بررسی اثر پرتوهای فرابنفش بر پایدارسازی پلی‌یورتان در برابر زیست تخریب باکتریایی

Effect of Ultraviolet Radiation on Stabilization of Polyurethane Against Bacterial Deterioration

روحا کسری کرمانشاهی[1]، زهره صهبایی[2]، مجید میرمحمد صادقی[1]

۱ـ دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم؛ ۲ـ اصفهان، خیابان مرداویج، شرکت آب و فاضلاب استان اصفهان، واحد تحقیقات و بهبود بهره‌وری

دریافت: ۷۶/۱۰/۲۸، پذیرش: ۷۸/۹/۱۵

چکیده

معمولا تخریب پلی‌یورتانها به وسیله واکنشهای آبکافت، گرماکافت، اکسایش، نورکافت و تخریب میکروبی انجام می‌گیرد. ساختار ویژه پلی‌یورتان، بررسی تخریب میکروبی و همچنین پایدارسازی آن را در برابر این نوع تخریب مشکل می‌کند. هدف اصلی این پژوهش، مطالعه اثر پرتوهای فرابنفش در جلوگیری از تخریب باکتریایی یک نوع پیوند دهنده پلی‌یورتان پلی‌اتری به وسیله ۸ گونه باکتری (که قبلاً به عنوان مؤثرترین باکتریهای تخریب‌کنندهٔ پلی‌یورتان بررسی و معرفی شده‌اند) است. بنابراین، به منظور پایدارسازی پلیمر در برابر تخریب باکتریایی، اثر پرتودهی در ناحیه فرابنفش به عنوان یک عامل استریل‌کننده سطح (طول موج برابر ۲۵۳/۷ nm و شدت برابر ۱۵۲ $\mu W/cm^2$ s) در مدت زمانهای مختلف آزمایش شده است. بررسی تخریب باکتریایی پلیمر به وسیله باکتریهای مورد آزمایش و عدم تخریب آن به وسیله پرتوهای فرابنفش با روش طیف‌سنجی FTIR و ATR-IR انجام گرفته است. البته، در چند مورد نیز جهت تأیید طیف IR از روش میکروسکوپی الکترون پویشی استفاده شده است. اشاره می‌شود که برای ارزیابی بهتر نتایج، پلی‌یورتان به عنوان تنها منبع کربن و انرژی، تحت اثر تعلیق باکتریایی قرار گرفته است. نتایج نشان می‌دهد که پرتودهی در ناحیه فرابنفش با طول موج ۲۵۳/۷ nm و شدت ۱۵۲ $\mu W/cm^2$ s در مدت زمانهای حدود ۵۵ تا ۶۰ دقیقه (یا به عبارت دیگر با پرتوهای فرابنفش با دوز ۰/۵۵ W/cm^2) در جلوگیری از تخریب باکتریایی پلی‌یورتان مورد آزمایش بطور تقریباً کامل موثر است.

واژه‌های کلیدی: پلی‌یورتان، زیست تخریب، پایدارسازی، پرتودهی فرابنفش، تخریب پلیمر.

Key Words: polyurethane, deterioration, stabilization, ultraviolet radiation, polymer degradation

مقدمه

پدیدهٔ تخریب، نتیجه واکنشی برگشت‌ناپذیر است که درواقع بر خصوصیات مهم هر نوع پلیمر اثر می‌گذارد. تخریب پلی‌یورتانها، به عنوان گروه مهمی از پلیمرها که امروزه تولید و مصرف آنها بسرعت درحال افزایش است، توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. واکنشهای گرماکسایش، نورکسایش، تخریب میکروبی، نورزیست اکسایش و آبکافت از مهمترین مکانیسمهای تخریب‌کنندهٔ پلی‌یورتانها بشمار می‌روند.

با توجه به کاربردهای بسیار متنوع پلی‌یورتانها در صنایع

مختلف، دامنه نتایج نامطلوب حاصل از تخریب میکروبی این نوع پلیمرها نیز بسیار گسترده است. این موارد از استهلاک تجهیزات نظامی تا عفونتهای حاصل از استفاده از برش دهنده‌های پلی‌یورتانی در پزشکی را، که بنام عفونتها یا آلودگیهای سطحی پلاستیکی معروف است، در بر می‌گیرد. بنابراین، پایدارسازی این نوع پلیمر در برابر تخریب میکروبی از اهمیت زیادی برخوردار است.

به منظور پایدارسازی پلیمر در برابر عوامل تخریب‌کننده از آن جمله نوع میکروبی، شناخت مکانیسم تخریب میکروبی پلیمر و ارتباط آن با سایر عوامل تخریب‌کنندهٔ زیستی و غیرزیستی، عوامل مؤثر در تعیین سرعت تخریب، روشهای بررسی تخریب و خصوصاً ارتباط ساختار پلیمر با تخریب میکروبی ضروری است.

مهمترین عوامل تخریب کنندهٔ پلیمرها در محیط عبارتند از: اکسایش گرمایی و زیستی، نورکافت، نوراکسایش و نورزیست اکسایش [۱]. در واقع، این طور می‌توان نتیجه گرفت که آنچه موجب تخریب پلیمرها در محیط می‌شود، ترکیبی از عوامل زیست شناختی و شیمیایی است [۲].

اکثر پلیمرهای مصنوعی، نسبت به حملهٔ میکروبی مقاومند و تخریب میکروبی آنها نیز به خواص فیزیکی و شیمیایی مختلف وابسته است. مثلا، پلی‌اتیلن با وزن مولکولی کم، به آسانی تحت تأثیر رشد قارچی قرار می‌گیرد و تخریب میکروبی پلی‌وینیل کلریدهای نوع سخت و نرم یکسان نیست و نوع نرم آن آسانتر تخریب می‌شود. رزین اوره-فرمالدهید نیز به آسانی به وسیله ارگانیسمهای خاک تخریب می‌شود که این خود به خواص فیزیولوژیکی و فعالیتهای آنزیمی ارگانیسم وابسته است.

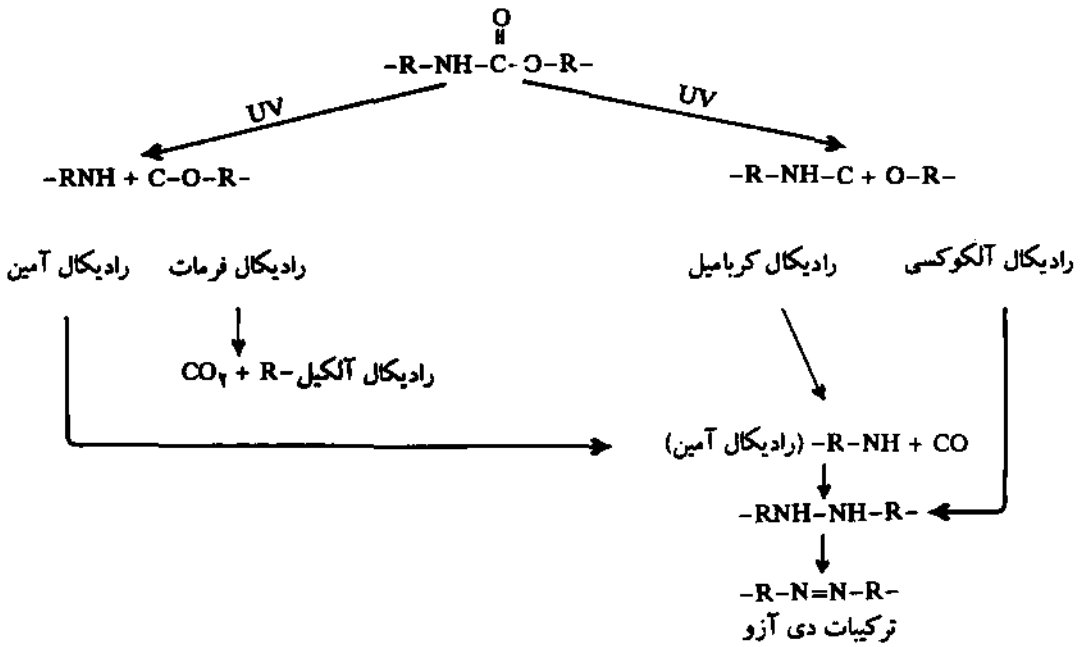
طی آزمایشهایی که کاپلن و داربی انجام دادند [۳]، مشخص شد که پلی‌یورتانهای استری نسبت به حمله میکروارگانیسمها حساس‌اند، درحالی که پلی‌یورتانهای اتری نسبت به آن مقاومت بیشتری دارند. علاوه بر تجزیه میکروبی، فعالیت هیدرولیتیکی آب یا رطوبت روی پیوندهای استری نیز می‌تواند تجزیه پلی‌استر و شکستگی آن را سبب شود. این پژوهشگران ۲۲ پلی‌یورتان اتری و ۳ پلی‌یورتان استری را مورد آزمایش قرار دادند. تمام پلی‌استرها بشدت مورد حمله میکروبی قرار گرفتند، درحالی که اکثر پلی‌اترها نسبت به تخریب مقاومت زیادی داشتند. همچنین، این پژوهشگران ثابت کردند که پلی‌یورتانهای حاصل از دی‌ایزوسیاناتهای خطی (۱،۶- هگزامتیلن - دی‌ایزوسیانات) مقاومتر از پلی‌یورتانهای حاصل از دی‌ایزوسیاناتهای حلقوی‌اند [۳].

یکی از دلایل حساسیت زیاد پلی‌استرپلی‌یورتان، نسبت به حمله میکروبی این است که آنزیمهای استراز تقریباً در بین تمام میکروارگانیسمها عمومیت دارند. همچنین، پیشنهاد شده است که در ساختار پورتانهای اتری که حساسیت متوسطی دارند، حمله آنزیمی تنها زمانی اتفاق می‌افتد که یک زنجیر کربن بدون شاخه و بلند بین پیوندهای یورتان پلیمر گسترش یافته باشد یا سه گروه متیلن در مجاورت یکدیگر قرار گیرند. در شکلهای مقاومتر، کمتر از سه گروه متیلن در کنار هم قرار می‌گیرند. آلکان‌دی‌الهای کوتاهتر و محصولات دی‌ال شاخه‌دار در برابر تخریب میکروبی مقاوم‌اند، زیرا این مواد مانع از برخورد آنزیمها با گروههای حساس می‌شوند [۳]. نتایج بررسیهای مختلف روی خواص فیزیکی و شیمیایی الاستومرهای پلی‌یورتان خصوصاً نوع پلی‌استر آن طی فرایندهای تخریب میکروبی نشان می‌دهد که تجزیه زیست شناختی پلی‌یورتانها اصولاً موجب ایجاد تغییرات شیمیایی در ساختار پلیمر می‌شود [۴].

فیلیپ در سال ۱۹۷۸ تخریب میکروبی اسفنجهای انعطاف‌پذیر پلی‌یورتان با میکروارگانیسمهای خاک را به وسیله طیف‌سنجی زیرقرمز بررسی کرد [۵]. او نشان داد که بعد از قرار دادن اسفنج پلی‌استرپلی‌یورتان با مخلوطی از این میکروارگانیسمها در آنکوباتور به مدت ۳۰ روز، دو پیک ایزوسیانات در نواحی ۲۳۱۵ و ۲۱۲۰ cm^{-1} تقریباً بطور کامل ناپدید می‌شوند و از نوار جذبی قوی ناحیه کربونیل استر و گروههای یورتان در ناحیه ۱۷۱۵ cm^{-1} تنها یک پیک ضعیف باقی می‌ماند. همچنین، مشخص شد که نواحی اوره، آمید، یورتان و ایزوسیانورات 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 طی تخریب میکروبی بررسی کرده [۶] و برای نشان دادن آمینهای آروماتیک آزاد شده درنتیجهٔ آبکافت پلی‌یورتان از روش کروماتوگرافی لایه نازک استفاده کردند. مقدار آمین آزاد شده در دمای محیط ناچیز و جزئی بود، اما در دماهای بالاتر (۵۰ °C) آمینهای آروماتیک در غلظتهای کم تشخیص داده شد. این پژوهشگران پیشنهاد کردند که در دماهای محیط، آمینهای تولید شده به وسیله میکروارگانیسمها مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما در دماهای بالاتر شرایط برای رشد میکروارگانیسمها مساعد نیست و بنابراین، امکان تجمع آمین وجود دارد. در هر حال، پایدارسازی پلیمر در برابر تخریب میکروبی با تغییر و اصلاح ساختار شیمیایی آن یا استفاده از مواد بازدارنده قابل انجام است.

یکی از بازدارنده‌های فیزیکی تخریب میکروبی، پرتوهای فرابنفش است. طول موج این پرتوها در محدوده ۳۲۸-۲۱۰ nm و حداکثر فعالیت باکتری‌کشی آن به طول موج ماکسیمم جذب



طرح ۱ - مکانیسم تخریب پلی‌یورتان به وسیله پرتوهای فرابنفش.

DNA یعنی ۲۶۰ nm نزدیک است. این نکته از این نظر مهم است که DNA هدف پرتوهای فرابنفش قرار می‌گیرد. استفادهٔ عملی از پرتوهای فرابنفش به میزان کشندگی این پرتو روی عواملی مانند مخمرها، کپکها، باکتریها، ریکتسیاها، مایکوپلاسماها و ویروسها وابسته است [۷].

پرتودهی در ناحیه فرابنفش دارای اثر مشابهی بر ارگانیسمهای گرم منفی و گرم مثبت است و دوزکشنده برای اکثر باکتریهای معمولی و غیراسپورزا از ۱۸۰۰ تا $\mu W/cm^2$ ۶۵۰۰ متغیر است. اسپورهای باکتریایی با بیش از ۱۰ برابر آن مقدار کشته می‌شوند [۸].

آلبرتسون و همکاران در سال ۱۹۸۷ طی تحقیقاتشان روی مکانیسم تخریب میکروبی پلی‌اتیلن پیشنهاد کردند که بین نوراکسایش و تخریب میکروبی پلی‌اتیلن اثرگذاری متضاعف وجود دارد [۹]. در ابتدای تخریب، پرتوهای فرابنفش به‌عنوان عامل اکسیدکننده عمل می‌کند و زمانی که گروههای کربونیل حاصل شد، این گروهها به وسیله میکروارگانیسمها که قابلیت تخریب قطعات کوچکتر زنجیرهای پلی‌اتیلن را دارند، مورد حمله قرار می‌گیرد و در پایان کربن دیوکسید و آب حاصل می‌شود. گاجیوسکی و همکاران [۱۰] اثر پرتوفرابنفش را بر پلی‌یورتان چنین توجیه می‌کنند که یکی از دلایل ایجاد تخریب به وسیله پرتوهای فرابنفش تجزیه ناحیهٔ R-NH-CO-O-R در ساختار این پلیمر و ایجاد رادیکالهای آمین، آلکیل و آلکوکسی و در نهایت ترکیبات دی آزو است. در ساختار یاد شده امکان گسستن دو نوع پیوند یعنی N-C و C-O وجود دارد. گسستگی پیوندها در طرح ۱ نشان داده شده است.

البته لازم به ذکر است که مقاومت پلی‌یورتانها نسبت به پرتو فرابنفش نسبتاً خوب است. اغلب آنها به علت قرارگرفتن در معرض نور خورشید تیره و کدر می‌شوند، ولی این موضوع دلیل زوال و نابودی آنها نیست. درصورتی که مقادیر کمی دوده به پلی‌یورتان اضافه گردد، این اثر به کمترین مقدار خود می‌رسد. از طرف دیگر، همان طور که قبلاً نیز اشاره شد، ماکسیمم جذب فرابنفش به وسیله فیلمهای پلی‌یورتان در ناحیه ۳۳۰nm است. بنابراین، احتمال تخریب پلی‌یورتان مورد آزمایش، تحت شرایط موجود در این پژوهش (طول موج برابر ۲۵۳/۷ nm) بسیار کم است.

در این پژوهش، به منظور بررسی تخریب باکتریایی پلیمر یا مهار آن به وسیله پرتوهای فرابنفش از دو روش استفاده شد. در روش اول، بررسی فیزیکی ساختار مولکولی نمونه‌های مورد آزمایش به وسیلهٔ طیف‌سنجی ATR-IR و طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) انجام گرفت. در روش دوم، بررسی فیزیکی ساختار سطحی نمونه‌های مورد آزمایش با میکروسکوپ الکترون پویشی انجام شد.

تجربی

مواد

محیط کشت ماده مغذی آگار (NA)، محیط کشت ماده مغذی برات

(NB)، محیط کشت مینیمم آگار (MA) دارای نیترات آمونیوم (۲ g/L) و آگار آگار (۱۵ g/L) با pH برابر ۷/۴، اتانول ۹۹ درصد، آب اکسیژنه ۳ درصد و پلی‌یورتان به ابعاد ۱۵×۲۰cm به رنگهای زرد و سیاه است.

پلیمر مورد بررسی در این پژوهش، یک سیستم پلی‌اتری پلی‌یورتانی است که در صنایع نظامی کاربرد دارد و از نوع سوخت جامد مرکب پلی‌یورتان - آمونیوم پرکلرات است که در آن پلی‌یورتان به عنوان پیوند دهنده و بافت اصلی، بلورهای اکسیدکنندهٔ آمونیوم پرکلرات را در برمی‌گیرد.

سوخت جامد مرکب پلی‌یورتان - آمونیوم پرکلرات از دو جزء تشکیل یافته است:

- سیستم پیوند دهنده پلی‌یورتانی، که از پلی‌اکسی‌پروپیلن گلیکول (PPG) و عامل شبکه‌ای کننده گلیسرول مونوریسینولئات (GMRO) و عامل پخت تولوئن دی‌ایزوسیانات (TDI) تشکیل شده است.

کاتالیزور مصرف شده فریک استیل استونات (FAA) است. مخلوط کردن مستقیم این سه جزء در کنار کاتالیزور FAA موجب تولید یک شبکه سه بعدی یورتانی می‌شود.

- عامل اکسید کننده، این عامل از نوع آمونیوم پرکلرات است. این نمک پر مصرف‌ترین اکسیدکننده بلوری در سوختهای جامد است. وزن مولکولی آمونیوم پرکلرات ۱۱۷/۵، چگالی آن $1/95\ g/cm^3$ و ظرفیت اکسیژن آن ۳۴ درصد است.

باکتریهای مورد آزمایش

سودوموناس آئروژینوزا، سودوموناس پوتیدا، نوکاردیا بروی کاتنا، کورینه باکتریوم فلاوی سنس، کورینه باکتریوم پرمتابولوم، بروی باکتریوم دیواریکاتوم، میکروکوکوس رزئوس، میکروکوکوس نوتوس.

دستگاهها

برای بررسی ساختار محصولات تخریب از طیف‌سنج FTIR-ATR مدل IFA-۸۸ ساخت آلمان استفاده شده است. عکسهای SEM به کمک میکروسکوپ الکترونی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه شد.

برای بررسی اثر پرتوهای فرابنفش از کابینت ایمنی با جریان آرام هوا که دارای دو لامپ جرمیسیدال (Jermicidal) الکتریکی معمولی بوده، استفاده شده است. طول موج پرتو حاصل از لامپ فوق ۲۵۳/۷ nm و درضمن توان هر لامپ ۳۰ W و شدت هرکدام $76\ \mu W/cm^2 s$ است. بنابراین، شدت کل پرتوهای فرابنفش موجود در این جریان آرام $152\ \mu W/cm^2 s$ است.

روشها

بررسی اثر پرتوهای فرابنفش بر رشد باکتریهای مورد آزمایش

در این پژوهش اثر پرتوهای فرابنفش به دو روش بررسی شد. در یک روش mL ۰/۱ تعلیق باکتریایی دارای 10^7-10^8 cfu/mL (بر طبق استاندارد مک فارلن) پس از سانتریفوژ و شستشو مستقیماً در معرض پرتوهای فرابنفش قرار گرفت. در روش دیگر پلیتهای آگار مغذی دارای mL ۰/۱ از تعلیق باکتریایی دارای همان تعداد باکتری روش اول (10^7-10^8 cfu/mL) در معرض پرتوهای فرابنفش قرار گرفت.

زمانهای بررسی برای پرتودهی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۵۵ و ۶۰ دقیقه درنظر گرفته شد.

روش محاسبه ضریب حساسیت

برای محاسبه ضریب حساسیت باکتریها نسبت به پرتوهای فرابنفش از معادله زیر استفاده شده است [۱۱]:

$$S_{UV} = \frac{\ln[(cfu)d/(cfu)^*]}{d}$$

که در آن (cfu)d برابر میانگین شمارش کلنی نمونه بعد از قرار گرفتن در معرض شدت خاصی از UV و *(cfu) برابر میانگین شمارش کلنی نمونه شاهد (در همان حجم از نمونه عمل‌آوری شده) و d برابر شدت پرتوهای فرابنفش (برحسب $\mu W/cm^2 s$) است که به وسیله آن باکتری عمل‌آوری شده است. درضمن، با استفاده از فرمول زیر:

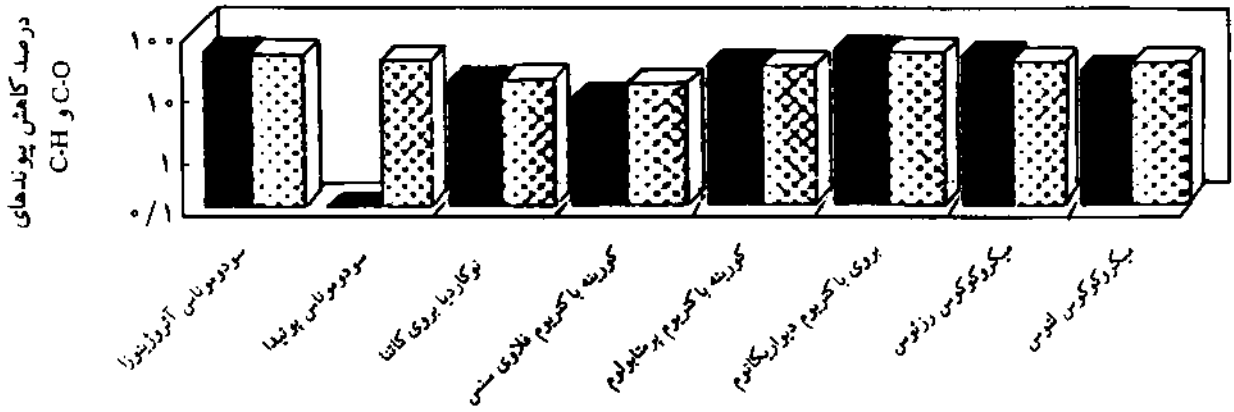
$$K = It$$

می‌توان دوز پرتوهای فرابنفش لازم را برای از بین بردن باکتریهای مورد آزمایش (K) محاسبه کرد. در فرمول فوق، I شدت پرتوهای فرابنفش و t مدت زمان لازم برای انهدام کامل میکروارگانیسم مورد آزمایش است.

بررسی اثر پرتوهای فرابنفش بر جلوگیری از تخریب باکتریایی پلی‌یورتان

در این مرحله، قطعات پلیمر در محیط کشت مینیمم آگار آزمایش شد. همچنین، اثر پرتوهای فرابنفش در مهار تخریب باکتریایی پلیمر به وسیله هرگونهٔ باکتری مورد آزمایش (پلیمر تحت تاثیر توأم باکتری مورد نظر و پرتوهای فرابنفش) بررسی شد. مطالعه پلیمر تحت اثر باکتری مورد نظر (به‌تنهایی) و پرتوهای فرابنفش (به‌تنهایی) و پلیمری که هیچ نوع عمل‌آوری روی آن انجام نشده بود (پلیمر شاهد) نیز لازم و ضروری به نظر می‌رسید.

به ازای هر پلیت مینیمم آگار که دارای mL ۲۵ محیط بود، g ۲



درصد کاهش C-O	۴۹	۰	۱۴/۵	۷/۳	۲۷	۴۶	۳۷/۸	۲۱/۱
درصد کاهش C-H	۴۴	۳۴	۱۵/۴	۱۲/۸	۲۵	۴۳/۶	۳۰	۲۸/۲

■ درصد کاهش C-O
□ درصد کاهش C-H

شکل ۱ - بررسی تخریب باکتریایی پلی‌یورتان براساس طیفهای IR پلیمر تخریب یافته.

پلیمر در آن قرار گرفت که این نسبت در واقع ۸ درصد (وزن به حجم) است. در مورد قطعات cm ۱/۰×۲×۲ ، سه قطعه پلیمر و در مورد قطعات cm ۳/۰×۱×۵ ، دو قطعه پلیمر g ۲ وزن داشت.

برای بررسی ساختار مولکولی، پس از استریلیزه کردن سطحی، بسته‌بندی و خشک کردن قطعات پلیمر در دمای $50^{\circ}C$ (به‌مدت ۲۴ ساعت)، طیف IR هریک از قطعات پلیمر (با توجه به عمل‌آوری موردنظر و مشخص شده روی هر بسته) به کمک دستگاه FTIR تهیه شد. بجز مرحله اول آماده‌سازی قطعات پلیمر، کلیه مراحل این روش در مرکز تحقیقات مهندسی جهاد سازندگی تهران انجام گرفت.

از میکروسکوپ الکترون پویشی به منظور بررسی مهار رشد باکتری روی پلیمر به وسیله پرتودهی پرتوهای فرابنفش استفاده شد. کلیه مراحل آماده‌سازی قطعات پلیمر همانند روش ATR-IR بود، با این تفاوت که پس از استریلیزه کردن سطحی، قطعات بسته‌بندی و خشک شدند. درضمن، ابعاد قطعات بریده شده در این روش cm ۳/۰×۵/۰×۵/۰ یا cm ۱/۰×۵/۰×۵/۰ بود.

برای مشاهده قطعات پلیمر، ابتدا نمونه در دستگاه خشک‌کن در نقطه بحرانی CO_2 خشک و سپس پوشش‌دهی شد [۱۲].

نتایج

بررسی تخریب باکتریایی پلی‌یورتان

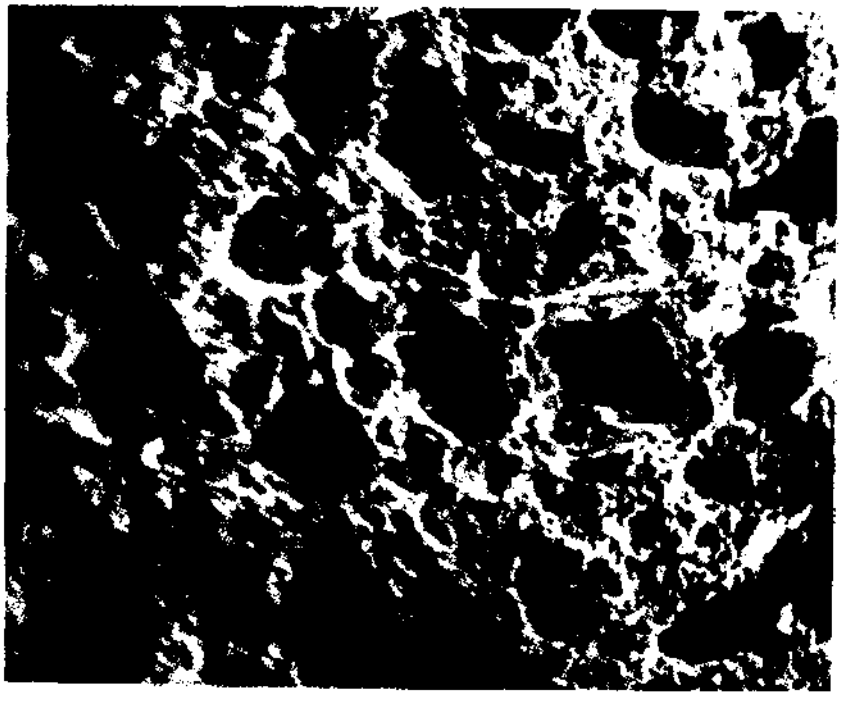
بطورکلی، باکتریهای مورد آزمایش از نظر تأثیر بر ساختار مولکولی پلی‌یورتان مطابق شکل ۱ به ۴ دسته تقسیم می‌شوند [۱۳]:

دسته اول باکتریهایی که پس از یک ماه قرار گرفتن در آنکوباتور در دمای $25^{\circ}C$ بر نواحی مختلف ساختار مولکولی پلیمر اثر می‌گذارند. به عبارت دیگر، رشد این باکتریها روی پلی‌یورتان، موجب کاهش پیکهای جذبی C-O و C-H در تمام نواحی به میزان کم و بیش یکسان می‌شود. این باکتریها عبارتند از: سودوموناس آئروژینوزا و بروی باکتریوم دیواریکاتوم با اثر تخریب کنندگی نسبتاً شدید در کلیه نواحی پلیمر و کورینه باکتریوم پرمتابولوم و میکروکوکوس لوتوس با اثر تخریبی کمتر در کلیه نواحی پلیمر تقریباً بطور یکسان.

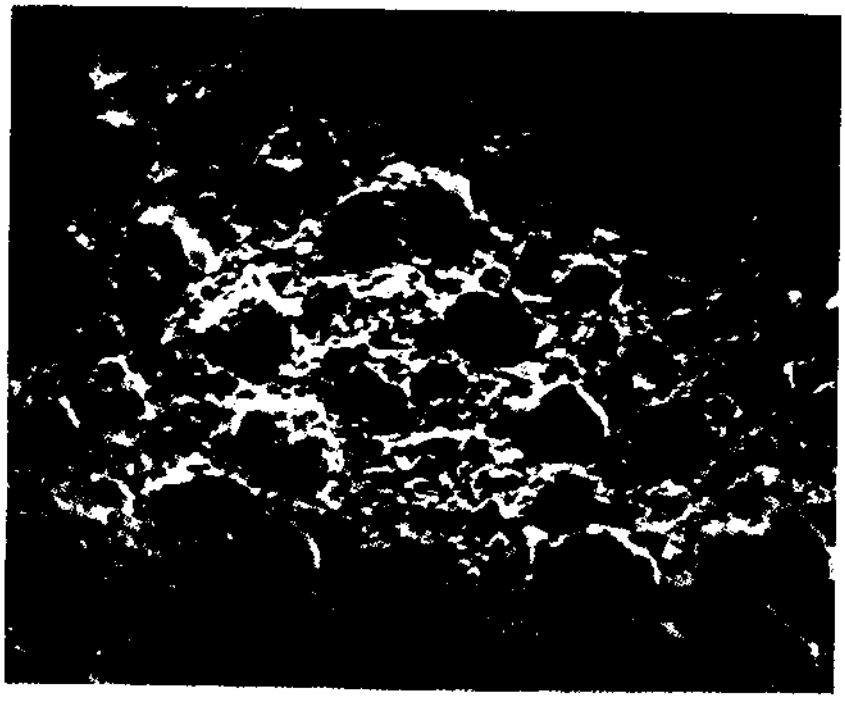
عکس میکروسکوپ الکترون پویشی (شکل ۲) مربوط به اثر باکتری سودوموناس آئروژینوزا (پس از ۳ ماه قرار گرفتن در آنکوباتور) بر ساختار سطحی پلیمر است که افزایش قطر منافذ پلیمر نسبت به پلیمر شاهد را نشان می‌دهد (شکل ۳) این عکس تا حدودی تأییدکننده طیف IR نمونه‌برداری از باکتری یاد شده (تخریب در کلیه نواحی ساختار مولکولی پلیمر) است، اما تأیید قطعی مسئله نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه دارد.

دسته دوم باکتریهایی است که پس از یک ماه قرار گرفتن در آنکوباتور در دمای $25^{\circ}C$ در ناحیه C-O پلی‌یورتان، بیش از ناحیهٔ C-H مؤثرند. به عبارت دیگر، در طیف IR مربوط به رشد باکتریهای یاد شده روی پلی‌یورتان، درصد کاهش پیک در ناحیهٔ C-O بیش از ناحیهٔ C-H است.

باکتری میکروکوکوس رزئوس در این گروه قرار می‌گیرد و باکتری سودوموناس آئروژینوزا، علاوه بر گروه اول، در این گروه نیز می‌تواند قرار گیرد. البته، اختلاف درصد کاهش پیک مربوط به



شکل ۲ ـ عکس میکروسکوپی سطح نمونه پلیمر با باکتری سودوموناس آئروژینوزا با بزرگنمایی ۱۰۰، مدت قرار گرفتن در آنکوباتور سه ماه، دما ۲۵°C، نوع پلیمر سیاه، نوع محیط کشت MA.



شکل ۳ ـ عکس میکروسکوپی سطح نمونه پلیمر شاهد پس از استرلیزه کردن سطحی با بزرگنمایی ۱۰۰، مدت قرار گرفتن در آنکوباتور ۳ ماه، دما ۲۵°C، نوع پلیمر سیاه، نوع محیط کشت MA.

جدول ۱ - بررسی مقایسه‌ای نتایج شمارش کلنی مربوط به اثر پرتوهای فرابنفش در زمانهای مختلف روی باکتریهای مورد آزمایش و ضریب حساسیت باکتریها نسبت به پرتوهای فرابنفش.

زمان پرتودهی (دقیقه) / نوع باکتری	۵		۱۰		۱۵		۲۰		۳۰		۴۰		۵۰	
	میانگین	S_{UV}	میانگین	S_{UV}	میانگین	S_{UV}	میانگین	S_{UV}	میانگین	S_{UV}	میانگین	S_{UV}	میانگین	S_{UV}
سودوموناس آئروژینوزا	$۷/۱۲۵\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۱۷۲	$۲/۹۵\times۱۰$	۰/۰۵۲	۲/۵	-۰/۰۶۹	۰/۵	-۰/۰۸	۰	-	۰	-	۰	-
سودوموناس پوتیدا	$۱/۰۶\times۱۰$	-۰/۰۶	۰/۲۲۲	-۰/۰۸	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-
نوکاردیا بروی کاتنا	غیرقابل‌شمارش	-	$۱/۹۵\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۴	$۹/۶۷\times۱۰$	-۰/۰۵	۴/۷۵	-۰/۰۶۵	۱/۵	-۰/۰۷	۰	-	۰	-
کورینه باکتریوفلاوی‌سنس	$۵/۲\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۲	$۱/۰۶\times۱۰$	-۰/۰۶	۰/۲۲۲	-۰/۰۸	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-
کورینه‌باکتریوم پرمتابولوم	$۶/۰۳۲\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۱۸	۲×۱۰^{۲}	-۰/۰۲۸	۱۰۶×۱۰	-۰/۰۶	-۰/۲۲۲	-۰/۰۸	۰	-	۰	-	۰	-
بروی باکتریوم دیواریکاتوم	$۷/۵۶\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۱۱	$۲/۸۶۶\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۲۸	$۱/۹۶\times۱۰$	-۰/۰۵۶	۱	-۰/۰۷۵	۰	-	۰	-	۰	-
میکروکوکوس رزئوس	$۱/۸۲۵\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۲۶	$۱/۸\times۱۰^{۲}$	-۰/۰۴	۲۰۷×۱۰	-۰/۰۵	$۱/۴۷\times۱۰$	-۰/۰۵۷	۷/۷۵	-۰/۰۶	۲/۷۵	-۰/۰۶۶	۰/۷۵	-۰/۰۷۷
میکروکوکوس لوتوس	غیرقابل‌شمارش	-	$۲/۸\times۱۰$	-۰/۰۵	۲/۷۵	-۰/۰۶۵	۱/۲۵	۰/۰۷۲	۰	-	۰	-	۰	-

* از آنجا که زمانهای پرتودهی ۵۵ و ۶۰ دقیقه مرگ کلیه میکروارگانیسمهای مورد بررسی را باعث شده، نتایج این زمانها در جدول نیامده است.

پیوندهای C-O و C-H در مورد این باکتری کمتر از اختلاف درصد کاهش پیک دو پیوند مربوط به اثر رشد باکتری میکروکوکوس رزئوس است.

دسته سوم باکتریهایی است که در ناحیهٔ C-H پلی‌یورتان بیش از ناحیه C-O مؤثرند. درصد کاهش پیک در ناحیه C-H، در اثر رشد باکتریهای یاد شده، بیش از درصد کاهش پیک در ناحیهٔ C-O است. در مورد باکتریهای مورد آزمایش، تنها باکتری سودوموناس پوتیدا (که به مدت یک ماه در دمای $۲۵^{\circ}C$ در آنکوباتور قرار گرفته است) این حالت را نشان می‌دهد. باکتری سودوموناس آئروژینوزا روی پلی‌یورتان، که در دمای $۴۵^{\circ}C$ بمدت ۴ ماه در اتو قرار گرفته بود، نیز روی پیوند C-H، بیش از پیوند C-O مؤثر است.

با توجه به زیاد بودن انرژی C-H نسبت به C-O این نتیجه بسیار جالب توجه است، ولی بهرحال برای تایید قطعی، تحقیقات بیشتر و استفاده از امکانات دستگاهی مجهزتر لازم است.

دسته چهارم باکتریهایی هستند که همانند گروه اول بر کلیه نواحی ساختار مولکولی پلیمر مؤثرند، اما درصد اثر آنها بر پلی‌یورتان نسبتاً کم است. باکتریهای نوکاردیا بروی کاتنا و کورینه باکتریوم فلاوی سنس (که در دمای $۲۵^{\circ}C$ و به مدت یک ماه در آنکوباتور قرار گرفته است) در این گروه قرار می‌گیرند.

اثر پرتوهای فرابنفش بر باکتریهای مورد آزمایش

جدولهای ۱ و ۲ و شکل ۴ نتایج مربوط به اثر پرتوهای UV بر باکتریهای مورد آزمایش را نشان می‌دهند.

با توجه به جدولها و نمودار یاد شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در بین باکتریهای مورد آزمایش، باکتری سودوموناس پوتیدا حساسترین و باکتری میکروکوکوس رزئوس مقاومترین باکتری در برابر پرتوهای فرابنفش (با طول موج ۲۵۳/۷ nm و شدت $۱۵۲\mu W/cm^{2}s$) است.

اثر پرتوهای فرابنفش بر ساختار مولکولی پلی‌یورتان

اثر پرتوهای فرابنفش (با همان طول موج و شدت و مدت زمان پرتودهی یک ساعت) در نواحی C-H و C-O کم است (در C-H کمی بیشتر از C-O است).

پژوهشگران در تحقیقات خود نشان دادند که پلی‌یورتانهای حاصل از ایزوسیاناتهای آروماتیک نسبت به واکنشهای تخریب نورشیمیایی، مقاومترند [۱۴]. این نوع پلی‌یورتانها وقتی که به مدت طولانی در معرض پرتوهای فرابنفش قرار گیرند، این عامل در ساختارهای مختلف پلی‌یورتان (یورتانها، اوره‌ها، آلوفاناتها، بی‌اوره‌ها، استرها و اترها) و گروههای مختلف آن (NCO، $NH_{۲}$، COH) در مجاورت اکسیژن یا بدون آن، موجب زرد شدن و شکسته شدن پیوندهای عرضی پلیمر می‌شود.

ماکسیمم جذب پرتوهای فرابنفش به وسیله پیوندهای ۴،۲ و ۶،۲ - تولوئن دی‌ایزوسیاناتها به ترتیب در نواحی ۲۷۱ و ۲۸۳ nm است. فیلمهای پلی‌یورتان حاصل از ۴،۲ - و ۶،۲ - تولوئن دی‌ایزوسیانات در ناحیهٔ ۳۱۵ nm پرتوهای فرابنفش را بطور قوی و در نواحی ۳۷۰-۳۱۵ nm بطور ضعیف جذب می‌کنند. ماکسیمم جذب پرتوهای فرابنفش به وسیله فیلمهای پلی‌یورتان در ناحیه ۳۳۰ nm است، درحالی که ماکسیمم جذب پرتوهای فرابنفش به وسیله مونومردی‌یورتان در ۳۰۸ و ۳۱۰ nm است. دلیل این اختلاف احتمالاً به پیوندهای هیدروژنی قوی در پلیمر مربوط می‌شود.

در این پژوهش، با توجه به نتایج تحقیقات بالا و موارد زیر تاثیر

جدول ۲ - دوز پرتوهای فرابنفش جهت غیرفعالسازی کامل باکتریهای مورد آزمایش.

باکتری	دوز پرتوهای فرابنفش (W/cm^2)
سودوموناس آئروژینوزا	۰/۲۷۳۶
سودوموناس پوتیدا	۰/۱۳۶۸
نوکاردیابروی کاتتا	۰/۳۶۴۸
کورینه باکتریوم فلاوی سنس	۰/۱۸۲۴
کورینه باکتریوم پرمتابولوم	۰/۲۷۳۶
بروی باکتریوم دیواریکاتوم	۰/۲۷۳۶
میکروکوکوس رزئوس	۰/۵۴۷۲
میکروکوکوس لوتوس	۰/۲۷۳۶

کم پرتوهای فرابنفش بر پلی‌یورتان دور از انتظار نیست:

- پلی‌یورتان مورد آزمایش از نوع پلی‌یورتانهایی با پایهٔ ایزوسیاناتهای آروماتیک است،
- طول موج پرتوهای فرابنفش که پلیمر در معرض آن قرار گرفت ۲۵۳/۷ nm و مدت زمان پرتودهی کم و تنها ۱ ساعت بود.

اثر پرتوهای فرابنفش در مهار رشد باکتریهای مورد نظر روی پلی‌یورتان

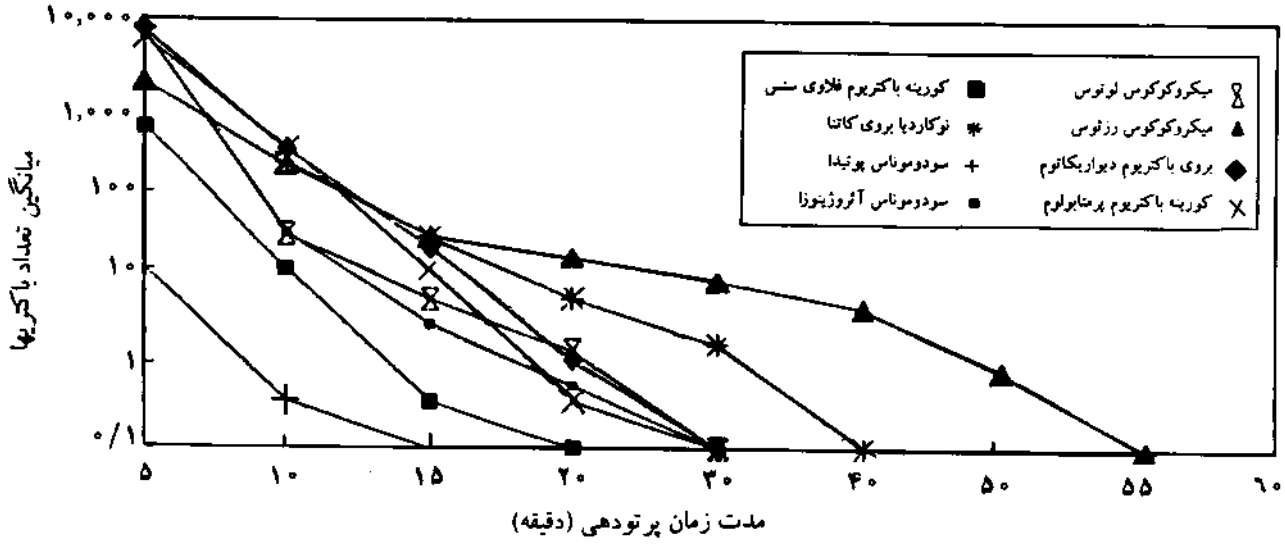
شکلهای ۵ تا ۸ و جدول ۳ نشان می‌دهد که پرتودهی در ناحیه فرابنفش با طول موج ۲۵۳/۷ nm، شدت ۱۵۲$\mu W/cm^2 s$ و مدت زمان پرتودهی ۱ ساعت آثار زیر را در مهار رشد باکتریها دارد:

- رشد باکتریهای سودوموناس پوتیدا، نوکاردیا بروی کاتتا و میکروکوکوس رزئوس را روی پلی‌یورتان بطور کامل مهار می‌کند و بدین وسیله از تخریب پلیمر به وسیله باکتریهای یاد شده جلوگیری به عمل می‌آورد،
- رشد باکتریهای کورینه باکتریوم فلاوی سنس و میکروکوکوس لوتوس را روی پلی‌یورتان بطور نسبتاً کامل مهار می‌کند و
- رشد باکتریهای سودوموناس آئروژینوزا، کورینه باکتریوم پرمتابولوم و بروی باکتریوم دیواریکاتوم را تا حدودی و نه بطور کامل مهار می‌کند.

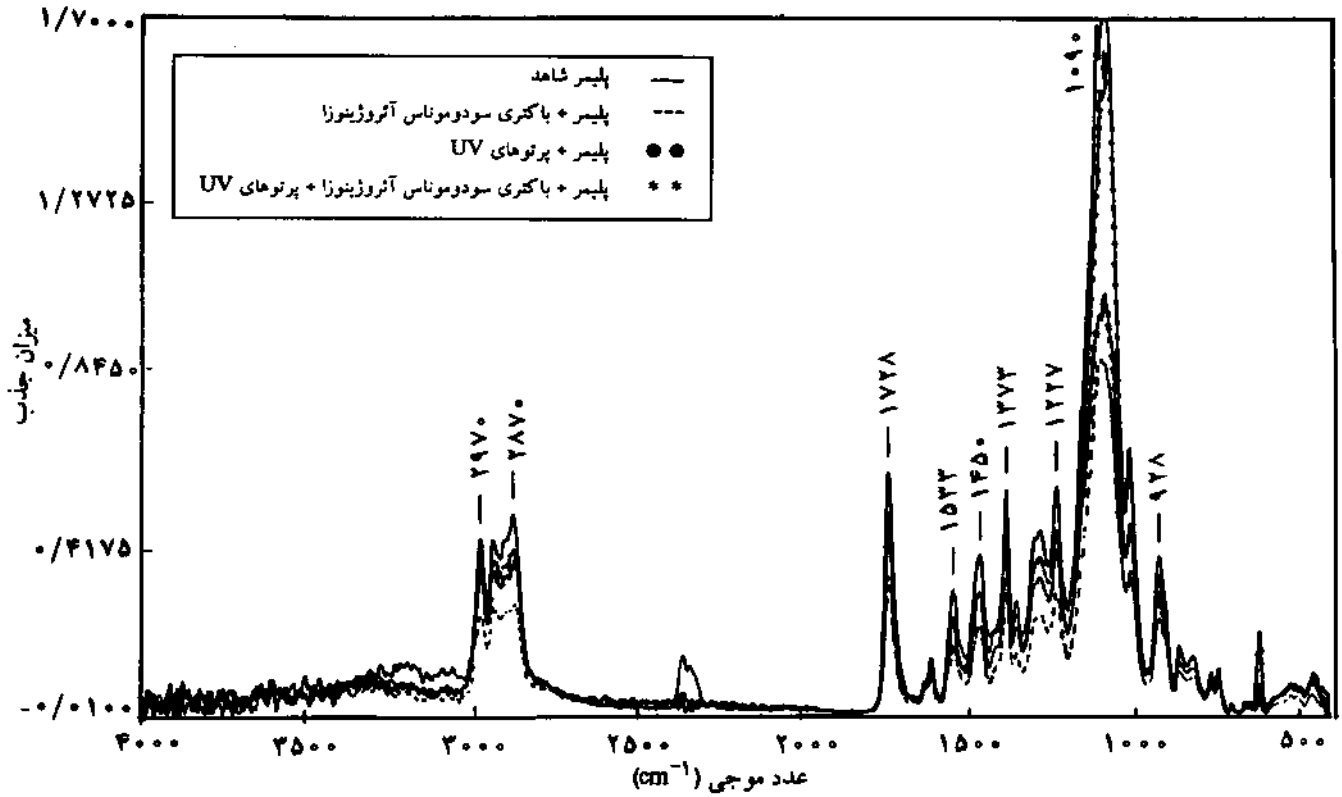
مهار نسبتاً متوسط باکتریهای حالت مورد اخیر در محیط MA و در مجاورت پلی‌یورتان، در شرایط یک ساعت پرتودهی در ناحیه فرابنفش با مهار کامل باکتریهای یاد شده در عرض حداکثر ۳۰ دقیقه پرتودهی در این ناحیه در محیط NA، مغایرت دارد.

از آنجاکه در این پژوهش، تعلیق باکتریهای مورد آزمایش، پس از قرار گرفتن روی پلی‌یورتان، به کمک پرتودهی در ناحیه فرابنفش عمل‌آوری شدند، یکی از دلایل احتمالی مغایرت دو مورد فوق، نفوذ بیشتر باکتریهای سودوموناس آئروژینوزا، کورینه باکتریوم پرمتابولوم و بروی باکتریوم دیواریکاتوم نسبت به سایر باکتریهای مورد آزمایش به داخل ماتریس پلیمر، قبل از عمل‌آوری بوسیله پرتوهای فرابنفش و همچنین، عدم نفوذ پرتوهای فرابنفش به داخل ماتریس پلیمر است (پرتوهای فرا بنفش یک استریل کنندهٔ سطحی است).

دلیل احتمالی دیگر این مغایرت اثرگذاری مضاعف اکسایش حاصل از پرتوهای فرابنفش و تخریب میکروبی حاصل از باکتریهای یاد شده است.



شکل ۴ - بررسی اثر پرتودهی در ناحیه فرابنفش بر باکتریهای مورد آزمایش.



شکل ۵- بررسی اثر پرتوهای UV در جلوگیری از تخریب میکروبی پلی‌یورتان به وسیله باکتری سودوموناس آئروژینوزا (مدت قرار گرفتن در آنکوباتور ۱ ماه، دما $25^{\circ}C$، نوع پلیمر زرد و نوع محیط کشت MA).

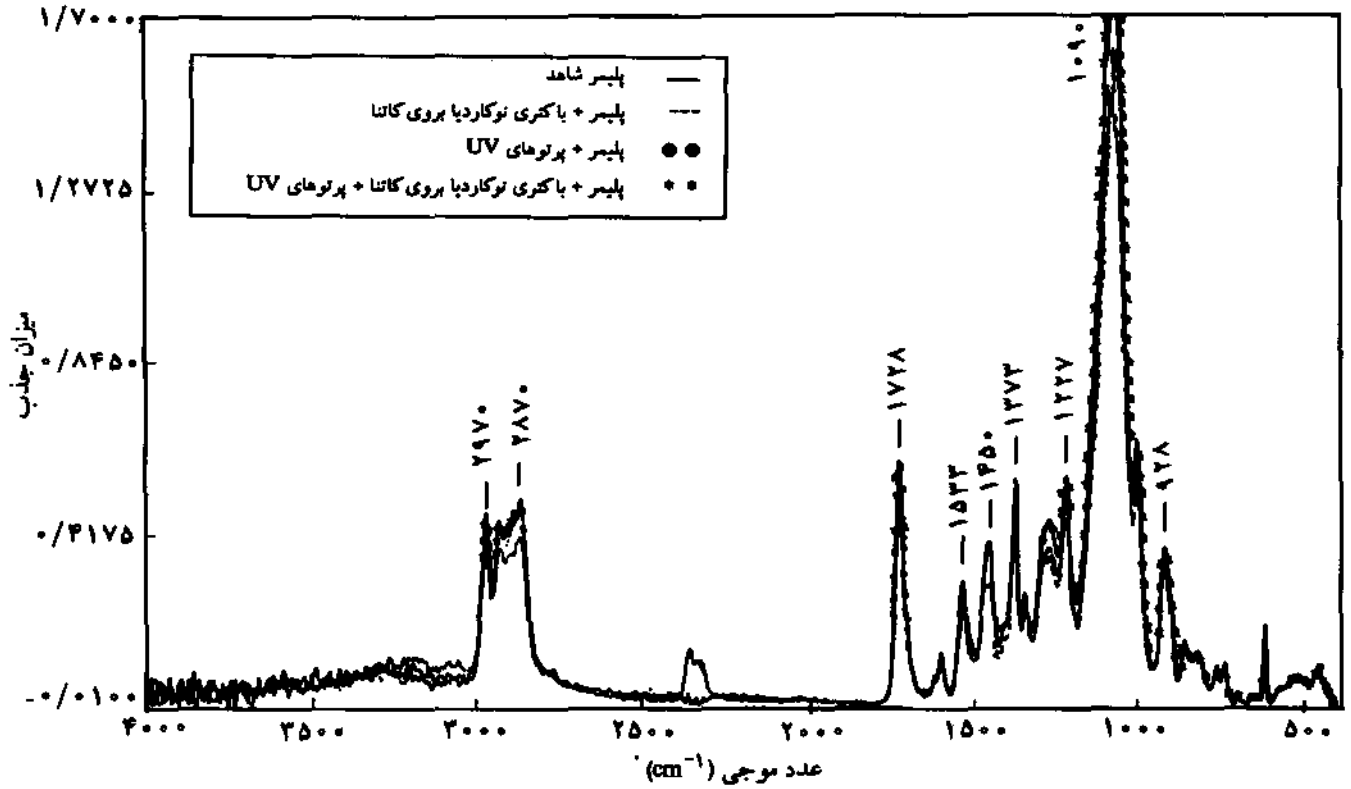
بحث

پاتیرانا و سیل ضمن تحقیق روی تغییرات خواص شیمیایی پلی‌یورتان درنتیجهٔ تخریب میکروبی، که به وسیله طیف‌سنجی IR و کروماتوگرافی لایه نازک انجام گرفت، پیشنهاد کردند که آبکافت پلی‌یورتان موجب تولید دی‌اسیدها، دی‌آمینها و دی‌الکلها می‌شود. دی‌اسیدها و دی‌الکلها درنتیجه آبکافت پلی‌استر و دی‌آمینها در اثر آبکافت واحدهای یورتان حاصل می‌شوند [۱۵].

ظاهر شدن یک پیک کربونیل در ناحیه $1685\ cm^{-1}$ طی تخریب، نشان‌دهندهٔ ایجاد گروههای کربوکسیل است. کاهش

جدول ۳- اثر باکتریهای مورد آزمایش بر ساختار مولکولی پلی‌یورتان [۱۳].

کاهش جذب و نسبت آنها / باکتری	پلیمر + باکتری			پلیمر + باکتری + UV		
	درصد C-O	درصد C-H	C-O/C-H	درصد C-O	درصد C-H	C-O/C-H
سودوموناس آئروژینوزا	۴۹	۴۴	۱/۱۱	۲۹	۲۲	۱/۷
سودوموناس پوتیدا	۰	۳۴	-	۲	۰	-
نوکاردیابروی‌کاتنا	۱۴/۵	۱۵/۴	۰/۹۴	۰	۰	-
کورینه باکتریوم فلاوی‌سنس	۷/۲	۱۲	۰/۶	۲۳	۱۹	۱/۲
کورینه باکتریوم پرمتابولوم	۲۷	۲۵	۱/۰۸	۷	۱۰	۰/۷
بروی‌باکتریوم دیواریکاتوم	۴۶	۴۴	۱/۰۵	۵	۱۹/۵	۰/۲۶
میکروکوکوس رزئوس	۲۸	۲۰	۱/۲۶	۰/۷	۷/۵	۰/۰۹
میکروکوکوس لوتوس	۲۱	۲۸	۰/۷۵	۲۸	۲۲/۵	۱/۲



شکل ٦ - بررسی اثر پرتوهای UV در جلوگیری از تخریب میکروبی پلی‌یورتان به وسیله باکتری نوکاردیا بروی کاتنا (مدت قرار گرفتن در آنکوباتور ۱ ماه، دما ۲۵°C، نوع پلیمر زرد و نوع محیط کشت MA).

نسبی پیک 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 تعداد پیوند C-H طی تخریب میکروبی نشان‌دهندهٔ کاهش گروههای دی‌اسید و دی‌الکل از پلیمر است که این خود بر آبکافت ناحیهٔ پلی‌استرپلی‌یورتان دلالت می‌کند.

تمام نتایج تحقیقات یادشده خصوصاً کاهش نسبی تعداد پیوند C-H پلی‌یورتان طی تخریب میکروبی با نتایج اثر باکتریهای مورد آزمایش روی خواص شیمیایی پلی‌یورتان تا حد زیادی مطابقت دارد.

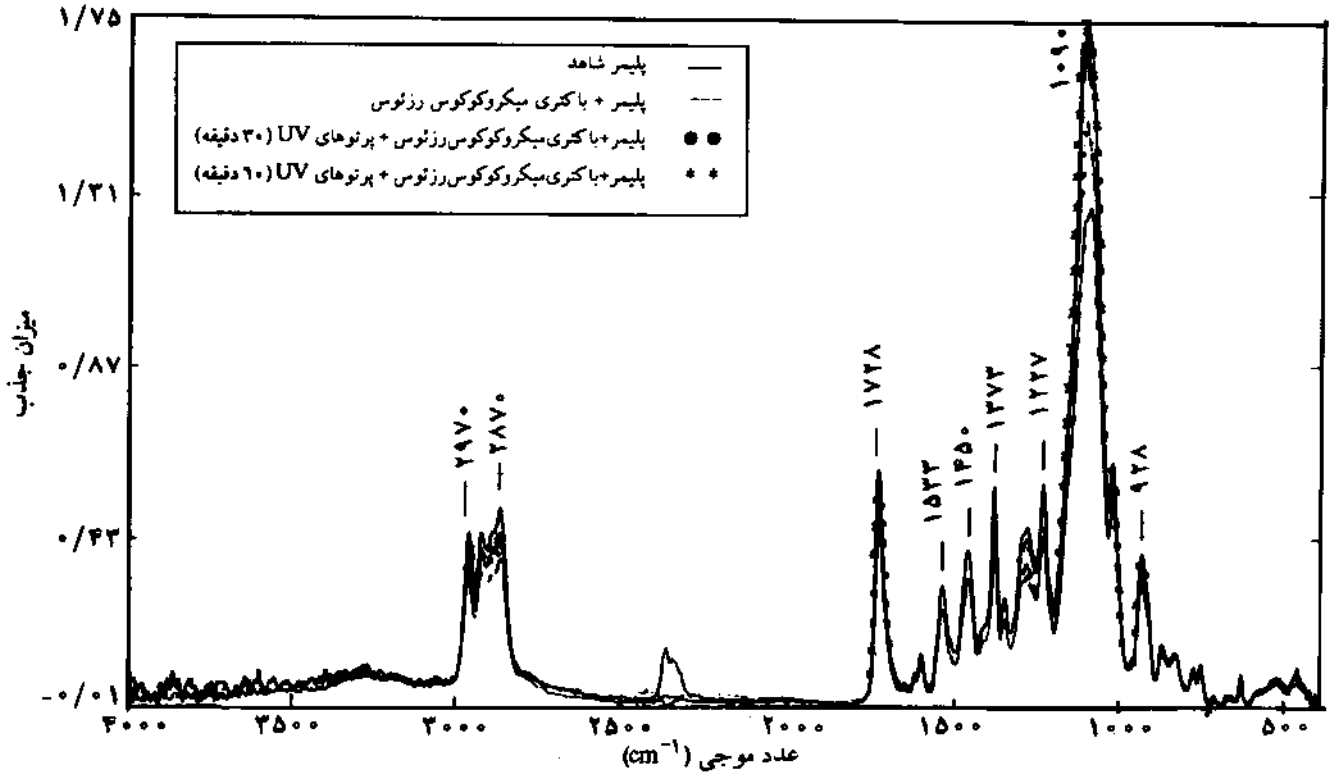
رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا (در ۲۵°C به مدت ۱ ماه) روی پلی‌یورتان، اثر تخریب‌کنندگی خود را در کلیه نواحی پلیمر اعمال می‌کند. اثر مهارکنندگی پرتودهی در ناحیه فرابنفش با دوز ۰/۵۵ W/cm^2 در این مورد نسبتاً خوب است.

اثر مهار پرتودهی در ناحیه فرابنفش بر پیوند C-H بیش از C-O است، به عبارت دیگر اثر پرتوهای فرابنفش بر تعلیق باکتریایی سودوموناس آئروژینوزا کاهش جذب پیک C-O را بیش از C-H سبب می‌شود.

با وجود اینکه پرتودهی در ناحیه فرابنفش با طول موج ۲۵۳/۷ nm به مدت ۳۰ دقیقه، در محیط NA قادر است باکتری فوق را کاملاً از بین ببرد، عدم مهار کامل رشد آن روی پلی‌یورتان به وسیله یک ساعت پرتودهی در ناحیه فرابنفش را می‌توان به یکی از دلایل احتمالی زیر مربوط دانست:

- نفوذ باکتری به داخل ماتریس پلیمر قبل از قرار گرفتن در معرض پرتو فرابنفش،
- اثر گذاری مضاعف باریکه پرتودهی در ناحیه فرابنفش و تخریب میکروبی باکتری سودوموناس آئروژینوزا با وجود اثر این پرتوها بر پلی‌یورتان (به تنهایی).

رشد باکتری سودوموناس پوتیدا روی پلی‌یورتان (در شرایط ۲۵°C و بمدت ۱ ماه در آنکوباتور)، کاهش جذب پیک C-H را بطور قابل ملاحظه‌ای بیش از پیک C-O سبب می‌شود. با توجه به زیاد بودن انرژی پیوند C-H، تأیید قطعی نتیجه فوق به تحقیقات و امکانات بیشتری نیاز دارد. با وجود اینکه شکسته شدن پیوند C-H به وسیله باکتری سودوموناس پوتیدا قابل توجه است، اما پرتودهی در ناحیه فرابنفش (با دوز ۰/۵۵ W/cm^2) از تخریب به وسیله این باکتری، بطور



شکل ۷- بررسی اثر پرتوهای UV در جلوگیری از تخریب میکروبی پلی‌یورتان به وسیله باکتری میکروکوکوس رزئوس (مدت قرار گرفتن در آنکوباتور ۶۰ ماه، دما ۲۵°C، نوع پلیمر زرد و نوع محیط کشت MA).

کامل جلوگیری می‌کند.

تخریب پلی‌یورتان با باکتری نوکاردیا بروی کاتنا (در شرایط ۲۵°C و بمدت ۱ ماه در آنکوباتور) نسبتاً کم است، اما همین مقدار نیز به وسیله پرتودهی در ناحیه فرابنفش (دوز ۰/۵۵ W/cm^2) بطور کامل مهار می‌گردد.

اثر تخریب باکتری کورینه باکتریوم فلاوی سنس بر پلی‌یورتان نسبتاً کم است. البته پرتودهی در ناحیه فرابنفش با همان دوز رشد این باکتری را روی پلیمرپلی‌یورتان مهار می‌کند.

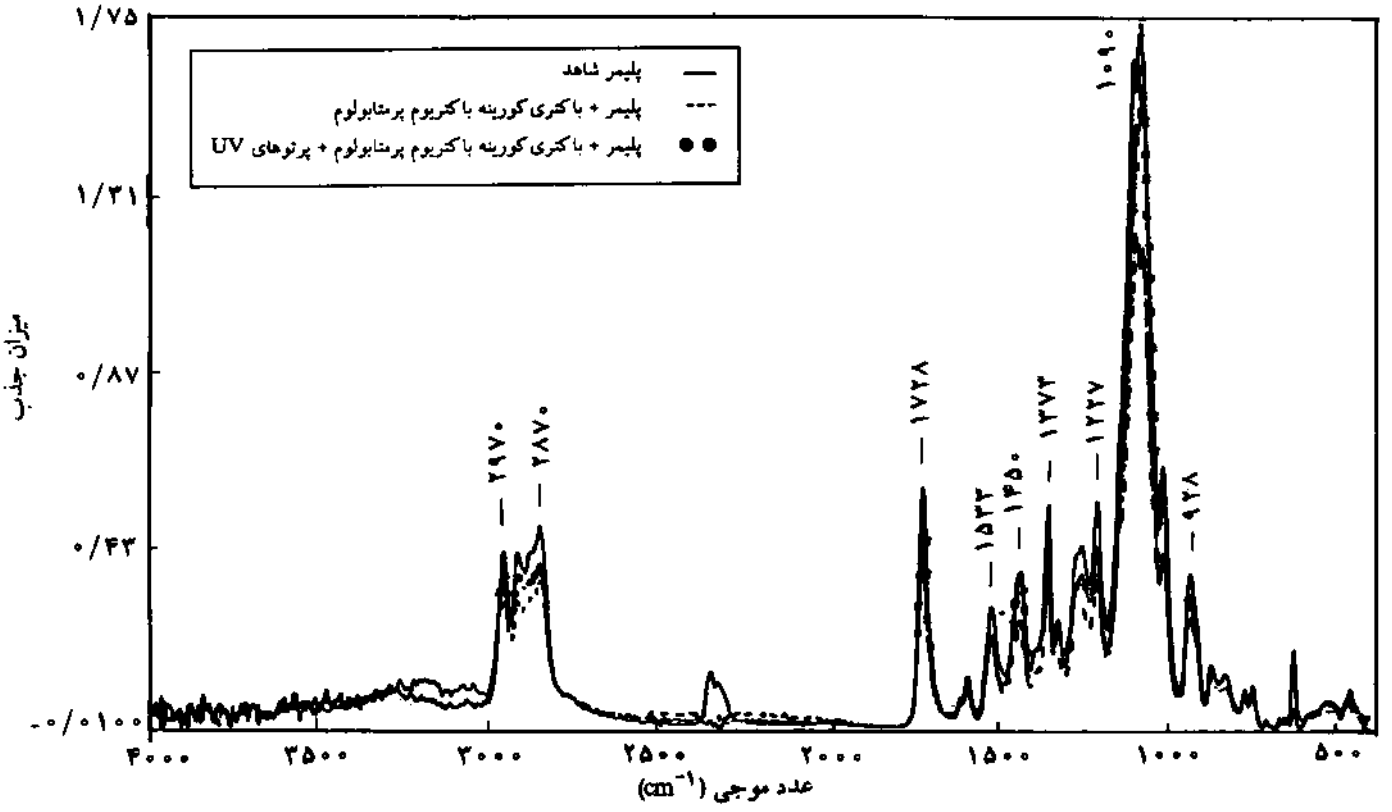
تخریب پلی‌یورتان به وسیله باکتری کورینه باکتریوم پرمتابولوم کلیه نواحی ساختار مولکولی آن را در بر می‌گیرد. رشد این باکتری به وسیله پرتودهی در ناحیه فرابنفش (با دوز ۰/۵۵W/cm^2) تا حدودی قابل مهار است.

اثر تخریب باکتری بروی باکتریوم دیواریکاتوم، روی پلی‌یورتان، در کلیه نواحی ساختار مولکولی پلیمر نسبتاً شدید است. این اثر، به وسیله پرتودهی در ناحیه فرابنفش با دوز یادشده تا حدودی مهار می‌گردد.

اثر تخریب باکتری میکروکوکوس رزئوس روی پلی‌یورتان، در ناحیه C-O بیش از ناحیه C-H است. اثر مهارکنندگی پرتودهی در ناحیه فرابنفش (با دوز ۰/۵۵ W/cm^2) قابل ملاحظه و کامل است. نکته قابل توجه اینکه در بین باکتریهای مورد آزمایش، این باکتری مقاومترین نوع در برابر پرتوهای فرابنفش است.

اثر تخریب کنندگی باکتری میکروکوکوس لوتوس روی پلی‌یورتان، کلیه نواحی ساختار مولکولی پلیمر را در بر می‌گیرد. اثر پرتودهی در ناحیه فرابنفش با همان دوز در جلوگیری از تخریب حاصل از باکتری فوق تقریباً کامل است.

بنابراین، هرچند پرتوهای فرابنفش با شرایط موجود در این پژوهش اثر بسیار ناچیزی بر ساختار شیمیایی پلی‌یورتان دارد، به منظور کاهش اثرگذاری مضاعف فوق بین پرتودهی فرابنفش (به عنوان مهارکنندهٔ رشد باکتریها) و تخریب باکتریها استفاده از پایدارکننده‌های پلی‌یورتان در برابر پرتوهای فرابنفش پیشنهاد می‌شود. در این نوع پلیمر، گروههای مشخصی از ترکیبات به عنوان ضداکسنده شناخته شده‌اند. ترکیبات آمینی آروماتیک، به عنوان پایان دهنده زنجیر رادیکالی عمل می‌کند. تیواترها و فسفیتها نیز جذب کننده‌های پروکسیدند. همچنین، بنزوتریازولها و بنزوفنونها می‌توانند پرتوهای فرابنفش را جذب کنند و درمسیری بی‌ضرر مورد استفاده قرار دهند. ترکیب این عوامل به صورت



شکل ۸- بررسی مهار رشد باکتری کورینه باکتریوم پرمتابولوم روی پلی‌یورتان به وسیله پرتو UV (مدت قرار گرفتن در آنکوباتور ۱ ماه، دما ۲۵°C، نوع پلیمر زرد و نوع محیط کشت MA).

توأم، نیز بازدهی عمل را افزایش می‌دهد و از تغییر رنگ و از بین رفتن خواص پلی‌یورتان در برابر پرتوهای فرابنفش جلوگیری می‌کنند [۱۰] همچنین، پژوهشگران پیشنهاد کردند که اثر پرتوهای فرابنفش روی پلی‌یورتانهای با پایهٔ TDI را می‌توان به وسیله استفاده از استرهای سالیسیلیک اسید، آمیدها و هیدرازیدها دفع کرد. با استفاده از مشتقات سالیسیلیک‌اسید نیز، می‌توان از زرد شدن پلی‌یورتانها درنتیجه اثر پرتوهای فرابنفش جلوگیری کرد [۱۴].

درنتیجه، با پایدار کردن پلی‌یورتان در برابر پرتوهای فرابنفش از تولید قطعه‌های کوچک که مورد استفاده میکروارگانیسمهاست جلوگیری شده و درنتیجه اثرگذاری مضاعف بین پرتوهای فرابنفش و تخریب میکروبی کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

اثر پرتوهای فرابنفش بر جلوگیری از تخریب باکتریایی پلی‌یورتان پلی‌اتری به وسیله ۸ گونه باکتری مختلف بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که پرتودهی در ناحیه فرابنفش با طول موج ۲۵۳/۷ nm وشدت ۱۵۲ S W/cm^2 s در مدت زمانهای حدود ۵۵ تا ۶۰ دقیقه (یا به عبارت دیگر با پرتوهای فرابنفش با دوز ۰/۵۵ W/cm^2) روی جلوگیری از تخریب باکتریایی پلی‌یورتان مورد آزمایش به صورت زیر است:

- با وجودی که باکتری سودوموناس آئروژینوزا اثر تخریب‌کنندگی خود را در کلیه نواحی پلیمر اعمال می‌کند، اثر مهارکنندگی پرتودهی در این مورد نسبتاً خوب است.
- پرتوهای فرابنفش اثر تخریبی باکتریهای سودوموناس پوتیدا، نوکاردیا بروی کاتا و میکروکوکوس لوتوس را کاملا مهار می‌کند.
- این پرتوها در جلوگیری از تخریب پلی‌یورتان به وسیله باکتریهای کورینه باکتریوم پرمتابولوم و بروی باکتریوم دیواریکاتوم تا حدودی موثر است.
- میکروکوکوس رزئوس در بین باکتری‌های مورد آزمایش مقاومترین باکتری در برابر پرتوهای فرابنفش است، با این حال اثر مهارکنندگی پرتودهی در این مورد قابل ملاحظه و کامل است.

قدردانی

از کارشناسان مرکز تحقیقات مهندسی جهادسازندگی تهران برای همکاری صمیمانه در اجرای این طرح سپاسگزاری می‌شود.

مراجع

1. Scott G.; *Poly. Deg. Stab.*; **29**, 135-54, 1990.
2. Antoun G. D. F. S., Lenz R. W., Goodwin S., Austin R. and Fuller R. C.; *J. Ind. Microbiol.*; **10**, 119-206, 1992.
3. Darby R. I. and Kaplan A. M.; *Appl. Microbiol.*; **16**, 900, 1968.
4. Pathirana R. A. and Seal K. J.; *Inter. Biodeterioration*; **21**, 1, 41-9, 1985.
5. Filip Z.; *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotech.*; **5**, 225-31, 1978.
6. Martens R. and Domsch K. H.; *Water, Air and Soil Polution*; **15**, 503-509, 1981.
7. Block S. S.; *Disinfection, Sterilization, & Preservation*; Lea and Febiger (Eds.), London, 4th ed., 674-91, 1991.
8. Willett J. and Wilfert A.; *Zinsser Microbiology*; 9th ed., Prentice-Hall International; 344, 1988.
9. Albertsson A. C., Andersson S. and Karlsson S.; *Polym. Deg. Stab.*; **18**, 73-87, 1987.
10. Gajewski V.; *Chem. Deg. Polyurethane*; **341**, 1990.
11. Baron F. and et al.; *Diagnostic Microbiology*; 8th ed., Mosby, USA, 253, 1990.
12. Sawyer L. C. and Grubb D. T.; Polymer. Microscopy; Chapman and Hall USA, 91-110, 1987.

۱۳- کرمانشاهی روحاکسری، صهبائی زهره و میرمحمدصادقی مجید، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مهندسی مواد، اردیبهشت ۱۳۷۴.

14. Stumpe J. and Schweilick K.; *Polym. Deg. Stab.*; **17**, 103-16, 1987.
15. Pathirana R. A. and Seal K. J.; *Inter. Biodeterioration*; **21**, 2, 56, 1985.