ روز میزان رشد آنها به ۷۵ درصد می‌رسد و پس از این دو گروه ،دو قارچ کلادوسپوریم و مخمر قرار دارند که بعد از ۲۱ روز میزان رشد آنها روی محیط کشت مالت آگار ۵۰ درصد است.

در محیط کشت مینیمم آگار حاوی پلیمر نیز درصد رشد قارچها متفاوت است و بیشترین میزان رشد مربوط به گونه‌ای از قارچ



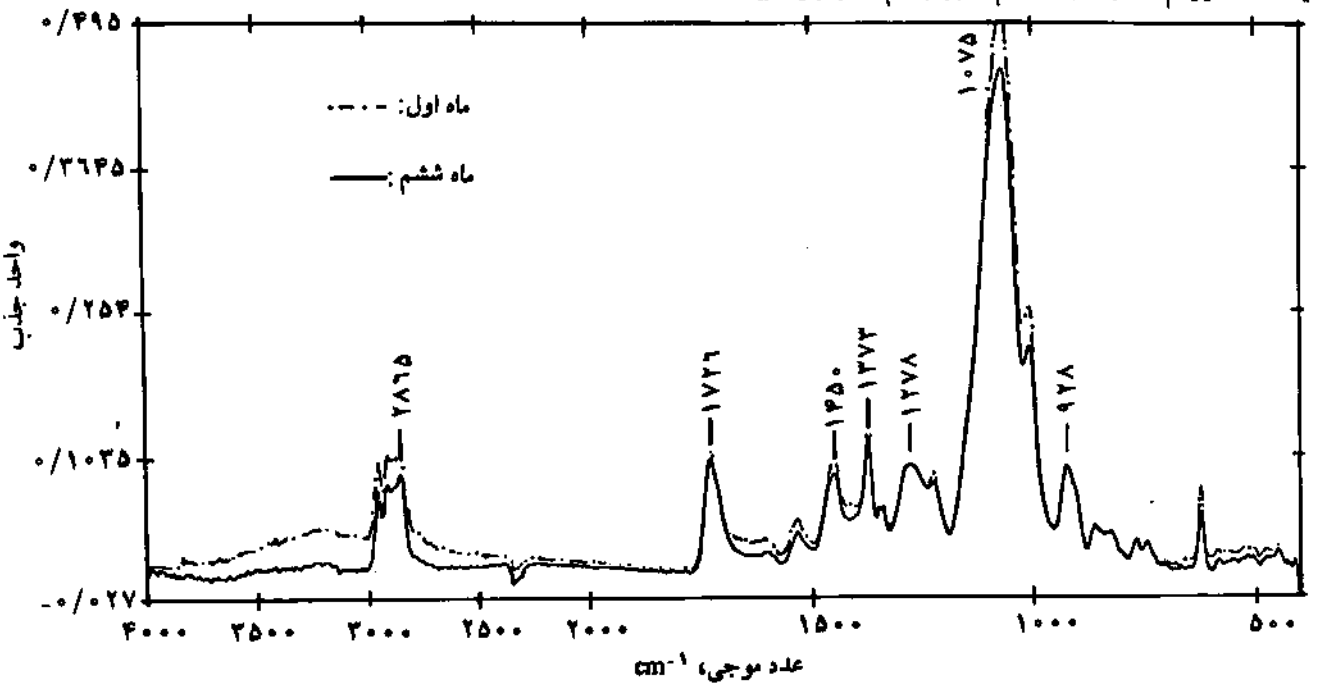
شکل ۱ -پرکلرات آمونیم ،پلی یورتان خالص ،نمونه‌پلی اتری پلی یورتان و شاهد



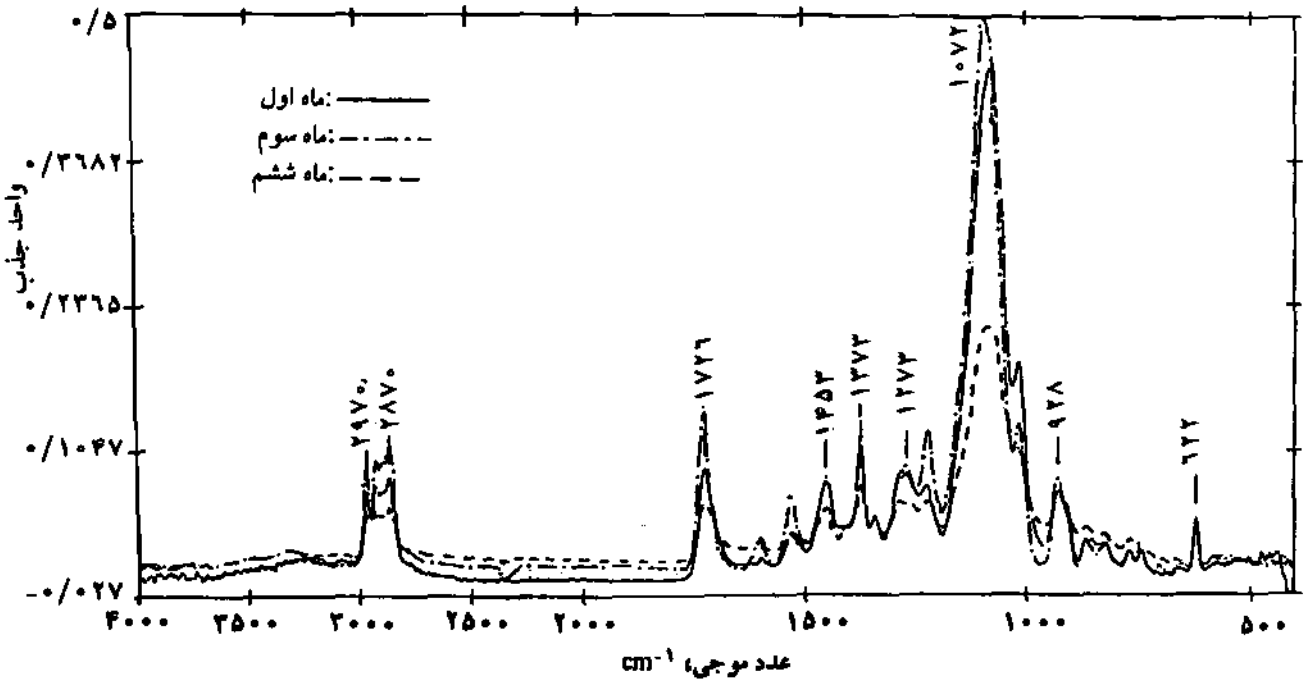
شکل ۲-فوزاریم که بیشترین تغییرات را در ناحیه $1100 cm^{-1}$ در محیط PLA دارد.

آسپرژیلوس است که بعد از سه هفته اتوگذاری (۲۱ روز) رشد آن به ۶۰ درصد می‌رسد.

طبق جدول ۱ سایر قارچها نیز رشد می‌کنند ،به طوری که درصد رشد آسپرژیلوس نیجر و پنی سیلیم و فوزاریم به ترتیب در محیط کشت مینیمم آگار از روز هفتم تا چهاردهم و در نهایت بیست و یکم افزایش می‌یابد.ولی ،قارچهای آلترناریا و کلادوسپوریم و مخمر از روز چهاردهم به بعد میزان رشدشان تغییری نمی‌کند.با توجه به تغییرات رشد قارچهای یاد شده در شرایط آزمایش و دو نوع محیط کشت متفاوت مشخص می‌شود که این قارچها برحسب نوع و محیط کشت در کل قدرت تولید کلنی روی پلیمر پلی یورتان و مواد افزودنی همراه آن



شکل ۳-گونه آسپرژیلوس که کمترین تغییرات را در ناحیه $1100 cm^{-1}$ در محیط PLA دارد.



شکل ۴-گونه آلترناریا که بیشترین تغییرات را در ناحیه $1100 cm^{-1}$ در محیط min agar دارد.

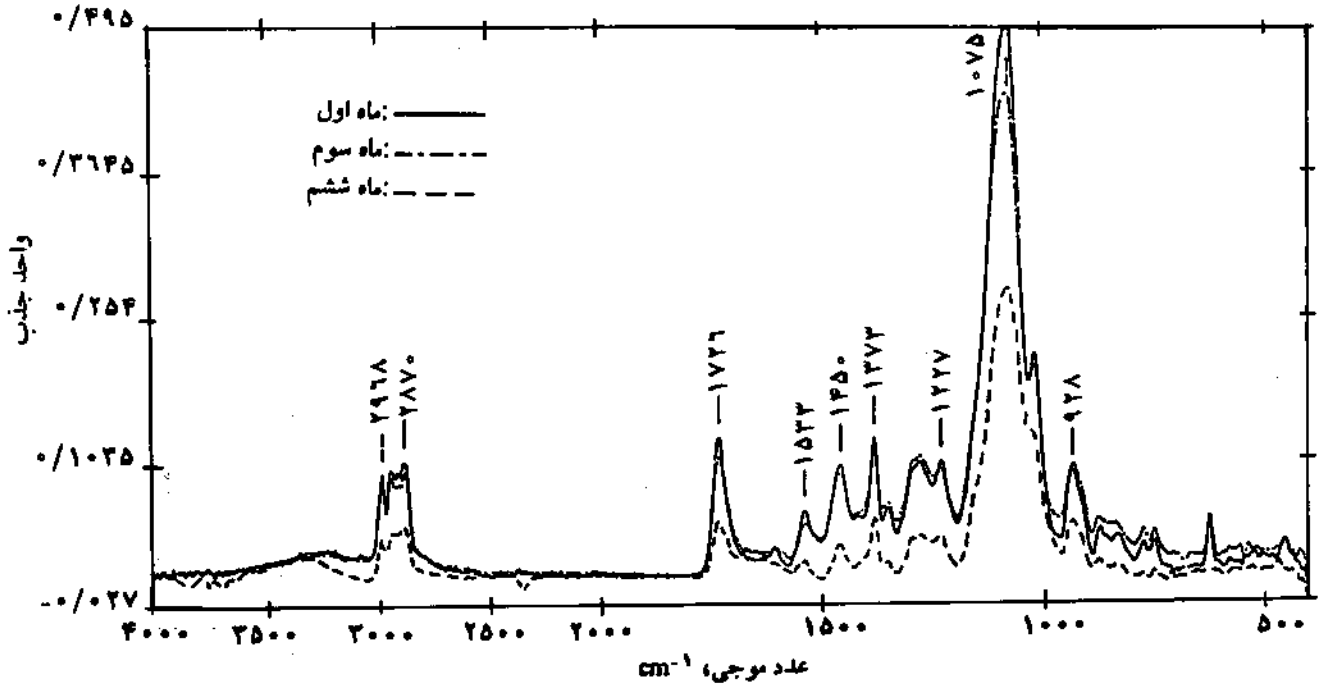
دارند و نیز می‌توانند این مواد را مورد استفاده قرار دهند.با توجه به اینکه طیف IR پلی یورتان نوارهای جذبی مهمی در نواحی $1720-1730 cm^{-1}$ (ارتعاشات کششی عامل C=O)، $1000-1100 cm^{-1}$ (ارتعاشات کششی عامل C-O) و $2800-3000 cm^{-1}$ (ارتعاشات کششی C-H) نشان می‌دهد، بررسی نوارهای جذبی در این نواحی و نیز سایر نواحی طیف که از اهمیت کمتری برخوردارند اطلاعات قابل توجهی در مورد میزان تخریب پلیمرها توسط قارچها در اختیار می‌گذارد.

اشاره می‌شود که در نمونه مورد آزمایش مقداری ClO_4^- به پلیمر افزوده شده است که این ترکیب نیز دو نوار جذبی مهم در نواحی $1000-1100 cm^{-1}$ و $610-630 cm^{-1}$ نشان می‌دهد.ولی ،از آنجا که تقریبا تمامی ClO_4^- پس از شستشوی نمونه با آب مقطر و استریل کردن آن از بین می‌رود (این نکته را می‌توان با بررسی طیف شاهد در شکل ۱ به خوبی دریافت) تغییرات جذبی در ناحیه $1000-1100 cm^{-1}$ عمدتا به شکست پیوند CH_2-O-CH_2 پلیمر مربوط می‌شود.نوار مربوط به ارتعاشات کششی C-H در ناحیه $2800-3000 cm^{-1}$ به عنوان مرجع به کار گرفته شده‌اند.

با توجه به مطالب فوق و بررسی طیفها در ناحیه $1000-1100 cm^{-1}$ مشخص می‌شود که در محیط PLA دو قارچ فوزاریم و گونه‌هایی از آسپرژیلوس به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را در تخریب اتصال CH_2-O-CH_2 داشته‌اند.شدت نوار جذبی در مورد قارچ فوزاریم در ناحیه $1000-1100 cm^{-1}$ پس از شش ماه حدود ۴۴ درصد کاهش یافته است.در صورتی که میزان تغییرات جذبی در این ناحیه در مورد قارچ آسپرژیلوس جزئی است (شکلهای ۲ و ۳).در محیط مینیمم دو قارچ آلترناریا و مخمر به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را در تخریب این اتصال نشان می‌دهند.کاهش شدت جذب حدود ۳۵ درصد نوار جذبی واقع در ناحیه $1000-1100 cm^{-1}$ در مورد قارچ آلترناریا پس از شش ماه این اثر را به خوبی نمایان می‌سازد (شکلهای ۴ و ۵).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش مشخص می‌شود که پلیمر پلی یورتان مورد استفاده تعدادی از قارچها قرار می‌گیرد و بعضی از پیوندهای آن شکسته می‌شود که تغییر و تخریب پلیمر را به دنبال دارد.در ضمن این تغییرات بسته به نوع محیط کشت و شرایط آزمایش و نیز نوع قارچ مورد آزمایش متفاوت است.با استفاده از این نتایج و ادامه کار می‌توان مکانیسم تخریب را به دست آورد و بدین ترتیب از زیست تخریب این پلیمر جلوگیری به عمل آورد و در نتیجه آن را به مدت طولانی تری نگهداری کرد.



شکل ۵ـگونه مخمر که کمترین تغییرات را در ناحیه $1100 cm^{-1}$ در محیط min agar دارد.

مراجع

1 Tibor Kelen, "*Biodegradation*", Chap.8: Polymer Degradation, 152-156, 1983.

۲ـ مجله علوم وتکنولوژی پلیمر، سال اول، شماره دوم، صفحه ۴، بهمن ۱۳۶۷.

۳ـ باریکانی، مهدی، پلی یورتانها، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، سال اول، شماره اول، آبان ماه ۱۳۶۷.

4 Darby R.T. and Kaplan. A.M.," Fungalsusceptibility of Polyurethanes", *Appl.Microb.*, **16**, 6, 900-905, 1968.

5 Pathirana R.A. and Seal K.J.,"Studies on Polyurethane Deterioration Fungi", part (1), *Inter. Biodeter.*, **20**, 3, 163-168, 1984.

6 Pathirana R.A. and Seal K.J.," Studies on Polyurethane Deterioration Fungi",part (3), Physico-Mechanical and Weight Changes During Fungal Deterioration, *Inter.Biodeter.*, **21**, 1, 41-49, 1985.

۷ـ ذوالنوریان ،مینو ،کسری کرمانشاهی، روحا ،جداسازی و شناسایی قارچهای عامل تخریب کننده پلیمر پلی یورتان ،دانشگاه اصفهان، ۱۳۷۱.

8 Flipe Z.," Decomposition of Polyurethane in a Garbage Landfill Leakage Water and by Soil Microorganism", *Europ.J. of Appl.Microb. and Biothech*, **5**, 225-231, 1978.

9 Pathirana R.A. and Seal K.J.," Studies of Polyurethane Deteriorating Fungi, part (4), *Inter.Biodeter.*, **21**, 2, 123-125, 1985.

از پاورقی صفحه ۲۵۲

آثار دی تیوکارباماتها بر انسان

تماس دایم با دی تیوکارباماتها تغییرات عملکردی در سیستم خونی و عصبی ایجاد می‌کند.تماس دی تیوکارباماتها با پوست موجب آماس آن می‌شود و بعضی از این ترکیبات حساسیت ایجاد می‌کنند.شواهدی وجود دارد که متوسط بروز انحرافات کروموزومی در لنفوسیتهای کارگرانی که در معرض دی تیوکارباماتها بوده‌اند افزایش یافته است.مطالعات همه گیر شناختی در مورد کارگرانی که در معرض دی تیوکارباماتها یا ETU بوده‌اند هیچ افزایشی در بروز تومورهای تیروئیدی نشان نداده است.ولی ،در این بررسی ،تعداد نسبتا کمی از کارگران مبتلا شده‌اند.

IPRTC Bulletin, Vol.10, No.1, March 1990