

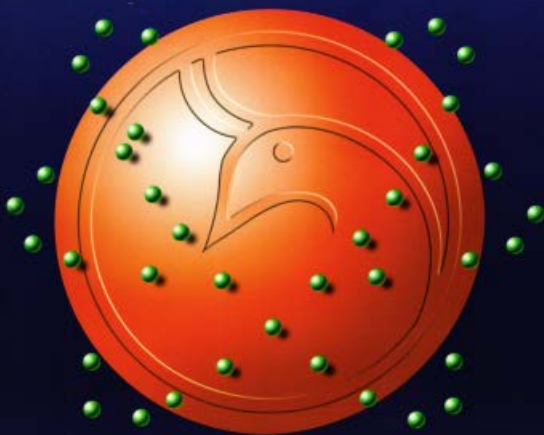


# Al-Mustansiriyah

## ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 21, No. 2, 2010



Issued by College of Science - Mustansiriyah University

# Al- Mustansiriyah Journal of Science

Issued by College of Science- Al- Mustansiriya  
University

## Head Editor

Prof. Dr. Redha I. AL-Bayati

## General Editor

Dr. Ikbāl khider Al- joofy

## Editorial Board

Dr. Iman Tarik Al -Alawy	Member
Dr. Ramzy Rasheed Al-Ani	Member
Dr. Inaam Abdul-Rahman Hasan	Member
Dr. Awni Edwar Abdulahad	Member
Dr. Majid Mohammed Mahmood	Member
Dr. Saad Najm Bashikh	Member
Dr. Hussain Kareem Sulaiman	Member

## Consultant Committee

Dr. Kadhīm Hasan H. Al-Mossawi	Member
Dr. Tariq Salih Abdul-Razaq	Member
Dr. Mehdi Sadiq Abbas	Member
Dr. Abdulla Ahmad Rasheed	Member
Dr. Hussein Ismail Abdullah	Member
Dr. Muhaned Mohammed Nuri	Member
Dr. Monim Hakeem Kalaf	Member
Dr. Amir Sadiq Al-Malah	Member
Dr. Tariq Suhail Najim	Member
Dr. Yosif Kadhīm Al-Haidari	Member

## INSTRUCTION FOR AUTHORS

1. The journal accepts manuscripts in Arabic and English languages. Which had not been published before.
2. Author (s) has to introduce an application requesting publication of his manuscript in the journal. Four copies (one original) of the manuscript should be submitted. Should be printed by on the computer by laser printer and re produced on A4 white paper in three coppice with floppy disc should be also submitted.
3. The title of the manuscript together with the name and address of the author (s) should typed on a separate sheet in both Arabic and English. Only manuscripts title to be typed again with the manuscript.
4. For manuscripts written in English, full name (S) of author (s) and only first letters of the words (except prepositions and auxiliaries) forming title of the manuscript should be written in capital letters. Author (s) address (es) to be written in small letters.
5. Both Arabic and English abstracts are required for each manuscript. They should be typed on two separate sheets (not more then 250 words each).
6. References should be denoted by a number between two bracket on the same level of the line and directly at the end of the sentence. A list of references should be given on a separate sheet of paper, following the interactional style for names and abbreviations of journals.
7. Whenever possible, research papers should follow this pattem: INTRODUCTION, EXPERIMENTAL (MATERIALS AND METHODS), RESULTS, DISCUSSION and REFERENCES. All written in capital letters at the middle of the page. Without numbers or underneath lines.
8. The following pattern should be followed upon writing the references on the reference sheet: Sumame (s), intials of author (s), title of the paper, name or abbreviation of the journal, volume, number, pages and (Year). For books give the author(s) name(s), the title, edition, pages, publisher, place of publication and (Year).
9. A publication fees in the amount of ID. 25 thousand is charged upon a Receipt of the paper and 25 thousand upon the acceptance for publication for their ID. 50 thousand should be paid for the editorial board.

# CONTENTS

ITEM	Page No.
Effect of Composting Methods of Manures on Arylsulfatase Activity in Sandy Soil Mohammed A. Abdulkareem	1-10
Factors Affecting Production and Activity of Bacteriocin Produced from <i>Serratia marcescens</i> Zeena Faaq Ahmed	11-16
Immunohistochemical Expression of c-Myc and P53 Proteins in Colorectal Carcinoma Amal H. Salman, Wasan A. Bakir and Amal A. Kareem	17-26
The Effect of Garlic Extract on Some Virulence Factors of <i>Proteus Mirabilis</i> Luma G. Al-Saady	27-34
Obesity in A Sample of Children Under Five Years of Age Buthaina A. Rashid	35-40
Metal Synthesis, Structural Study and Theoretical Treatment of New Some Complexes with 2-hydroxy-4-nitro Phenyl 2-N(4-N,N dimethyl ) Benzyliden Shaimaa R. Bakir, Nafeesa J. Kadhim and Mahasin F. Alias	41-56
Porosity Measurements of Cellulose Acetate Filters for Some Brands of Cigarette Using Mercury Porosimeter Sameer H. Kareem and Inaam H. Ali	57-66
Synthesis of New Phenoxathiin Derivatives and Evaluation the Biological Activity for Some of the Prepared Derivatives Suad M. AL-araji and Uday H. AL-Jelawy	67-78
Adsorption of Carbaryl and Benomyl from Water by Jordanian Bentonite Nabil M. Khaled Eldurini <sup>1</sup> , Sahar S. Abdulkader <sup>2</sup> and Ahmad M. Ziad Abuhamaid <sup>3</sup>	79-88
Synthesis of New Amides and Schiff Bases derived From 2-Amino-1,3,4-Oxadiazole Nisreen H. Karam , Jumbad H. Tomma , Huda I. Ibrahim and Amar H. Al-Dujaili	89-96
Synthesis and Characterization of Cr(III), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) and Cd(II) Complexes with 2-(1,3-benzothiazol-2-yl thio) Phenyl Aceto hydrazide Hanaa Hassan Hussein, Enas Zuheir Mohamed, and Wasan k. Abdul ameer	97-104
Study of Optical Properties Of ZnSe Thin Films Prepared By Thermal Evaporation Ibrahim R. Agool , Ali H. Abed , Zaenib H. B. Muhi and Lamyaa M. Raoof	105-110
Nucleon Momentum Distributions and Elastic Electron Scattering form Factors of <sup>7</sup> Li, <sup>9</sup> Be and <sup>11</sup> B Nuclei Adel . K. Hamoudi and Marwan A. Hassan	111-124
Nonlinear Effective Thickness Determination Probed by Z-Scan Technique Ali J. Mohammad, Adawiya J. Haider	125-132
Two Phase Flow Pressure Drop in a Horizontal Pipe Ali A. Abaas	133-142
Noise Pollution Effect on Durra Power Station Workers Kassim M. Wadi, Abdulkhaliq A. Al-Naqeeb, Bedri S. Jassem and Mohammed A. AL-Ani	143-152
Approximation Solution for nonlinear Volterra Integral Equation by Using Adomian Decomposition Method Waleeda S. Ali	153-159



## Effect of Composting Methods of Manures on Arylsulfatase Activity in Sandy Soil

Mohammed A. Abdulkareem

Dept. of Soil & Water Science, College of Agriculture, Basrah University

Received 25/1/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تعد إضافة المخلفات الحيوانية باختلاف مصادرها وطرق تخمرها من العوامل المؤثرة في صفات التربة الكيميوحيوية، ولدراسة ذلك فقد تم تخمير أربعة أنواع من المخلفات الحيوانية (الدواجن والماعز والأغنام والأبقار) بثلاث طرق للتخمر وهي: التخمر الهوائي والتخمر اللاهوائي والتتقيع بالماء (الكمز) ثم أضيفت إلى تربة رملية بمستويات صفر و 2 و 4 و 6 % على أساس الوزن الجاف للتربة. حضنت النماذج لمدة 40 يوماً عند درجة حرارة 25 م قدر خلالها نشاط أنزيم arylsulfatase بعد 10 و 20 و 30 و 40 يوماً. أشارت النتائج أن إضافة المخلفات الحيوانية أدت إلى زيادة معنوية في نشاط الأنزيم في التربة مقارنة بمعاملة المقارنة (عدم إضافة مخلفات) ولكافة مستويات وطرق تخمير المخلفات المستخدمة في التجربة. تفوق نشاط أنزيم arylsulfatase في التربة المعاملة بمخلفات الدواجن على الترب المعاملة بالمخلفات الأخرى قيد الدراسة. ازداد نشاط أنزيم arylsulfatase معنوياً بزيادة مستويات إضافة المخلفات بأنواعها وطرق تخمرها المختلفة. كذلك أوضحت النتائج أن الترب المعاملة بالمخلفات المخمرة هوائياً أعطت أعلى نشاط للأنزيم (167.70 مايكروغرام  $\rho$ -nitrophenol غم تربة<sup>-1</sup> ساعة<sup>-1</sup>) مقارنة بالترب المعاملة بالمخلفات المخمرة لاهوائياً أو المكمورة بالماء (155.56 و 159.57 مايكروغرام  $\rho$ -nitrophenol غم تربة<sup>-1</sup> ساعة<sup>-1</sup> على التوالي).

### ABSTRACT

Addition of compost from various sources and of different maturity may affect the soil biochemical properties. Four manure sources (poultry, goat, sheep and cattle) were composted at three methods; aerobic decomposition, anaerobic decomposition, and soaking in water then added to sandy soil at rates of 0, 2, 4, and 6% w/w based on dry soil weight. Samples incubated for 40 days at 25 °C. Arylsulfatase activity was assayed after 10, 20, 30 and 40 days of incubation. Results showed that addition of composts at all application rate and decomposition methods increased arylsulfatase activity significantly compared with control. Soil treated with poultry compost showed highest enzyme activity among other composts under study. Arylsulfatase activity increased significantly ( $P < 0.01$ ) with increasing application rates of compost. Data also revealed that treated soil with manures composted by aerobic method give highest activity (167.70  $\mu\text{g } \rho\text{-nitrophenol gm soil}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ ) compared with other methods (155.56 and 159.57  $\mu\text{g } \rho\text{-nitrophenol gm soil}^{-1} \text{ hr}^{-1}$  for anaerobic method and soaking method, respectively).

### INTRODUCTION

Over 80 % of total tomato production at winter season in Iraq yields in sandy soils in the province of Basrah, south of Iraq. One of the important agricultural practices in such soils is addition of large amounts of manures annually, which mainly is cattle source. Another manures sources such as poultry, sheep or goat are in a trace application practice. The impact of manures on soil biochemical properties (e.g. enzyme activities) depend on their type and compost characteristics(1). Bergstrom *et al.*, (2) reported that there are several mechanisms by which enzyme activity can increase in soils amended

with organic materials . Increase enzyme activity may result from increased number of microorganisms , or induction of enzyme production by a relatively stable population . Also , they reported that stabilization of enzymes by adsorption to humic material or clay may also increase amount of extracellular enzymes.

Arylsulfatase (EC3.1.6.1) is the enzyme that is involved in mineralization of ester sulfate in soil , and its activity has varied widely in relation to soil properties and management (3). In field conditions , Gagnon *et al.*, (4) and Eivazi *et al.* (5) showed a positive influence of manures on soil arylsulfatase activity . Prietzel (6) reported that arylsulfatase activity in soil differs with different source and amount of C introduced in soil . Serra – Wittling *et al.* (1) observed a great enzymatic activity with a young municipal solid – waste compost than with an older one . Information is lacking on the effect of compost types on the enzyme activities in sandy soil of tomato fields in the province of Basrah . The objective of this study was to compare the effect of different manure types composted with different methods , on arylsulfatase activity in sandy soil .

## MATERIALS AND METHODS

### Chemicals :

The following chemicals have been supplied by the German company (Merck) and British company (BDH) ; toluene , p - nitrophenyl sulfate ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , NaOH , Boric acid , ethanol , bromocresol green , methyl red ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ,  $\text{HClO}_4$  ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  , Se ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ,  $\text{FeSO}_4$  , Diphenylamine ,  $\text{BaCl}_2$  ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  , NaNOAC ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Gum acacia , sodium metaphosphate .

### Instruments :

1. Spectrophotometer , Philips PU8670 .
2. Thermometer .
3. Incubator .
4. Kjeldahl ( Digestion and Distillation unit ) .
5. pH-meter , ZAG PTR79 .
6. Conductivity meter , TOA CH-IK .
7. Oven .

### Method :

The soil used ( Table 1 ) was surface sample (0–30cm ) collected From tomato field of Al-Berjesia research station , province of Basrah which classified as Entisole ; Typic quartzipsamment . Before use , soil sample was air dried and passed through a 2 mm sieve . Some properties of the soil were determined as described by (7) and (8).

Table -1: Selected characteristics of soil used

pH ( 1:1 )	Salinity (E.C.) dSm <sup>-1</sup>	Organic Matter	Total N	Available Sulfure (SO <sub>4</sub> <sup>=</sup> - S)	Arylsulfatase Activity *	Texture
gm Kg <sup>-1</sup>						
7.80	3.20	0.70	0.03	0.002	45.32	Loamy sand

\* µg p – nitrophenol gm soil<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup> .

The manure samples ( poultry , goat , sheep , and cattle ) were collected from Al – Hartha experiment station , Basrah. Some chemical properties of the manures were determined according to (8) and presented in table(2). Fresh sample of each type of manure was composted at three methods:

- (1) Aerobic decomposition : samples were stored in low hills on plastic beds and covered by polyethylene sheet at room temperature for three months ; July to September.
- (2) Anaerobic decomposition : samples were placed in plastic jars receiving distilled water to bring the sample water content to 40 % of fresh weight . Samples were compacted to reach 45 % of initial volume then their surface were sealed completely by saturated clay soil. Samples allowed for three months ; July to September(9).
- (3) Soaking in water : manure samples were soaking in water for two weeks . This type of decomposition is an ordinary practice using by farmers of tomato fields in Basrah region .

The composting manures were dried at 60 °C , ground ( < 1 mm ) then mixed with soil at rates of 2 , 4 , and 6 % w/w of dry soil weight . The control sample contained soil only with no added manure . Distilled water was added to adjust the soil moisture content to 70 % of field capacity . Soil samples were incubated at 25 °C for 40 days. The moisture content was kept constant and measured regularly by adding distilled water . After 10 , 20 , 30 and 40 days of incubation a set of samples was withdrawn to assay arylsulfatase activity by using method of Tabatabai and Bremner (10) as following : one gm of air – dried soil was incubated with 0.2 ml of toluene and 1 ml of 0.005 M of p – nitrophenyl sulfate solution in 50 ml Erlenmeyer flasks at 37 °C for one hour , then 1 ml of 0.5 M CaCl<sub>2</sub> and 4 ml of 0.5 ml NaOH were added to the flasks to inhibit enzyme activity . Flasks were swirled and the soil suspension were filtered . p – nitrophenol released by arylsulfatase activity was measured colorimetry at 420 nm .



The experiment was established using a randomized complete design with three replications. Analysis of variance was performed and differences among the mean were compared through RLSD test.

Table -2: Some chemical properties of manures composted with aerobic decomposition ( AD ) , anaerobic decomposition ( ADD ) or soaking in water (SW).

	poultry			goat			sheep			cattle		
	AD	ADD	SW	AD	ADD	SW	AD	ADD	SW	AD	ADD	SW
E.C. (dSm <sup>-1</sup> )	3.3	13.5	22.5	6.4	17.8	8.1	4.0	24.0	14.1	13.4	16.5	22.0
pH(1:5)	7.2	6.4	6.3	6.9	6.5	6.2	7.0	6.4	6.9	6.9	6.5	6.0
OrganicC (gm Kg <sup>-1</sup> )	200.0	229.9	192.7	235.5	294.1	228.4	199.9	244.1	178.4	170.0	210.5	179.8
Total N (gm Kg <sup>-1</sup> )	17.8	18.8	17.2	18.8	20.0	19.5	18.8	20.0	18.0	19.0	23.8	19.0
C/N Ratio	11.23	12.77	11.20	12.52	14.70	11.71	10.63	12.20	9.91	8.94	8.84	9.46

## RESULTS AND DISCUSSION

Arylsulfatase activity in soil with presence of deferent type and concentrations of composts at incubation periods are presented in Figs. 1 , 2 , and 3 . The result showed that arylsulfatase activity increased significantly ( $P < 0.01$ ) with addition of composts compared with control (no addition). Soil treated with composts showed the higher enzyme activity of 70 % (poultry) , 54 % (goat) , 51 % ( sheep) and 38 % (cattle) increase in activity over the control value . Gagnon *et al.* (4) and

Eivazi *et al.* (5) also observed an increase in arylsulfatase activity in soil with the addition of manures. Addition of composts , which has a high C content, stimulated microbial activity in soil and therefore, enzyme synthesis . Dick *et al.*(11) suggest that increased C and nutrient additions could have provided energy and an environment conducive to microbial proliferation , therefore , the increased enzyme activity in manure treated soils may be due to higher amounts of endoenzymes in the viable microbial populations in the soil matrix . In addition , the manure may also provide enzyme directly to the soil system .

The results also showed that arylsulfatase activity at all experimental treatments significantly increased with increasing concentrations of composts. The average values were 144.97, 159.68 and 178.89  $\mu\text{g p-nitrophenol gm soil}^{-1}\text{hr}^{-1}$  for 2 , 4 , and 6 % of composts , respectively . Prietzel (6) and Eivazi *et al.* (5) reported that arylsulfatase activity was significantly and positively correlated with soil organic C content.

Figs. 1 , 2 , and 3 showed that regardless of compost types or composting methods , arylsulfatase activity was affected by incubation period . The activity increased with increasing time of incubation until

30 days . Simard *et al.* (12) also observed an increase in soil enzyme activities with the addition of mixture of primary and secondary deinking sludge 5 weeks after their application . This effect is likely due to the high biomass production from decomposition of simple constituents in manures which would produce greater amounts of substrate for microbial growth and production of enzymes , thereby increasing arylsulfatase activity . Martens *et al.* (13) noted that the increase in enzyme activity was greatest following the first addition of organic amendments to soil , but that subsequent equivalent additions failed to sustain high enzyme activity . After 30 days of incubation , arylsulfatase activity decreased significantly at all compost types and composting methods ( Figs. 1 , 2 , and 3 ) . This result is in accord with (4) in which they reported that upon sludges oxidation , the amount of energy available to soil microbes will be reduced , decreasing arylsulfatase activity , which will eventually reach the level of the control soil . However , data obtained in this study showed that arylsulfatase activity was over the control values at all incubation periods.

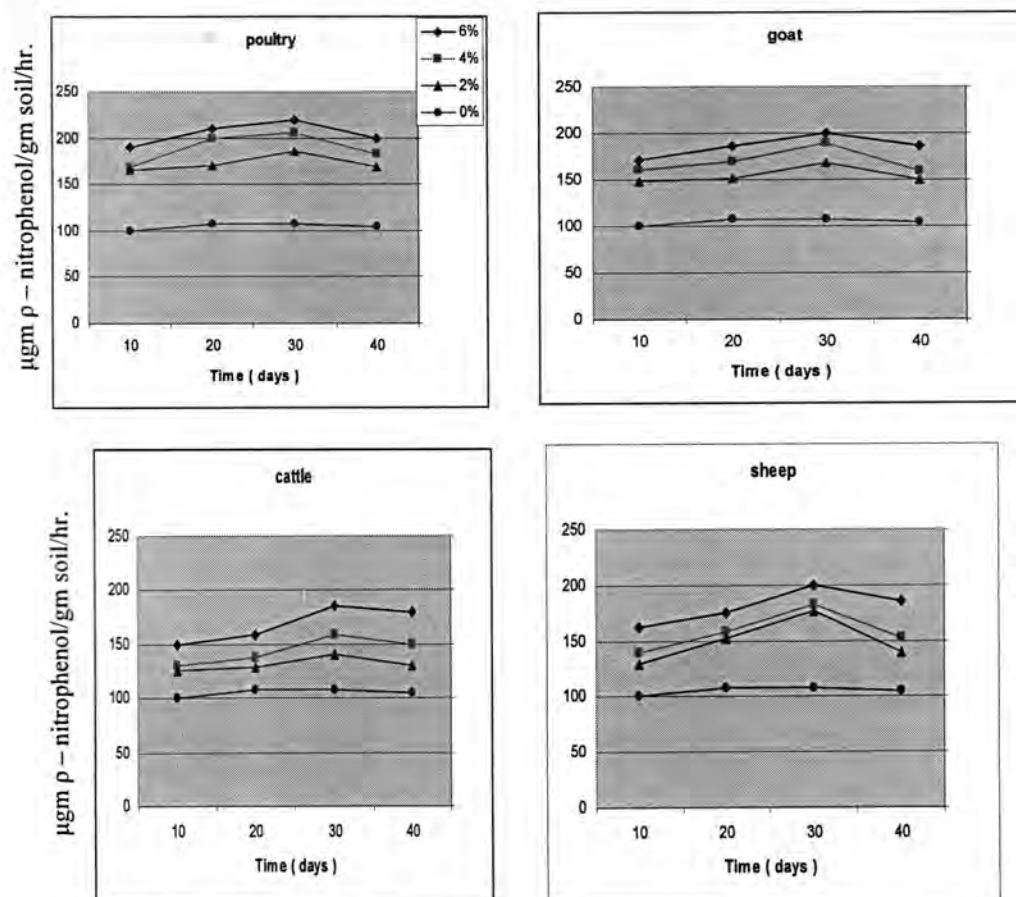


Fig. -1: Effect of different levels of aerobic composts on arylsulfatase activity in soil at various incubation time .



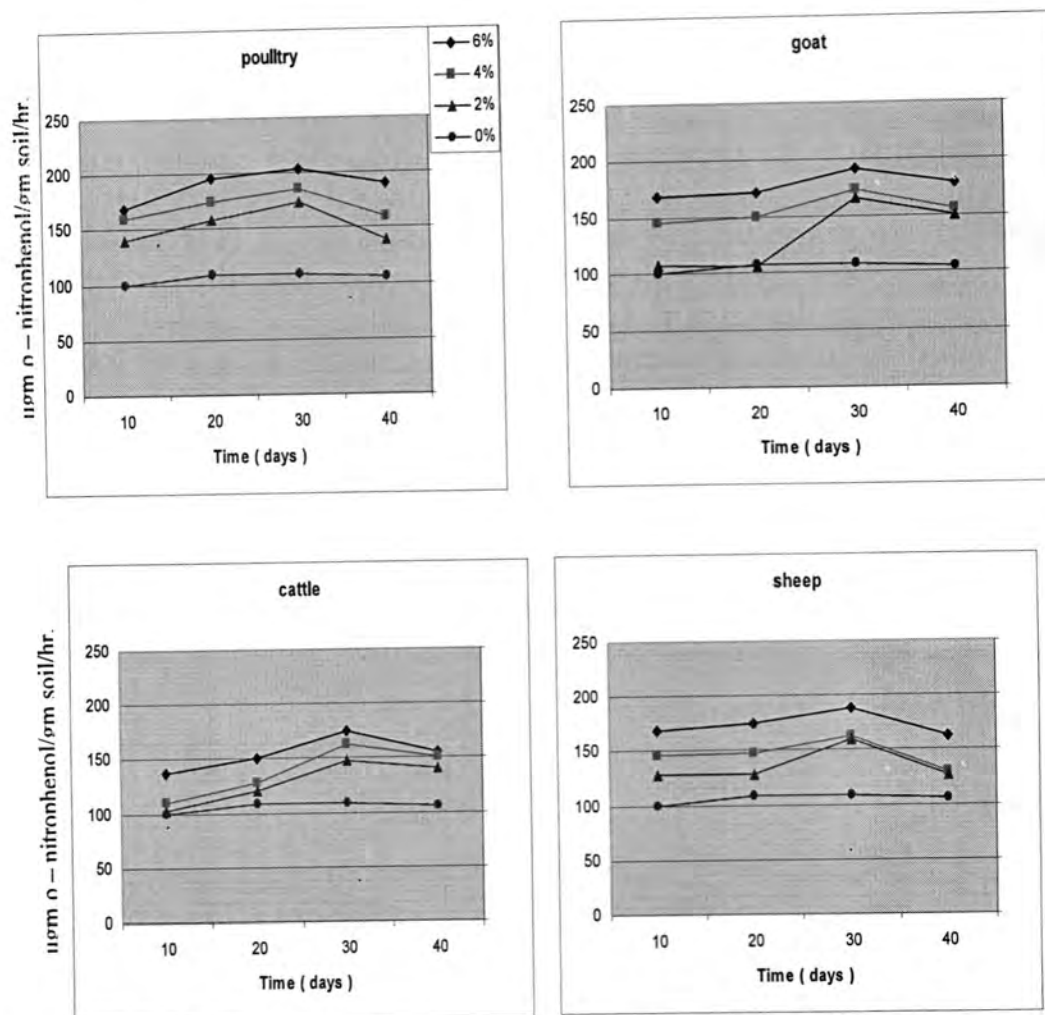


Fig. -2: Effect of different levels of anaerobic composts on arylsulfatase activity in soil at various incubation time .

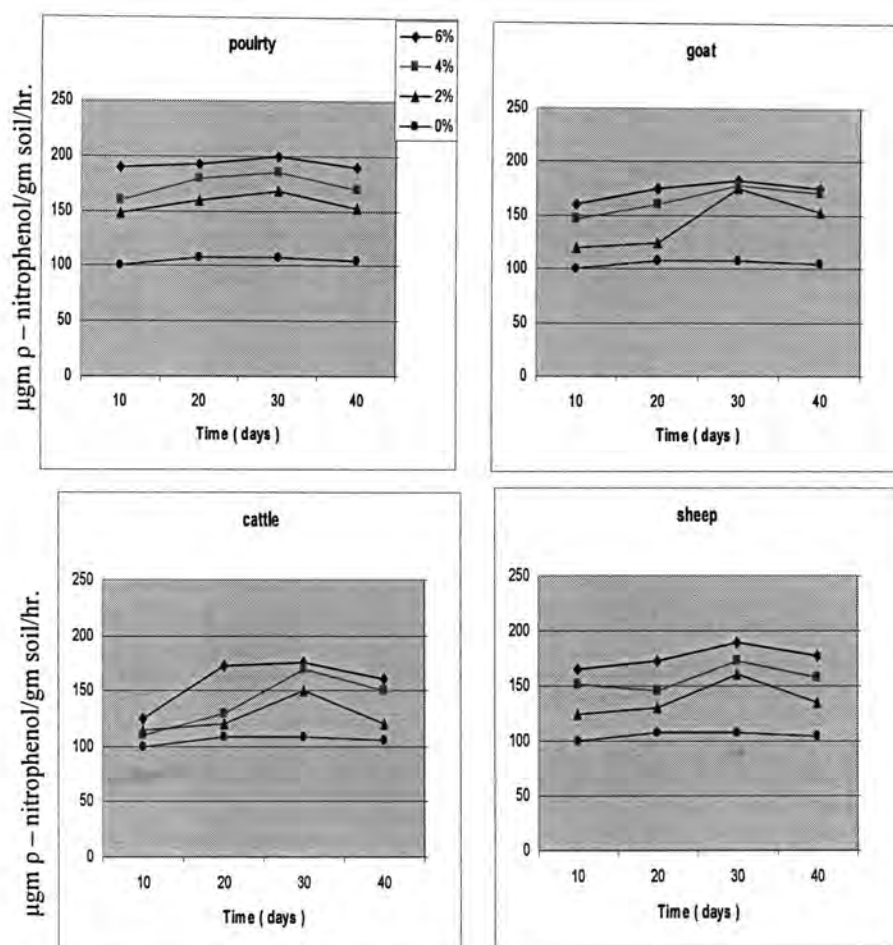


Fig. -3: Effect of different levels of soaking composts on arylsulfatase activity in soil at various incubation time .

Table (3) clearly indicated that arylsulfatase activity in soil treated with poultry compost was higher than soil treated with other composts . The average values were 178.88 , 161.80 , 158.63 and 144.46  $\mu\text{g } \rho\text{-nitrophenol gm soil}^{-1} \text{ hr}^{-1}$  for poultry , goat , sheep and cattle composts , respectively with significant differences among all composts except the differences between goat and sheep composts . Lower C / N ratio of poultry manure composts compared with other manure composts (table 2) resulted in a higher decomposition of manure then stimulated microbial enzyme production and activities through its readily available nutrients . These results support findings by (14), that sulfatase activity was correlated significantly with soil total nitrogen . On the other hand , Dick (15) and Kadhum (16) found no clear relationship between arylsulfatase activity and N content in soil . Dick *et al.* (11) reported that treatment with higher soil-N levels may allow increased C turnover compared to treatments with lower N levels where microbial activity may be decreased due to limited N availability .

Table -3: Effect of manure source and decomposition method on arylsulfatase activity in soil ( $\mu\text{g } \rho\text{-nitrophenol gm soil}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ )

	Aerobic decomposition	Anaerobic decomposition	Soaking in water	Mean
poultry	190.16	171.83	174.66	178.88
goat	168.75	155.00	161.66	161.80
sheep	163.00	154.33	158.58	158.63
Cattle	148.91	141.08	143.41	144.46
mean	167.70	155.56	159.57	

RLSD 0.01 : source = 6.72 ; method = 6.00 ; source X method = 12.30

The highest level of arylsulfatase activity was obtained with aerobic composts (  $167.70 \mu\text{g } \rho\text{-nitrophenol gm soil}^{-1} \text{ hr}^{-1}$  ) compared with anaerobic and soaking composts (  $155.56$  and  $159.57 \mu\text{g } \rho\text{-nitrophenol gm soil}^{-1} \text{ hr}^{-1}$  , respectively ) (table 3). Composting method affected soil biochemical properties which could attributed to C , N and other nutrients supply and the state of maturation of the materials. Serra – Wittling *et al.* (1) observed a greater enzymatic activity with a young municipal solid – waste compost than with an older one . They attributed that to the high content of C or to content of enzymes in the compost itself . In this study , data obtained indicated that the lower C / N ratio of manures composted by aerobic method compared to that of anaerobic and soaking methods at all manure types, except of poultry (table 2) may justified the highest arylsulfatase activity in soil treated with aerobic composts by stimulating microbial biomass and activity and increasing enzyme production . Similar results were observed previously on urease activity (17) and alkaline phosphatase (18).

The compost type X composting method interaction indicated clearly that arylsulfatase activity in soil received poultry manure composted aerobically was significantly highest ( $190.16 \mu\text{g } \rho\text{-nitrophenol gm soil}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ ) than other interaction treatments ( table 3 ). In summary , this study supports the fact that the addition of composted manure enhance the biochemical properties of sandy soil . The increase in arylsulfatase activity in soil was depend on compost type that could be related to C , N and other nutrients supply and the state of maturity of manures according to their composting method .



## REFERENCES

1. Serra – Wittling , C. ; S. Hount and E. Barrios. Soil enzymatic response to addition of municipal solid. Waste compost . Biol. Fertile. Soils . 20 : 226 – 236 . (1995) .
2. Bergstrom , D. W.; C. M. Monreal and P. Gasser . Temporal variation in soil enzyme activities resulting from application of inorganic N fertilizer and manure . In : C. M. Monreal. Development of standard methodologies : Bio – indicators and methodologies to quantify soil quality . Final Report , Agriculture and Agri – food Canada , Ontario . PP : 43 – 53 . (1998).
3. Balota , E. L.; M. Kanashiro ; A. C. Filho ; D. S. Andrade and R. P. Dick. Soil enzyme activities under long – term tillage and crop rotation systems in subtropical agro - ecosystems . Brazilian J. Micro. 35 : 300 – 305. (2004).
4. Gagnon , B. ; R. Lalande ; R. R. Simard and M. Roy . Soil enzyme activities following paper sludge addition in a winter cabbage - sweet corn rotation. Can. J. Soil Sci. 80 : 91 – 97 . (1999).
5. Eivazi , F.; M. R. Bayan and K. Schmidt . Select soil enzyme activities in historic Sanborn field as affected by long – term cropping systems. Commun . Soil Sci. plant Anal. 34 : 2259 – 2275. (2003).
6. Prietzel , J. Arylsulfatase activities in soils of the black forest / Germany – seasonal variation and effect of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  fertilization. Soil Biol. Biochem. 33 : 1317 – 1328 . (2001).
7. Black , C. A. Methods of soil analysis . Amer. Soc. Agron. Inc. Pub. Madison , Wisconsin . PP : 770 . (1965) .
8. Page , A.L. ; R. H. Miller and D. R. Keeney . Methods of soil analysis . Part 2 . 2<sup>nd</sup> ed. ASA. Madison, Wisconsin. pp : 1159. (1982).
9. Stanchev , L.; F. Velchev ; S. Gorbanon and E. Matev . Agro – chemistry . Zamazadat pub., Bulgaria. (1990) .
10. Tabatabai , M. A. and J. M. Bremner . Arylsulfatase activity of soils . Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 34 : 225 – 229 . (1970).
11. Dick , R. P.; P. E. Rasmussen and E. A. Kerle . Influence of long – term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a Wheat – fallow system . Biol. Fertil. Soils . 6 : 159 – 164 . (1988).
12. Simard ,R. R. ; J. Coulombe ; R. Lalande ; B. Gagnon and S. Yelle . Use of fresh and composted de – inking sludge in cabbage production . In : S. Brown *et al.* ( eds. ) Beneficial co – utilization of agricultural , municipal and industrial by - products . Kluwer Acad. Pub. Dordrecht , The Netherland PP . 349 – 361 . (1998).

13. Martens , D. A.; J. B. Johanson and Jr. W. T. Frankenberger . Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues . Soil Sci. 153 : 53 – 61. (1992).
14. Speir , T. W. Studies on a climosequence of soils in tussock grass lands . II . Urease , phosphatase and sulphatase activities of topsoils and their relationships with other properties including plant available sulphur . N. Z. JI Sci. 20 : 159 – 166 . (1977).
15. Dick , R. P. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In : C. Pankhurst *et al.* ( eds. ) Biological indicators of soil health . CABI pub. Wallingford , UK . pp. 121 – 156 . (1997).
16. Kadhum , S. J. Study of arylsulfatase activity in recently reclaimed land , south of Iraq. Basrah J. Agric. Sci. 17 : 179 – 188. (2004).
17. Abdulkareem, M. A. and M. M. Yassen . Effect of manures decomposed by different methods on soil enzymes activity . I – Urease . Iraqi J. Soil Sci. 3 : 169 – 180 . (2003).
18. Abdulkareem, M. A. Effect of composting method on some manures properties and alkaline phosphatase activity in loamy sand soil . Basrah J. Sci. ( submitted to publish ). (2008) .



## Factors Affecting Poduction and Activity of Bacteriocin Produced from *Serratia marcescens*

Zeena Faaq Ahmed  
College of Health and Medical Technology

Received 20/12/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة الحصول على (25) عزلة محلية من بكتيريا *Serratia marcescens* من (65) عينة جمعت من مصادر سريرية مختلفة شملت عينات الإدرار والقيح والدم من مستشفى اليرموك التعليمي ومستشفى مدينة الطب في مدينة بغداد لاشخاص بمختلف الاعمار في انابيب نظيفة ومعقمة . نميت هذه العزلات في وسط مرق فول الصويا ثم وسط الماكونكي، لوحظ انتاج البكتيريوسين المنتج يحدث مع إضافة المايكوميسين C بعد مرور (24) ساعة بدرجة حرارة حضن (37) م ، لوحظت مناطق التثبيط التي تعود إلى وجود البكتيريوسين المنتج من البكتيريا، كل واحدة من هذه المناطق قورنت مع السيطرة وأي تثبيط أكبر من السيطرة دلالة على النتيجة الموجبة. درس تأثير درجة الحرارة في فعالية البكتيريوسين حيث لوحظ أن أقصى فعالية تقع في درجة (32)م. ثم درس تأثير مادة المايكوميسين C على البكتيريا في إنتاج البكتيريوسين ولوحظ أن فعالية إنتاج البكتيريوسين من قبل البكتيريا تزداد عند معاملة بالمايكوميسين C.

### ABSTRACT

The study included (25) isolates of bacteria *Serratia marcescens* obtained from (65) samples collected from different clinical sources including urine, pus and blood.

These strains were grown in Trypticase soy broth and then MacConky agar, bacteriocin production was included with mitomycin C .

After (24) hour incubation at 37 °C, zones of inhibition due to bacteriocins were recorded, each zone was compared with the control and any inhibition zone greater than the control was designated as a positive result .

Effects degree of temperature on the activity on the bacteriocin production, has been studied.

The maximum activity of bacteriocin was at 32 °C. It was found the activity of bacteriocin production increase when treated the growth medium with mitomycin C.

### INTRODUCTION

Bacteriocin are bactericidal proteins which are synthesized by bacteria and are active against other strains of the same species [1] or closely related species [2].

Several epidemiological techniques have been used to differentiate strains of *Serratia marcescens* reported a method for determining 15 O antigens and 13 H antigens scheme have been used in epidemiological studies .

Differentiation based on bacteriophage susceptibility and bacteriocin production or sensitivity has been described [3] .A new method for comparing and differentiating strains of *serratia marcescens* is described which has proved useful in determining the epidemiology of hospital [4].

*S. marcescens* is an opportunistic pathogen and major cause of ocular infections.

Two kinds of bacteriocins produced by *S. marcescens*. The first is active on *Escherichia coli* and was susceptible to trypsin

The second was active on *S. marcescens* and is resistant to trypsin [5].

The activity of some marcescins on *E. coli* supported the inclusion of *Serratia* into the family Enterobacteriaceae [6] *Lactobacillus acidophilus* LF 221 produces bacteriocins like activity against different bacteria including some pathogenic and food – spoilage species [7].

This study aims to detect bacteriocin production from *S. marcescens* which causes infection in patients and factor which increase this production .

These strains were grown in Trypticase soy broth and then agar, bacteriocin production with mitomycin C.

### MATERIAL AND METHODS

Patient specimens (urine, pus, blood ) were inoculated directly into Mac Conky agar and further processed for isolation and identification of *Serratia marcescens* on tests of the API 20 E strips

Stock and working cultures : Each strain was spread on a Trypticase soy agar plate and incubated at 37°C for 24 hr.

A small amount of the growth was spread on the slant and stabbed into the butt of a slant in screw – cap tube, the tube was incubated at 37°C for 24 hr.

This was designated the stock culture and was stored at room temperature.

Bacteriocin production : Bacteriocins were produced in screw – cap tubes, Bacteria remaining after mitomycin induction were killed by (0.5)ml of chloroform which was added to the tube. All of the bacteriocins of *S. marcescens* were resistant to chloroform and were presumably similar to the type A bacteriocins described by prinsloo [8].

Bacteriocin assays : Bacteriocins were diluted two fold in Trypticase soy broth by microtiter. Each dilution was spotted (0.025)ml onto bacteriocin indicator strains, which were then incubated at 37°C for 24 hr.

The end point was defined as the highest dilution that inhibited, the indicator more than a control spot of trypticase soy broth and an arbitrary unit of bacteriocin activity was defined as the reciprocal of this end point .

Bacteriocin indicator strains : Most of the trail indicators were eliminated because ;



1. differentiated the producer strains poorly.
2. had too many zones of partial inhibition which could lead to difficulty in reading and reproducing results.
3. had too many zones due to bacteriophage lysis.

Standardized method for typing *Serratia marcescens* by bacteriocin production : small amount of growth was removed from a Trypticase soy agar plate with straight wire and rubbed against the side of a screw – cap tube containing (4) ml of Trypticase soy broth and incubated in water bath at 32°C for 24 hr., then (0.7)ml was removed and added to (3.3)ml of trypticase soy broth.

The contents of tube were mixed, and the tube was returned to 32°C, after 1 hr. (1)ml of 25 mg/ml mitomycin C dissolved in Trypticase soy broth, was added and mixed the tube was returned to 32°C for an additional 5 hr.

During this period, the cells lysed and liberated bacteriocins [12]. Then (0.1)ml was removed and added to (3)ml of oxoid Ion agar which had been melted and cooled to 50°C.

Then over laid onto a plate of medium Brain heart Infusion and the plate was dried for 4 hr. at room temp. The bacteriocins (plus one control containing Trypticase soy broth and mitomycin). Were then applied to each indicator strain plus a control plate.

## RESULTS AND DISCUSSIONS

Collected (65) samples from bacteria *Serratia marcescens* these samples included (9) positive samples from urine, (8) positive samples from sputum, (8) positive samples from blood as shown in table (1).

Table -1: Bacteriocin production isolates for determining the epidemiology of hospital infections.

Number of Isolate	Specimen	Bacteriocin production isolates
25	Urine	9
18	Sputum	8
22	Blood	8

Clear zones due to bacteriocins on one of indicators (25) zones are completely clear from these strains, the remaining zones are identical to control and are thus defined as negative.

Table -2: Bacteriocin production by mitomycin – induced and non. Induced strains.

Producer	Mitomycin addition	Units of bacteriocin activity against				
		SM <sub>22</sub>	SM <sub>30</sub>	SM <sub>33</sub>	SM <sub>35</sub>	SM <sub>39</sub>
SM <sub>7</sub>	-	0	0	8	8	4
	+	400	0	1.600	800	400
SM <sub>15</sub>	-	2	1	0	0	1
	+	200	100	0	0	800
SM <sub>23</sub>	-	1	0	4	1	4
	+	100	0	400	200	200

SM : *Serratia marcescens*

Effect of temperature on bacteriocin production:

Since most laboratories have at 37°C incubator and water bath, this temperature was tested first for bacteriocin production.

Table (3) shows that bacteriocin production was diminished at 37°C these was a reduction in the number of positive reactions. At 32°C, bacteriocin production was better, and this temperature was chosen for the final typing method .

Table -3: effect of growth temperature on bacteriocin production

Producer	Temp.(C)	Bacteriocin Production against indicator								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	32	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	37	+	-	-	+	+	+	+	+	-
2	32	+	+	-	+	-	+	-	+	-
	37	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3	32	+	+	-	-	-	-	+	-	+
	37	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4	32	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	37	-	-	-	-	-	-	+	-	+

+ inhibition of the strain by the bacteriocin  
- no inhibition

• Effects of mitomycin induction on the mount of bacteriocin produced :

Mitomycin induction usually increase the amount of bacteriocin produced, mitomycin also induced phage production. Zones of inhibition were due to bacteriophage and to bacteriocin[3]. Table (2) shows that strains produced about (100) times as much bacteriocin when they were induced with 5 µg of mitomycin C/mL. Mitomycin induction usually increase the amount of bacteriocin produced SM<sub>7</sub> was changed from a non producer to producer against SM<sub>22</sub>. Mitomycin also induced phage production of SM<sub>23</sub> against SM<sub>30</sub>, as none was produced without treatment Zones of inhibition



were due to bacteriophage about 3% of the time and due to bacteriocin the remaining 97% .

Mitomycin C, which also stimulates bacteriocin production is applicable to routine typing [10] [11].

Bacteriocin production in broth is preferable to production on agar surface [12] for a number of reasons :

- Mitomycin is easily added to stimulate bacteriocin production.
- The bacteriocins can be added quickly to indicator strains.
- Inhibition zones are easily compared when two isolates appear to be the same strain.

The size and shape of zones of strains are identical and the same number of colonies develop in zones of partial inhibition .

All strains of *Serratia marcescens* taken from clinical isolates were capable to produce bacteriocin. The activity increased significantly upon induction with mitomycin C

Bacteriocin production has been used as an epidemiological marker .

## REFERENCES

1. Labbate ,M., and Kjelleberg ,S." Quorum- SenSing Regulation of Adhesion in *Serratia marcescens* MG 1 is surface Dependent" . *Bacteriol* ,189 (7) : 2702-2711(2007).
2. Dykes, G. A., Hastings, J.W. "Fitness costs associated with class II a bacteriocin resistance in *listeria monocytogenes* B73". *Appl. Microbiol* 26 : 5 – 8(2009).
3. Hertle,R ., and Schwartz, H. " *Serratia marcescens* internalization and replication in human bladder epithelial cells".*infect. dis.* 4: 16-29(2004).
4. Farmer, J. J."Epidemiological Differentiation of *Serratia marcescens* :typing by Bacteriocin Production" *Appl. Microbiol.* 23 : 218 – 225(2009).
5. Gillies, R. R. and Govan, J. R. "Typing of *Pseudomonas Pyocyanea* by Pyocine production". *J. pathol. Bacteriol.* 91: 339 – 345(2009).
6. Koutsoudis , M." Quorum SenSing regulation governs bacterial adhesion". *Acad.sci.*103: 5983- 5988(2006).
7. Jabran, A; sabri, A; compere, P; Jacques, P; Vandeberghe, I; Van – Beeumen, J; Thonart, P.. "Characterization of Serracin P, a phage – tail – like bacteriocin, and its activity against *Erwinia amylovora* , the fire blight pathogen". *Appl. Environ. Microbiol.* 86 (11) : 5704(2002).
8. Andreeva,I. and Ternovsky. V." pore- forming proteins and Adaptation of living organisms to Environmental conditions". *Bacteriol.* 48: 267-318(2008).



9. Pham, H. T; Riu, K. Z; Jag, K. M. ; cho, S. K. cho, M.. "Bactericidal Activity of Glycine cin A, a Bacterio Drived from *Xanthomonas compestris* PV. Glycines, on phytopathgenic *Xanthomonas Compestris* PV. Versicatoria cells". *Appl. Environ. Microbiol.* 70 – 4486 – 4490(2004).
10. Lai , H., soo, p., and Williams , p." Two component signal transduction system in *Serratia marcescens* regulates swarming motility". *Bacteriol.* 187:3407-3414(2005).
11. Reeves, P.. "The bacteriocins". *Bacteriol. Rev.* 230 : 27 – 34(2004)
12. Trub, W. H. "Continued surveillance of *Serratia marcescns* infection by Bacteriocin Typing :Invetigation of two out breaks of Cross – Infection in an Intesive care unit". *Appl. Microbiol.* 23 : 982 – 985(2009).

## Immunohistochemical Expression of c-Myc and p53 Proteins in Colorectal Carcinoma

Amal H. Salman<sup>1</sup>, Wasan A. Bakir<sup>2</sup> and Amal A. Kareen<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup> College of Medical & Health Technology / Baghdad

<sup>2</sup> Iraqi Center for Cancer And Medical Genetic Research / Al Mustansiriyah University

Received 22/1/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

الهدف من الدراسة الحالية هو معرفة الدور المحتمل لكل من c-Myc و p53 في مرضى السرطان القولوني مستقيمي باستعمال تقنية التحليل الكيميائي النسيجي المناعي. أجريت الدراسة على 40 مريض مصابين بالسرطان القولوني مستقيمي و 40 أصحاء. تم التحري عن تعبير c-Myc و p53 في المقاطع المظمورة بالبرافين باستعمال أضداد وحيدة النسلية.

أوضح تحليل البيانات اختلافًا معتد في تعبير كل من c-Myc و p53 في مرضى السرطان القولوني مستقيمي مقارنة بمجموعة السيطرة ( $p < 0.01$ ). بالإضافة إلى ذلك أظهرت النتائج أن نسبة التعبير الإيجابي لكل من c-Myc و p53 كانت 80% و 62.5% على التوالي. علاوة على ذلك بينت الدراسة الحالية وجود ارتباط معتد بين تعبير كل من هذين المتأبئين ( $p < 0.05$ ) في المجموعتين المدروسة.

الخلاصة: أثبتت نتائج الدراسة على وجود ارتباطا معتد بين زيادة تعبير كل من c-Myc و p53 و مرض السرطان القولوني مستقيمي.

### ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the possible role of c-Myc and p53 in patients with colorectal cancer by using immunohistochemical analysis. The paraffin embedded sections from 40 colorectal carcinoma and 40 healthy individuals were investigated for the expression of c-Myc and p53 by immunohistochemical staining with specific monoclonal antibodies. Our data analysis demonstrated a significantly increased expression of c-Myc and P53 among colorectal cancer patients compared with control groups ( $p < 0.01$ ). In addition our results showed that in patients with colorectal cancer the positive expression rate was 80% and 62.5% for c-Myc and p53, respectively. Furthermore, in this study the significant correlations was found between these two markers ( $p < 0.05$ ) in two studied groups. Our results confirms a significant association between colorectal carcinoma and increased expression of c-Myc and P53.

### INTRODUCTIONS

Colorectal cancer is the second most common cause of cancer-related mortality in Western countries, with about 1 million new cases every year diagnosed world-wide and 500,000 patients dying from the disease [1]. The steps to colorectal cancer are driven by genetic alterations in oncogenes and tumor suppresser genes [2]. The c-Myc oncogene has been shown to be amplified and/or overexpressed in many types of human cancer [3;4]. The role for c-Myc in the development of colon tumors was first suggested by the report that c-Myc was amplified and overexpressed in a chemically induced mouse colon tumor [5]. The central role of c-Myc protein in accelerating cell proliferation, documented by many early studies, has led to a general concept for



many types of cancer that amplification or overexpression of this gene may be associated with a more aggressive tumor and a poorer patient survival [4;6;7]. The overexpression of c-Myc protein has also been shown to associate with a better tumor differentiation or a better patient survival for cancer of the testis, ovary, bile ducts, colon and breast [8;9].

On the other hand, P53 is a tumor suppressor gene that plays a key role in the control of the cell cycle. Cell proliferation is inhibited by normal or wild type p53 protein, which acts by arresting the cell cycle at the G1-S phase to allow DNA repair to take place. Loss of this activity may lead to neoplastic transformation. Alteration of this suppressor gene is a common event in colorectal cancer and has been associated with adverse postoperative outcome and poor survival [10;11]. It is widely accepted that multiple genetic alterations underlie colorectal carcinogenesis. The p53 mutation is common in human cancers and overexpression of its products is detected in many colorectal cancers. Thus, the immunohistochemical detection of the overexpression of p53 is a useful marker for the diagnosis of carcinoma [12;13]. However, the relationship between the p53 overexpression and metastasis in colorectal cancers is still controversial [14;15].

The purpose of this study was to investigate the c-myc and p53 protein expression within the same colorectal cancer tissue by using immunohistochemistry technique, to find out the correlation between these two markers.

## MATERIAL AND METHODS

**Patients:** This study included 80 patients from Baghdad Teaching Hospital, AL-Yarmook Teaching Hospital, Gastroenterology and Hepatology Teaching Hospital and private hospital. This study was carried out on (40) patients with colorectal carcinomas (CRC) (22 males and 18 females) with a mean of age 51.7 years and a range between 20 and 81 years. The control group included (40) colorectal normal tissue (CRN) (22 males and 18 females) with a mean of age 49.2 years and a range between 20 and 75 years.

**Samples:** For each patients and control included in this study; serial sections from paraffin embedded block were taken from the archive of department of pathology of these hospitals (mention above). Tissue sections cut into 5µm thickness, put on Fisher brand positively charged slides.

### Immunohistochemical analysis (IHC) for detection of c-Myc and p53 proteins expression in paraffin embedded sections:

The use of universal DakoCytomation streptavidin-biotin system purchased from DakoCytomation (USA) Immuno-histochemistry detection kit. The mouse anti-human monoclonal antibodies p53 protein



(code NO./M7203) (Denmark) and the mouse anti-human monoclonal antibodies c-Myc protein (code 9E10)(InnonGenex ,USA).

The primary antibody reacts with antigen in the tissue, and then a biotin labeled secondary antibody (link antibody) binds to the primary antibody. When the conjugate is added, the biotinylated secondary antibody will form a complex with the peroxidase-conjugated streptavidin and by adding the substrate, which contains 3,3'-diaminobenzidine (DAB) in a chromogen solution, a brown-colored precipitate will form at the antigen site. In the peroxidase secondary detection system, the presence of a brown reaction product at the site of the target antigen is indicative of positive reactivity. Counter stain will be pale to dark blue coloration of the cell nuclei. Evaluation of the immunostaining was done with the assistance of a histopathologist. The observer was blinded to the clinical diagnosis of the tissues at the time of assessment, and tissues were independently assessed by two observers positive or negative cases, positive immunostaining gave nuclear and/or cytoplasmic dark brown granules. Counting the number of positive cells which gave brown cytoplasmic staining system under light microscope. The extent of the IHC signal was determined in 10 fields (X100magnification). In each field the total number of cells was counted and the extent of cytoplasmic staining cells was determined as a percent. The total staining score was divided by the number of whole cells per field in 10 fields, so the percentage of positively stained cells in the 10 fields was calculated for each case by taking the mean of the percentage of the positively stained cell in the 10 fields. Specimens in which less than 10% of the cancer cells were immunostained with p53 were classified as negative, and the rest were classified as positive, as described by Jeng et al[16]. But cancer were regarded as c-Myc positive when their immunoreactivity scores were  $\geq 1$ . Cancer with immunoreactivity zero were regarded as c-Myc negative [17].

**Statistical analysis:** Student test (t-test) was used for the quantitative data. The relationship between the markers was measured qualitatively by using the correlation coefficient(r) [18].

## RESULTS AND DISCUSSION

As shown in (Table 1 and 2), and based on t- test analysis of significance, there were a highly significant difference ( $p < 0.01$ ) in the mean percentage of c-Myc and p53 proteins expression in tissue of colorectal carcinoma (CRC) and colorectal normal tissue (CRN). In addition (Table 3) show the immunoexpression of c-Myc and p53 protein in patients CRC.

In patients and control , the current study found a significant correlation ( $P<0.05$ ) between the mean percentage of c-Myc and p53 proteins (**Table 4**).

The expression of c-Myc and p53 were heterogeneous dark brown nuclear staining in the tissue, as shown in **Figure 1**.

Table -1: Comparison of mean percentage of c-Myc protein among studied group

Studied groups	N	Mean± Std. Error	Comparison of significant	
			P-value	Sig.
Controls(CRN)	40	0.96± 0.04	0.00	Highly Sig. ( $P<0.01$ )
Patients(CRC)	40	9.3± 1.70		
Total	80			

Table -2: Comparison of mean percentage of p53 protein among studied group.

Studied groups	N	Mean± Std. Error	Comparison of significant	
			P-value	Sig.
Controls(CRN)	40	2.5± 0.3	0.00	Highly Sig. ( $P<0.01$ )
Patients(CRC)	40	17.3± 0.6		
Total	80			

Table -3: The immunoexpression of c-Myc and p53 protein in patients with colorectal cancer (CRC) .

Markers	Marker expression in patients ( N=40)	
	Negative N(%)	Positive N(%)
c-Myc	8 (20%)	32(80%)
P53	15(37.5%)	25(62.5%)

Table -4: Pearson correlation (r) between c-Myc and p53 in studied groups.

Variable	Studied groups	Correlation Coefficient r =	P value
c-Myc and p53	Controls(CRN)	0.257	< 0.05
	Patients(CRC)	0.155	<0.05

$P<0.05$  = a significant difference .



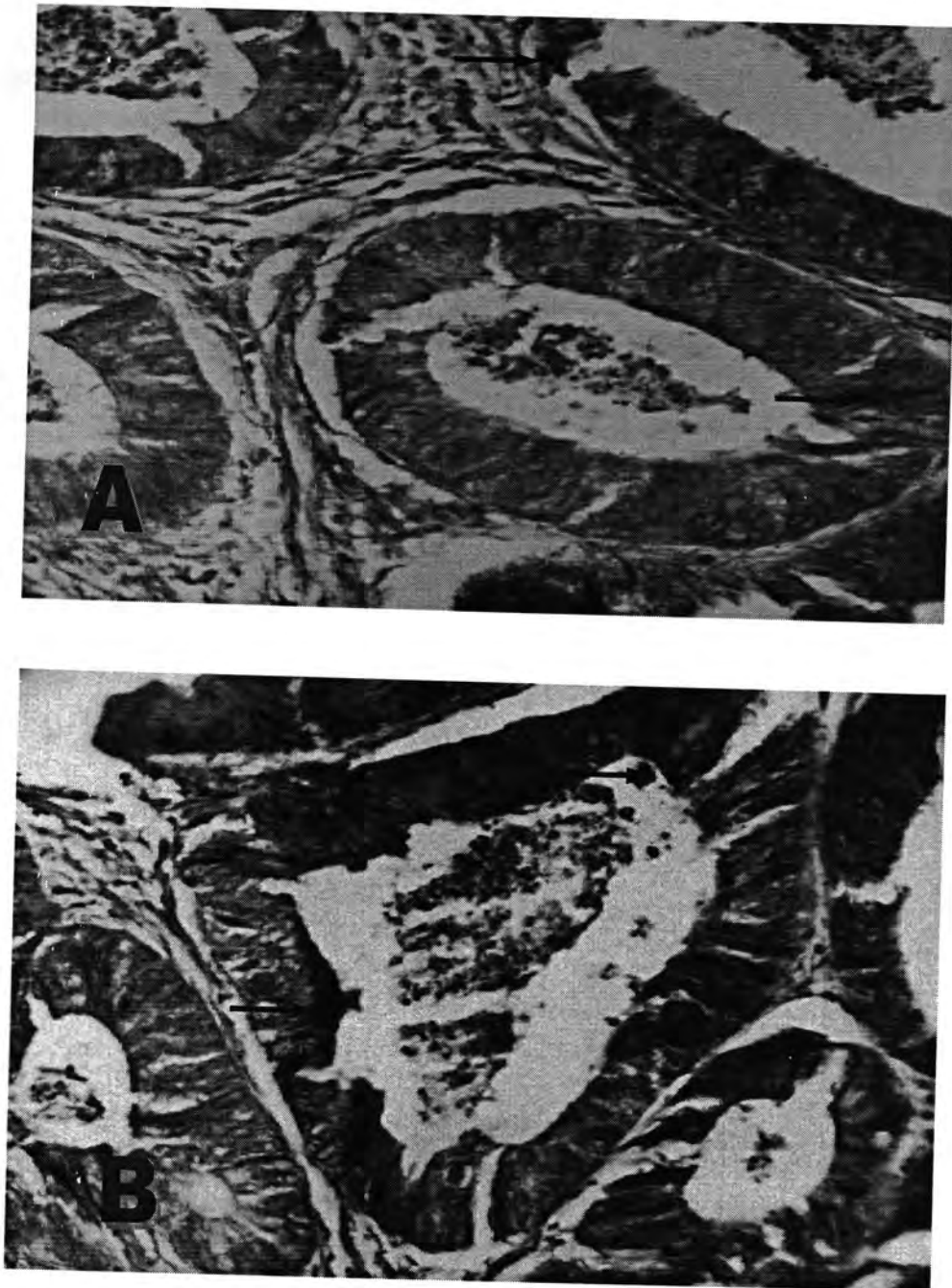


Figure -1: Immunohistochemical staining(IHC) of c-Myc and p53 proteins in tissue of colorectal carcinoma(CRC). Staining by DAB chromogen (dark brown) counterstained with nuclear fast red . (A) positive c-Myc immunostaining (X400). (B) positive p53 immunostaining.(X400).

The present study has shown increased expression of c-Myc and p53 in patients with colorectal carcinoma compared with healthy individuals. This result is consistent with previous reports that the overexpression of c-Myc, c-neu, PCNA, and p53 may occur in colorectal carcinoma (CRC) that are likely to metastasis the expression of c-Myc has been detected in a broad range of human cancers to metastasis to the liver [18]. Deregulated expression of c-Myc is detected in many tumor cell types and it has been proposed that increased c-Myc expression is instrumental in the initiation of the neoplastic phenotype in many, if not most, human tumors. However, the mechanisms that normally regulate c-Myc expression, the defects that deregulate it in tumors, and how deregulated c-Myc expression contributes to tumorigenesis have not been fully elucidated [20]. Another study demonstrated that c-Myc overexpression may be sufficient to induce S-phase entry in a growth-arrested human cancer cell line. The transcriptional repression of p21 expression by c-Myc preceding entry into S phase. Thus the constitutive p21 overexpression inhibits deregulation of DNA synthesis by c-Myc, which suggests that the inhibition of p21 expression by c-Myc may contribute to its cell cycle promoting effect [21].

It is worth pointing out that p53 nuclear overexpression detected by immunohistochemical has been found to be a marker of worse prognosis in many previously published analyses of CRC datasets [22,23,24]:

It is well known that tumor suppressors are formally defined by a loss of function involved in blocking tumor progression. Consistent with this definition, naturally occurring mutants of p53 are generally defective in sequence-specific DNA binding and consequently do not induce the appropriate target genes, cause cell cycle arrest, or mediate cell death [25]. However, in contrast to a classical tumor suppressor, mutation of the p53 gene leads not only to a loss of function but also to a gain of function that promotes the tumorigenicity of various p53-null cell types. Overexpression of mutant p53 in pre-B cells [26,27,28] fibroblasts [29], and osteosarcomas [30], dramatically enhances the tumorigenicity of these cells independent of a transdominant negative mechanism. In addition, stable expression of naturally occurring mutant p53 alleles in human T-cell acute lymphoblastic leukemia cells increases tissue invasiveness and enhances tumor formation [31].

Based on immunohistochemistry study, c-Myc was positively expressed in 80%(32/40) of group of colorectal cancer. This observation was consistent with another study that showed higher expression of c-Myc in colorectal carcinoma (68% in colon carcinoma and 55% in rectal carcinoma) by using immunohistochemistry [32,33]. On the other hand, p53 was positively expressed in 62%(25/40). Previous study

showed that from 244 colorectal tumors (55%) over-expressed p53 [34]. This might indicate the most important role of c-Myc and p53 in carcinogenesis of colorectal tumors.

The results of Mark et al demonstrate that tumor-derived missense mutants of p53 can regulate expression of the c-Myc gene. The well-established role of c-Myc [35] as a proto-oncogene capable of promoting cell cycle progression and tumorigenesis makes this gene an attractive target for p53 gain of function mutants, thus the efficient activation of the c-Myc promoter by mutant p53 occurs by a mechanism that is distinct from wild-type p53 transactivation [36].

In keeping with previous notions, our results showed that a significant correlation between c-Myc and p53. This might indicate that increasing expression of c-Myc with increasing expression of p53 that might reflect a pathological role of these two markers in colorectal tumor.

Conclusion: Our results confirm a significant association between colorectal carcinoma and increased expression of c-Myc and P53. In addition the evaluation of p53 overexpression, using a standardized immunohistochemical (IHC) procedure, could be a clinically useful marker for the identification of colorectal cancer patients.

## REFERENCE

1. Midgley, R. and Kerr, D., Colorectal cancer. *Lancet*, 353: 391-399 (1999).
2. Eisenman R.N., Deconstructing myc. *Genes Dev*, 15: 2023-2030 (2001).
3. Nass S, Dickson R, Defining a role for c-Myc in breast tumorigenesis. *Breast Cancer Res Treat* 44: 1-22 (1997).
4. Liao D, Dickson R, c-Myc in breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* 7: 143-164 (2000).
5. Yander G., Halsey H., Kenna M., Augenlicht L. H. Amplification and elevated expression of c-myc in a chemically induced mouse colon tumor. *Cancer Res.*, 45: 4433-4438 (1985).
6. Nesbit C, Tersak J, Prochownik E. MYC oncogenes and human neoplastic disease. *Oncogene* 18: 3004-3016 (1999).
7. Visca P, Alo P, Del Nonno F, Bott C, Trombetta G, Marandino F, Filippi S, Di Tondo U, Donnorso R, Immunohistochemical expression of fatty acid synthase, apoptotic-regulating genes, proliferating factors, and ras, protein product in colorectal adenomas, carcinomas, and adjacent nonneoplastic mucosa. *Clin Cancer Res* 5: 4111-4118 (1999).
8. Augenlicht L, Wadler S, Gorner G, Richards C, Ryan L, Multani A, Pathak S, Benson A, Haller D, Heerdt B, Low-level c-myc amplification in human colonic carcinoma cell lines and tumors: a



- frequent, p53- independent mutation associated with improved outcome in a randomized multi-institutional trial. *Cancer Res* 57: 1769-1775(1997).
9. Bieche I, Laurendeau I, Tozlu S, Olivi M, Vidaud D, Lidereau R, Vidaud M, Quantitation of MYC gene expression in sporadic breast tumors with a real-time transcription-PCR assay. *Cancer Res* 59: 2759-2765((1999).
  10. Haseba M, Hidaka S, Tsuji T, Yano H, Komatsu H, Sawai T, Yasutake T, Nakagoe T, Tagawa Y, Ayabe H, Detection of p53 gene mutations by nonisotopic RNase cleavage assay as a predictor of poor prognosis in colorectal cancers. *Dig Dis Sci* 48: 1984-1989 (2003).
  11. Pricolo VE, Finkelstein SD, Hansen K, Cole BF, Bland KI, Mutated p53 gene is an independent adverse predictor of survival in colon carcinoma. *Arch Surg* 132: 371-375(1997).
  12. Purdie CA, O'Grady J, Piris J, Wyllie AH, Bird CC p53 expression in colorectal tumors. *Am J Pathol* ; 138: 807-13(1991).
  13. Baas IO, Mulder JW, Offerhaus GJ, Vogelstein B, Hamilton SR, An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *J Pathol*; 172:5-12(1994).
  14. Lanza G Jr, Maestri I, Dubini A, Gafa R, Santini A, Ferretti S, Cavazzini L p53 expression in colorectal cancer: relation to tumor type, DNA ploidy pattern and short-term survival. *Am J Clin Pathol*; 105: 604-12(1996).
  15. Houbiers JG, van der Burg SH, van de Watering LM, Tollenaar RA, Brand A, van de Velde CJ, Melief CJ, Antibodies against p53 are associated with poor prognosis of colorectal cancer. *Br J Cancer*; 72: 637-41(1995).
  16. Jeng KS, Sheen IS, Chen BF, Wu JY Is p53 gene mutation of prognostic value in hepatocellular carcinoma after resection?" *Arch Surg* 135:1329-1333(2000).
  17. Brabletz T.,Herrmann K.,Jung A.,Faller G and Kirchner T., Expression of nuclear beta-catenin and c-myc is correlated with tumor size but not with proliferative activity of colorectal adenomas. *Am J.Pathol*,156:865-870(2000)..
  18. Sorlie,DE., Medical biostatistics and epidemiology: Examination and board review, first ed. Norwalk, Connecticut, Appleton and Lange.(1995).
  19. Yang, J.L., Ow, K. T., Russell, P. J., Ham ,J. M. and Crowe, P. J. , Higher expression of oncoproteins c-myc, c-erb B-2/neu, PCNA, and p53 in metastasizing colorectal cancer than in nonmetastasizing

- tumors. *Annals of Surgical Oncology*, Vol 3, Issue 6 574-579(1996).
20. Levens DL., Reconstructing MYC. *Genes Dev*;17:1071-7(2003).
  21. Kyran O. Mitchell and Wafik S. El-Deiry, Overexpression of c-Myc Inhibits p21WAF1/CIP1 Expression and Induces S-Phase Entry in 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-sensitive Human Cancer Cells. *Cell Growth & Differentiation* Vol. 10, 223-230(1999).
  22. Rodrigues NR, Rowan A, Smith ME, Kerr IB, Bodmer WF, Gannon JV, Lane DP, .p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:7555-7559(1990).
  23. Munro AJ, Lain S, Lane DP, P53 abnormalities and outcomes in colorectal cancer: a systematic review. *Br J Cancer*, 92:434-444(2005).
  24. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH, Eliyahu D, Oren M, Levine AJ, Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsc70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 8:531-539(1988).
  25. Zambetti, G P; Levine, A J., A comparison of the biological activities of wild-type and mutant p53. *FASEB J.* , 8:855-865(1993).
  26. Shaulsky, G; Goldfinger, N; Ben-Ze'ev, A; Rotter, V. Nuclear accumulation of p53 protein is mediated by several nuclear localization signals and plays a role in tumorigenesis. *Mol Cell Biol.*; 10:6565-6577((1990).
  27. Shaulsky, G; Goldfinger, N; Rotter, V. Alterations in tumor development *in vivo* mediated by expression of wild-type or mutant p53 proteins. *Cancer Res.*; 51:5232-5237(1991).
  28. Wolf, D; Harris, N; Rotter, V Reconstitution of p53 expression in a nonproducer Ab-MuLV transformed cell line by transfection of a functional p53 gene. *Cell.*; 38:119-126(1984).
  29. Dittmer, D; Pati, S; Zambetti, G; Chu, S; Teresky, A K; Moore, M; Finlay, C; Levine, A J, Gain-of-function mutations in p53. *Nat Genet.*1994;4:42-46(1994).
  30. Sun, Y; Nakamura, K; Wendel, E; Colburn, N., Progression toward tumor cell phenotype is enhanced by overexpression of a mutant p53 tumor suppressor gene isolated from nasopharyngeal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA.*;90:2827-2831(1994).
  31. Hsiao, M; Low, J; Dorn, E; Ku, D; Pattengale, P; Yeargin, J; Haas, M, Gain-of-function mutations of the p53 gene induce lymphohematopoietic metastatic potential and tissue invasiveness. *Am J Pathol.*;145:702-714(1994).
  32. Neelman S.G., Priya C.R., Hemangini V.H., Tejal C., Trupti T.I. Nandita G., Regulators of apoptosis in colorectal carcinoma: immunohistochemical demonstration of p53 , bcl2 and c-myc protein

- products and its relationship to prognosis.<http://cancerindina.org/bulletin.htm>. (2002).
33. Erisman M. D., Rothberg P. G., Diehl R. E., Morse C. C., Spandorfer J. M., Astrin S. M. (1985). Deregulation of *c-myc* gene expression in human colon carcinoma is not accompanied by amplification or rearrangement of the gene. *Mol. Cell. Biol.*, 5: 1969-1976).
  34. Sanjay P, Richard W and Richard S H, Inter-relationship between microsatellite instability, thymidylate synthase expression, and p53 status in colorectal cancer: implications for chemoresistance. *BMC Cancer*, 6:150(2006).
  35. Spencer, C A; Groudine, M., Control of *c-myc* regulation in normal and neoplastic cells. *Adv Cancer Res.*;56:1-48(1991).
  36. Mark W. Frazier, Xiaoping He, JinLing Wang, Zhengming Gu, John L. Cleveland, and Gerard P. Zambetti , Activation of *c-myc* Gene Expression by Tumor-Derived p53 Mutants Requires a Discrete C-Terminal Domain. *Mol Cell Biol.* ; 18(7): 3735-3743(1998).



## The Effect of Garlic Extract on Some Virulence Factors of *Proteus Mirabilis*

Luma G. Al-Saady

Microbiology Department of Biology, College of Science / Al-Mustansiriyah University

Received 24/11/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تم دراسة التأثير ضد الميكروبي للثوم بتركيز 1g/5ml على بكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من أشخاص مصابين بالتهاب الأذن الوسطى والتهاب المجاري البولية (UTI)، وأظهرت النتائج أن له تأثير على بكتريا *Proteus mirabilis* من خلال تثبيطه لبعض عوامل ضراوتها. كما تم دراسة التأثير التآزري لمستخلص الثوم مع بعض المضادات وتشمل (Carbencillin, Doxycyline, Cefoxitin, Ofloxacin, Piperacillin) وقد أظهر التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي ( $P < 0.01$ ) بين متوسط المضاد (Do) قبل وبعد إضافة مستخلص الثوم، بينما لا يوجد فرق معنوي ( $P > 0.05$ ) لتأثير مستخلص الثوم على عمل المضادات الأخرى. في *Proteus mirabilis* ومن جهة أخرى، تم اختبار التأثير الضد ميكروبي لمستخلص الثوم على بكتريا الفئران، وأظهرت النتائج أن لمستخلص الثوم تأثير مهم في تقليل إمراضية تلك البكتريا.

### ABSTRACT

In this work the antibacterial activity of Garlic was studied on *Proteus mirabilis* which isolated from patients suffering of otitis media and urinary tract infection (UTI), we found that when the Garlic extract be used in concentration 1g/5ml of distilled water shown effect on *Proteus mirabilis* by inhibition some of its virulent factors.

Also, the synergistic effect of garlic extract and some antibiotics including Carbencillin, Doxycyline, Cefoxitin, Ofloxacin and Piperacillin, was determined and the statistical analysis showed high significant differences ( $P < 0.01$ ) between the mean of (Do) antibiotic before and after adding garlic extract, while there are no significant differences ( $P > 0.05$ ) for the effect of Garlic extract on the other antibiotics action.

On the other hand, the antibacterial activity of garlic extract on *Proteus mirabilis* in mice was tested and the results showed that garlic extract have an important effect, it decrease the pathogenicity of *Proteus mirabilis*.

### INTRODUCTION

Garlic is one of the edible plants, which has generated a lot of interest throughout human history as a medicinal panacea. wide ranges of microorganisms including bacteria, fungus, protozoa and viruses have been shown to be sensitive to crushed garlic preparation(1).

The garlic bulb contains an amino acid derivative called allin, which is in fact odorless and contains no antibacterial properties. However, when the garlic bulb is crushed or grounded allin comes into contact with an enzyme (allinase) that converts the allin into allicin(2).

Allicin is the reason for garlic's distinctive odor, and is potent antibacterial agent (3).

The antibacterial properties of crushed garlic have been known for a long time. Various garlic preparations have been shown to exhibit a wide spectrum of antibacterial activity against Gram negative and Gram positive bacteria including genus of *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus* and *Clostridium*. Even acid fast bacteria such as *Mycobacterium tuberculosis* are sensitive to garlic (4).

Garlic extracts can also be effective against *Helicobacter pylori*, the cause of gastric ulcers(5).

*Proteus mirabilis* have many virulence factors included surface structure like fimbria that adhesion of Epithelial cell, flagella and swarming for motility and other factors like urease, protease, resistant to many antibiotics. That's virulence factors helps it to overcome the host defense system. Like non specific reaction (Phagocytosis, elimination bacteria by enzyme attack, activation of complement) and specific reaction (Ab and Cell of immuno system) (6).

So this study was established to shed light on the antibacterial effect of garlic extract on some virulence factors of *Proteus mirabilis*.

## MATERIALS AND METHODS

### Samples

Isolates of *P. mirabilis* were collected from patients suffering of otitis media and urinary tract infection from central medicine city hospital. The isolates were identified according to (7) by classical microbiological methods and API 20-E system.

### Preparation of Garlic extract

1.5 and 1 g of Garlic bulb were crushed separated and dissolved each one of them in 5ml of distilled water. After shaking the suspension was centrifuged, the supernatant was filter-sterilized then used at the same time (8), the two dilution of concentration 1g/5ml were prepared.

### Antibacterial Activity

- A. Two petridishes were prepared by adding (1ml) of Garlic extract from each concentration to (14ml) of nutrient agar after cooling to 50C°, each petridishes were streaked with indicator bacteria.
- B. 5mm diameter sterile absorbent paper were immersed in to concentration 1g/5ml of Garlic extract D.W and its two dilution. These disks were placed gently on the nutrient agar surface streaked with indicator bacteria and incubated in 37C° for 24hr. After incubation the results were recorded by measuring the diameter of the inhibition zone around the disk.

*In Vitro Tests*

A. For each test (hemolysin on blood agar, swarming as Roger *et al* (10), urease as Atlas *et al* (11), Protease as Benson *et al* (12), Antibioqram as Bauer *et al* (13), two plate were prepared , one with media only and the other mixed with 1ml of Garlic extract and inoculated by the indicator bacteria then incubated at 37 °C for 24hr.

Antibiotic Name	Manufacturer	Concentration
Py = Carbenicillin	Bioanalyse	5 mcg
Do =Doxycycline	Bioanalyse	30 mcg
Fox = Cefoxifin	Bioanalyse	30 mcg
Ofx = Ofloxacin	Bioanalyse	100 mcg
Pe = Piperacillin	SDI	100mcg

- For urease test two test tubes (slant) were prepared, one inoculate with the same isolates but after adding Garlic extract, then incubated at 37C° for 24 hr.

B. For bacterial adherence test:-

1. Bacterial adherence test on epithelial cell:

Human epithelial cell were prepared and used in the human epithelial cell adherence test according to. (14)

2. Bacterial adherence on the Polystyrene was done according to. (15)

*In Vivo Test :*

The current study includes 6 mice with the same weight, sex and aged 6 weeks. These mice were divided into 3 groups:

*Group one* : two mice were injected intraperitoneal (I. P) with (0.7ml) which contain  $10^6$  cpu from bacterial isolate.

*Group two* : two mice were injected I. P with same dose from the same bacterial isolate but after adding Garlic extract.

*Group three* : two mice with no injection as a control.

8 hr after administration of the dose, one mice from each group killed by cervical dislocation , blood, liver were taken.

Blood and homogenized liver tissues cultured on blood agar and MacConkey agar at 37C° for 24hr to bacterial cell detected.

The other mice from each group leave to see the effect of injection after 4 days.(16)

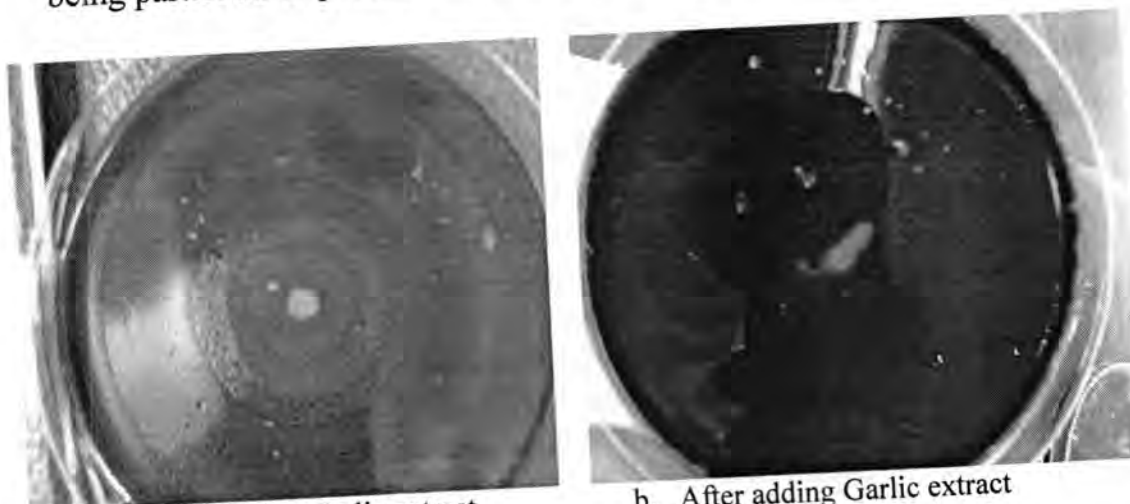
## RESULTS AND DISCUSSION

Clinical isolates of *P. mirabilis* isolated from different sources were identified.

*Proteus mirabilis* have many virulent factors such as hemolysin, swarming (peritrichous flagella), Protease, Fimbria and adhesion, these



factors gave the proteus it's pathogenisity, ability to colonization and resist the host defenses(17). In this study the antimicrobial activity of two concentration of garlic extract 1g/5ml and 1.5g/5ml were detected against these virulent factors, in concentration 1.5g/5ml there are no growth so it considered as bactericidal. In concentration 1g/5ml and its two dilution inhibit the growth of proteus isolates without killing them by inhibit the action of some enzymes responsible of the bacterial pathogenisity, such results concurred with these detected by (18), who noticed that in low concentrations the inhibition of the enzymes may not be lethal, but sufficient to block the microbe's virulence, at slightly higher concentration other enzymes such as dehydrogenises or thioredoxin reductase may be affected and even partial inhibition of these enzymes could be lethal for the microorganisms. Garlic extracts also, inhibit swarming phenomenon a potent virulence factor of *P. mirabilis*, which responsible of its colonization as seen in picture (1) that agree with (20), who mentioned that the swarming of *P. mirabilis*, which is important in the pathogenesis of this bacteria is reduced when garlic extract used in some concentration and the later being particular important in ascending urinary tract infections.



a. Before adding Garlic extract

- Swarming.
- Hemolysin.

b. After adding Garlic extract

- No Swarming.
- No Hemolysin.

Picture -1 : Antibacterial effect of Garlic Extract on the swarming phenomenon and hemolysin production of *Proteus mirabilis*

Bacterial adherence to epithelial surface and polystarin is playing a significant role in the initiation of UTI(21), our results indicated that garlic extract inhibit this ability so decreased of bacterial pathogenisity.

Antibacterial effect of the antibiotic before and after adding garlic extract was analyzed by using SPSS. VII (Statistical Package for Social

Sciences), the mean  $\pm$  standard deviation for every antibiotics (Py (Carbencillin), Do (Doxycycline), Fox (Cefoxitin), Ofx (Ofloxacin) and Pe (Pipercillin)) used in this study before and after adding garlic extract as mentioned in table (1).

Table -1 : Statistical Analysis of the Antibacterial Effect of the Antibiotics Before and After Adding Garlic Extract

Antibiotics	Mean $\pm$ SD		P. Value
	Before	After	
Py	22.40 $\pm$ 5.59	23.00 $\pm$ 10.37	P>0.05 N. S
Do	0 $\pm$ 0	28.60 $\pm$ 7.73	P<0.01 H.S
Fox	0	0	-
Ofx	29.60 $\pm$ 3.84	20.40 $\pm$ 5.41	P>0.05 N. S
Pe	15.40 $\pm$ 8.71	13.00 $\pm$ 6.78	P>0.05 N. S

N. S = No Significant.

Py = Carbencillin Ofx = Ofloxacin

H. S = High Significant.

Do = Doxycycline Pe = Pipercillin Fox = Cefoxitin

For antibiotics affecting test, t test was performed for two closed samples and that lead to find highly significant differences (P<0.01) between the mean of (Do) antibiotic before and after adding garlic extract that results similar to (3), who reported that garlic extract was observed to have an antibacterial effect similar to CPX and Amp, broad spectrum antibiotics, this was attributed to similarity in the mechanism of action of garlic and CPX.

While there are no significant differences (P>0.05) for the effect of garlic extract on action of antibiotics (Py, Fox, Ofx, Pe), as shown in Figure (1) that may be due to differences in its side of action.

Thus, the use of garlic for the treatment of infections may be a solution to the drug resistance problem.

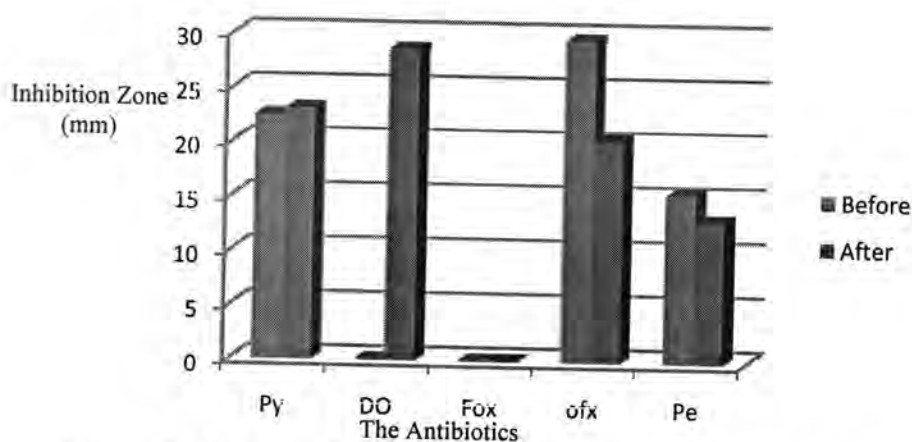


Figure -1 : Antibacterial Effect of the Antibiotics Before and After Adding Garlic Extract

Py-Carbencillin, Do-Doxycycline, Fox-Cefoxitin, Ofx-Ofloxacin, Pe-Pipercillin

*Proteus mirabilis* isolated and identification after culturing of blood and homogenized liver from killed mice, one injected by bacteria only and the other by bacteria + garlic extract. After 4 days the mice life was: the one which injected by bacteria only die, but the other one that injected with bacteria + garlic extract did not. These results refer to the ability of garlic extract to ascending the pathogenicity of *Proteus mirabilis* through affecting its virulent factors that similar to (22), who reported that Allicin also had an *in vivo* antibacterial activity against *Shigella flexneri* y, when tested in the rabbit model of experimental shigellosis.

In conclusions Garlic extract had an antibacterial activity on *Proteus mirabilis* by inhibition some of its virulent factors. Garlic extract had an important role in increasing the sensitivity of *P. mirabilis* to Doxycycline antibiotic (Do). Garlic extract had an effect in decreasing the pathogenisty of *P. mirabilis in vivo*.

Further studies are needed to detect the antibacterial activity of garlic extract on *P. mirabilis* by using other concentrations. Definitive study of the effect of garlic extract in decreasing the pathogenisty of *P. mirabilis in vivo* is needed.

## REFERENCES

- 1- Koch H. P., and Lawson L. D., Garlic, The Science and therapeutic application of *Allium sativum* L. and related species, in : Retford D. C. (Ed); Williams and Wilkines, Baltimorse, pp. 1-233, (1996).
- 2- Reuter H. D., Koch H. P., and Lawson L. D., Therapeutic Effects and applications of Garlic and its preparation in : Koch H. P., Ld, eds, Garlic. The science and therapeutic application of *Allium sativum* L. and related species. Baltimore : Williams and Wilkines, pp. 135-212. (1996).
- 3- EJa. ME., Asikong BE., Abriba C., Arikpo GE., Anwan EE., and Enyi-Idoh KH. Acomparative assessment of the antibiotics on diarrheagenic organisms. South East Asian J Trop Med Public Health. Vol (38) No. 2. P: 343-348. (2007).
- 4- Uchida Y., Takahashi T., and Sato N., The Characteristics of the antibacterial activity of Garlic, Jpn. J. Antibiotics 28. P: 638-642. (1975).
- 5- Celiini L., Dicamppli B., Masulli M., Di Bartolome OS.; and Aliocati N., Inhibition of *Helicobacter pylori* by Garlic extract (*Allium Sativum*), FEMS Immenol. Med. Microbial 13. P: 273-277. (1996).
- 6- Rozalski A., Sidorczyk Z., and Kotelko K., Potential virulence



- factors of *Proteus bacilli*. Microbiology and Molecular Biology Reviews. American Society for Microbiology. P: 65-89. (1997) Mar.
- 7- Greenwood, D., Slack R. C., and Peutherer J. F. Medical Microbiology. 16<sup>th</sup> Ed. Churchill Livingstone. (2002).
  - 8- Shokrzadeh and Ebdadi AG. Antibacterial effect of Garlic (*Allium Sativum*) on *Staphylococcus aureus*. Pakistan J of Biological Science 9(8). P: 1577-1579. (2006).
  - 9- Prescott LM, Harley JP, and Klein DA. Microbiology. 6<sup>th</sup> Ed. Boston : MC'Graw-Hill. P: 992. (2005).
  - 10- Roger KL., Annic G., Harold CJ., Rod N., and Lue RB., Differential expression of non agglutinating fimbriae and MR/ P Pilli Swarming colonies of *Proteus mirabilis*, J. Bacterial (81). P: 3220-25. (1999).
  - 11- Atlas RM., Brown AF., and Park SL. C., Laboratory Manual of Experimental Microbiology. 7<sup>th</sup> Ed., Mosby Company. Baltimore. (1995).
  - 12- Benson H. J. (Microbiological Applications : Laboratory Manual in General Microbiology. 8<sup>th</sup> Ed Complete Version. MC Grow-Hill. USA. (2002).
  - 13- Bauer. Aw., and Kirby W. M., Antibiotics susceptibility testing by standarized gingle disc method. Ame. J. Clin. Pathol. S 493-496. (1966).
  - 14- Lomberg, H., Gedegen B., Loffler H., Nilson B., Carlstorm AS., and Eden C. S., Influence of Blood Group on the Availability of Receptors for Attachment of Uropathogenic *Escherichia Coli*. Infec. Immuno., S1: 919-926. (1986).
  - 15- Gohl O., Friedrich A., Hoppert M., and Averhoff B. the Thin Pili of *Acinetobacter* sp. Strain BD413 mediate adhesion to biotic and a biotic surfaces. Appl. ENV. Microbial., 72(2). P:1394-1401. (2006).
  - 16- Maie S., Nomoto k., Yokokura T., Yoshikai Y., Mutai M., and Nomoto K. "Protective effect of *Lactobacillus casei* on *Pseudomonas aeruginosa* Infection in mice "Infect Immun.", Vol. 48, No. 2, PP. 480-485., (1985).
  - 17- Coker, C., Poore, C. A., Li, X. and Mobley, H. L. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* Urinary Tract Infection. Microbes Infect 2, 1497-1509. (2000).
  - 18- San-Blas G., Urbina J. A., Marchan B., Contreras L. M., Sorais F., and San-Bias F., Inhibition of Paracomri diodes Brasiliend by a joene is associated with Blockade of Phosphatidyl Biosynthesis, Microbiology 143. (1997).

- 19- Li, X., Johnson, D. E. and Mobley, H. L. T. Requirement of MrpH for Mannose-Resistant *Proteus*-Like Fimbria Mediated Hemagglutination by *Proteus mirabilis*. Infection and Immunity. June. P: 2822-2833. (1999).
- 20- Khder, A. K. Effect of *Allium Sativum* and *Myrtus Communis* on the elimination of antibiotic resistance and swarming of *Proteus mirabilis*. Jordan, J. of Biological Sciences, Vol. (1), No. (3). P: 124-128. (2008).
- 21- Finaly, B. B. Cell adhesion and invasion mechanisms in Microbial Pathogenesis. Curr. Opin. Cell Biol. 2 : 815-820. (1990).
- 22- Chowdhurg Ak., Ahsan M., Islam SN., and Ahmed Zu., Efficacy of aqueous extract of Garlic and Allicin in Experimental *Shigellosis* in rabbits. Ind. J. Med. Res. 93. P:33-36. (1991).

## Obesity in A Sample of Children Under Five Years of Age

Buthaina A. Rashid  
Health And Medical Technical College

Received 29/6/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تعتبر السمنة هي إحدى امراض سوء تغذيته وسببها هو الزيادة في وزن الجسم (أي زيادة في خزن الدهون تحت الجلد، و حول الأعضاء والمفاصل نسبة للعضلات. أجريت هذه الدراسة للفترة من أول تشرين الأول 2008 حتى نهاية آذار 2009 التي تهدف الى تقييم السمنة في الأطفال الأقل من عمر خمس سنوات ، وان هذه الدراسة الوصفية تتكون من (175) عينة حيث تمثل الإناث (50.8%) بينما الذكور (49.1%) من العدد الكلي على التوالي، وقد تم جمع العينات في روضة غرناطة في منطقة الطوبجي/بغداد/العراق.. وأظهرت هذه الدراسة ان أغلبية الأطفال ضمن المدى الطبيعي للنمو بالنسبة للطول والوزن .

### ABSTRACT

Obesity its one of malnutrition disease caused by increase in the weight of the body (increase in the fatty tissue storage under the skin, around organs, joints in proportion to muscle).

The aim of cross sectional study is to assess the prevalence of obesity among children under five years/ in AL-Gernata kindergarten, AL-Tobji area Baghdad/Iraq in the period from the first of October 2008 to the of end of March 2009.

The results of the study revealed that the percentage of female (37.1%) is higher more than of male (33.1%) in normal/while in lowest percentage in female of obese (4%) be with weight assessment. The recommendations of the study is by control of weight by changing the life style mainly exercise practicing exercise and health education about risk factors of eating fatty food .

### INTRODUCTION

Obesity is growing problem and an increasing public health concern in the developed countries. [1]Even more worrying is the increasing prevalence of obesity in developed countries. [2]Childhood obesity is well-recognized problem all over the world. [3]Obesity can cause other medical problems in childhood adolescence and adulthood. [4]Obesity has become a global problem [5] and has emerged as the important contributor to ill health displacing under nutrition [6] not only is obesity prevalent in Europe and the Asia but it is also on the rise in south east Asia where Japan and Chine a marked increase in North Africa more than half the children in Morocco and Tunisia are over weight or obesity and the Middle United Arab Emirates now recognizes obesity as a major public health problem. [7] In the United States the prevalence of over weight and obesity has increased dramatically jumping from one of every four Americans two of every three. [8]The goal of health people 2010 is to prevalence of obesity to no more 15 percent in adult and 5 percent in children and adolescents. Children and



adolescents also are concerned about weight in state grade – school girls from various socioeconomic backgrounds 28 to 40 percent reported that they sometimes dieted or were revel of ten worried being fat. [9]

**The aims of this study are:**

- 1- To find out the prevalence of obesity among a sample of children under five years.
- 2- To find out the association between obesity in children under five years and other socio demographic variables.

## MATERIALS AND METHODS

The study was carried out from the first of October 2008 to the end of March 2009. In AL-Gernata kindergarten. AL-Tabji area / Baghdad / Iraq. Data collection was by a special questionnaire designed by the investigator. It included information about the demographic and anthropometric characteristics of children (gender, weight, height and type of food) and their parents (level of education-family history child active-number of child in family).

Height was calculated from the anthropometric measurements standing height measurement (CMS weighing equipment LTD, England). The child stood shoeless with the heels and back in contact with the vertical column of the scale. Weight measurement was done by digital weight scale, (Seca, Australia). Before each measurement the digital scale was adjusted to zero, the patient was asked to take-off his or her shoes and jackets before weighing, and the weight was taken to the nearest fraction of Kg (to the closest 0.1 Kg).

Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height squared (meter<sup>2</sup>) and was used as the criteria for diagnosis of overweight and obesity. Participants were divided into 3 groups: normal weight ( $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ), overweight ( $25 \text{ kg/m}^2 \leq BMI < 30 \text{ kg/m}^2$ ) and obese ( $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ )<sup>(8)</sup>.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table -1 : Distribution of weight assessment according the gender .

Weight assessment (BMI)								
Gender	Obese		Over weight		Normal		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Male	9	5.1	19	10.8	58	33.1	86	49.1
Female	7	4	17	8.7	65	37.1	89	50.9
Total	16	9.1	36	19.5	123	70.2	175	100%

Table (1) shows higher percentage of normal BMI in female (37.1%) comparing with (33.1%) in male while the lowest percentage of obese was in female (4%)

Table -2 : Distribution of weight assessment according the position of child in family

<i>Weight assessment</i>	<i>Position of child in family</i>											
	<i>First</i>		<i>Second</i>		<i>Third</i>		<i>Fourth</i>		<i>Fifth</i>		<i>Total</i>	
Number %	No.	%	No.	%	No.	%	No	%	No	%	No	%
Normal	52	29.7	44	25.1	17	9.7	5	2.8	5	2.8	123	70.3
Over weight	16	9.1	12	6.8	5	2.8	1	0.5	2	1.1	36	20.6
Obese	4	2.3	7	4	4	2.3	1	0.5	0	0	16	9.1
Total	72	41.1	63	35.9	26	14.8	7	3.8	7	3.9	175	100

Table (2) show the percentage higher in first of Normal was (29,7%) but in the lowest percentage in fifth of obese was (0%) .

Table -3 : Distribution of weight assessment according the education level of fathers

<i>Weight assessment</i>	<i>Education level of father</i>									
	<i>Collage</i>		<i>Secondary</i>		<i>Primary</i>		<i>Literature</i>		<i>Total</i>	
Number %	No.	%	No.	%	No.	%	No	%	No	%
Normal	25	14.3	7	4	9	5.1	82	46.8	123	70.3
Over weight	9	5.1	1	0.5	2	1.1	24	13.7	36	20.6
Obese	1	0.5	0	0	3	1.7	12	6.8	16	9.1
Total	35	21.9	8	4.5	14	7.9	118	67.3	175	100

Table (3) show the percentages higher in illiterate of Normal (46.8) but in lowest percentages in collage of obese (0.5%) and in secondary of over weight (0.5%) .

Table -4 : Distribution of weight assessment according the education level of mothers

<i>Weight assessment</i>	<i>Education level of mother</i>									
	<i>Collage</i>		<i>Secondary</i>		<i>Primary</i>		<i>Literature</i>		<i>Total</i>	
Number %	No	%	No	%	No.	%	No	%	No	%
Normal	16	9.1	10	5.7	5	2.9	92	52.5	123	70.3
Over weight	1	0.5	1	0.5	3	1.7	31	17.7	36	20.6
Obese	3	1.7	2	1.1	0	0	11	6.2	16	9.1
Total	20	11.3	13	7.3	8	4.6	134	76.4	175	100

Table (4) show the percentages higher in illiterate of Normal (52.5) but in lowest percentages in primary of obese (0 %) and in collage and secondary of over weight (0.5) .

Childhood obesity is a serious public health problem with a rapidly increasing prevalence worldwide. The problem is surprisingly difficult to define.[10] It is associated with several risk factors for later heart disease and other chronic diseases including hyperlipidaemia, hyperinsulinaemia, hypertension, and early atherosclerosis.[11] The prevalence of overweight in our ( presumably represent-ative) sample of children was 6%, which is almost equal to the prevalence of obesity in the UK in 1984 (5.4%) and in Scotland (6.4%). The prevalence of obesity in UK and Scotland in 1994 was (1.7%) and (2.1%) respectively.[12] Our sample higher percentage of normal BMI in female (37.1%) comparing with (33.1%) in male while the lowest percentage of obese was in female (4%) but in male (5.1%) it was statistically not significant. The finding does no coincide with Nicolas et al in their prospective study of African Americans, which concluded that female sex is an independent risk factor.[13] and in table No. 2 of Number of children in family shows the percentage higher in first of normal was (29,7%) but in the lowest percentage in fifth of obese was (0%).Which disagree with other national studies while it shows that the highest level of over weight one observed in Kuwait , United Arab Emirates , Saudi Arabia , Jordan and Bahrain where the prevalence of over weight between (74%) and (86%) for female and (69%) and (77%) for male the lowest prevalence of over weight and obesity are observed in the last developed countries such as Yemen (37.5%) in female and (29.7%) in male and Sudan (36.9%) in female and (23.4%) in male . [14,15].The study showed a significant association between BMI with education-al level of both mother and father. Increased BMI in children seems to be associated with a low educational level of the parents. It seems that better educated people are more aware of this problem and more enthusiastic about protecting their children from the dangers of overweight and obesity. This assumption is in agreement with Fredrik et al.[16] who found increased BMI values in children with less educated parents, but does not agree with a study done by Mihaela et al [17] in the USA where mothers of obese children were not different from mothers of non-obese children in educated.

The study concluded that he prevalence of obesity is low especially among teenage and children. The majority of obese children were seen in female gender, in uneducated family, and in high socio economic state. More advance similar epidemiological studies should be carried out to cover all population. Health education about risk factors of eating fatty food, regular exercise practice educates people in general and children in particular to reduce body weight.



## REFERENCES

1. Food marketing to children and adolescents in the eastern Mediterranean region implications of public health paper presented at the regional committee for the eastern Mediterranean 54<sup>th</sup> session. October,( 2007).
2. De Onis M. Blossner M. is Mal nutrition declining an analysis of changes in levels of child mal nutrition since 1980. Bulletin of the world health organization ,(2000).
3. UNICEF progress for children. Middle East / North Africa a report card on nutrition number 4, (2006).
4. Belahsen R, Mziwira m. Fortat F. Anthropometry of women of childbearing age in Morocco. Body composition and prevalence of over weight and obesity. Public health nutrition, (2004).
5. Friedman JM. Obesity in the new millennium. Nature Nutrition – third Edition - Paul Inset. (2000).
6. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. Nature nutrition – third Edition – Paul Inset,(2000).
7. Mokhater N. Elatij. Chabir R. Diet culture and obesity in Northern Africa / Nut, nutrition – third Edition – Paul Inset,(2001).
8. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. Nature nutrition – third Edition – Paul Inset,(2000).
9. Gustafson – Larson AM, Terry RD. weight – related behaviors and concerns of fourth – grade children. JAM diet Assoc.,( 1992).
10. Word Health Organization Obesity: *preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO consultation, Geneva: WHO, (WHO/ NUT/98.1),(1998).
11. Berenson GS, Srinivasan SR, Beo W, Mewmen WP. Obesity and Cardiovascular risk in children. *Ann NY Acad Sci*. 699:93-103, (1993).
12. Chinn S, Rona RJ. Prevalence and trends in overweight and obesity in three cross sectional studies of British children, 1974 -94 *BMJ*. 322:24 -26 ,(2001).
13. Nicolas Strttler, Andrew M Tershakovec, Babette S Zemel, et al. Early risk factors for increased adiposity: a cohort study of African American subjects followed from birth to young adulthood *AmJ Clin Nur*. 72: 378-83,(2000).
14. WHO Global InfoBase . Genera . world Health organization <http://www.who.int/infobase/report.aspx> (accessed 1 July 2008).
15. El – Zanatyf. Way A. Egypt Demographic and health sursesy 2005 cairo . ministny of health and population , Nakonal population council , El-Zanaty and Associates , and ORC macro , (2006) .

16. Fredriks AM, van Buuren S, Burgmeijer RJF. Continuing positive secular growth changes in the Netherlands 1955-1997. *Pediatr Res.*, (2000) .
17. Mihaela Tanasescu, Ann M Ferris, David A Himmelgreen, Nancy Rodriguez and Rafael Perez Escamilla. Biobehaviora factors are associated with obesity in Puerto Rican children *J of Nutr.* 130: 1734-1742,(2000).

## Synthesis, Structural Study and Theoretical Treatment of New Some Metal Complexes with 2-hydroxy-4-nitro Phenyl 2-N(4-N,N dimethyl ) Benzyliden

Shaimaa R. Bakir, Nafeesa J. Kadhim and Mahasin F. Alias

Department Of Chemistry, College Of Science for Women, University of Baghdad,

Received 11/10/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تم تحضير الليكاند الجديد 2-هيدروكسي-4-نايترو فنييل N,N-4 (داي مثيل ) بنزليدين ومعدناته مع الايونات (Cr(III), Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) Zn(II)). وتشخيصها وتعيين الشكل الهندسي للمركبات المحضرة باستخدام الاجهزة الطيفية، الاشعة تحت الحمراء والاشعة فوق البنفسجية – المرئية بالإضافة الى قياس الحساسية المغناطيسية والتوصيل الكهربائي لها. اجريت معالجة تكوين المعقدات نظريا في الطور الغازي باستخدام برنامج (HyperChem-6) بتطبيق الميكانيك الجزيئي والشبه التجريبي في الحساب وذلك باستخدام الدالة PM3 لحساب حرارة التكوين وطاقة الترابط وبدرجة حرارة 298 كلفن لليكاند والمعدن المحضرة، كذلك تم حساب الجهد الالكتروستاتيكي لبيان المواقع الفعالة لقاعدة شف وجرى حساب التردد الاهتزازي نظريا وباستخدام الدالة PM3 لقاعدة شف ومقارنتها مع القيم المقاسة عمليا باستخدام 2-هيدروكسي-4-نايترو أنيلين كمركب قياسي من أجل زيادة إمكانية تشخيص الحزم بشكل أدق.

### ABSTRACT

A new imine, 2-hydroxy-4-nitro phenyl 2-N(4-N,N dimethyl ) benzyliden and its metal complexes with Cr(III), Mn(II), Fe (II), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) ions , were synthesized and identified, their structural geometries were suggested by using flame atomic absorption technique ,FT-IR and uv-vis Spectroscopy , in addition to magnetic susceptibility and conductivity measurements . Structural geometries of these compounds were also suggested in gas phase by using theoretical treatments, using HyperChem-6 program through molecular mechanics and semi-empirical calculations .The heat of formation( $\Delta H_f^\circ$ ) and binding energy ( $\Delta E_b$ )for the free ligand and it's metal complexes were calculated by using PM3 method ,PM3 was used also to evaluate the vibration spectra of Schiff base and compared with the theoretically calculated wave numbers with experimental values by using 2-hydroxy-4-nitro aniline as authentic compound.The theoretically results helped us to assign unambiguously the most diagnostic bands.

### INTRODUCTION

Hydroxy aniline of imine compounds have been used as chelating ligands in field of coordination chemistry [1] ,The Schiff base are important class of ligands due to their synthetic flexibility, their selectivity and sensitivity towards the central metal atom, structural similarities with natural biological substances and also due to presence of imine group, which imports in elucidating the mechanism of transformation and rasemination reaction in biological system [2-4]. Imine ligands have been extensively investigated as catalysts for a number of organic redox reaction and electrochemical reduction processes [5]. Many transition elements have been extensively investigated with regard to their potential quality as anticancer agent



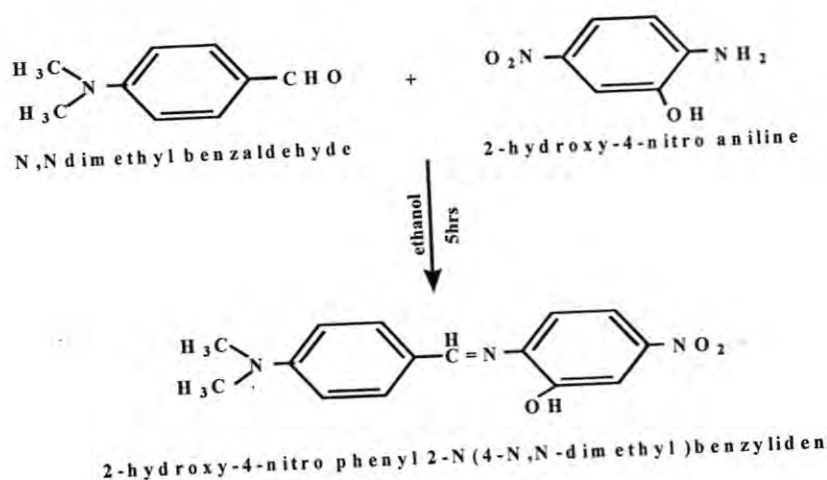
[6], and other observations suggest that many metal-containing imine compounds might be suitable for the development of new chemotherapeutics [7-9].

## MATERIALS AND METHODS

All chemicals used were of the analytical grade (A) and of highest purity available. they included chromium(III) chloride(Aldrich), cobalt(II) chloride (Fluka), nickel(II)nitrate (Sigma),copper(II)chloride (Aldrich), iron(II) chloride(Aldrich),manganes(II)chloride (Aldrich) zinc(II)acetate(Aldrich),N,N dimethyl benzaldehyde (Aldrich) and 2-hydroxy4-nitro- aniline (Aldrich).

### Synthesis of the shiff base ligand(L)

Hot solution of N,N dimethyl benzaldehyde (0.14g,1mmol)was mixed with hot solution of 2-hydroxy-4-nitro aniline(0.15g,1mmol) in (75)ml of hot ethanol.The resulting mixture was left under reflux for (5) hours and the formed solid product was separated by filtration ,purified by recrystallization from ethanol ,washed and dried with diethyl ether .The light brown product was collected,75% yield and the suggested structure of the ligand is shown below.



### Synthesis of the metal complexes

(0.285g,1mmole) of the ligand was dissolved in minimum amount of absolute ethanol(10ml), to which drops of aqueous solution of sodium hydroxide(1%) was added as catalyst, followed by the addition of (1mmole) of  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , and  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  which dissolved in absolute ethanol,or (0.57g,2mmol) of the ligand with (1mmole) of  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , in ethanolic solution . The contents were stirred under reflux for 2 hrs. The solid metal chelates precipitated, and collected by filtration, washed with diethyl ether and

dried over anhydrous  $\text{CaCl}_2$ . Physical properties of these complexes are listed in table(1).

### **Instruments**

Metal analysis of the separated solid chelates (M contents) were performed by using Shimadzu\ AA-670 atomic absorption flame emission spectrophotometer. The electronic spectra were recorded in ethanol using a shimadzu UV-Visible recording spectrophotometer(UV-160). Infrared spectra were recorded on(FTIR-8400) fourier transform infrared spectrophotometer (shimadzu) covering the range (4000-250)  $\text{cm}^{-1}$ . The molar conductance of the solid complexes ( $10^{-3}$  M) in DMSO at  $25^\circ\text{C}$  was measured by using(WTW) conductometer. Magnetic moments were determined using Farady method and carried out at  $25^\circ\text{C}$  on a Balance magnetic susceptibility model (Bruker Magent BM6). Further more , melting points were measured via using Gallen Kamp.F.B-60 melting point apparatus .

### **Theoretical treatment:**

Hyper Chem-6 program is known for its quality ,flexibility and easy of use , it offers ten semi- empirical methods [10,11]. Some of them have been devised specifically for the description of inorganic chemistry as well ,and generally good for predicting molecular geometry and energetics. They can be used for predicting vibration modes and transition structures [11]. In the present work , parameterization method 3(PM3) was used for the calculation of heat of formation and binding energy for all metal complexes. PM3 is more popular than other semi-empirical methods due to the availability of algorithms and more accurate than with other methods. PM3/TM is an extension of the PM3 method to include orbitals for use with transition metals. It has parameterized primarily for organic molecules and selected transition metals.

## **RESULT AND DISCUSSION**

The Schiff base under study is confirmed by IR spectrum and the results data of metal analyses (metal content) for the complexes with molecular formula and melting points ,magnetic and conductivity measurement are presented in Table (1). The result obtained are in a good agreement with those calculated for suggested formula .

### **Infrared spectroscopic study.**

The spectrum of the free ligand showed a strong band appeared at about 1666, which underwent to lower frequencies about (1600-1650)  $\text{cm}^{-1}$  in the complexes , This band was attributed to the (C=N) stretching vibration [12,13], also a weak band showed at 632  $\text{cm}^{-1}$

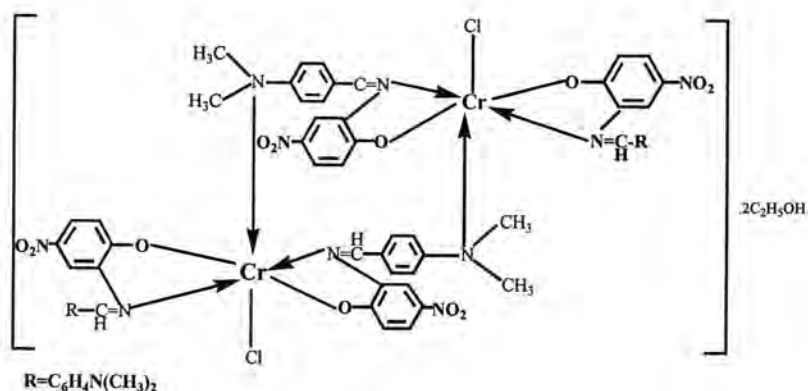
<sup>1</sup> assigned to hydrogen -bonded O-H out of plane bending vibration [14]. This assignment is supported by disappearance of the band when the hydroxyl hydrogen is replaced by the a metal. The phenolic (C-O) stretching vibrations, that appeared at 1288cm<sup>-1</sup> in the Schiff bases [15,16], underwent a shift toward higher frequencies around (1296-1308)cm<sup>-1</sup> in the all complexes. This shift confirms the participation of oxygen atom in the C-O-M bond [17,12], this observation, indicated that this ligand behavior as a bidentate through nitrogen in azomethain and oxygen of phenolic moiety. A nother coordination behavior as a tridentate of the ligand took place participated nitrogen of amine besides to nitrogen of azomethain and oxygen of phenolic moiety as a bridge for the chromium complex. This coordination was confirmed by blue shift in the  $\nu$ C-N of aromatic amino group by 22cm<sup>-1</sup>. All these absorptions were further supported by the appearance frequencies of  $\nu$ M-N,  $\nu$ M-O, and  $\nu$ M-Cl respectively [17]. The most characteristic bands in FTIR spectra of the ligand and its complexes can be shown in table(2). In the present study of all prepared complexes of the ligand in the presence of weak bond around 847-808cm<sup>-1</sup>, which may be assigned due to the presence of coordination water molecule in complexes, whereas in case chromium complexes of ligand, absence of coordinated water molecule [17]. A band was observed around (3480-3540)cm<sup>-1</sup> in the spectra of all complexes, assigned to the  $\nu$ OH suggested to the presence of ethanol molecule in the crystal lattice of the complexes [18].

## Electronic Spectra Of Complexes

### Chromium Complex(CrL)

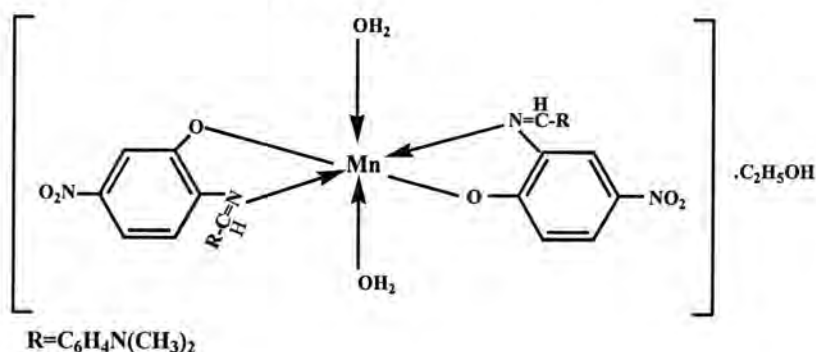
The electronic spectrum of Cr(III) complex, showed three bands within the range measurement. They have a maxima at 15343, 20630 and 32510 cm<sup>-1</sup>. these are spin -allowed and Laport forbidden transition. Chromium is in the (+3) oxidation state, so this is a d<sup>3</sup> system. Reference to Orgel diagram in forms that three d-d bands are expected and they can be assigned as:  ${}^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{2g}(v_1)$ ,  ${}^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}(v_2)$ , and  ${}^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}(P)(v_3)$  transition respectively in octahedral geometry (19,20). The electronic spectrum coupled with magnetic moment (3.35BM). Conductivity measurement showed that the complex was non ionic, considering these data and comparison with a large number of published works [21-23], suggested of the following dimeric structure.





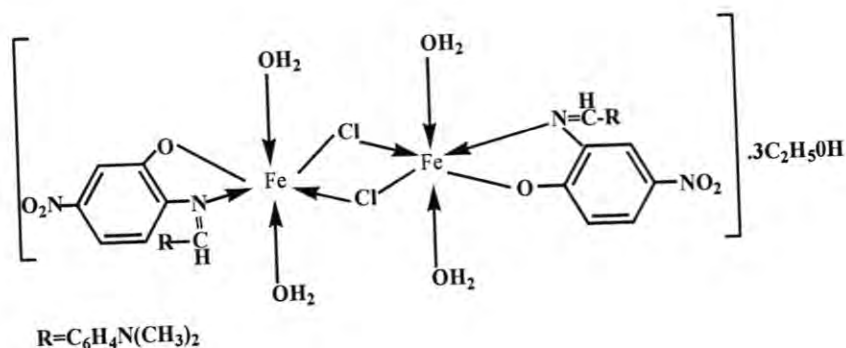
### Manganese Complex(MnL)

Magnetic studies showed that the ground term of the manganese (II) ion is sextet. The only sextet term of the  $d^5$  configuration in octahedral stereochemistry is the  ${}^6A_{1g}$ . the transitions of the spectrum are assigned as from the  ${}^6A_{1g}$  ground term to the equartet excited terms[24]. The electronic spectrum of the Mn(II) complex indicating by appearing the bands in the range 15651-16866  $cm^{-1}$  due to  ${}^6A_{1g} \rightarrow {}^4T_{2g}({}^4G) (v_1)$ ,  ${}^6A_{1g} \rightarrow {}^4T_{2g}({}^4G) (v_2)$ , and  ${}^6A_{1g} \rightarrow {}^4A_{1g} + {}^4E_g({}^4G) (v_3)$ , to  ${}^6A_{1g} \rightarrow {}^4T_{1g}(P) (v_4)$  transition respectively, indicating octahedral geometry (25) for this complex. In the present investigation the observed magnetic moment value for Mn (II) complex is (5.25)BM, which is well within the range expected for oh geometry around the central metal ion [25,26]. The conductivity measurement for this complex showed to be non electrolyte, The suggested structure of this compound may be proposed.



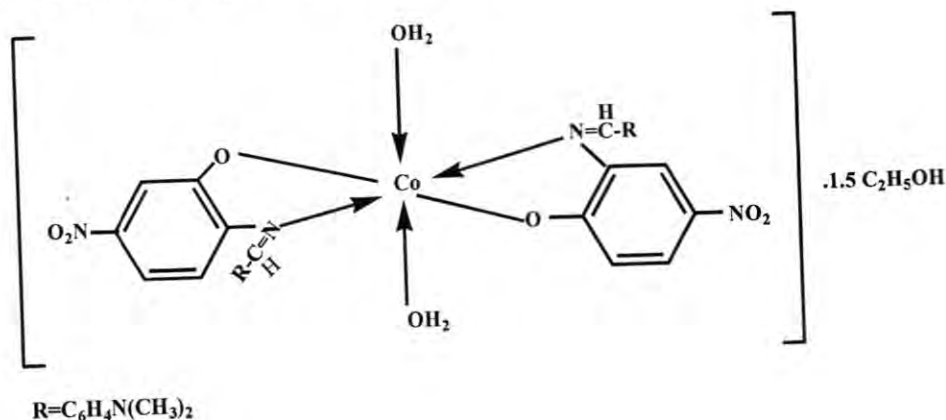
### Iron Complex(FeL)

The spectrum of Fe (II) complex, showed absorption peak at  $(34988)\text{cm}^{-1}$  and  $(22340)\text{cm}^{-1}$  were ascribed to the transition  $\text{LMCT}$  and  ${}^5\text{T}_{2g} \rightarrow {}^5\text{E}_g$  respectively [19,27]. These transitions were characterized to the oh geometry around Fe (II) ion .The value of magnetic moment was  $(4.6)\text{BM}$  which confirmed the structure [19,20] .Conductivity measurement value confirmed the non ionic structure .Depending on this finding results ,the following structural of this complex may be proposed.



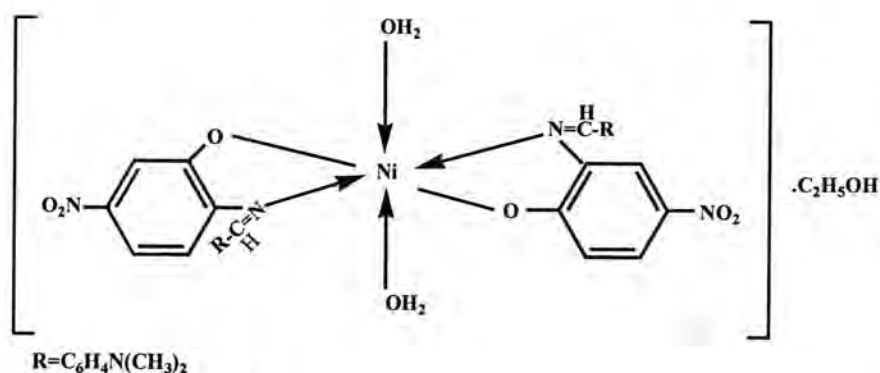
### Cobalt.Cmplexe(CoL)

The electronic spectra of Co(II)complex, exhibited bands in the region  $18100$  , $20120$  and  $23900\text{cm}^{-1}$  due to the  ${}^4\text{T}_{1g} \rightarrow {}^4\text{T}_{2g} (\nu_1)$  ,  ${}^4\text{T}_{2g} \rightarrow {}^4\text{A}_{2g} (\nu_2)$   ${}^4\text{T}_{1g} \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{P}) (\nu_3)$  transitions respectively. These transitions suggest octahedral geometry for the Co(II)complexes. These assignments are in good agreement with reported values [28,29]. The observed magnetic moment value for the cobalt ion complex is  $4.56\text{ BM}$  which indicates clearly the octahedral geometry of Co(II)complex [30]. The conductivity measurement of this formation ,The following structural may be suggested.



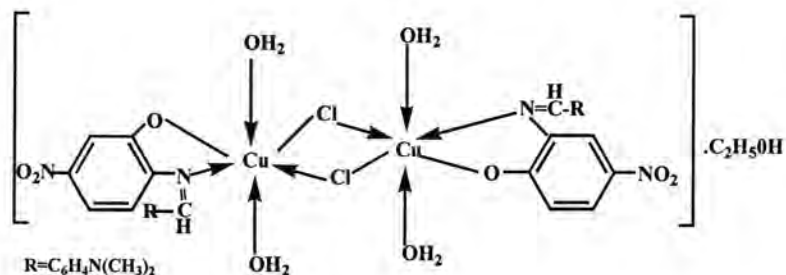
### Nickel Complexe (NiL)

Electronic spectrum of Ni(II) complex in the present investigation exhibited three bands in the region 11135, 18200 and  $23210\text{cm}^{-1}$ . These bands are assigned due to  ${}^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{2g} (v_1)$ ,  ${}^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{1g} (v_2)$ , and  ${}^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{1g(P)} (v_3)$  transition respectively. These transition suggested octahedral geometry for Ni (II) complex [31,32]. The magnetic moment measurement show to be high spin with (31.32) BM and the conductivity measurement showed non ionic compound. The most propobale structural of this complex is octahedral as shown below



### Cupper Complexe(CuL)

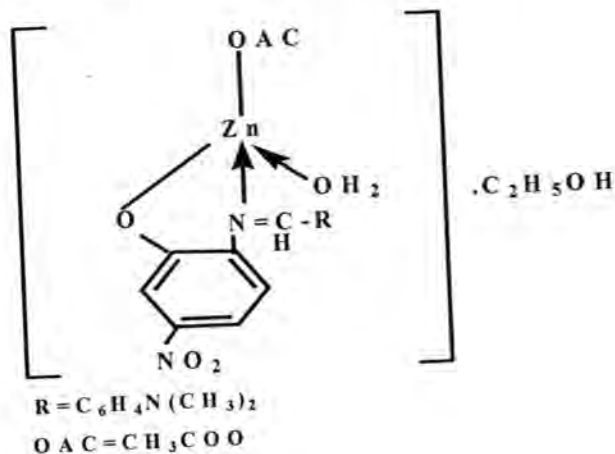
The spectrum of Cu (II) complex ,showed a broad band at  $16229\text{cm}^{-1}$ . The observed broad band in the present Cu(II) complex can be assigned to the envelope of  ${}^2B_{1g} \rightarrow {}^2E_g$  and  ${}^2B_{1g} \rightarrow {}^2E_{2g}$  transition in distorted octahedral geometry . The electronic spectra coupled with magnetic moment (1.83)BM. Indicate oh geometric around Cu (II) complex [33,34] ,conductivity measurement showed that the complex was non ionic . Considering these data and comparison with a large number of published works [35,22], let to proposal of the following dimeric structure.





### Znic Complex(ZnL)

The prepared complex is a diamagnetic, which is expected for  $d^{10}$  ion. The uv-vis spectrum of this compound show relative change in the band position compare to that of free ligand. The conductivity measurement for this complex in DMF solvent at  $25^{\circ}\text{C}$  showed to be non conductance. The most probable structural of This complex is tetrahedral as shown below.



### Theoretical study:

The vibration spectra of the starting material and schiff base(L) were calculated by using a semi-empirical method PM3. The results obtained for wave numbers are presented in (table -4), and the comparison with the experimental values indicate a some deviation. These deviation may be due to the harmonic oscillator approximation and lack of electron correlation. It was reported[36] that frequencies coupled with Hartree- Fock Theory (HFT) approximation and a quantum harmonic oscillator approximation tend to be 10% too high.

### Electrostatic potential (E.P).

The electrostatic potential has been used to give a simple representation of more important features of molecular[37] reactivity. Therefore, it has been calculated and plotted as 2D contour for molecule of free ligand, and fig (3) illustrated its contour map. The results of calculation showed that the LUMO of transition metal ion prefer to react with the HOMO of nitrogen atom azomethain of Schiff base and oxygen of phenolic group [38].

### Energy Optimization :

A theoretically probable structures of metal complexes with Schiff base have been calculated to search the most probable model building stable structure, These shapes fig (4) shows the calculated optima geometries for (L) and its metal complexes.

Table -1: Physical properties of the ligand and its metal complexes

Comp	color	m.p <sup>o</sup> c	Yield %	Metal content found(cal.)%	$\mu_{sc}$ m <sup>-1</sup>	B	Dq	$\beta$	$\mu_{eff}$ (BM)	Suggested molecular formula
L	Light brown	196-198	75	-----						C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
CrL	brown	117-119d	56	8.02 (7.22)	25	474.06	1534.3	0.516	3.35	[Cr <sub>2</sub> L <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ].2C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
MnL	pink	260-262	70	8.40 (7.77)	17				5.25	[MnL <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ].3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
FeL	Olive-green	123-125d	62	11.88 (11.34)	15				4.60	[Fe <sub>2</sub> L <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ].3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
CoL	Greenish-blue	280-282	75	8.48 (7.78)	12	685.3	1810	0.607	4.56	[CoL <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ].1½C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
NiL	Yellow	148-150	65	9.14 (8.72)	10	527.6	1113	0.509	3.12	[NiL <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O)].C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
CuL	Dark brown	122-124	64	13.01 (12.21)	20				1.83	[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O).Cl].6C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
ZnL	Light brown	253-255	80	12.13 (12.24)	17					[ZnL(H <sub>2</sub> O)(OAC)].2C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH

d: decompose

Table -2: The most diagnostic FTIR bonds of the ligand and its complexes

Comp.	$\nu$ C=N	$\nu$ C-O <sub>Pheno.</sub>	$\nu$ Ar-N	$\nu$ NO <sub>2</sub>	$\nu$ M-N	$\nu$ M-O	$\nu$ M-X	Others bands
L	1666	1288	1373	1542	.....	.....	....	.....
CrL	1640	1296	1395	1542	509.	408	308	3317.34
MnL	1620	1296	1373	1542	447	401	.....	3317.34
FeL	1612	1300	1373	1542	520	470	.....	3379
CoL	1642	1303	1373	1542	555	495	.....	3201
NiL	1650	1300	1373	1542	509	450	.....	3548
CuL	1650	1296	1373	1542	516	443	405	.....
ZnL	1600	1308	1373	1542	502	460	.....	OAC 1481 C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH 3317

Table -3: Conformation energetic in (KJ.Mol<sup>-1</sup>) for imines and its metal complexes.

Conformation	PM3	
	$\Delta H_f^\circ$	$\Delta E_b$
Starting material	158.1553090	-1584.4736910
L	14.9563754	-3847.6006246
CrL	-185.110804	-8201.2460804
MnL	-284.0661238	-8779.4081238
FeL	-868.9573769	-9401.4993769
CoL	-452.8511630	-9128.9111630
NiL	-96.5814563	-4719.1734563
CuL	-145.2935623	-8196.529623
ZnL	-976.2346802	-9687.753216

Table -4: Comparison of experimental and theoretical vibrational frequencies for the starting material and Ligand.

COMP.	$\nu$ NH <sub>2</sub>	$\nu$ C=N	$\nu$ NO <sub>2</sub>	$\nu$ C-O	$\nu$ Ar-N
Starting mat.	(3465)* (3497)** (-0.92)***	-----	(1545)* (1557)** (-0.77)***	(1290)* (1285)** (0.38)***	-----
Ligand	-----	(1666)* (1690)** (-0.01)***	(1542)* (1602)** (-3.80)***	(1288)* (1290)** (-0.15)***	(1373)* (1382)** (-0.65)***

\*: Experimental frequency

\*\*: Theoretical frequency

\*\*\*: Error % due to main difference in the experimental measurements and theoretical treatments of vibrational spectrum

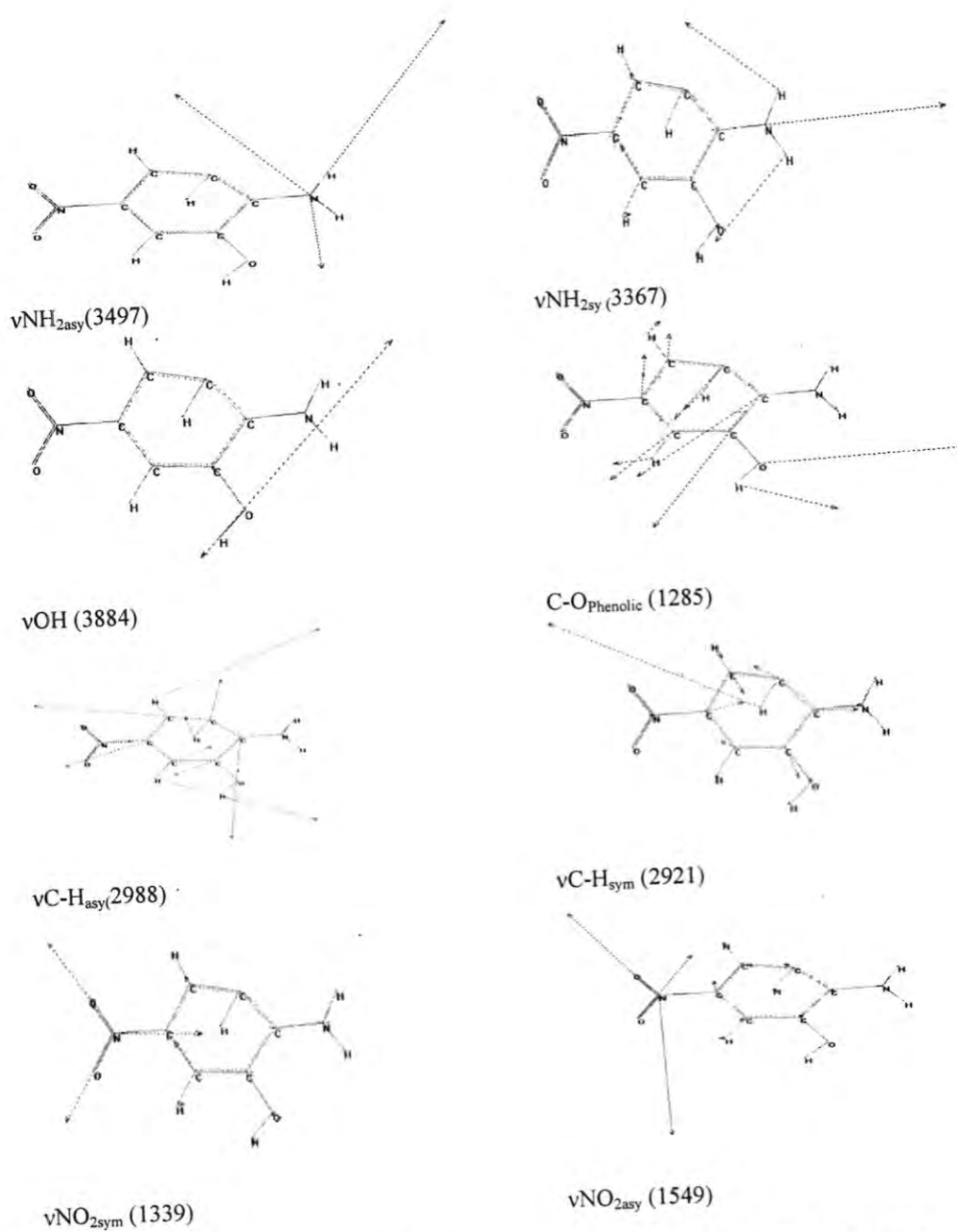


Fig -1: The Calculated Vibrational Frequencies of Starting Material.



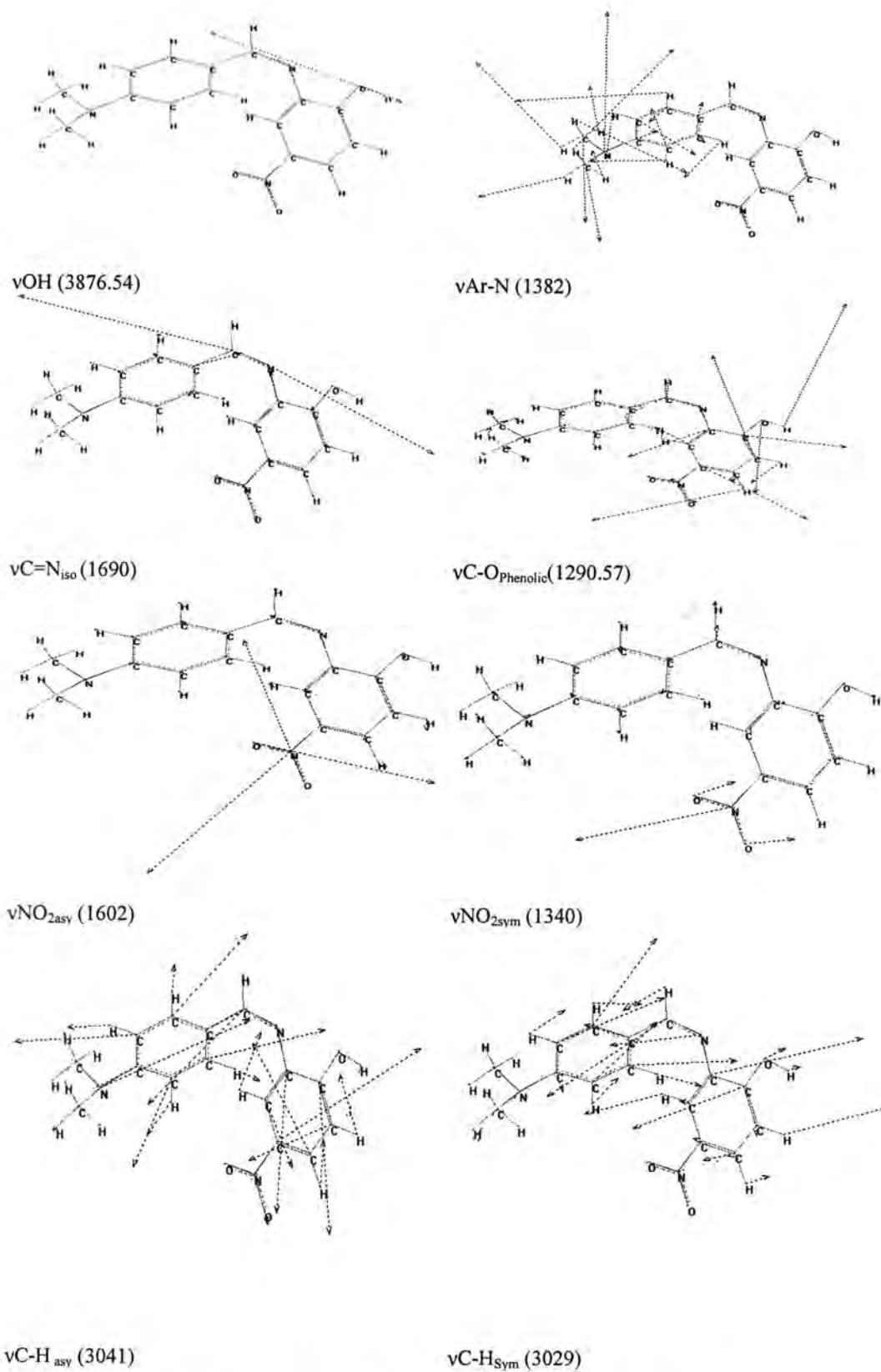
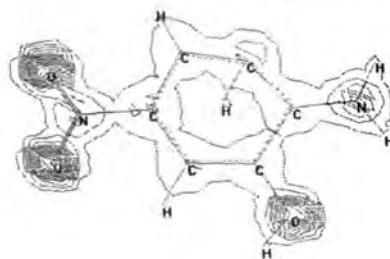
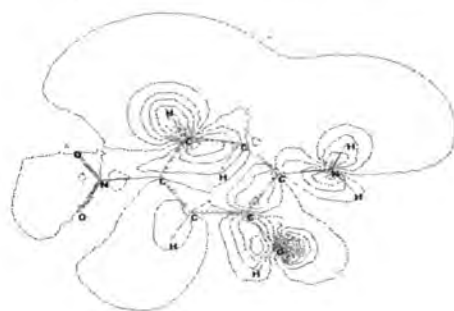
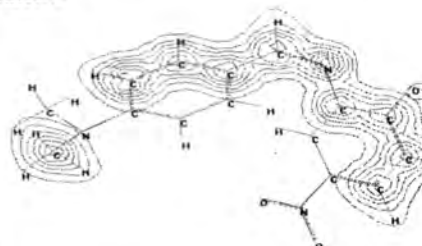
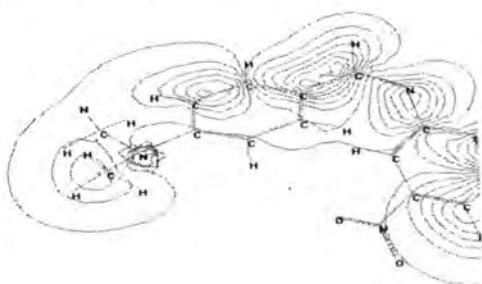


Fig -2: The Calculated Vibrational Frequencies of Ligand.



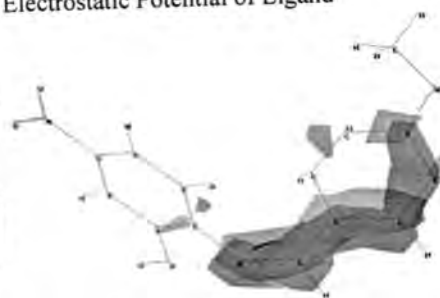
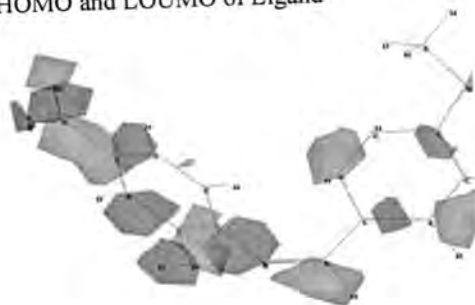
HOMO and LOUMO of Starting Material

Electrostatic Potential of Starting Material



HOMO and LOUMO of Ligand

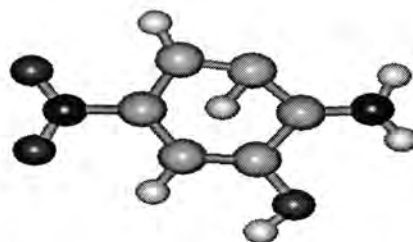
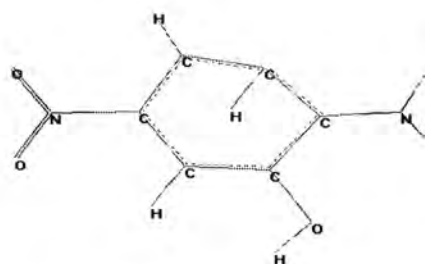
Electrostatic Potential of Ligand



-19.39834 ev

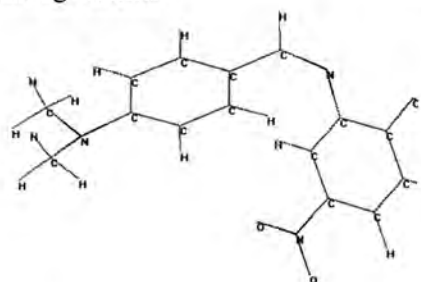
-12.60854 ev

Fig -3: HOMO,LUMO and Electrostatic Potential as 2D and3DContours for Starting Material and Ligand.



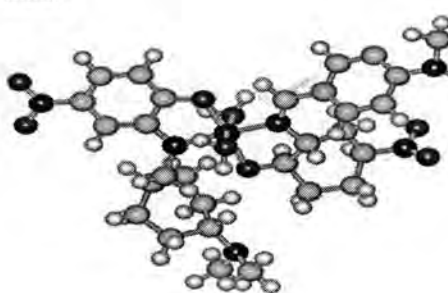
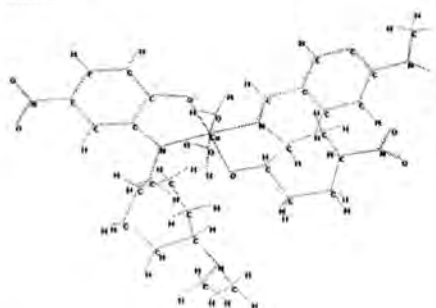
Starting Material

Starting Material



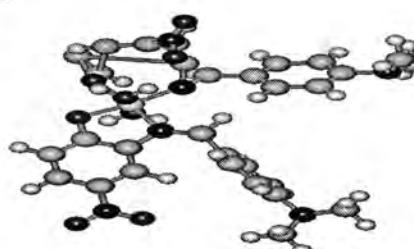
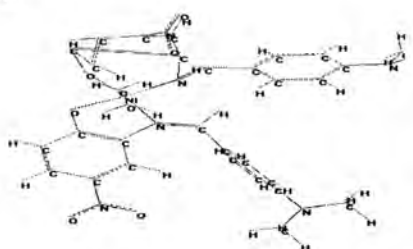
Imine

Imine



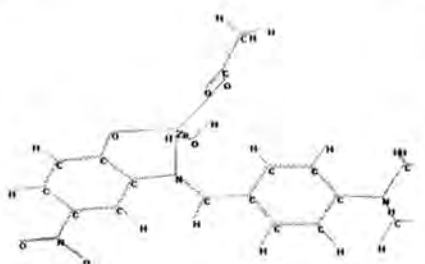
CoL

CoL



NiL

NiL





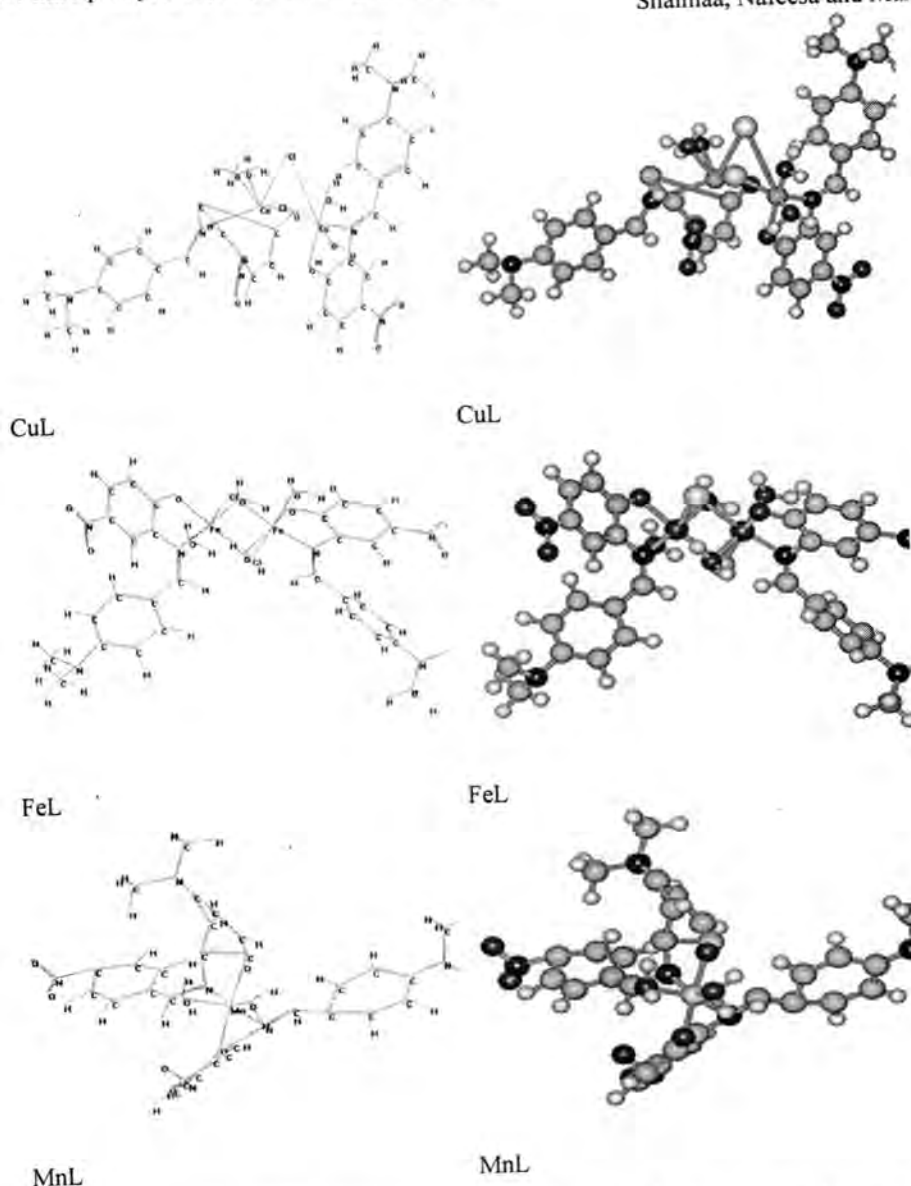


Fig -4: Conformational Structure of Starting Material, Imine and its Complexes.

## REFERENCE

1. N.N.GreenWood and A.Earnshaw,"Chemistry of Element" 2<sup>nd</sup> Ed.,Pergamon, Press(1998).
2. Cimerman ,Z.,S. Miljanie and N.Galic, CROATICA Chemical Acta .,73:81(2000).
3. Sari,N.,s.Arslan ,E.Logoglu and L. Sakiyan , Journal of Science 16(2):283(2003).
4. Spinu , C.and A.Kriza, ,Acat Chim Slov.,47 ;179(2000).
5. Temel ,H.Hben,S., Aslanouglu ,M.,Kihe ,A.,and Tas ,E.,J.Chinese Chem .Soc.53,5;1027 (2006).
6. Petra,H.,A.J.Michael ,K.Wilfried,W.stefan ,G.K. Nikolai ,E.Leonilla, Biochemical Pharmacology ,71:426(2006).

7. Sato ,T,M.Hashizume ,Y.Hotta and Y.OKahata , *Biometals*,11:107 (1998).
8. Estacion ,M and LJ. Mordan , *Cell Calcium*, 14:439(1993).
9. Leopold ,J.L.and Anghileri ,*Eur.J.Cancer* 15:1459 (1979).
10. H.Dorestt,A.arview of quantum chemical studies of energetic materials .DSTO Technical report(1996).
11. J.Foresman and C.Frisch ,*"Exploring Chemistry With Electronic Structure Methods"* 2<sup>nd</sup> Ed ., Gaussian Inc., pilt 's burgh ,PA(1996).
12. S.Sarawat,S.G.Srivastava and C.R.Mehrota,*J,organomet chem.*,129,155(1977).
13. P-Toyssie and J.Charette,*J.Spectro Chim.Acta*,19,1407(1963).
14. M.M.Abd .Elzaher ,*Jounal of the chines chemical society* 48,153(2001).
15. N.S.Biradan and V.H.Kulkami ,*J.Indian Nucl .Chem .*, 33,3781,(1971).
16. J.N.R.Ruddick and J.R.Sams ,*J.organomet .chem .*,60 ,233,(1973).
17. N.Nakamoto *"Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds"* , 6<sup>th</sup> Ed,in Wiley Intrescine ,New York(1997).
18. R.M.Sliverstein and X.F.Webser *"Spectrometric Identification of Organic Compounds "* 7<sup>th</sup>Ed., Jon Wiley and Son's Inc, ,USA(2005) .
19. A.B.PLever,*"Inorganic Electronic Spectroscopy"* 2<sup>nd</sup> Ed,Elsevier, , New York(1986).
20. J.H.Huheey, " *Inorganic Chemistry Principle of Structure and Reactivity "* Harper internation ' Edition, Harper and Row papar And Row publishers, New York(1994).
21. D.F.Shriver and P.W.Atkins *"Inorganic Chemistry "*3<sup>rd</sup> ed ., oxford university press(2001).
22. E.A.Elzahany ,K.H Hagab and N.S.Youssef *Australin J.oF Basic and Applied Science* , 2(2) , 210,(2008)
23. K.S.Abou-Melha and H.Faruk ,*J.Iran.Chem.Soc.*,5,1,(2008).
24. Choudhary Ratan C.K,Choudhary Kand .Mishral .K,*J.Indian Chem..Soc* .80,693 ,(2003) .
25. Narayanal ,chim ,*Acta .*, 130,2808(1981).
26. N.Raman ,y.pitchaikani and A.Kulanda i amy *proc. Indian Acad.sci (chem. Sci.)*, 133,3,(2001).
27. B.N.Figgis *"Introduction of Ligand field" interscence* ,Johon wiley and sons Inc. New York(1966).
28. Lakshmi (mrs.) and RaiRA,*J.Inorg .Nucl .chem .*,42,450 (1984).
29. Satpathy KC,Jal BB and Mishra R, *Trans.Met.C hem* .9,8(1984) .
30. Raman N,Kulandaisamy Aand Jeyas ubra manian K,*J.Indian chem.*.41A,942 (2002).
31. Koji Abe ,kanako ,matsufuji,masaaki ohba and Hisashi okawa,*Inorg.chem* .4,(2002).

32. Ketan M.Patel NH.Pated KN,Patel and patel MN,J.Ind .chem.soc.,(2000).
33. Raman ,N.,Raja,J.D.,and Sakthivel ,A.,J.Chem .Sci,119,4(2007).
34. Chio,S.N.,Bereman,R.D.and Wassam ,J.R., J.Inorg. Nucl .Chem. 37, 2087 (1975).
35. B.Sreenivasulu,M.Vetrichelvau and J.Vittal Eur.J.Inorg Chem. .10, 4635 (2005).
36. D.C. Young , " Computational Chemistry" A practical Guide for apply techniques to real –world broblems" , John wiley and son ,Inc.publication ,New York(2001).
37. M.Mueller , "Fundamentals of Quantum Chemistry "Kluwer Academic publishers , New York (2002).
38. W.P.Anderson ,p.Behm and T.M.Glennon,J.Phys. Chem., 101,(1997).



## Porosity Measurements of Cellulose Acetate Filters for Some Brands of Cigarette Using Mercury Porosimeter

Sameer H. Kareem and Inaam H. Ali

Chemistry Department / College of Science for Women / University of Baghdad

Received 27/8/2009 – Accepted 6/12/2009

### الخلاصة

صممت الفلاتر لغرض تقليل كمية الدخان والمكونات الخاصة التي تدخل جسم المدخن، وإن كفاءة هذه الفلاتر تتأثر بصفة خاصة بكل من المساحة السطحية والمسامية. لذلك كرس البحث الحالي لدراسة المسامية لخمس أنواع تجارية من السكاثر ذات الفلاتر المصنوعة من خلاص السيليلوز. وقد تم ذلك باستخدام جهاز دقيق لقياس المسامية الزئبقي، حيث قيس كل من قطر وحجم والمساحة السطحية للمسام وكذلك توزيع أقطار المسام. وأظهرت نتائج القياس أن حجم المسام ومساحتها السطحية لفلاتر الأنواع الخمسة من السكاثر يمكن ترتيبها وفق التسلسل الآتي :-

Mercury > Sumer > Gauloises > Aspen > Pine

بينما أظهر منحني توزيع أقطار المسام قمة واحدة في أغلب النماذج المستخدمة ما عدا النماذج الخاصة بكل من سكاثر ( Pine ) و ( Aspen ) ، حيث أظهرتا قمتين وثلاث قمم على التوالي .

### ABSTRACT

Filter is destined to reduce the quantity of smoke and specified components which fall in smoker's body. The smoke removal efficiency is affected by the surface area and porosity of the filter fibers. Therefore, the present work is devoted to study the porosity of five brands of cigarettes with cellulose acetate filters. These are tested using an accurate instrument of Mercury intrusion porosimeter and the porosity parameters measured are pore diameter, pore volume, pore area, and pore size distribution.

The results showed that the pore volume and pore area of the five filters of cigarette can be arranged according to the following order:

Mercury > Sumer > Gauloises > Aspen > Pine

The pore size distribution obtained had only one maximum for all samples except for samples of Pine and Aspen which showed two and three maximum respectively.

**Key words:** Porosity, Cigarette Filter, Mercury Porosimeter, Pore area, Pore size Distribution

### INTRODUCTION

In the early 1950's, the manufactures introduced the filtered cigarettes broadly following a spate of speculative announcements from doctors and researchers concerning a possible link between lung diseases and smoking, and by the 1960's, they dominated the market (1). Today, filtered cigarettes represented the majority of the market.

A filter has the purpose of reducing the amount of smoke, tar, nicotine, and fine particles inhaled during the combustion of a cigarette. In the "Light" cigarettes the filter is perforated

with tiny holes in order to dilute the smoke air, as such, the inhaled smoke contains less tar and nicotine. It is reported (2) that the average smoke yields for tar and nicotine of U.S. cigarette for 1953-1996 decreased from 38 to 12 mg and from 2.7 to 0.85 mg respectively. Haag et al (3), reported that charcoal filter tips selectively remove certain volatile agents (such as hydrogen cyanide, formaldehydes, acrolein) from the smoke. Also, cellulose acetate filter tips remove from the smoke up to 75% of the carcinogeni, volatile N-nitrosamines (4), retain up to 80% of semivolatile phenols (5,6), and lower the yield of CO and nitrogen oxides (NOx) (7).

Y.S.Lee et al (8). Developed an activated carbon fibers with pore sizes and pore size distributions designed to efficiently adsorb specific toxins and to generate very little pressure drop in filter applications. The results showed that the porosity of fibers depended on the time of activation and the cross-sectional area of fibers, and had extremely high specific surface area (greater than  $3000 \text{ m}^2/\text{g}$ ) and high degrees of meso-and macro-porosity. T. Sasaki et al (9) investigated the correlation between the adsorption efficiencies of the volatile organic compounds in cigarette smoke and pore size and pore volume of the activated carbons fibers. The results indicated that the adsorption efficiency relates to a weight of activated carbons. B.King and R.Borland (10) determined that both tar and nicotine yields correlated most strongly with filter density. Z. Chen et al (11) indicated that the removal efficiency of nicotine and tar by activated carbon was higher, which results from the fact that activated carbon has more suitable pore size and higher surface area for adsorption of nicotine and tar. P. Branton (12) used nitrogen adsorption at 77 K and mercury porosimetry to investigate the pores of activated carbon. The results indicated that increasing micropore volume leads to an increase in the removal efficiency of Ca. 40%, while the mesopores gave an improved removal efficiency of Ca. 20%.

Mercury intrusion porosimetry is used in previous work to test the porosity parameters in many areas, including filter

material (13), nano fiber materials (14), Iraqi natural silica (15), certain Iraqi clays (16), and pharmaceutical tablets (17).

In the present research, the porosity of some cigarette filters available in Baghdad market have been characterized. The measurements were performed using a fairly accurate and reliable instrument of mercury intrusion porosimeter.

## MATERIALS AND METHODS

Five leading cigarettes varieties available for sale in Baghdad were identified. The packs of cigarettes were purchased in June 2009, and the specification of these variety were listed in table (1).

Table -1\*: The specification of Cigarettes used in this research

Name	Company	Weight of tar/ mg	Weight of Nicotine /mg
Sumer	Iraqi Company of Tobacco and Cigarette	12	0.8
Pine	KT and G/ Korea	5	0.4
Aspen	JTI Macdonald Corp/ Germany	12	0.8
Gauloises	SEITA FRANCE/ European Union	4	0.4
Mercury	I.T.C (H.K.J) Mercury Cigarette and Trading Corp. L.T.D. U.S.A	12	0.8

\* Specification was get from cigarbox

Smoke yields of cigarettes are also dependent on physical parameters, such as, length of cigarette and filter and circumference of the cigarette and filter (18). The cigarettes used in this work have the following construction properties listed in table (2).

Table -2: The construction properties of filtered cigarettes used.

Name	Cigarette Length/ cm	Cigarette Diameter/ cm	Filter Length/cm	Filter * Weight/ g	Filter Density (g/cm <sup>3</sup> )
Sumer	8.45	0.80	2.00	0.1267	0.1261
Pine	8.30	0.80	2.35	0.1336	0.1132
Aspen	8.30	0.75	2.10	0.1135	0.1224
Gauloises	8.30	0.80	2.70	0.1371	0.1011
Mercury	8.30	0.75	2.00	0.1026	0.1162

\* Five cigarette filters weighted in analytical balance.

The measurements of porosity parameters were made using mercury porosimeter, model "poresize 9320", obtained from micromeritics, USA. This instrument characterize the pores ranging from 0.006 mm to 360 mm and capable of generating pressures ranging from 0 to 30.000 psi. The mercury porosimeter is a device which is capable of measuring



simultaneously both the pressure and the volume of the mercury taken up by the pores. The measurements was carried out as follows (15-17):-

The coating of filter was separated from the remaining filter material, and only pure filter material was used for analysis. The filter specimen to be examined was weighted using an analytical balance and dried in vacuum oven at (120 °C) overnight. After drying process, the specimen was transferred to the low pressure chamber and the measurements proceeded automatically recording the pressure (in Psi) and intrusion reading (in PF) (PF= pico farad). The same procedure were employed after the sample was transferred to the high pressure chamber. The duration time of the experiment lasted about 5 hours.

## RESULTS AND DISCUSSION

The filter density was calculated from observed filter weight, length, and diameter. The results obtained (Table 2) indicate that the filter density of various brands cigarette follow the sequence:

Sumer > Aspen > Mercury > Pine > Gauloises

The filter of high density slowing the flow of smoke through the filter. This results in a higher retention of particulate matter by filter tip (19). Moreover, the smoke velocity is seen to decrease with increased in the diameter.

The porosity or pore system of a porous sorbent material can be characterized in many different ways. The most important physical methods are (20-22): Mercury intrusion porosimetry, Helium measurements, and Gas adsorption (N<sub>2</sub>, Ar, CO<sub>2</sub>). Mercury porosimeter experiments often gives valuable information concerning the macro- and meso-pores of sorbent and hence very well may be used for quality tests of sorbent samples. In the measurement; the porous material is immersed in a non-wetting liquid will cause it to penetrate into the pores of the solid until equilibrium against the surface tension ( $\gamma$ ) in the smaller and smaller pores is attained. The respective mechanical equilibrium condition leads to the so-called Washburn equation for the limiting pore diameter (D) into which mercury at pressure (P) can penetrate :

$$D = -4 \cos \Theta / P$$

Where  $\Theta$  is the contact angle between the mercury meniscus and the pore wall. The practical value of this parameter is 140°, while the value of ( $\gamma$ ) for mercury is 480 dynes/cm. Pressures and intrusion volume were measured with better than 0.25% accuracy. Typical data obtained on filter of sumer cigarette were tabulated in table (3), which are show a pore size distribution data form and pore area distribution data form.

Table -3 :- Pore volume and pore area distribution data for Sumer cigarette filter

Pressure Psi	Pore size um	Intrusion Reading	Cumulative Intrusion	Cumulative Pore volume cc/g	Average Pressure Psi	Incremental Pore volume cc/g	Average Pore size um	Incremental Pore area m <sup>2</sup> /g	Cumulative Pore area m <sup>2</sup> /g
1.2	150.650	65.65	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
2.8	64.564	65.24	0.05	0.00427	2.00	.....	90.39	.....	0.00019
4.7	38.464	64.19	1.10	0.09405	3.75	0.08978	48.208	0.00745	0.00780
6.4	28.247	59.79	5.50	0.47025	5.55	0.3762	32.573	0.04619	0.05774
8.6	21.021	55.51	9.78	0.83619	7.50	0.36594	24.104	0.0607	0.13876
9.4	19.232	50.88	14.41	1.23205	9.00	0.39586	20.087	0.0788	0.24535
10.1	17.899	49.89	15.40	1.31670	9.75	0.08465	18.542	0.0183	0.28405
11.3	15.998	49.80	15.49	1.32440	10.70	0.0077	16.895	0.00182	0.31355
12.0	15.065	49.77	15.52	1.32696	11.65	0.00256	15.518	0.00067	0.34205
12.6	14.348	49.77	15.59	1.33294	12.30	0.00598	14.698	0.00163	0.36276
13.2	13.695	49.65	15.64	1.33722	12.9	0.00428	14.014	0.00122	0.38168
13.5	13.391	49.64	15.65	1.33807	13.35	0.00085	13.542	0.00025	0.39525
61	2.964	41.87	23.42	2.00241	.....	.....	.....	.....	.....
1079	0.1675	40.06	25.23	2.15716	570	0.15400	0.3172	1.9423	27.207
3104	0.0582	40.02	25.27	2.16058	2091.5	0.003415	0.0864	0.1581	54.6823
5332	0.0339	39.91	25.38	2.16999	4218	0.009410	0.0429	0.8782	202.519
7733	0.02337	39.80	25.49	2.17939	6532.5	0.00940	0.0277	1.3588	315.054
9319	0.01939	39.77	25.52	2.18196	8526	0.00257	0.0120	0.4848	411.632
10394	0.01739	39.73	25.56	2.18538	9856.5	0.00342	0.0183	0.7459	476.637
11640	0.01553	39.69	25.60	2.18880	11017	0.00342	0.0164	0.8337	533.560
12515	0.01444	39.68	25.61	2.18960	12077.5	0.00080	0.0149	0.2179	585.142
13144	0.01375	39.49	25.80	2.20590	12829.5	0.01630	0.0114	4.6274	626.232
14129	0.01279	39.38	25.91	2.21530	13636.5	0.00940	0.0133	2.8362	668.418
14822	0.01219	39.36	25.93	2.21700	14475.5	0.001695	0.0249	0.5429	710.122
14777	0.01223	39.33	25.96	2.21958	14799.5	0.00258	0.1222	0.8449	726.837

Converting intrusion meter readings to pore volumes requires, first, calculating cumulative changes in capacitance (initial value taken as zero). These changes in capacitance are then multiplied by the conversion factor (penetrometer constant) supplied for the penetrometer and a units conversion factor to give the cumulative pore volume. Cumulative pore volumes per gram of sample are obtained by dividing by the weight of the sample.

The total pore surface area obtained by assuming that all the pores are cylindrical capillaries. Then the pore surface area (A) for each diameter increment is simply related to incremental pore volume (v) and the average pore diameter (D) by equation:

$$A = 4V / D$$

The cumulative surface area for each point is the sum of these for all preceding points.

The results obtained on the five filters are summarized in Table (4), in which the experimental values of pore volume, pore area, the most abundant pore diameter, and median pore diameter of the five different filtered cigarettes have been tabulated. The value of D on the distribution curves corresponding to the maximum value of  $\Delta V / \Delta D$  is called the most abundant pore diameter, while median pore diameter is the pore diameter at which 50% of the total intruded volume of mercury is intruded into the sample.



Table -4: The porosity parameters of the different filters

Sample	Pore volume cc/g	Pore area m <sup>2</sup> /g	Median pore diameter / $\mu$ m	Most abundant pore diameter / $\mu$ m
Sumer	2.21958	726.837	20.087	0.014
Pine	0.03433	10.998	0.019	0.013
Aspen	1.59137	485.684	40.200	0.016
Gauloises	2.14132	685.222	30.130	0.013
Mercury	3.45382	1103.460	22.500	0.013

The results of table (4) show that the pore volume and pore area of the five filters of cigarette in an order that may be arranged in sequence:

Mercury > Sumer > Gauloises > Aspen > Pine

This suggest that filter of Mercury can be reduced the quantity of tar and nicotine in the inhaled smoke larger than the others, and the sequence can be arranged as above.

The pore size distribution as determined were 0.012 $\mu$ m to 226  $\mu$ m, 0.012  $\mu$ m to 150  $\mu$ m, 0.012  $\mu$ m to 150  $\mu$ m, 0.013  $\mu$ m to 226  $\mu$ m, and 0.012  $\mu$ m to 2.9  $\mu$ m for the filters of Mercury, Sumer, Gauloises, Aspen, and Pine cigarettes respectively.

Using IUPAC definitions of pore size (23), we have a mesopore volume of 0.059, 0.051, 0.049, 0.039, and 0.027 cc/ g for filters of Sumer, Mercury, Gauloises, Aspen, and Pine cigarettes respectively, while the macropore volume were 3.403, 2.161, 2.092, 1.552, and 0.007 cc/ g for Mercury, Sumer, Gauloises, Aspen, and Pine cigarettes respectively. The results show that most of the pore volume is assigned to macropores except on the sample of Pine. In contrary, the results show that the pore area is assigned to mesopores. The narrow range of pore size distribution is indicated on filter of Pine cigarette , while the wider range is indicating on filters of Mercury and Aspen, suggesting that the adsorption properties of the filter of Mercury and Aspen has higher adsorption efficiency for volatile organic compounds than the filter of Pine.

The mercury porosimeter measurements yield a cumulative pore volume starting at the widest pores. From these data a pore size distribution can be derived by plotting the increase in pore volume with each smaller pore diameter ( $\Delta V / \Delta D$ ) that becomes accessible. The pore size distribution obtained (figs.1 – 5 ) had only one maximum for all samples except for samples of Pine and Aspene which showed two and three maximum respectively. Also, the maximum of pore size distribution were shifted to smaller values on samples of Mercury, Sumer, and Gauloises cigarettes. In addition, although the pore size distribution had about a similar shape, the intensities of the curves were different.

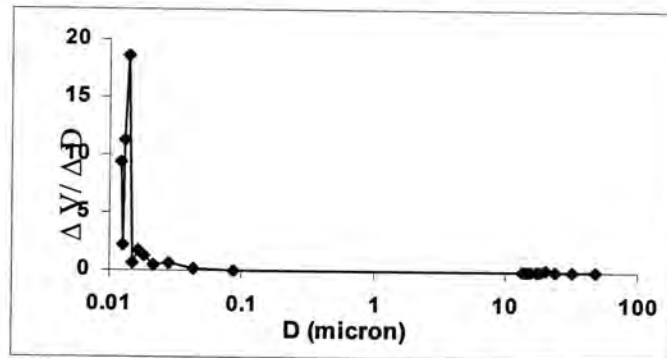


Fig -1: Pore volume distribution over pore diameter for Sumer Cigarette filter

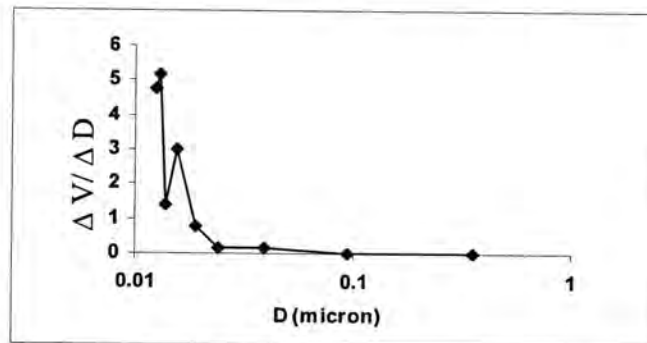


Fig -2: Pore volume distribution over pore diameter for Pine Cigarette filter

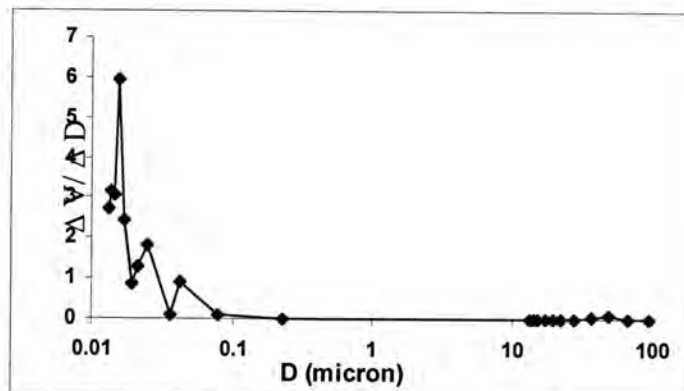


Fig -3: Pore volume distribution over pore diameter for Aspen Cigarette filter

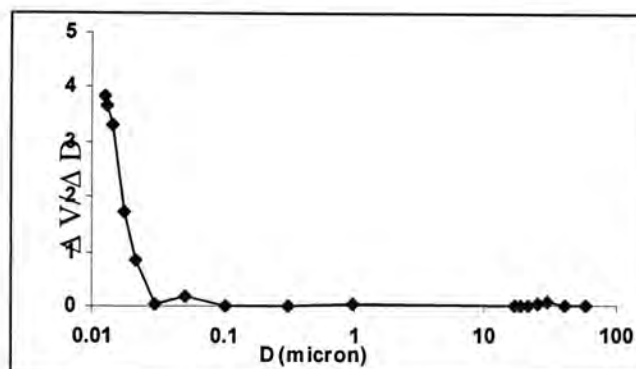


Fig -4: Pore volume distribution over pore diameter for Gauloises Cigarette filter



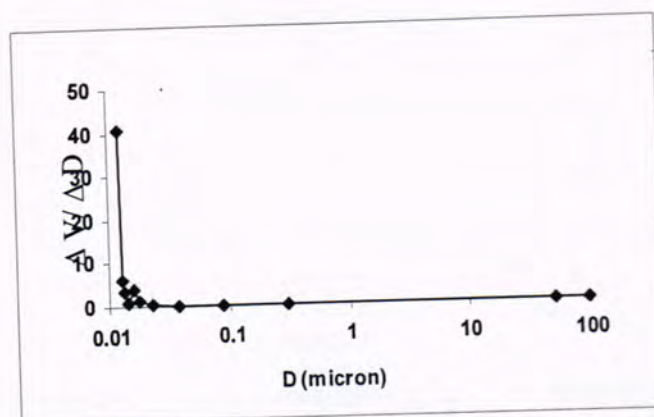


Fig -5:Pore volume distribution over pore diameter for Mercury Cigarette filter

In conclusion, we can summarize the followings:-

- 1- The filter density of various brands cigarette follows the sequence:  
Sumer > Aspen > Mercury > Pine > Gauloises
- 2 - The pore volume and pore area of the five filters of cigarette in an order that may be arranged in sequence:  
Mercury > Sumer > Gauloises > Aspen > Pine
- 3 - Most of the pore volume is assigned to macropores except on the sample of Pine, while most of the pore area is assigned to mesopores.
- 4 - The pore size distribution obtained showed only one maximum for all samples except for samples of Pine and Aspene which showed two and three maximum respectively.

## REFERENCES

- 1- K.J. Norton, K.Wilkins, and R. O'Connor "New Zealand Tobacco product Testing' Research Laborotary report, Roswell Park Cancer Institute, p.3 (2008).
- 2- D. Hoffmann, I. Hoffman, and E.L. Wynder. "The changing cigarette, 1950-1997. Facts and expectations". In report of Canada's Expert commite on cigarette Toxicity Reduction (Rickert W.S., Ed.) Chapter 11 p. 94, Health Canada, Ottawa, Canada(1998) .
- 3- H.B. Haag, P.S. Larson, and J.H. Finnegan " Effect of filtration on chemical and irritating properties of cigarette smoke" AMA Arch. Otolaryngol, 69, 261-265. (1969).
- 4- K.D.Brunnemann, L.Yu, and D. Hoffmann "Chemical studies on tobacco smoke XV11. Assessment of carcinogenic volatile N-nitrosamines in tobacco and in mainstream and side stream smoke from cigarettes" Cancer Res., 37, 3218-3222, (1997).
- 5- D. Hoffman, and E.L. Wynder " Filtration of phenols from cigarette smoke, J. Natl. Cancer Inst. 30, 67-84, (1963).

- 6- A. W. spears " Selective Filtration of volatile phenolic compounds from Cigarette smoke. Tob. Sci. 7, 76-80, (1963).
- 7- National Cancer Institute," Smoking and Health Program Toward Less Hazardous Cigarettes", DHEW Publ. No. (NIH) 77 – 128,(1977) .
- 8- Y.S. Lee, Y.V. Basova, D.D. Edie, L.K. Reid, S.R. Newcombe, and S.K. Ryu, "Preparation and characterization of trilobal activated carbon fibers" Carbon 41, 2573-2584 (2003).
- 9- T. Sasaki, A. Matsumoto, and Y.Yamashita "The effect of the pore size and volume of activated adsorption efficiency of vapor phase compounds in cigarette smoke" Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 325 (3), 166-172, (2008).
- 10- B. king, and R. Borland "The low tar-strategy and the changing construction of Australian Cigarettes" Nicotine and tobacco research, 6(1), 85-94, (2004).
- 11- Z. Chen, L. Zhang, Y. Tang, and Z. Jia, Adsorption of nicotine and tar from the mainstream smoke of cigarettes by oxidized carbon nanotubes" Applied surface science, 252, 2933-2937, (2006).
- 12- P. Branton, An. H. Lu, and F. Schüth, "The effect of carbon pore structure on the adsorption of cigarette smoke vapour phase compounds", Carbon, 47, 1005-1011, (2009).
- 13- Jena, A. and Gupta K. "Charactrization of pore structure of filtration media containing hydrophobic and hydrophilic pores" Fluid/ particle separation Journal. 14, 1-6, (2002).
- 14- Jena, A and Gupta, K. " Pore volume Nanofiber Nonwovens, " International Nonwovens Journal, Summer, 24-30, (2005).
- 15- Kareem, S.H. "Porosity of certain Iraqi natural Silica by mercury porosimetry measurements" Journal of Al-Nahrain, 10 (1), 1-6, June (2007).
- 16- Saher. S.H., " Investigation of the porosity of certain Iraqi clay deposits by mercury porosimeter" Um- Salama Science Journal, 6 (1) 2009.
- 17- S. K. Ibrahim, " Study of the porosity of certain pharmaceutical tablets using intrusion Mercury porosimeter" Um-Salama Science Journal. (2009) (*in Press*).
- 18- D. Hoffmann, I. Hoffmann, and K. El-Bayoumy "The less Harmful cigarette: A controversial Issue. A Tribute to Ernst L. Wynder" Chem. Res. Toxicol. 14 (7), 768-790, (2001)
- 19- D.Hoffmann, I.Hoffmann," The Changing Cigarette 1950 – 1995 " , Journal of Toxicology and Enviromental Health, 50 , 307 – 364, (1997) .
- 20- D.K. Chakrarty and B. Viswanathan, " Heterogenous Catalysis" New Age Internationa (P) Ltd., Publishers, 1<sup>st</sup> edition, p. 63(2008).

- 21- P. Klobes, K. Meyer and R. G. Munro, "Porosity and specific surface area measurements for solids Materials" Special Publications, U.S. government Printing Office, p. 40(2006).
- 22- J. Keller, and R. Staudt, "Gas Adsorption Equilibria : Experimental methods and Adsorption isotherms", Springer Science and Business Media, Inc. Boston, p32(2005).
- 23- K.S.W. Sing, DH Everet, R. Haul, L. Moscou, R. Pierothi, and J. Rouquero, " Physisorption data for gas/ solid systems", Pure Appl. Chem, 57 (4), 603,(1985).



## Synthesis of New Phenoxathiin Derivatives and Evaluation the Biological Activity for Some of the Prepared Derivatives

Suad M. AL-araji and Uday H. AL-Jelawy

Department of Chemistry - College of Science – Baghdad University

Received 12/10/2008 – Accepted 6/12/2009

### الخلاصة

يتضمن البحث تحضير مشتقات جديدة من الفينوكساثين وهي مشتقات معوضة على ذرة الكربون. وقد تم تحضير 8,2- (ثنائي سلفونيل اميد) فينوكساثين من تفاعل الفينوكساثين مع حامض كلوروسلفونيك ليعطي مركب (2) 8,2- (ثنائي سلفونيل كلورايد) فينوكساثين، وعند معاملة (2) مع أمينات أروماتية مختلفة تحول الى مشتق 8,2- (ثنائي سلفونيل اميد) فينوكساثين (3-12). ان تفاعل (2) 8,2- (ثنائي سلفونيل كلورايد) فينوكساثين مع ازيد الصوديوم أعطى مركب (13) 8,2- (ثنائي سلفونيل ازيد) فينوكساثين، وعند معاملة مركب (13) مع ثلاثي فنييل فوسفات، ثلاثي فنييل فوسفين وثنائي فنييل احادي مثيل فوسفين تحول الى مشتق 8,2- (ثنائي سلفونيل فوسفين امين) فينوكساثين (14-16). وقد اختبرت الفعالية البيولوجية لبعض هذه المركبات.

### ABSTRACT

The aim of the present work is synthesis of new phenoxathiin derivatives.

The 2,8-disulfon amide phenoxathiin was achieved by the reaction of phenoxathiin(1) with chlorosulfonic acid to give the 2,8-(disulfonyl chloride) phenoxathiin (2). The reaction of (2) with different aromatic amines yielded the 2,8-disulfonamide phenoxathiin(3-12).

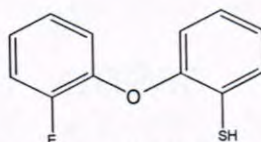
The reaction of 2,8-disulfonylchloride phenoxathiin(2) with sodium azide to gave 2,8-(di sulfonyl azide) phenoxathiin (13). Condensation of compound(13) with triphenyl phosphite, triphenyl phosphine and diphenyl methyl phosphine gave the 2,8-(di sulfonyl phosphine imine) phenoxathiin (14-16). All proposed structures were supported by UV-visible and FT-IR spectroscopic data. The biological activity for some of the prepared compounds were evaluated.

### INTRODUCTION

Phenoxathiin is given as the preferred name by Patterson and Capell (1), and will be used in this paper. The method of preparation of phenoxathiin have been used most widely encountered is the reaction between diphenyl ether and sulfur in the presence of anhydrous aluminum chloride (2,3), large number of uses have been proposed for phenoxathiin and some of it's derivatives. recently addition of phenoxthiin cation radial to acyclic alkene in aceto nitrile (MeCN) solution occurred stereo specifically to form bis(10-phenoxthiiniumyl)alkane adducts (4). phenoxthiin derivatives have recently gained attention owing to their fluorescent (5). Ionescu S. and popovici D (6) studied the emission properties of 2-phenoxathiinyl-1,5-phenyloxazole and 5-phenoxathiinyl-2-phenyloxazole derivatives by measuring the absorption and emission spectra of the derivatives above in cyclo hexane and methanol and discussed the results. A.A.Aly and



A.A.F. wasfy (7) from Egypt described that [6-(phenoxthiin-2-yl)-2,3,4,5-tetrahydro pyridazine-3-one] was successively synthesized by the condensation of [4-(phenoxthiin-2-yl)-4-oxo butanoic acid] with hydrazine hydrate in boiling ethanol. Polyamides with inherent viscosities in the range of (0.5-2.9) were readily prepared by the poly condensations of phenoxthiin diamines with aromatic diamine with new phenoxathiin diacyl chloride (8). Tintaru A., Hillebrand M. and the vand A. (9) were studied the inclusion complexes of the forms of 3-carboxy and 2-carboxy-phenoxathiin with  $\beta$ -cyclo dextrin by both one- and two-dimensional NMR spectroscopy. Miguel Yus (10,11) described that phenoxathiin was lithated using DTBB (4,4'-di-tert-butyl biphenyl) as the catalyst in THF at  $-78^{\circ}\text{C}$ , so intermediate was obtained by a carbon – sulfur reductive cleavage, This specie reacted with electrophiles giving, after hydrolysis with (3M) hydrochloric acid, the corresponding compound



Smith, Siegler, and Munger (12,13) found that phenoxathiin was outstanding in initial toxicity against coding – moth larvae. Smith and Moll state that alkyl phenoxathiin S and their halogen derivatives can be used as modifiers in plastic compositions, as intermediates, as antioxidants and as rubber and gum inhibitors (14,15).

## MATERIAL AND METHODS

### Instruments

Melting points were recorded using (Gallen Kamp) m.p. apparatus and are uncorrected IR spectra (KBr disk) were recorded on (SHIMADZU) FT-IR-8400 and pye-unicam SP3-300 spectrophotometer by University of Baghdad, College of science, Chemistry Dept. and University of Al- Nahrain, College of science, Chemistry Dept. UV spectra were recorded on UV-visible spectrophotometer (SHIMADZU) UV-160A. were performed by University of Baghdad, Collage of Science, Chemistry Dept. Thin Layer chromatography was performed on aluminum sheets precoated with silica-gel F254.

### Chemicals

All chemical used were supplied from BDH, Merck, Fluka and were used without further purification.

## General procedure for the preparation of compounds

### 1-Phenoxathiin (1)

A mixture of of phenyl ether (377.2 g. 2.2 moles), (51.2 g. 8 grams atoms) of sulfur (flowers) and (102g. 0.76 moles) of anhydrous aluminum chloride the reaction mixture was heated on the steam bath for 4hr. Then mixture was poured slowly, with string, into a 4-L beaker half filled with ice to which 50 mL of concentrated hydrochloride acid was added. After the two layers are separated the water layer was discarded and the phenyl ether-phenoxathiin layer dried overnight with calcium chloride. This mixture was then distilled at 5 mm/Hg. After the removal of the phenyl ether the fraction boiling at 140-160 °C/ 5 mm., practically all of which came over at 150-152 °C is collected as phenoxathiin. Crystallized from methanol melted at 56-57 °C. Yield 140 g. (87%).

### 2- 2,8- (disulfonyl chloride) phenoxathiin (2)

Phenoxathiin (2 g , 0.01 mole) was added in portions to 40 mL cold chloro sulfonic acid. The mixture was heated and maintained 70-80 °C for 7 hrs. the reaction mixture was poured onto ice-water and the solid product was filtered and recrystallized from chloroform m. p. (140-142 °C) yield 24% .

### 3- 2,8- (disulfonyl amides) phenoxathiin (3-12)

2,8- (disulfonyl chloride) phenoxathiin (0.005 mole) and (0.01mole) of primary aromatic amines were dissolved in 25 mL of anhydrous ethylene chloride; 2.5 mL of triethylamine was added . After refluxing for ten hours, it was filtered to remove the precipitated triethylammonium chloride. The filtrate was concentrated by distillation of the solvent, upon concentration the solid product separated out and recrystallized from ethanol- water. Table (1) represents the physical data and percent yield of compounds (3-12).

### 4- 2,8-(disulfonyl azide) phenoxathiin (13)

2,8- (disulfonyl chloride) phenoxathiin (3.97 g , 0.01 mole) was added in portion to a suspension of sodium azide (1.3 g , 0.02 mole) in dry acetone (100 mL). The mixture was stirred at room temperature for 24 hrs, A white solid was formed, the solid of NaCl and excess of NaN<sub>3</sub> were filtered off and the solvent was distilled a White solid obtained, recrystallized from methanol m. p. (188-189 °C ) yield (65 %), IR spectra showed azide stretching frequency at 2110 cm<sup>-1</sup>.



### 5- 2,8-(disulfonyl phosphine imines)phenoxathiin (14-16)

To a solution of triphenyl phosphine / triphenyl phosphite / diphenyl methyl phosphine (0.05 mole) in 5 mL dry ether was added, a solution of 2,8- (disulfonyl azide) phenoxathiin (10.26 g, 0.025 mole) in 5 mL of dry THF. complex was first formed which then decomposed with evolution of nitrogen, on standing over night in the refrigerator, the solution deposited crystals which recrystallized from dioxane. Table (2) represents the physical data and percent yield of prepared compounds (14-16).

### Microbiological Estimation

To study the microbiological effects of the prepared compounds correspond to the wells assay, there were two species of bacteria, *Escherichia coli* and *staphylococcus aureus*. These species were isolated and classified by the biotechnology for postgraduate institute, Baghdad University.

### Well plate assay (16)

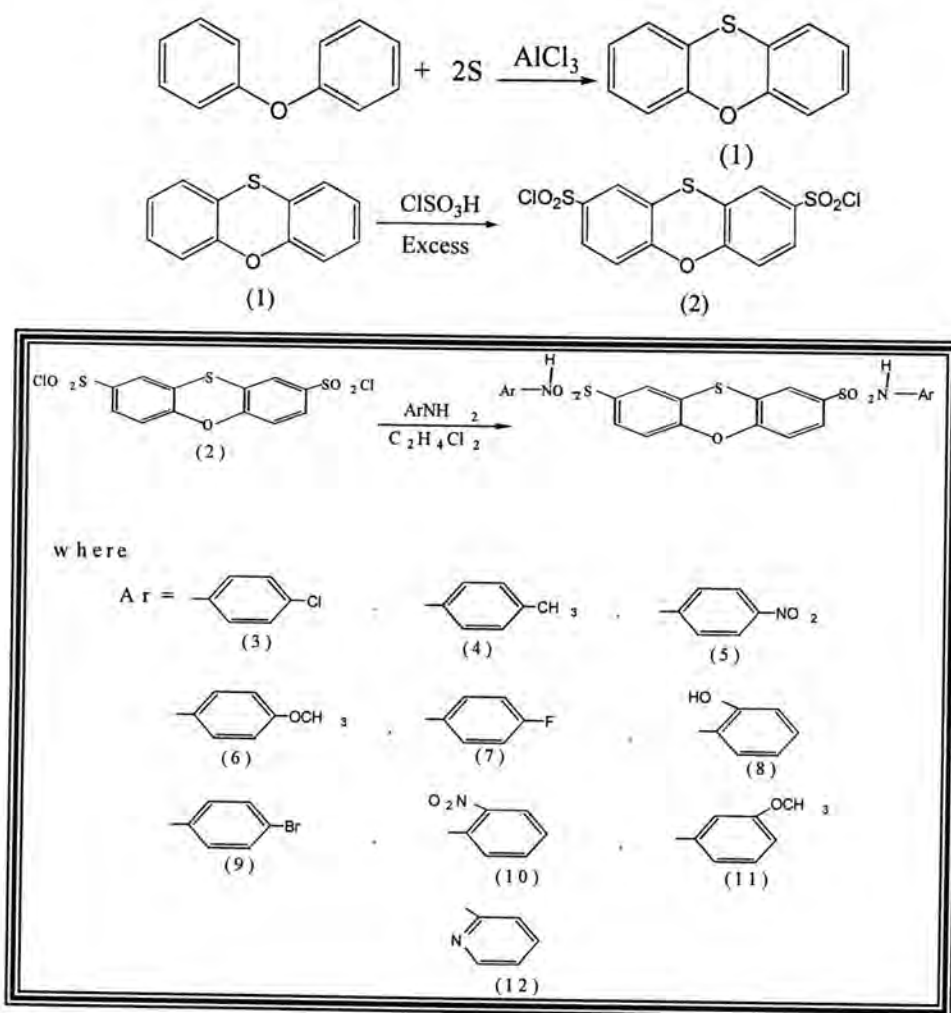
The solution of the prepared compounds in a suitable solvents and were applied to the selected agar medium that has been inoculated with suitable test culture. The antimicrobial agent diffuses in an over-colony circle around the wells of application, the radial growth of the colony was recorded on the completion of incubation and mean diameters of the zones of inhibition were recorded to represent the degree of the antimicrobial agent.

## RESULT AND DISCUSSION

Phenoxathiin was obtained from diphenyl ether and sulfur in the presence of aluminum chloride. IR spectrum of phenoxathiin showed a stretching band at  $3060\text{ cm}^{-1}$  for aromatic (C-H),  $1590\text{ cm}^{-1}$  and  $1560\text{ cm}^{-1}$  assigned to the aromatic system (17,18), U.V.spectrum showed two bands  $\lambda_{\text{max}}$  at 234 nm and 291 nm due to  $(\pi-\pi^*)$ .

The next step was chlorosulfonation of phenoxathiin to the corresponding 2,8- (disulfonyl chloride) phenoxathiin IR spectrum showed a characteristic band at  $3040, 3020\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H),  $1570$ ,  $1470$ ,  $1460\text{ cm}^{-1}$  (C=C) and two other bands at  $1390\text{ cm}^{-1}$  and  $1130\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group. The U.V. spectrum of compound (2) revealed two bands  $\lambda_{\text{max}}$  at 237 nm and 299 nm due to  $(\pi-\pi^*)$ .

The last step, when 2,8-(disulfonyl chloride)phenoxathiin(2) was condensed with different aromatic amines, it gave the 2,8-(disulfonyl amide) phenoxathiin (3-12).



Compound (3) were prepared from p-chloro aniline and 2,8-(di sulfonyl chloride) were dissolved in anhydrous ethylene chloride, triethyl amine. The reaction mixture was reflux for 10hrs. it gave compound (3). FT-IR spectrum showed stretching band at  $3237\text{ cm}^{-1}$  (NH) of sulfonamide,  $3078$ ,  $3060\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H),  $1585$ ,  $1467\text{ cm}^{-1}$  (C=C), two other bands at  $1348$ ,  $1125\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group,  $1271\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine and  $727\text{ cm}^{-1}$  (C-Cl). U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $248\text{ nm}$  and  $294\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

Compound (4) was prepared as described above using p-toluidine. FT-IR spectrum showed stretching band at  $3240\text{ cm}^{-1}$  (NH) of sulfonamide,  $3070$ ,  $3050\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H),  $2935$ ,  $2835\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching band of aliphatic (C-H),  $1575$ ,  $1460\text{ cm}^{-1}$  (C=C), two other bands at  $1375$ ,  $1180\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group,  $1271\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine and  $860\text{ cm}^{-1}$  out of plane bending p- substituted. U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $248\text{ nm}$  and  $294\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .



Compound (5) was prepared as described above using p - Nitro aniline. FT-IR spectrum showed stretching band at  $3220\text{ cm}^{-1}$  (NH ) of sulfonamide ,  $3100$  ,  $3078\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H ) ,  $1640$  ,  $1450\text{ cm}^{-1}$  (C=C),  $1380$ ,  $1112\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group, two other bands at  $1590$ ,  $1390\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{NO}_2$  group ,  $1299\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine and  $850\text{ cm}^{-1}$  out of plane bending p- substituted. U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $342\text{ nm}$  and  $383\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

Compound (6) was prepared as described above using p -anisidine. FT-IR spectrum showed stretching band at  $3210\text{ cm}^{-1}$  (NH ) of sulfonamide ,  $3075$  ,  $3050\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H ) ,  $2940$  ,  $2810\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching of aliphatic (C-H) ,  $1580$  ,  $1520\text{ cm}^{-1}$  (C=C) ,  $1380$  ,  $1130\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group ,  $1290\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine ,  $1210$  ,  $1075\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $248\text{ nm}$  and  $294\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

Compound (7) was prepared as described above using p -fluoro aniline. FT-IR spectrum showed stretching band at  $3225\text{ cm}^{-1}$  (NH ) of sulfonamide ,  $3078\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H ) ,  $1570$  ,  $1480\text{ cm}^{-1}$  (C=C) , two other bands at  $1350$  ,  $1140\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group ,  $1290\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine and  $1170\text{ cm}^{-1}$  (C-F) .

U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $248\text{ nm}$  and  $289\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

Compound (8) was prepared as described above using o-Hydroxy aniline.

FT-IR spectrum showed stretching band at  $3300\text{ cm}^{-1}$  (NH ) of sulfonamide ,  $3375\text{ cm}^{-1}$  abroad band of (O-H ) because intra hydrogen bonding ,  $3080$  ,  $3050\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H ) ,  $1570$  ,  $1520\text{ cm}^{-1}$  (C=C) , two other bands at  $1386$  ,  $1150\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group ,  $1280\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine and  $740\text{ cm}^{-1}$  out of plane bending O-substituted . U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $237\text{ nm}$  and  $291\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

Compound (9) was prepared as described above using p-bromo aniline. FT-IR spectrum showed stretching band at  $3240\text{ cm}^{-1}$  (NH ) of sulfonamide ,  $3080$  ,  $3055\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H ) ,  $1575$  ,  $1550\text{ cm}^{-1}$  (C=C) , two other bands at  $1370$  ,  $1125\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group ,  $1270\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine and  $710\text{ cm}^{-1}$  (C-Br) . U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $237\text{ nm}$  ,  $299\text{ nm}$  and  $393\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

Compound (10) was prepared as described above using o-Nitro aniline. FT-IR spectrum showed stretching band at  $3230\text{ cm}^{-1}$  (NH) of sulfonamide,  $3090$ ,  $3070\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H),  $1600$ ,  $1480\text{ cm}^{-1}$  (C=C),  $1386$ ,  $1125\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group, two other bands at  $1575$ ,  $1350\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{NO}_2$  group,  $1286\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine and  $740\text{ cm}^{-1}$  out of plane bending O- substituted. U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $248\text{ nm}$  and  $299\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

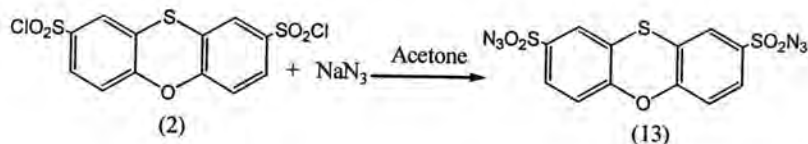
Compound (11) was prepared as described above using m-anisidine.

FT-IR spectrum showed stretching band at  $3240\text{ cm}^{-1}$  (NH) of sulfonamide,  $3080$ ,  $3030\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H),  $2940$ ,  $2820\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching of aliphatic (C-H),  $1580$ ,  $1470\text{ cm}^{-1}$  (C=C),  $1390$ ,  $1135\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group,  $1290\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine,  $1230$ ,  $1090\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of (C-O-C) and  $752\text{ cm}^{-1}$  out of plane bending m- substituted. U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $248\text{ nm}$  and  $294\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

Compound (12) was prepared as described above using o-amino pyridine.

FT-IR spectrum showed stretching band at  $3220\text{ cm}^{-1}$  (NH) of sulfonamide,  $3085$ ,  $3006\text{ cm}^{-1}$  aromatic (C-H),  $1575$ ,  $1450\text{ cm}^{-1}$  (C=C),  $1363$ ,  $1124\text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of  $\text{SO}_2$  group,  $1550\text{ cm}^{-1}$  (C=N) and  $1267\text{ cm}^{-1}$  (C-N) of aromatic amine. U.V spectrum showed an absorption  $\lambda_{\text{max}}$  at  $248\text{ nm}$  and  $299\text{ nm}$  due to  $(\pi-\pi^*)$ .

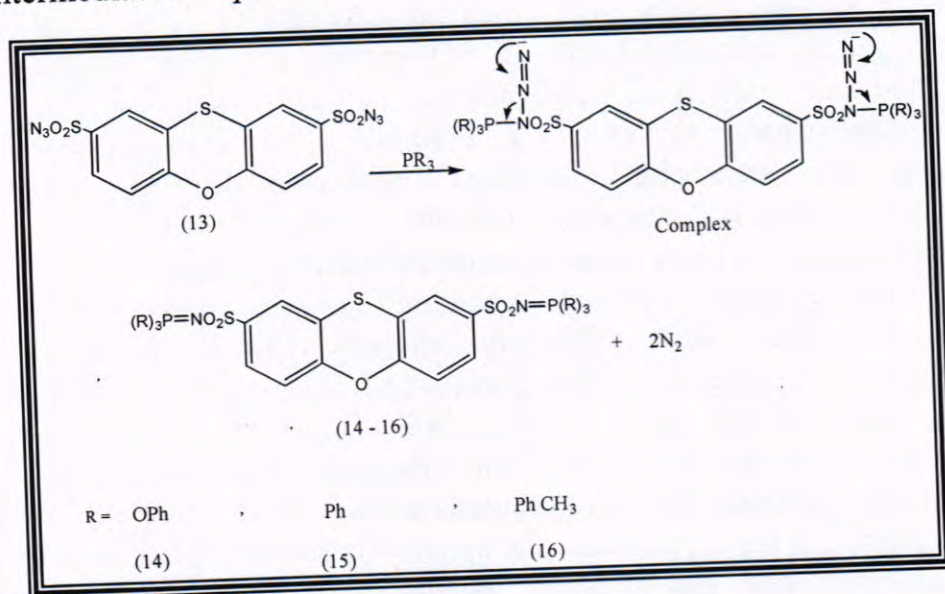
The 2,8-(disulfonyl azide) phenoxathiin (13) were obtained from the reaction of 2,8-(di sulfonyl chloride) phenoxathiin (2) with sodium azide in acetone. FT-IR spectrum showed stretching band at  $2125\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{N}_3$ ) also characteristics band at  $3082\text{ cm}^{-1}$  and  $3051\text{ cm}^{-1}$  for aromatic (C-H), two bands at  $1386$ ,  $1134\text{ cm}^{-1}$  (16,17), these two absorptions are typical for  $\text{SO}_2$  groups. U.V. absorption spectrum of compound (13) was taken in chloroform and display a well-defined absorption at  $\lambda_{\text{max}}$   $220\text{ nm}$ ,  $240\text{ nm}$  and  $297\text{ nm}$  that belong to long chain by azide group.



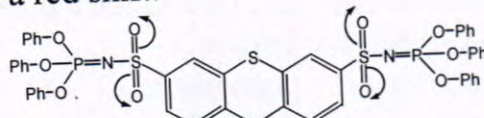
The last step, when 2,8-(di sulfonyl azide) phenoxathiin (13) was reacted with triphenyl phosphite, triphenyl phosphine and diphenyl



methyl phosphine , at room temperature..A moderate reaction concerned with evolution of nitrogen and produces the imino phosphorus (14-16) via intermediate complexes.



The FT-IR spectrum of compound (14) showed stretching two bands at  $1386 \text{ cm}^{-1}$  and  $1135 \text{ cm}^{-1}$  due to  $\text{SO}_2$  with appearance of three bands at  $1163 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1093 \text{ cm}^{-1}$  and  $760 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{N}=\text{P}$ ) Phosphine imine group, two bands appeared at  $1295$ ,  $1041 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ ) characteristic bands. U.V. spectrum of compound (14) showed three bands at  $\lambda_{\text{max}}$   $298 \text{ nm}$  and  $302 \text{ nm}$  which are attributed to conjugated double bond ( $\text{N}=\text{P}$ ) with aromatic ring which showed a red shift.



FT-IR spectrum of compound (15) showed stretching two bands at  $1388 \text{ cm}^{-1}$  and  $1176 \text{ cm}^{-1}$  which could be attributed to  $\text{SO}_2$  group (asym and sym), the spectrum also showed a characteristic aromatic at  $3064$ ,  $3047 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{H}$ ),  $1581$ ,  $1473 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$ ) and three bands appeared at  $1089$ ,  $1153 \text{ cm}^{-1}$  and  $740 \text{ cm}^{-1}$  due to ( $\text{N}=\text{P}$ ). U.V. spectrum of compound (15) appeared band at  $\lambda_{\text{max}}$   $291 \text{ nm}$  and  $300 \text{ nm}$  due to ( $\pi-\pi^*$ ). FT-IR spectrum of compound (16) showed stretching bands at  $3080$ ,  $3058 \text{ cm}^{-1}$  aromatic ( $\text{C}-\text{H}$ ),  $2923$ ,  $2854 \text{ cm}^{-1}$  which are assigned to the asymmetric and symmetric stretching bands of aliphatic ( $\text{C}-\text{H}$ ), the two bands stretching sharp at  $1323$ ,  $1168 \text{ cm}^{-1}$  assigned to  $\text{SO}_2$  group (asym. and sym) also bands appeared  $1110$ ,  $1060$  and  $750 \text{ cm}^{-1}$  due to ( $\text{N}=\text{P}$ ). U.V. spectrum of compound (16) showed two bands at  $\lambda_{\text{max}}$   $257 \text{ nm}$  and  $291 \text{ nm}$  due to ( $\pi-\pi^*$ ).

Table-1: the physical properties of compounds (3-12).

Amine used	Compd. No.	Chemical formula (M.wt)	M.P. C°	Yield %	Color of cryst.
p-chloro aniline	3	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>3</sub> (580)	165-167	60	Pale-yellow
p-toludine	4	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>3</sub> (539)	158-160	55	red-brown
p-nitro aniline	5	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub> S <sub>3</sub> (601)	160-162	65	yellow
p-anisidine	6	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>3</sub> (571)	170-172	35	Colorless
p-fluoro aniline	7	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>3</sub> (547)	140-142	40	Pale- orange
p-amino phenol	8	C <sub>24</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>3</sub> (543)	170-171	25	black
p-bromo aniline	9	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>3</sub> (668)	158-159	50	orange leaflets
o-nitro aniline	10	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub> S <sub>3</sub> (601)	150-152	45	orange
m-anisidine	11	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>3</sub> (571)	160-162	30	brown
o-amino pyridine	12	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S <sub>3</sub> (513)	145-147	35	pale brown

Table-2: the physical properties of compounds (14-16)

Compd. No.	Chemical formula (M.wt)	M. P. °C	% Yield	Color of cryst.
14	C <sub>48</sub> H <sub>36</sub> N <sub>2</sub> O <sub>11</sub> P <sub>2</sub> S <sub>3</sub> (975)	210-212	55	offite
15	C <sub>48</sub> H <sub>36</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> P <sub>2</sub> S <sub>3</sub> (879)	230-232	60	baige
16	C <sub>38</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> P <sub>2</sub> S <sub>3</sub> (775)	220-222	50	Light-brown



Table-3: Characteristics FT-IR absorption bands of compound (3-12)

Compd. No.	$\nu$ N-H $\text{cm}^{-1}$ sulfonyl amide	$\nu$ C-H $\text{cm}^{-1}$ Aromatic	$\nu$ C-H $\text{cm}^{-1}$ Aliphatic	$\nu$ C=C $\text{cm}^{-1}$	$\nu$ SO <sub>2</sub> $\text{cm}^{-1}$ Asym. Sym.	Other band $\text{cm}^{-1}$
3	3237 w	3078 vw 3060 vw	—	1585 s 1467 s	1348 m 1125 w	C-Cl 727 C-N 1271
4	3240 s	3070 w 3050 w	2935 m 2835 w	1575 s 1460 s	1375 s 1180 w	860 out of plane p-sub-stituted C-N 1275
5	3220 m	3100 vw 3078 vw	—	1640 s 1450 s	1380 m 1112 s	NO <sub>2</sub> 1590 1390 P-NO <sub>2</sub> 850 C-N 1299
6	3210 w	3075 w 3050 w	2940 w 2810 vw	1580 s 1520 m	1380 s 1130 w	C-O-C 1210 as 1075 sy P-OCH <sub>3</sub> 810 C-N 1290
7	3225 m	3078 w	—	1570 m 1480 s	1350 w 1140 w	C-F 1170 C-N 1290
8	3300 s	3080 w 3050 vw	-----	1570 s 1520 s	1386 s 1150 w	O-H 3375 m broad o-OH 740 C-N 1280
9	3240 m	3080 w 3055 vw	-----	1575 s 1550 vw	1370 m 1125 s	C-Br 710 p-Br 830 C-N 1270
10	3230 m	3090 w 3070 vw	-----	1600 m 1480 w	1386 s 1125 m	NO <sub>2</sub> 1575 1350 o-NO <sub>2</sub> 740 C-N 1286
11	3240 w	3080 w 3030 w	2940 m 2820 w	1580 m 1470 s	1390 w 1135 vw	C-O-C 1230 as 1090 sy m-OCH <sub>3</sub> 752 C-N 1290
12	3220 m	3085 w 3006 vw	-----	1575 s 1450 s	1363 m 1124 s	C=N 1550 C-N 1267

Table-4: Characteristics FT-IR absorption bands of compound (13-16)

Comp. No.	$\nu$ C-H $\text{cm}^{-1}$ Aromatic	$\nu$ C-H $\text{cm}^{-1}$ Aliphatic	$\nu$ C=C $\text{cm}^{-1}$	$\nu$ SO <sub>2</sub> $\text{cm}^{-1}$ Asym. Sym.	Other band $\text{cm}^{-1}$
13	3082 w 3051 w	————	1577 s 1460 s	1386 s 1134 m	2125 due to N <sub>3</sub> azide
14	3070 w 3040 w	————	1570 s 1450 m	1375 s 1130 w	$\delta$ N=P 760 1093 1163 P-O-C 1041 1296
15	3064 w 3047 w	————	1581 w 1473 m	1388 vw 1176 vw	$\delta$ N=P 740 1089 1153
16	3080 vw 3058 vw	2923 vw 2854 w	1577 m 1467 m	1348 w 1124 w	$\delta$ N=P 750 1060 1110

### Test of the biological activity

The effect of 2,8-(disulfonyl chloride)phenoxathiin, 2,8-(disulfonylamide) phenoxathiin (3,4,6,10,11), 2,8-(disulfonyl chloride azide) phenoxathiin and 2,8-(disulfonyl phosphineimine) phenoxathiin (14,15,16) (the phenoxathiin derivatives prepared in 70%DMF solution) were tested against two types of bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* the experiment was conducted by using nutrient agar plates. The plates were incubated at 37°C for 24 hrs.

The study showed that 2,8-(disulfonyl chloride) phenoxathiin possesses biological activity toward two types of above mentioned bacteria, 2,8-(disulfonylamide) phenoxathiin (3,4,6,10,11), 2,8-(disulfonylazide) *E.coil* and *S.aureus* but they showed a varying biological activity toward *E.coil*. We can conclude the positive results by the following:-

1- 2,8-(disulfonyl chloride) phenoxathiin showed inhibition zone 20mm in diameter in *E.coil* and 18mm in *S.aureus*, compounds (3,4,6,10,11) showed inhibition zone (30,18,24,23,23)mm in diameter respectively in *E.coil* and (18,16,16,19,22)mm in *S.aureus*.

2- 2,8-(disulfonyl chloride azide) phenoxathiin inhibition zone 18mm in diameter in *E.coil* but 0mm in *S.aureus* , compounds(14,15,16) showed inhibition zone (12,20,15)mm in diameter respectively in *E.coil* and (0,18,15)mm in *S.aureus* .

## REFERENCES

- 1- Patterson A. M. , and Capell L., The Ring Index , Reinhold Publishing Corporation , New York . No . 1914,. (1940).
- 2- Gilman H . , , Marian W . , Willis H . B . , and Stuckwisch C . G . ,The metalution of phenoxathiin J . Am. Chem . Soc . 62 , 2606, (1940).
- 3- Suter C. M. , and Maxwell C .E., Organic Syntheses , Vol . 18 (R . C . Fuson, Editor), p. 64. John Wiley and Sons, Inc., New York (1938).
- 4- Zhao BJ., Shine HJ, Marx JN, Hofmann C, Whitmire KH., J. Org. Chem. ; 72 (16),p-6154, (2007).
- 5- Radutiu A. C . , Baciuc I., Caproiu M. T. Draghici, C . and Nicolae A . , Rev. Roum. Chim51, 653,( 2006 ).
- 6- Popovici D . ,and Ionescu S., Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. ; 66(4-5): 1165-70, (2007).
- 7- ALY A. A. and WASFY A. A. F., Chem. Pap. 58(2)126—132 (2004).
- 8- Ueda M., Aizawa T. and Imai Y., J .of Polymer Chem. 15,Issue 11, (2739-2747) , (2003) .
- 9- Tintaru A . , Hillebrand M . and Thevand A. J., Inclusion phenomena and Macrocyclic chem . , Vol.45, No. 1-2, pp.35-40(6) (2003 ) .
- 10- Pure Appl. Chem., Vol. 75, No. 10, pp. 1453-1475, (2003 ) .
- 11- Ramon D. J. and Yus M., Rev. Cubana Quim. 14, 75 (2002).
- 12- Siegler E . H . , Munger F . and Smith L . E . , : U . S . Dept . Agr . , Circ .532 (1939).
- 13- Smith L . E . , Siegler E . H . , and Munger F . , : j . Econ . Entomol . 29 , 1027 (1936) ; Chem . Abstracts 31 , 1147 (1937) .
- 14- Smith F . B . , and Moll H . W . , : U . S . patent 2,221,819 ; Chem . Abstracts 35 , 1803 (1941).
- 15- Smith F . B . and Moll H . W . , : U . S . patent 2,277,833 ; Chem . Abstracts 36 , 4832 (1942).
- 16- Inam-ul-Hag M., Javed N. Ahmad, R. and Rehman A. : Pakistan Journal of Plant Pathology 2 (1), (65-74), 2003.
- 17- Silverstein R.M. and Bassler GC. ,Transiated by Ewadh H.K. , Hussein A. and AL-Alazawi S.S., in "Spectrometric identification of organic compounds : 4<sup>th</sup> ed . (1981).
- 18- Williams D.H. , and Felming ; Translated by J.V. Sarkess "Spectroscopic methods in Organic chemistry",1<sup>st</sup> dd.Baghdad University,,103(1986).



## Adsorption of Carbaryl and Benomyl from Water by Jordanian Bentonite

Nabil M. Khaled Eldurini<sup>1</sup>, Sahar S. Abdulkader<sup>2</sup> and Ahmad M. Ziad Abuhamaid<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup> Petra University, College of Arts and Sciences, Chemistry Department, Amman / Jordan

<sup>2</sup> Al- Mustansiriya University, College of Science, Chemistry Department, Baghdad, Iraq

Received 13/1/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تم في هذا البحث دراسة امتزاز مبيد الحشرات الكاربارييل ومبيد الفطريات البنوميل من المياه على سطح البنتونايت الاردني. تم حساب ثوابت الامتزاز من معادلتى فريندلش ولانكميرللامتزاز بثبوت درجة الحرارة والذالة الحامضية للمحلول. تمت متابعة تركيز كل مبيد قبل وبعد الامتزاز طيفيا عند طول موجي ثابت لكل منهما.

### ABSTRACT

The adsorption of the insecticide carbaryl and fungicide benomyl from water on the surface of Jordanian Bentonite has been studied in this work. The adsorption parameters were determined from both Langmuir and Freundlich equations at constant temperature and solution pH. The concentration of each pesticide before and after adsorption is calculated spectrophotometrically at fixed and maximum wavelength corresponds to each compound.

### INTRODUCTION

The adsorption-desorption process have been very important to understand the behavior of pesticide in the environment. Mobility, leaching, movement and volatilization of pesticides in soil are a great factors which effect for the pollution of the surfaces and ground water. Therefore the removal of pesticide residue from water by adsorption onto different types of minerals and clays have been reported in literature. Many authors <sup>(1,2)</sup> studied the adsorption of ionic and nonionic pesticides 2,4-D, Mecoprop, Isoproturon, Atrazine and Bentazon onto iron oxide, quartz, calcite, Kaolinite and  $\alpha$ -Alumina surfaces. Ayranci and Hoda<sup>(3)</sup> studied the adsorption behavior of bentazon and propanil from aqueous solutions at the high area carbon – cloth. Their experimental data was fitted to both Langmuir and Freundlich isotherm equations. The adsorption of dinitrophenol herbicide from water by two reference smectite clays have been studied by Sheng et.al<sup>(4)</sup>. They found that the adsorption of dinitrophenol was decreased with increasing pH. FT-IR spectra showed that these pesticide molecules are oriented parallel to the clay surfaces. All these studies investigate that the magnitude of the adsorption depends mainly on the type of pesticide, concentration, type of minerals and clays, their specific surface area, solution, pH, and ionic strength<sup>(5)</sup>. The adsorption mechanism process have been suggested by many authors<sup>(6,7)</sup> which are ion-dipole interactions; ligand exchange (specific adsorption); outer

sphere adsorption (non specific adsorption) and electron donar-accepter complex(EDA).

In this work the adsorption of insecticide carbaryl and fungicide benomyl from water onto Jordanian bentonite in neutral pH solution and constant temperature have been studied.

## MATERIALS AND METHODS

### Pesticides:

Carbaryl and benomyl were purchased from Vapco company (Jordan). These two pesticides have purity higher than 99%. The concentration of carbaryl in 90% water-ethanol mixture was ranging from 15-50 mg/l and for benomyl ranging from 1-4 mg/l. Their chemical structures are shown in figure (1)

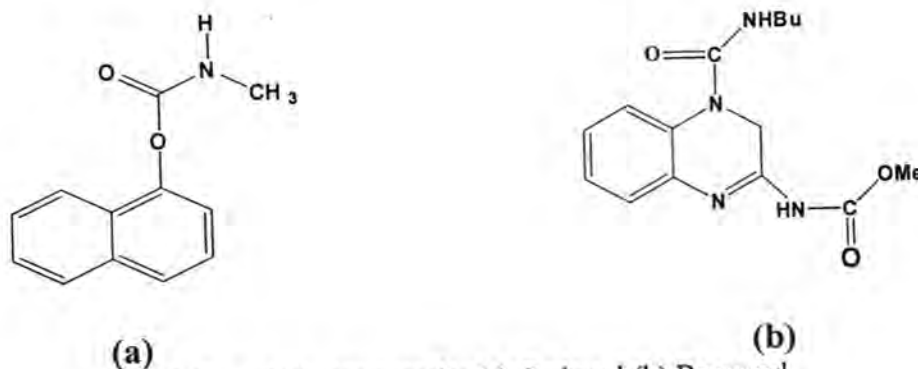


Fig-1:Chemical structure for (a) Carbaryl (b) Benomyl

### Preparation of Bentonite:

Bentonite from Al Azraq Area (north east of Jordan) was used during this experiment.

The chemical composition of bentonite is shown in table (1) indicated that 75% of its weight was montmorillonite  $[(OH)_4Al_4Si_8O_{20}.nH_2O]^{(8)}$ .

Table -1: The chemical composition of Jordanian bentonite

Compound	%Wt
Na <sub>2</sub> O	0.13
MgO	3.47
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	20.08
SiO <sub>2</sub>	55.67
K <sub>2</sub> O	2.45
CaO	2.15
TiO <sub>2</sub>	2.54
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	13.47

The clay was grounded and washed with diluted HCl solution (acid wash); then it was dried in an oven overnight at 200°C and left to cool

at room temperature. The dried powder was sieved to 125 $\mu$ m particle size by suitable sieve.

#### Adsorption procedure:

Exactly 12 ml of certain pesticide solution have been shaken with 1gm of 125  $\mu$ m acid wash Bentonite in 50ml conical flask for 60 minutes at room temperature. After the equilibrated time was finished the solution mixtures were filtered. The clear filtrate was then analyzed with Jasco UV-Visible spectrophotometer at  $\lambda_{\max}$  corresponding for each pesticide given in table (1), their results have been taken from the spectrum of each pesticide solution.

Table -2: Observed  $\lambda_{\max}$  and  $\epsilon$  calculated for carbaryl and benomyl in 1:9 ethanol: water mixture:

Pesticide	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon$ M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>
Carbaryl	280	5885.4
Benomyl	286	3995

The adsorption data at  $\lambda_{\max}$  for carbaryl and benomyl were converted to concentration by using conversion curve at  $\lambda_{\max}$  for each pesticide according to Beers- Lambert law.

The adsorption experiments were carried out at neutral pH in aqueous medium in order to avoid acidic or basic conditions because these pesticides were decomposed under highly basic or acidic conditions<sup>(9,10)</sup>.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Adsorption isotherms

The adsorption isotherms of carbaryl and benomyl from aqueous solutions on 125  $\mu$ m acid Bentonite were determined at room temperature. The equilibrium concentration of pesticide ( $C_e$ ) solution was measured from Lambert-Beer relationship (absorbance vs. concentration). Then the amount of pesticide adsorbed per unit mass of Bentonite ( $q_e$ ) was calculated by equation (1)

$$q_e = \frac{V(C_0 - C_e)}{m} \dots\dots\dots (1)$$

Where  $V$  is the volume of pesticide solution in l,  $C_0$ ,  $C_e$  are the initial and equilibrium concentration respectively of pesticide solutions in mg/l,  $m$  is the mass of Bentonite in grams,  $q_e$  is the capacity of adsorption in mg/g as illustrated in table(3).

Figure(2) and (3) give the relation between  $q_e$  vs.  $C_e$  for carbaryl and benomyl respectively. According to Giles classification<sup>(11)</sup>, the shape of adsorption isotherms obtained in this work was like L-type isotherm. This could be explained that, as the concentration of pesticides



increased the vacant sites on the surface are filled with the pesticide molecules in competition with the water molecules and there is a monolayer adsorption of both pesticide on the bentonite surface. It was found that nonionic (neutral), and aromatic pesticide (carbaryl and benomyl) have a high affinity for adsorption on bentonite surface by the hydrophobic effect. During this work the desorption behavior was also noticed at higher concentration of pesticides (> 50 mg/l for carbaryl and >4 mg/l for benomyl) because the magnitude of adsorption was decreased. Other authors<sup>(12,13)</sup> have noticed a similar adsorption-desorption behavior of aromatic pesticides on clay minerals.

Table-3:  $C_e$  and  $q_e$  values for Carbaryl and Benomyl in aqueous solution on 125 $\mu$ m acid bentonite.

Carbaryl			Benomyl		
$C_o$ (mg/l)	$C_e$ (mg/l)	$q_e$ (mg/g) $\times 10^{-3}$	$C_o$ (mg/l)	$C_e$ (mg/l)	$q_e$ (mg/g) $\times 10^{-3}$
13	10	36	1.0	0.6	4.8
20	16	48	2.0	1.5	6.0
30	25	60	3.0	2.4	7.2
39	33	72	4.0	3.3	8.4
48	41	84			

Adsorption equations:

Two adsorption equations were adopted in this work;

a- Langmuir equation: The linearized form of this equation is given by equation (2)

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{bq_m} + \frac{C_e}{q_m} \quad \dots\dots\dots (2)$$

where  $q_m$  is the amount of solute adsorbed per unit weight of adsorbent in mg/g, and  $b$  is Langmuir constant in L/mg. These parameters were determined from the slope and intercept of the linear plot between  $C_e/q_e$  vs.  $C_e$ . Figures (4&5) shown the Langmuir relationship for benomyl and carbaryl respectively.

b- Freundlich equation: The linearized form of this equation given by equation (3)

$$\ln(q_e) = \ln(K) + \frac{1}{n} \ln(C_e) \quad \dots\dots\dots (3)$$

Where  $K$  is constant related to adsorption capacity mg/g,  $1/n$  another constant related to the nature and strength of adsorption process. These parameters were determined from the slope and intercept of the linear plot between  $\ln q_e$  and  $\ln C_e$ .

Figures (6&7) shown the Freundlich relationship for benomyl and carbaryl respectively. Therefore the Langmuir and Freundlich parameters determined in this work were included in table(3).

Table-4: Langmuir and Freundlich adsorption parameters for carbaryl and benomyl at 25°C.

Pesticides	Langmuir parameters	Freundlich parameters
Carbaryl	$q_m(\text{mg/g}) : 145 \times 10^{-3}$ $b(\text{l/mg}) : 0.03$ $R^2 : 0.9438$	$K(\text{mg/g}) : 8.33 \times 10^{-3}$ $1/n : 0.631$ $R^2 : 0.9910$
Benomyl	$q_m(\text{mg/g}) : 9.94 \times 10^{-3}$ $b(\text{l/mg}) : 1.26$ $R^2 : 0.98$	$K(\text{mg/g}) : 5.47 \times 10^{-3}$ $1/n : 0.317$ $R^2 : 0.978$

From this table one could be concluded that adsorption of carbaryl was higher than adsorption of benomyl on bentonite surface.

This could be explained due to the steric effect of the larger functional groups on benomyl molecules and also to the  $\pi$  interaction of the aromatic ring of carbaryl with the functional groups of bentonite ( $\text{OH}^-$  and  $\text{O}^{2-}$ ). Also the  $1/n$  values are within the range of 0.1 to 0.9 which indicate that a good adsorption mechanisms were observed for the two pesticides studied<sup>(14)</sup>.

The partition coefficient  $K_d$  and the efficiency of adsorption process  $R_L$  for each initial pesticide concentration were also calculated by equations 4 and 5:

$$K_d = q_e / C_e \quad \dots\dots\dots(4)$$

And

$$R_L = 1 / (1 + bC_0) \quad \dots\dots\dots(5)$$

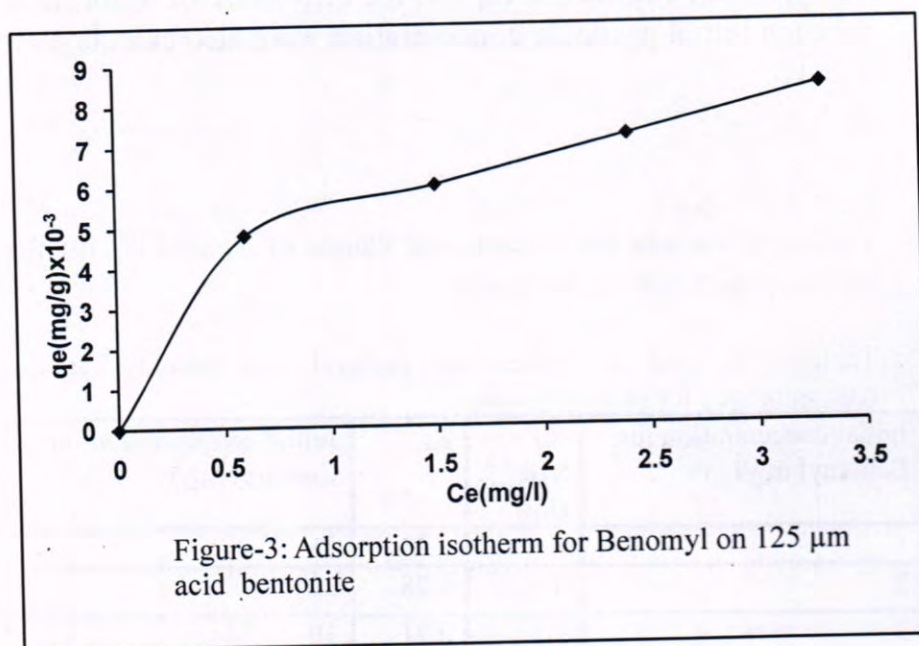
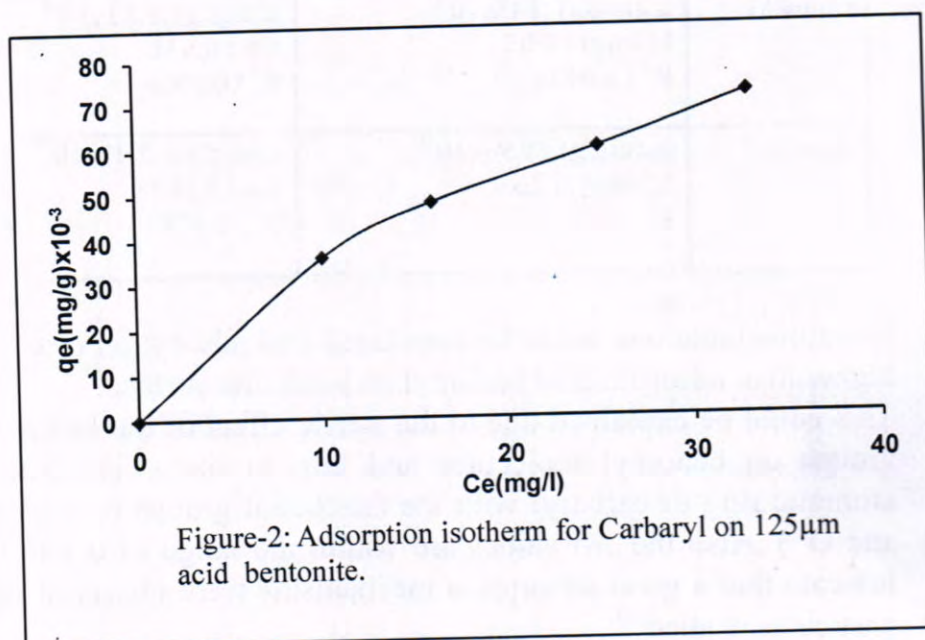
Table (4) include the determined values of  $K_d$  and  $R_L$  for the adsorption of two pesticides on bentonite.

Table-5:  $K_d$  and  $R_L$  values for carbaryl and benomyl at different initial concentrations for each pesticides.

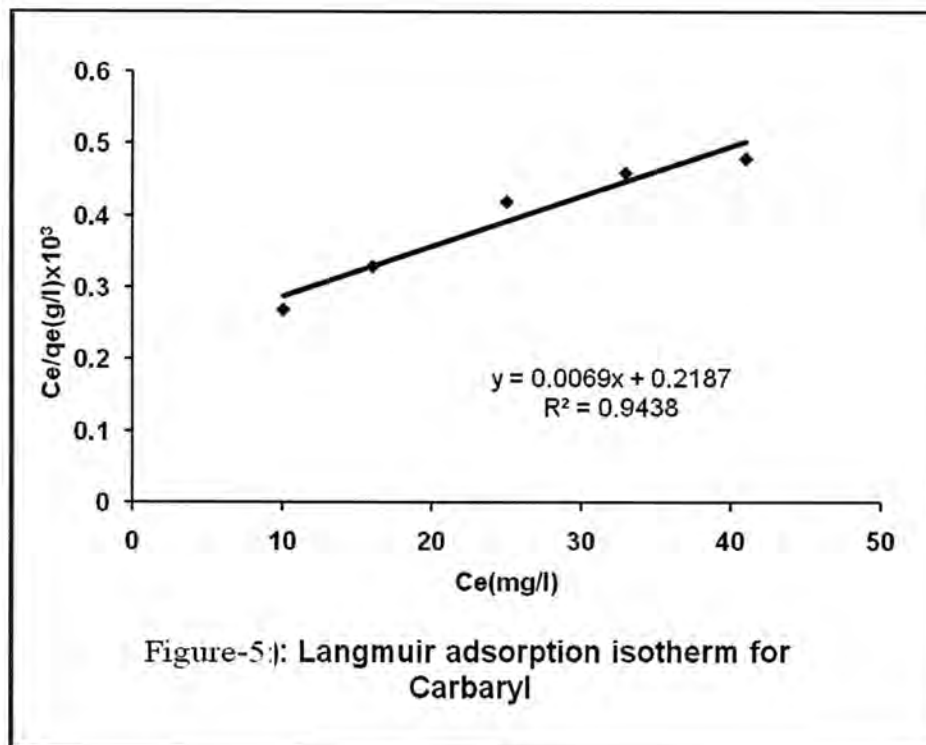
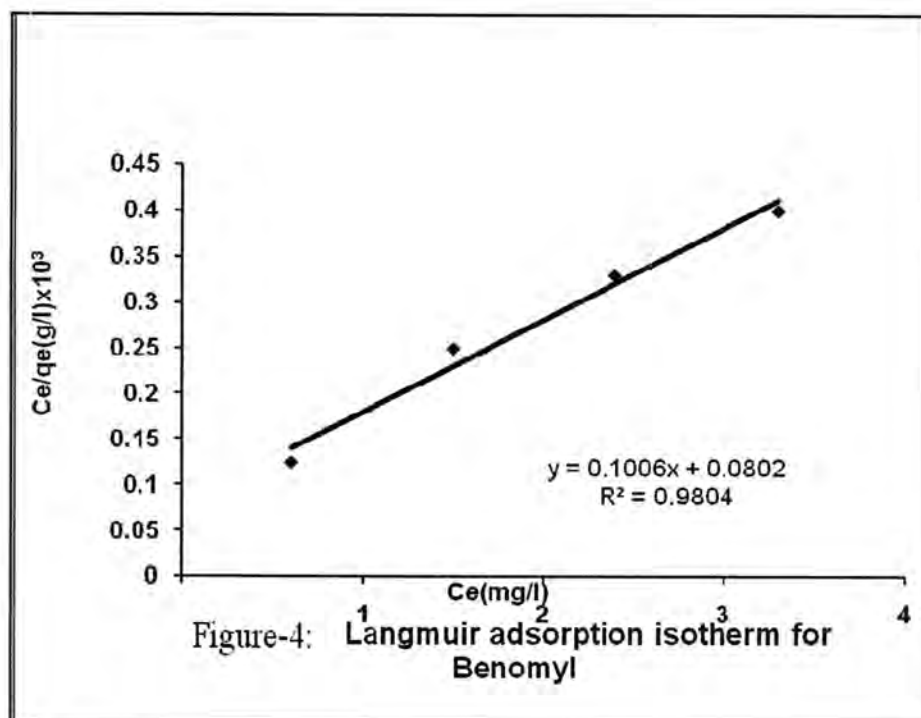
Initial concentration for Benomyl mg/l	$K_d \times 10^{-3} (\text{l/g})$	$R_L$	Initial concentration for Carbaryl mg/l	$K_d \times 10^{-3} (\text{l/g})$	$R_L$
1	8	0.44	15	3.6	0.68
2	4	0.28	20	3.0	0.61
3	3	0.21	30	2.4	0.51
4	2.5	0.165	40	2.2	0.44
			50	2.0	0.39

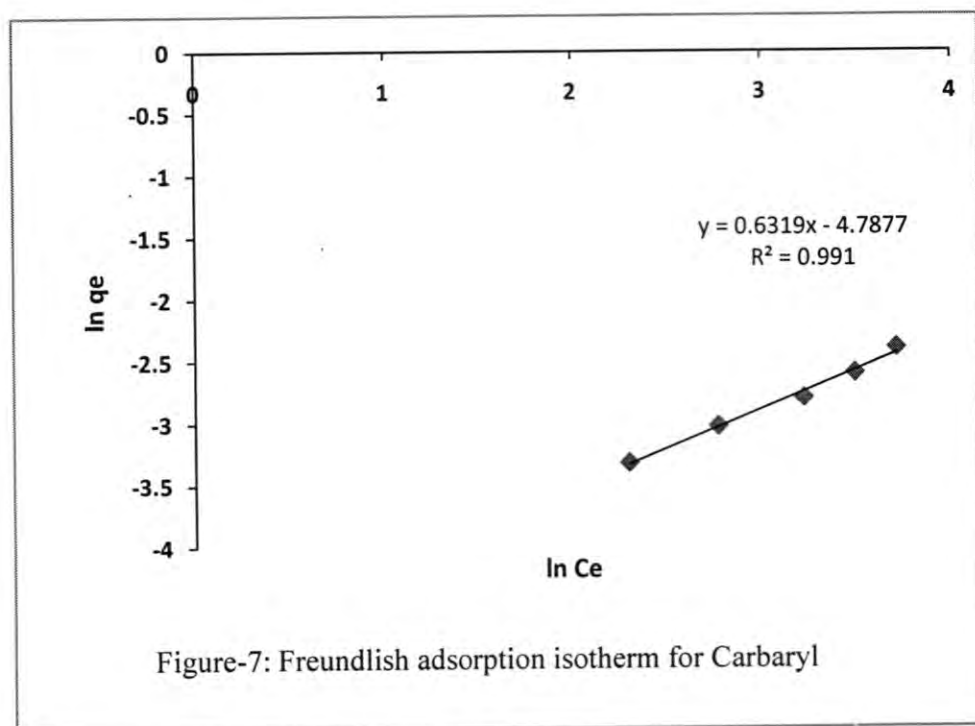
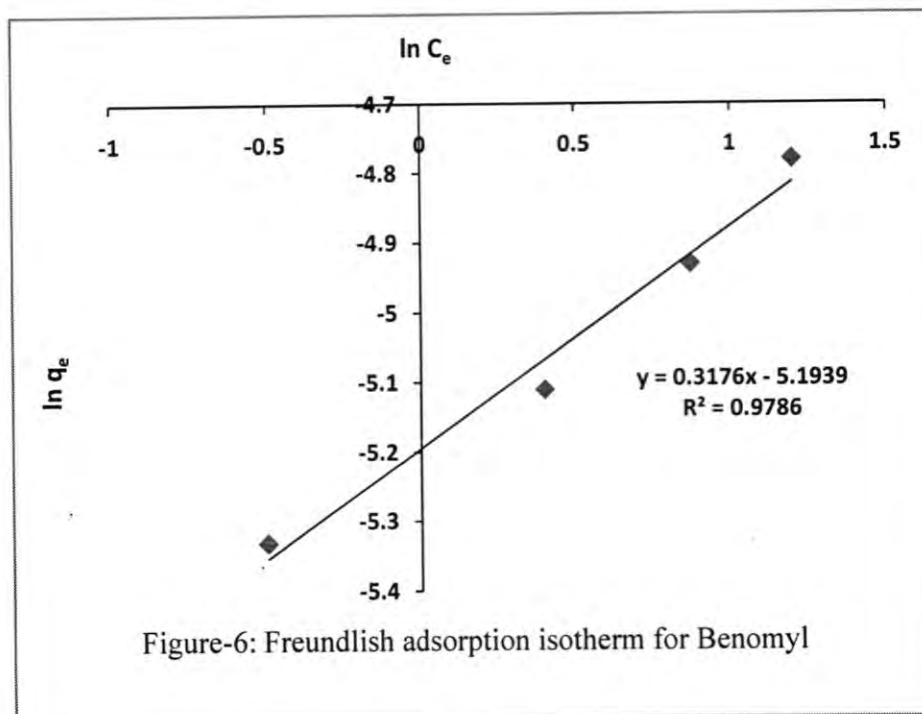


From table(4), one could be conclude that  $K_d$  values were decreased with increasing initial pesticide concentrations because of the saturation of adsorption sites on the surface. The adsorption efficiency process( $R_L$ ) values were seen to be in the range  $0 < R_L < 1$  which indicate that the process is favorable, because the adsorption isotherm is considered to be unfavorable; linear and favorable or irreversible depending on the value of  $R_L$ <sup>(15)</sup>.









## REFERENCES

1. L.Clausen,I.Fabircius and L.Madsen; Adsorption of pesticides onto quartz,calcite,kaolinite, and  $\alpha$ -Alumina; J.of Environmental Quality, 30,Page:846(2001).
2. L.Clausen,I.Fabircius; Atrazine,Isoproturon,2,4-D,and Bentazone Adsorption onto iron oxides,J.of Environmental Quality,30,Page:858(2001).
3. E.Ayranci and N.Hoda;Adsorption of bentazon and propanil from aqueous solutions at the high area activated corbon-cloth;chemosphere,57,Page:755(2004).
4. G.Sheng;C.T.Johnston;B.J.Teppen and S.A.Boyd;Adsorption of dinitrophenol herbicides fron water by montmorillonites,clays and clay minerals, Vol.50,No.1,Page:25(2002).
5. W.D.Burgos, N.Pisutpaisal,M.C.Mazzarese,and J.Chorover; Adsorption of Quinoline to kaolinite and Montmorillonite,Environ.Engineering Science, Vol.19,No.2(2002).
6. S.B.Haderlein, K.W.Weissmahr, and R.P.Schwarzenbath;Specific adsorption of nitroaromatic explosives and pesticides to clay minerals,Environ.Sci.Technol.,30,Page612(1996).
7. M.M.Mortland; Clay-Organic complexes and interactions,Adv.Agron.,22,Page75(1970).
8. Natural Resources Authority,Jordan.
9. J.R.Fleeker and H.M.Lacy;J.Agr.Food Chem.,25,Page:51(1977).
- 10.C.R.Blanco and F.G.Sanchez,J.Photochem. Photobiol,A:Chem.,42,Page:357(1988).
- 11.C.H.Giles;T.H.Macewan;S.N.Nakhwa;D.Smith;Studies in adsorption.Part XI.A system of classification of solution adsorption isotherm, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids,J.Chem.Soc.,Page3973(1960).
- 12.M.Cruz-Guzman,R.Celis;M.C.Hermosin,W.C.Koskinen;and J.Cornejo;Adsorption of pesticidesfrom water by functionalized organobentonites;J.Agric.Food Chem.,53,Page7502(2005).



13. H. Li, G. Sheng, B. J. Teppen, C. T. Johnston and S. A. Boyd, Sorption and desorption of pesticides by clay minerals and humic acid clay complexes; *J. of American Soil Science*, 67, Page: 122 (2003).
14. A. Farenhorst and B. Prokopowich; The effect of propanil co-application on 2,4-D sorption by soil, *J. of Environmental Science and Health, Part B-Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, Vol. B38, No. 6, Page 713 (2003).
15. B. Bayat; Comparative study of adsorption properties of Turkish fly ashes I. The case of Nickel(II), Copper(II) and Zinc(II); *Hazard. Mater B.*, 95, Page 251 (2002).

## Synthesis of New Amides and Schiff Bases derived From 2-Amino-1,3,4- Oxadiazole

Nisreen H. Karam , Jumbad H. Tomma , Huda I. Ibrahim and Amar H. Al-Dujaili  
Department of Chemistry , College of Education Ibn Al- Haitham , University of Baghdad.

Received 29/6/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تم تحضير اميدات وقواعد شف جديدة مشتقة من 2-امينو-1,3,4-اوksاديازول وشخصت فيزيائيا وطيافيا , وقد تم تحضير 2-امينو-1,3,4-اوksاديازول بفعل البروم على الهيدرازون المقابل (الذي تم تحضيره من تفاعل الالديهيد الثنائي مع سيمكاربازيد هيدروكلوريد) في وسط من خلاص الصوديوم يتبعه مباشرة غلق حلقي ضمنى الجزينة .

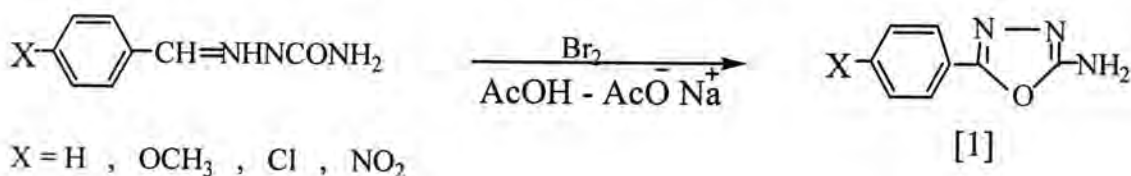
### ABSTRACT

New compounds of amids [IV]<sub>a-e</sub> and Schiff bases [V]<sub>f-h</sub> derived from 2-amino-1,3,4-oxadiazoles [III] were synthesized and characterized by physical and spectral data.

2-Amino-1,3,4-oxadiazoles was prepared by the action of bromine on a corresponding semicarbazide [II] ( which was prepared by reaction of dialdehyde [I] with semicarbazide hydrochloride ) in the presence of sodium acetate , followed by an intramolecular cyclization .

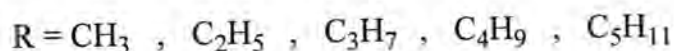
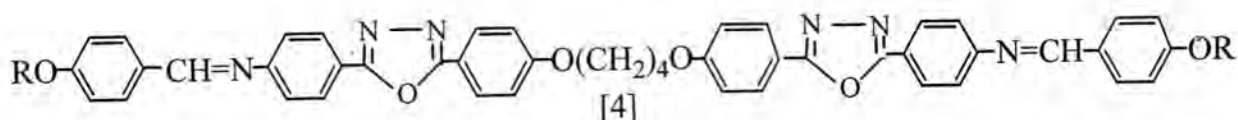
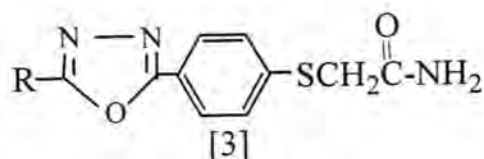
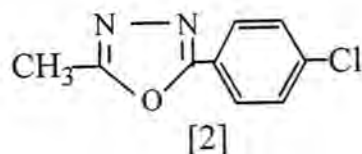
### INTRODUCTION

Several methods have been used to synthesize 1,3,4-oxadiazoles (1-3) . 2-Amino-5-aryl-1,3,4-oxadiazoles [1] can be prepare by oxidation of aryl hydrazones using bromine in glacial acetic acid (4) .



Recently 2-amino-5-alkyl or aryl-1,3,4-oxadiazoles have been prepared in good yields using new reagents (5,6). This type of compounds act as muscle relaxants (7) and showed antimutagenic activity (8). And lie in the fields of liquid crystals (9).

1,3,4-oxadiazole derivative [2] shows a good antimicrobial activity (10). The amids compounds [3] and the Schiff bases [4] containing 1,3,4-oxadiazole unit show good antibacterial biological activity (11,12).



Depending on the above finding , we try to synthesize amides and Schiff bases compounds derived from 2-amino-1,3,4-oxadiazoles.

## MATERIALS AND METHODS

### MATERIALS :

Most of chemicals used were supplied from Fluka and BDH Chemicals Co. and were used without further purification .

### TECHNIQUES :

Uncorrected melting points were determined by using an Electro thermal melting point apparatus . FTIR spectra were recorded on a 8400S Shimadzu Spectrophotometer by using potassium bromide disc. UV spectra were performed on CECL 7200 Inland Spectrophotometer using DMSO as a solvent . Elemental analysis (C.H.N) were carried out by EA-017.

### Synthesis of compounds

**The amid compounds [IV]<sub>a-c</sub> and Schiff bases[V]<sub>f-g</sub> were synthesized according to scheme 1 .**

**1,2-ethane-bis-[4-oxybenzaldehyde][I]** This compound was prepared according to the let. (13).



**1,2-ethane-bis-(4-oxybenzaldehyde semicarbazone) [III].**

Compound [I] (0.01 mol) was dissolved in 10ml of ethanol, semicarbazide.hydrochloride ( 0.06mol) and (0.036mol) of fused sodium acetate were added to alcoholic solution . The stirred mixture was refluxed with stirring for 1hrs .

The result mixture was allowed to cool to room temperature and then was poured on (300ml) water , the seperated solid was filtered and recrystalized from glacial acetic acid(14), yield 94% , color pale yellow , m.p > 330 °C .

FTIR ( KBr disc ,  $\text{cm}^{-1}$ ) : two peaks at 3479 and 3382 ( $\nu \text{NH}_2$  asym. , sym.) ; 3201( $\nu \text{NH}$ ) ; 3080 ( $\nu \text{C-H}$  , arom.) ; 2939 ( $\nu \text{C-H}$  aliph.) ; 1670 ( $\nu \text{C=O}$  , amid ) ; 1628 ( $\text{C=N}$ ) ; 1508( $\nu \text{NH}$  , amid II) and 1238 ( $\nu \text{C-O}$  , ether).

UV :  $\lambda_{\text{max}}$ . 304.0 nm .

C.H.N : Calc. C% 56.25 , H% 4.94 , N% 21.87

Exp. C% 56.92 , H% 5.06 , N% 21.44

**1,2-ethane-bis-[(2-amino-5-(4-oxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole] [III]**

Bromine (o.6ml) in glacial acetic acid (5ml) was added dropwise to a stirred mixture of compound [II] (0.006mol) and anhydrous sodium acetate (0.096mol) in glacial acetic acid (5ml) at 4 °C . After the addition had been completed the mixture was stirred for 2hrs at the room temperature , then the mixture was poured into ice water 200ml (15). The separated solid was filtered and dried , then recrystallized from ethanol , yield 81% , color pale brown , m.p=298°C .

FTIR ( KBr disc ,  $\text{cm}^{-1}$ ) : two peaks at 3302 and 3124 ( $\nu \text{NH}_2$  asym. , sym.) ; 2953( $\nu \text{C-H}$  aliph.) ; 1654 ( $\nu \text{C=N}$  of oxadiazole ring ) ; 1583 ( $\text{C=C}$ , arom.) and 1253 ( $\nu \text{C-O}$  , ether).

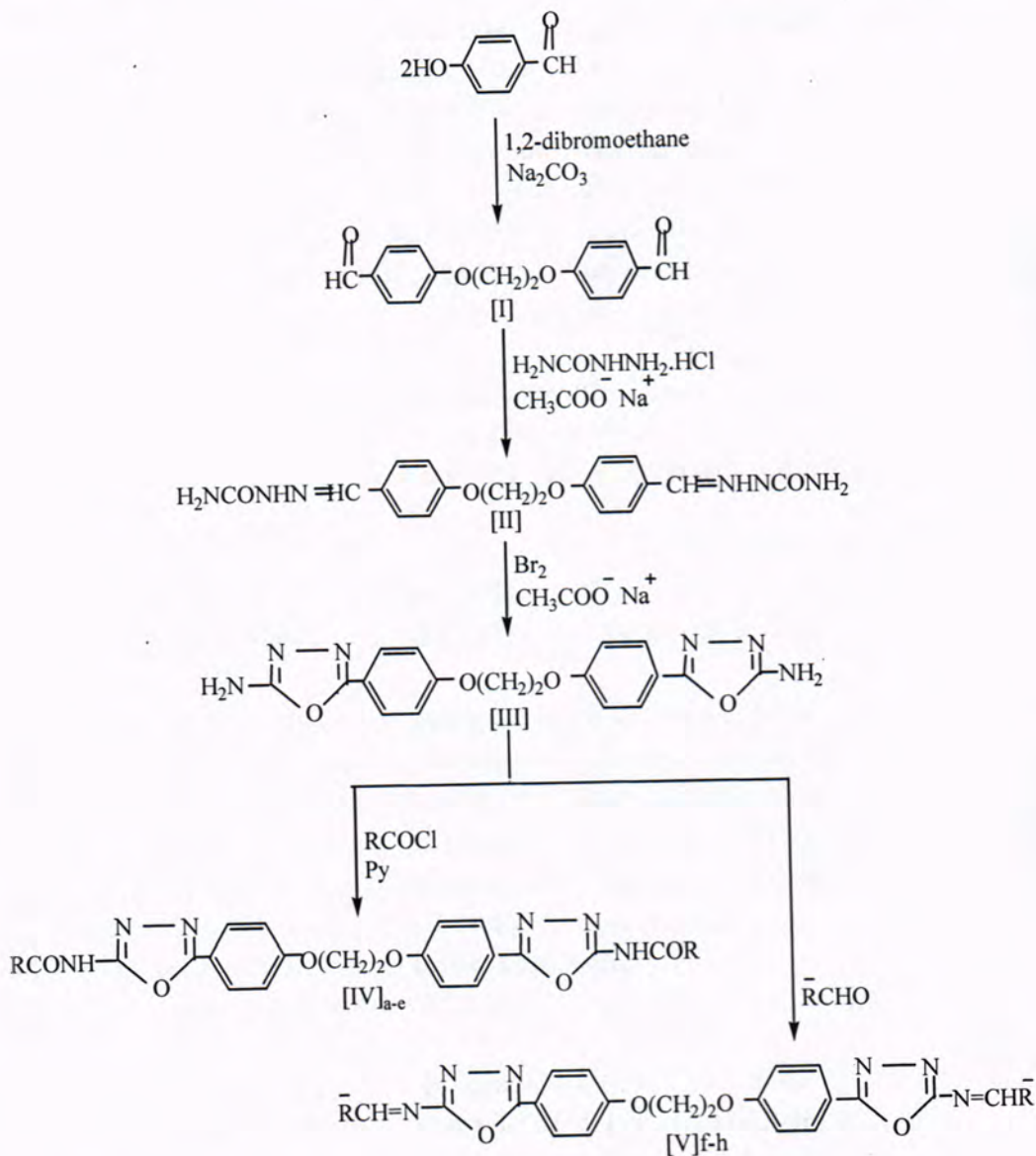
UV :  $\lambda_{\text{max}}$ . 304.0 nm .

C.H.N : Cal. C% 56.84 , H% 4.21 , N% 22.1

Exp. C% 57.44 , H% 4.46 , N% 22.80

**1,2-Ethane-bis-[2-(substituted amido)-5-(4-oxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole] [IV]<sub>a-f</sub>**

2-Amino-1,3,4-oxadiazoles [III] (0.001mol) was dissolved in 5ml of dry pyridine . The suitable acid chloride ( 0.0022mol) were added slowly. The mixture was stirred for 3hrs at room temperature . The reaction mixture was poured into 50 ml of 10% HCl , the solid which separated was filtered , washed well with water , dried in air , recrystalized from ethyl acetate .The physical properties were listed in Table 1



R = CH<sub>3</sub> ; C<sub>6</sub>H<sub>13</sub> and C<sub>7</sub>H<sub>15</sub> or R= Ph and p-CH<sub>3</sub>OPh

$\bar{\text{R}}$  = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> ; p-HOPh and o-ClPh

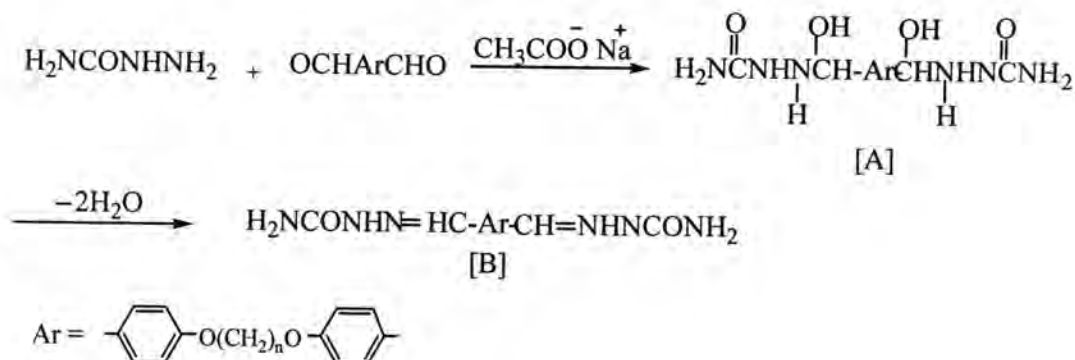
**Scheme 1**

### 1,2-Ethane-bis-[(2-(substitutedimine)-5-(4-oxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole] [V]<sub>f-h</sub>

A mixture of compound [III] (0.001mol), and a suitable aldehyde (0.022mol), in dry benzene (10ml) and three drops of glacial acetic acid was refluxed for 6 hours. After cooling the separated solid was filtered and recrystallized from ethanol. The physical properties of products were listed in Table 1.

## RESULTS AND DISCUSSION

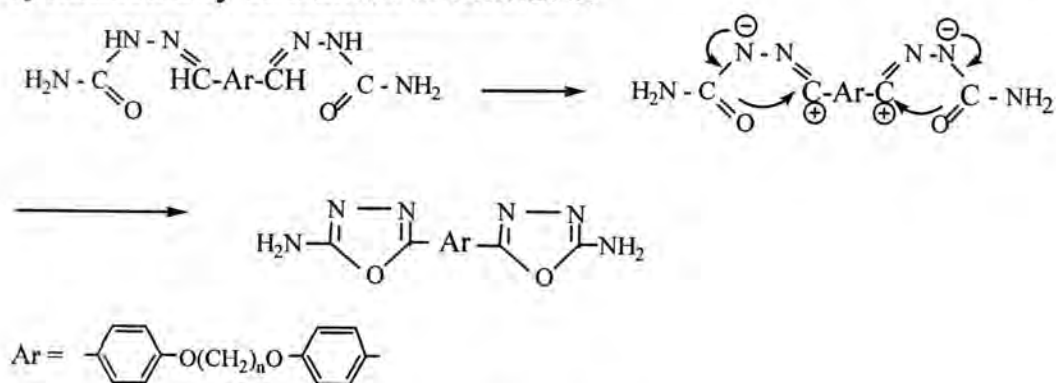
1,2-ethane-bis-[4-oxybenzaldehyde][I] was prepared by the reaction of two moles of p-hydroxybenzaldehyde with one mole of 1,2-dibromoethane in alkali media. This compound [I] reacts with semicarbazidehydrochloride in presence of sodium acetate to produce semicarbazone [II], which is formed by two steps follows:



### Scheme 2

The first step, addition of semicarbazide to carbonyl carbon to form intermediate [A] this is followed subsequently by the dehydration step of [A] to form semicarbazone [B].

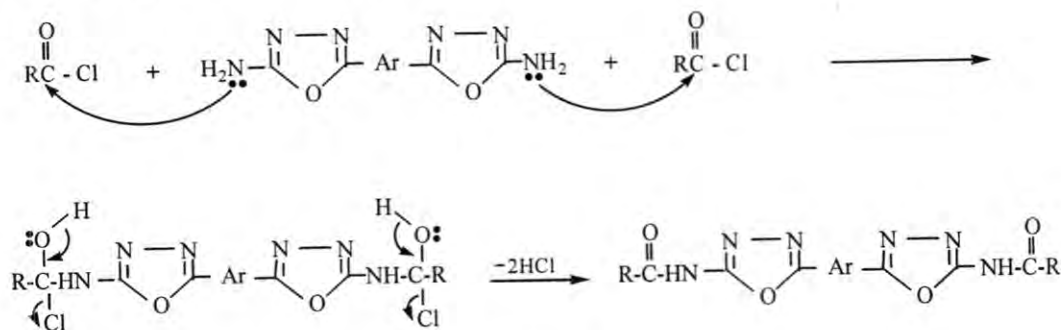
2-Amino-1,3,4-oxadiazoles [III] was prepared according to the Gibson method(15) which was followed to carry out the oxidative cyclization of semicarbazone [II], this method includes treatment of appropriate semicarbazone with bromine in acetic acid containing anhydrous sodium acetate. The suggested mechanism (16) for oxidative cyclization may be outlined in Scheme 3.



### Scheme 3



A new amides series [VI] was prepared by the reaction of 2-amino-1,3,4-oxadiazole with different acid chloride in dry pyridine . This reaction involved nucleophilic substitution at unsaturated carbon atom , the carbonyl carbon in an addition step forming a tetrahedral intermediate which subsequently undergoes a fast elimination step to forming the product , as follows Scheme 4:



**Scheme 4**

The products were identified by their melting points (Table 1) , FTIR and UV spectroscopy .

FTIR spectra shows the following absorption bands ( KBr disc  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3160 due to N-H stretching ; 2800-2928 for aliphatic C-H stretching ; 1690 for C=O stretching and 1670 ,1602 due to C=N and C=C aromatic stretching . A good band at 839 for p-substituted benzene ring. UV data were listed in Table 1.

The new compounds of Schiff bases [V] were synthesized by reaction of 2-amino-1,3,4-oxadiazoles with different aldehyde .

The structures were identified by melting points , FTIR and UV spectra .

FTIR spectra shows (KBr disc ,  $\text{cm}^{-1}$ ) : disappearance two peaks attributed to the  $\text{NH}_2$  stretching ; another peak in the region (3004-3009)du to aromatic C-H stretching ; 2947-2978 for aliphatic C-H stretching . A sharp peak at 1685 for C=N stretching of imine group. UV data were listed in Table 1.

Table -1: Physical and UV data ( $\lambda_{\text{max}}$ ) for new compounds [IV]<sub>a-e</sub> and [V]<sub>f-h</sub>.

Comp. No.	Formula	R	R <sup>-</sup>	M.P °C	Yield %	Color	$\lambda_{\text{max}}$
[IV] <sub>a</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	CH <sub>3</sub>	-	gumy	85	Brown	296.0
[IV] <sub>b</sub>	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	-	gumy	63	Brown	299.0
[IV] <sub>c</sub>	C <sub>34</sub> H <sub>42</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub>	-	>300	70	Pale Brown	364.0
[IV] <sub>d</sub>	C <sub>32</sub> H <sub>22</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-	148	90	Brown	292.0
[IV] <sub>e</sub>	C <sub>34</sub> H <sub>26</sub> N <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	p-MeOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-	97	93	Yellow	293.0
[V] <sub>f</sub>	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	-	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	295 dec.	80	Orange-Yellow	362.0
[V] <sub>g</sub>	C <sub>32</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	-	p-HOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	160	60	Brown	294.5
[V] <sub>h</sub>	C <sub>32</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub>	-	m-ClC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	183	95	White	297.5

## REFERENCES

1. Yong , R. and Wood , K., " The Cyclization of 3-Acyldithiocarbazate esters " , J. Am. Chem. Soc. , 77 , 400 (1955).
2. Hayes , F. and Rogers , B., " 5,2-Diaryloxazoles and 2,5-Diaryl-1,3,4-Oxadiazoles " J. Am. Chem. Soc. , 77 , 1850 (1955).
3. Firoozi , F. Jaridnia , K. , Kamali , M., Fooladi , A. , and Foroumadi , A. , " Synthesis of 1-Methyl-2-(1,3,4-Thiadiazole-2-yl) 4-Nitro-Pyrroles and 2-(1,3,4-Oxadiazole-2-yl) 4-Nitro-Pyrroles " , J. Heterocyclic chem. 32 , 123 (1995).
4. Bamsal , R. and Bhagchandani , G., " Synthesis 2-amino-5-aryl-1,3,4-Oxadiazoles " , J. Indian Chem.soc.,LIX , 277 (1982).
5. Katritzky , A. , Vedensky , V. , Cai , X. Rogovoy , B. and Stect , P. , " Synthesis of 5-(2-arylaZenyl-1,2,4- Triazoles) and 2-amino-5-aryl-1,3,4-Oxadiazoles " , ARKIVOC , vi , 82-90 (2002).
6. Dolman , S. , Gosselin , F., Oshea , p. and Davies , I. , " Synthesis of 1,3,4-Oxadiazoles " ,J.Org. Chem., 71,9548-9551 (2006).
7. Almasirael , A. , Vousooghi , N. , Tabatabai , S. Kebriaeezadeh , A. and Shafiee , A. , " Synthesis , Anticonvulsant and Muscle Relaxant Activities of Substituted 1,3,4-Oxadiazole , 1,3,4-Thiadiazoles and 1,2,4- Triazole " , Acta Chim. Solv. , 54 , 317-324 (2007).
8. Ghiran , D. , Schwartz , I. and Simiti , I., " Antimitotic activity of 2-Amino- 1,3,4-Oxadiazoles " ,Farmacia , 22 , 141(1974) .
9. Al- Dujaili , A. , Jaber , N. and Atto , " Liquid Crystalline Properties of Amide Compounds Containing 1,3,4-Oxadiazole " , A., National Journal of chemistry , 8 , 542-553 (2002).
10. GÜMRÜKCÜOCLU , N. , Serdar , M. , Celik , E. , Sevim , A and Demirbas , N., " Antimicrobial Activity of Some New Oxadiazole Derivatives " , Turk. J.Chem. , 31 , 335-348(2007).
11. Zareef , M. , Iqbal , R. , Mirza , B. , Kham , K., Manan , A., Asim , F. and Kan, Sh. , " Synthesis and Antimicrobial Activity of Some

- Derivatives of Acylhydrazine Including Novel Benzendiazasulfonamides ”, ARKIVOC ,(ii) , 141-152 (2008).
12. Tomma , J. , Reheema , A. and Rouil , I ., “ Synthesis and Antibacterial Activity of Some Novel Schiff ’s Bases Compounds Containing Oxadiazole Ring ” , IBN- AL-HAITHAM J. FOR PURE And APPL. SCI ,18 (1) , 41-49 (2005).
  13. Griffin , A. and Havens , S., “ Mesogenic Polymers . III . Thermal Properties and Synthesis of Three Homologus Series of Thermotropic Liquid Crystalline “Backbone”Polyesters” , J. of Polym. Sci. Polymer Physics Edition , 19, 951-969 (1981).
  14. Chudgar , N. , Shah , S. and Vora , R. , “ Mesogenic Semicarbazones and Oxadiazoles ”, Mol. Cryst. Liq. Cryst., 172, 51-56 (1989).
  15. Gibson , M., “ 5-Aryl-2-(5.L-Aryl-1.L, 3. L-Thiadiazole-2L-yl-Amino) -1,3,4-Oxadiazole ” ,Tetrahedron , 18, 1377 (1962).
  16. Hameed , A. S., “ Synthesis , Spectroscopic And Biological Study of Some New Heterocyclic Compounds” , M.Sc. Thesis , College of Science /University of Al-Nahreen ,51(1997).



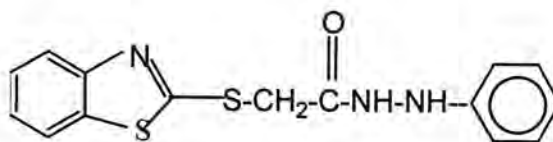
## Synthesis and Characterization of Cr(III), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) and Cd(II) Complexes with 2- (1,3-benzothiazol-2-yl thio) Phenyl Aceto hydrazide.

Hanaa Hassan Hussein, Enas Zuheir Mohamed, and Wasan k. Abdul ameer  
Department of Chemistry, College of Science, Al- Mustansiriyah University

Received 17/6/2007 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

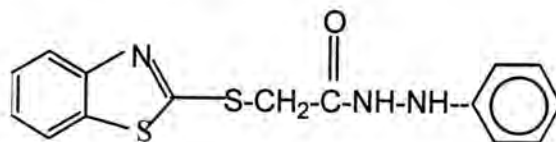
تضمن هذا البحث تحضير الليكاند 2-(1,3-benzothiazol-2-yl thio) phenyl aceto hydrazide وذلك بتفاعل 2-mercapto benzothiazole (2-MBTH) مع هيدروكسيد البوتاسيوم بواسطة كحولي. ثم يتفاعل ethyl chloro acetate مع نفس المحلول ثم يتفاعل الناتج مع phenyl hydrazine ليعطي المركب الآتي:-



وكذلك يتضمن هذا البحث سبعة معقدات لهذا الليكاند مع عدد الفلزات. هذه المعقدات تم تحضيرها من تفاعل الليكاند مع أيونات الفلزات [Cr(III), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II)] ثم تم تحليل هذه المعقدات بواسطة أطياف الأشعة تحت الحمراء، الأشعة فوق البنفسجية المرئية، وتعيين نسبة العناصر بواسطة الامتصاص الذري اللهب وكذلك التوصيلية وقياس المغناطيسية وتبين أن نسبة المعقدات (1:1) (ليكاند: فلز) ولكن المعقد Cr(III) يكون اواصر جسمية فتصبح النسبة (1:2) وترتبط الفلزات بالليكاند عن طريق ناتروجين الثيازول وعن طريق اوكسجين ذرة الكبريت الخارجية عن الحلقة.

### ABSTRACT

This work involves synthesis of ligand 2-(1,3-benzothiazol-2-yl thio) phenyl aceto hydrazide by the reaction of 2-mercapto benzothiazole (2-MBTH) with potassium hydroxide in an ethanolic solution<sup>(1)</sup>. The product was reaction with ethyl chloro acetate in the same solution and the product reacted with phenyl hydrazine as following condensation product.

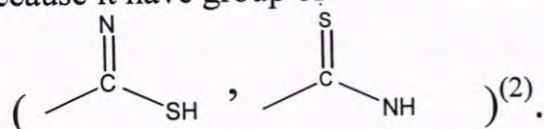


And this work prepared sever complexes of this ligand with number of metals.

These complexes synthesized from the reaction of ligand with metal ions [Cr(III), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II)] Elemental analysis. Infrared spectroscopy, UV – visible spectroscopy, atomic absorption, magnetic susceptibility, molar ratio and molar conductance measurements have been determined. It was concluded from the elemental analysis that all the complexes have (1:1) (ligand : metal) mole ratio but Cr(III)(2:1) that make bridge band between two ligands. Evidence from IR spectra shows that all complexes the ligand is coordinated via the thiazole nitrogen, oxygen and exocyclic sulfur atom.

## INTRODUCTION

The use of 2-mercapto benzothiazole (2-MBTH) as an analytical reagent. This ligand has been known as totometric shap ( thion, thiol ) because it have group of



The structure of its complexes with a few metal ions have been also investigated using various physical techniques<sup>(3)</sup>. They are extensive data on the interaction of (2-MBTH) with various metal, the complexations achieved either by replacement of proton from ( N=C-SH ) or ( HN-C=S ) by the metal or direct coordination with the ligand or less likely by formation of chelate structure involving both sulfur and nitrogen<sup>(4)</sup>.

## MATERIAL AND METHODS

### Apparatus:-

The IR spectra of the complexes were recorded from 3 to 16  $\mu$  with perkin Elemer infrared spectrophotometer type 580 using the CsI disc technique. Magnetic susceptibility measurements (Faraday's method) at room temperature were performed using standard instrumentation Cohn 2000(0.001mg) electro balance. Electronic spectra were recorded on shimadzu UV- visible recording spectrophotometer, UV-260(200-800nm).

### Chemicals:-

All chemicals used to prepared the ligand and their complexes were form BDH and fluka .

### Synthesis :-

#### 1-preparation of legend.

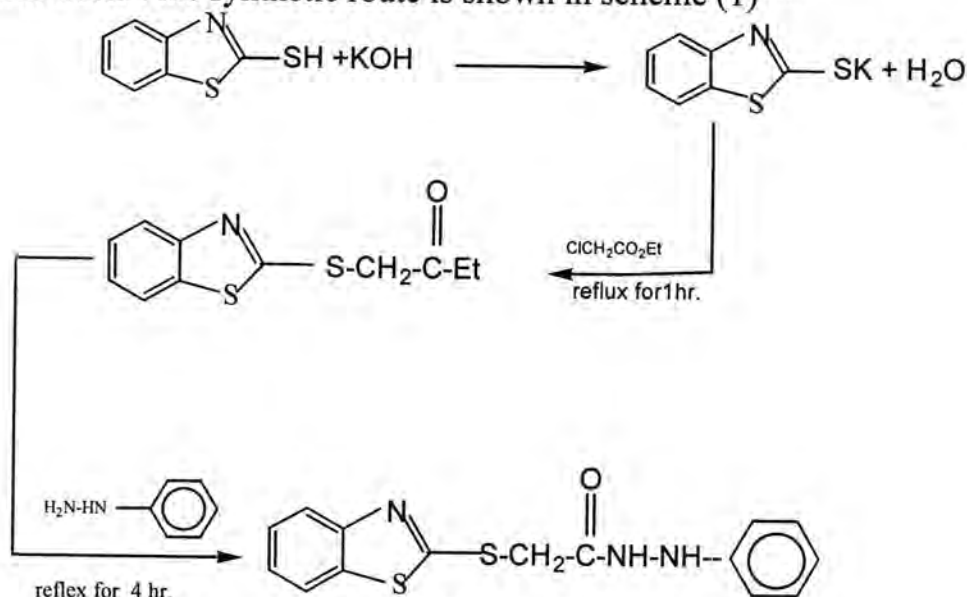
##### a- Potassium salt.

To a mixture of (1.67gm. 10 mmole) of 2-mercapto benzothiazole and (0.56gm, 10mmole) of KOH, (30ml) of super dry Ethanol was added with stirring at warm temperature for (1/2hr) . while suspension solution obtained a solution of ethyl chloro acetate (1.125gm, 10mmole) dissolved in dry ethanol added slowly at room temperature . The result mixture was refluxed for (1hr) and evaporated under vacuum to about half of the original volume , and cooled. A pale yellow precipitate was obtained. The product was left over night and then filtered, washed with cold distilled water to obtain white precipitate . Recrystallization from absolute ethanol gave pale brown crystals, m.p (180-186 c°) .

## b- Ligand

To (1.1 ml, 10 m mole) of phenyl hydrazine in round flask with reflux condenser, was added (2.875gm, 10.0 mmole) of ethyl ester drop- wise (portion wise) . The mixture was heated gently under reflux for 15 minutes . Then just enough absolute ethanol was added through the condenser to produce a clear solution and reflux was continued for further (3-4 hr) .

The ethyl alcohol was distilled off and the resulting mixture was cooled and crystals were filtered off and recrystallized from ethanol or form water . the synthetic route is shown in scheme (1) <sup>(5)</sup>.



Scheme (1)

## 2- Preparation of metal complex :-

## a- Complexes with Cr(III), Mn(II), Co(II), Zn(II) .

A solution of ( 1mmole) of the ligand dissolved in (10 ml) of absolute ethanol and (1mmole) of transition metal salts dissolved in (10ml) of absolute ethanol were mixed . The resulting mixture was refluxed for (3hr.), cooled filtered and recrystallized from hot absolute ethanol .

## b- complexes with Ni(II), Cu(II), Cd(II) .

The complexes were prepared by direct interaction between the chloride (1mmole) and ligand (1mmole) using ethanol as solvent . the resulting mixture stirred at (40 c°) for (1hr.) . then filtered and recrystallized from a mixture of ( DMSO : ethanol ) (30:70) <sup>(1)</sup> .



## RESULTS AND DISCUSSIONS

### a- IR spectroscopy :-

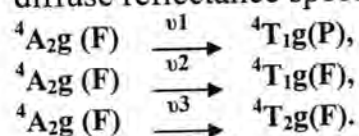
The IR spectrum of ligand exhibited band at ( $3018\text{cm}^{-1}$ ,  $1659\text{cm}^{-1}$  and  $759\text{cm}^{-1}$ ) assigned to the stretching vibration of  $\text{NH}$ ,  $\text{C}=\text{O}$  and  $\text{C-S-CH}^{(6)}$ . In IR spectra of all the complexes these bands appeared at lower wave number about ( $5-16\text{cm}^{-1}$ ), ( $6-19\text{cm}^{-1}$ ), ( $5-9\text{cm}^{-1}$ ) for  $\text{NH}=\text{C-O}$ ,  $\text{C-S-C}$  group stretching vibration respectively <sup>(7)</sup> new bands were observed for the coordination ( $\text{M-NH}$ ), ( $\text{M-O}=\text{C}$ ), ( $\text{M-S}$ ), ( $\text{M-Cl}$ ) and ( $\text{M-Cl-M}$ ) bands appeared in the regions ( $432-479$ ), ( $560-570$ ), ( $452-398$ ) and ( $217-218$ ) <sup>(8),(9)</sup>.

The table (1) show the data of IR spectroscopy of legend and complexes.

### b- Magnetic measurements and electronic spectra :-

#### 1- Cr(III) complex .

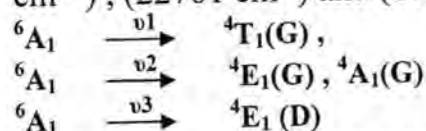
The magnetic moment values of the Cr(III) shows ( $3.9\text{BM}$ ). The electronic spectra of this complex showed three bands in ( $16338\text{cm}^{-1}$ ), ( $2286\text{cm}^{-1}$ ), ( $3372\text{cm}^{-1}$ ) which are observed in the diffuse reflectance spectrum for the transition .



So the shape of this complex is octahedral <sup>(10)</sup>.

#### 2- Mn(II) complex .

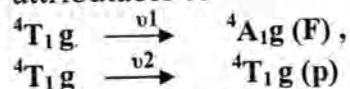
The magnetic moment values of the Mn(II) complex is ( $5.94\text{ B.M}$ ) and the electronic spectra of this complex showed band at ( $16390\text{cm}^{-1}$ ), ( $22701\text{cm}^{-1}$ ) and ( $2861\text{cm}^{-1}$ ) assignable to



respectively supported the tetrahedral geometry .

#### 3- Co(II) complex .

The magnetic moment value ( $\mu_{\text{eff}} = 4.77\text{ B.M}$ ) for Co(II) complex corresponds to unpaired electron. The electronic spectra of this complex shows two bands at ( $16821\text{cm}^{-1}$ ), ( $1877\text{cm}^{-1}$ ) attributable to

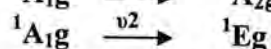
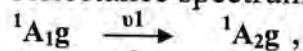


In the tetrahedral geometry ; it show dark blue color when it is solid then it will be dark pink when it soluble <sup>(11)</sup>.

#### 4- Ni(II) complex .

The magnetic moment values of the Ni(II) is diamagnetic ; indication a square planer geometry <sup>(12)</sup> . The electronic spectra of

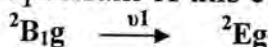
Ni(II) complex showed bands in the region (13888 – 25510  $\text{cm}^{-1}$ ) and charge transition which are observed in the diffuse reflectance spectrum of the complexes for the transition .



respectively supported the square planner geometry<sup>(13)</sup> .

5- Cu(II) complex .

The magnetic moment value ( $\mu_{\text{eff}} = 1.89 \text{ B.M}$ ) for Cu(II) complex corresponds to one unpaired electron. The electronic spectrum of this complex shows one band at (21276  $\text{cm}^{-1}$ ) due to



Transition in the square planner geometry<sup>(14)</sup> .

6- Zn(II) , Cd(II) complex .

These complexes were all diamagnetic . The electronic spectral measurements of the complexes were not useful<sup>(15)</sup> .

The table (2) shows the analytical and physical data of ligand and its metal complexes; and the table (3) shows the electronic transition of ligand and its metal complex at 298 K<sup>0</sup>.

Table -1: shows the IR spectrum of ligand and its metal c

Compound	$\nu \text{ NH}$ $\text{cm}^{-1}$	$\nu \text{ C=O}$ $\text{cm}^{-1}$	$\nu \text{ C-S-CH}$ $\text{cm}^{-1}$	$\nu \text{ M-NH}_2$ $\text{cm}^{-1}$	$\nu \text{ M-O}$ $\text{cm}^{-1}$	$\text{M-S cm}^{-1}$	$\text{M-Cl}$ $\text{cm}^{-1}$	$\nu \text{ M-Cl-M}$ $\text{cm}^{-1}$
$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2$	3018	1659	759	-	-	-	-	-
$[\text{Cr}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	3012	1650	751	481	508	358	-	218
$[\text{Mn}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	3010	1652	752	477	566	398	390	-
$[\text{Co}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	3010	1651	753	479	506	352	302	-
$[\text{Ni}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	3003	1643	754	475	532	382	360	-
$[\text{Cu}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	3010	1654	750	455	557	376	266	-
$[\text{Zn}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	3002	1650	747	466	570	369	248	-
$[\text{Cd}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	3013	1640	753	432	542	381	300	-

Table -2; analytical and physical data of ligand and its metal complexes

Compound	Color	M.P.C°	found%/M	$\mu_{\text{eff}}$ (B.M)	DMF $\Delta_{\text{cm}}$	Geometry	Yield%
$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2$	Brown	180-186	-	-	-	-	83
$[\text{Cr}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	Dark green	320	15.2 (14.9)	3.9	143	(o.h) <sub>2</sub>	67
$[\text{Mn}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	Pale brown	291	7.9 (7.0)	5.9	86	T.h	70
$[\text{Co}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	Dark blue	312	8.5 (8.3)	407	82	T.h	74
$[\text{Ni}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	Green	286	8.8 (8.0)	Dimagnetic	97	S.q	66
$[\text{Cu}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	Dark green	209	9.2 (8.6)	1.89	72	S.q	85
$[\text{Zn}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	Pale brown	301	9.5 (9.0)	Dimagnetic	68	T.h	82
$[\text{Cd}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	Very pale brown	202	15.2 (14.6)	Dimagnetic	66	T.h	81

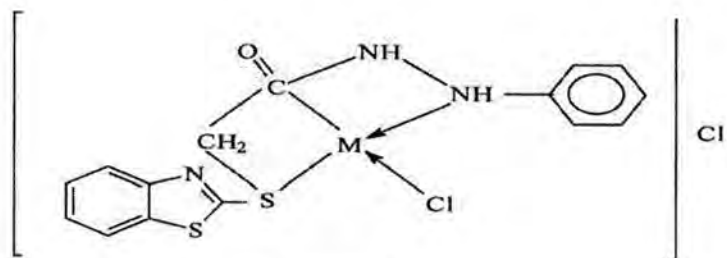
\*DMF = dimethyl phenyl,  $\Delta_{\text{cm}}$  =  $\text{ohm mol cm}^{-1}$

O h=octahedral, T.h = Tetrahedral, S.q = Squar planer

Table -3: electronic transition of ligand and its metal complex at 298 k

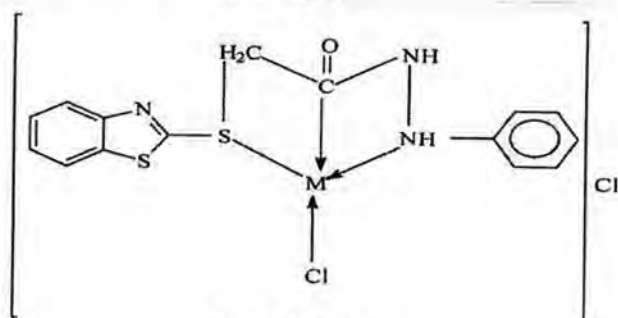
Compound	Wave number( $\text{cm}^{-1}$ )	Transition
$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2$	22623 26546 32102 32505	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$
$[\text{Cr}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}_2]$	16338 2286 3372	${}^4\text{A}_{2g}(\text{F}) \xrightarrow{\nu_1} {}^4\text{T}_{1g}(\text{P})$ ${}^4\text{A}_{2g}(\text{F}) \xrightarrow{\nu_2} {}^4\text{T}_{1g}(\text{F})$ ${}^4\text{A}_{2g}(\text{F}) \xrightarrow{\nu_3} {}^4\text{T}_{2g}(\text{F})$
$[\text{Mn}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	16390 22701 2861	${}^6\text{A}_1 \xrightarrow{\nu_1} {}^4\text{T}_1(\text{G})$ ${}^6\text{A}_1 \xrightarrow{\nu_2} {}^4\text{E}_1(\text{G}), {}^4\text{A}_1(\text{G})$ ${}^6\text{A}_1 \xrightarrow{\nu_3} {}^4\text{E}_1(\text{D})$
$[\text{Co}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	16821 877	${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu_1} {}^4\text{A}_{1g}(\text{F})$ ${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu_2} {}^4\text{T}_{1g}(\text{p})$
$[\text{Ni}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	13888 25510	${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu_1} {}^1\text{A}_{2g}$ ${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu_2} {}^1\text{E}_g$
$[\text{Cu}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	21276	${}^2\text{B}_{1g} \xrightarrow{\nu_1} {}^2\text{E}_g$
$[\text{Zn}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	31785 30666	Charge transfer
$[\text{Cd}(\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2)_2\text{Cl}] \text{Cl}$	30333 31530	Charge transfer





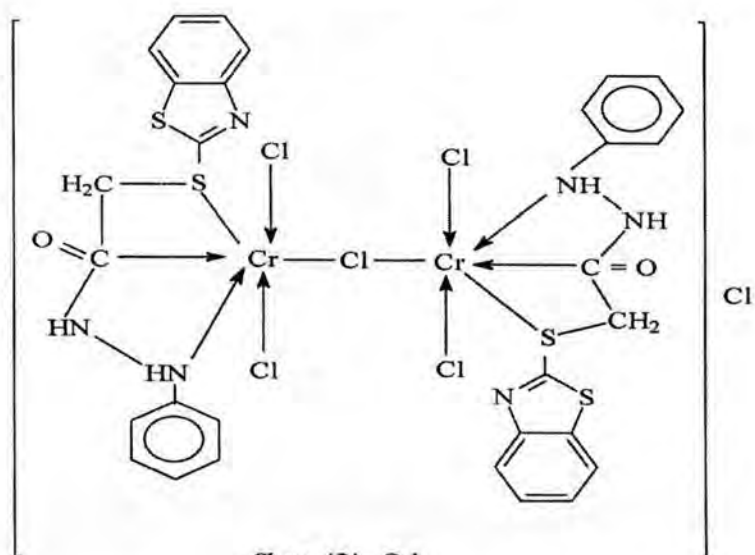
Shap (1) S.q

M = Ni , Cu



Shap (2) T.h

M = Mn , Co , Zn , Cd



Shap (3) O.h

## REFERENCES

1. Hanaa H.Hussein ( Synthesis and characterization of Mn(II), Ni(II),Cu(II), Cd(II), Zn(II), Pd(II) and Pt(IV) complexes with 2-( 1-3 benzothiazol2-yl thio ) aceto hydrazide) almustansiriya J.Sic.Vol:16 No.3,(2005).
2. P. Galaman (Synthesis and characterization of ligand 2-MBTH and its complexes ) organic chemistry , 2<sup>nd</sup> ed. P.1982 (1994).
3. Khullar, P.and Agarwala ,V.( complexes of mercapto benzothiazde with Cu(II), Ni(II), Zn(II), Co(II), Pd(II) , can. J. Chem.,53 (1975).

4. Rodwell, D.E. Gerhort, J.M Bisinger, J.J. (Development toxicity study of 2-Mercaptobenzothiazole in two species Teratology) *J.Inorg.chem.* v:41, No:587 (1990).
5. Effendy, F.M. Caludio, P. and Allan, H.W., (synthesis and spectroscopic characterization of silver (I) complexes with bis-(1,2,4-triazol-1-yl) alkane ligand (CH<sub>2</sub>), X-ray structures of two and three dimers and coordination polymers, *Inorg.chem.*, 42, 112-117 (2003).
6. Zhang L.X. and X.X., (synthesis and biological activity (II) of 3-(2-furanyl) 6-aryl-1,2,4 triazol(3,4-b(1,2,3,4-thiadizoles)) *Molecules*, 7, 681-689 (2002).
7. V.M. Patrikh. (Absorption spectroscopy of organic molecules) Wiley, New York Arabic version (1974).
8. R.A. Nyquist and R.O. Kagle (Infrared spectra of inorg. comp.) Wiley, New York (1971).
9. Patricia G. and Filo, R.T. (Evidence of desulfurization in the oxidative cyclization of thiosemicarbazones conversion to 1,2,4-oxadiazole derivatives) *inorg. Chem.*, 41, 6, 1345-1347 (2002).
10. B.T. Aputel and J. Pchaker. (synthesis characterization and activity of some linear Cr-S clusters contains heterocyclic ligands) *Indian J. of Chem. Vol. 35A* P.483 – 488 (1986).
11. V.S. Shirvastava, C.P. Bhasin and G.C. Saxena (Complexes of Cobalt with N-phosphonomethyl glycinate) *J. Indian Chem. Soc. Vol. LXIII* (10) (1990).
12. Lever B.P. (inorganic Electronic spectroscopy) 2<sup>nd</sup> Ed. Elsevier publishing company, Amsterdam, 507-537 (1984).
13. Balwan, S. and Harhiar, M (Study of Some complex compounds of some transition metals with isonicotinic acid hydrazide) *J. Indian Chem. Soc.*; LV II, 649-692 (1986).
14. Tsarojni and A. Ramachandrarao (synthesis and characterization of Ni(II), Cu(II), Zn(II) complexes with a tetradentate thioiminato Schiff base ligand) *Indian J. of Chem. Vol. 35*, P.940-945 (1996).
15. Jiang, X., Qiang, M. and Wen-xia, T. (Detertion of Zn(II) water and Zinc (II) –alcohol and nucleophilicity of the resultant Zinc (II) hydroxide and Zinc(II) –alkoxide in double- functionalized complex the eoretical studies on models for hydrolytic Zinc enzymes) *Inorg. Chem.*; 42, 1, 70-77 (2003).
16. D. Miss Punima J.P. Tandon (New Complexes of Bi(III) and Zn(II) with Semicarbazone derivatives) *Indian J. of Chem. Vol. 28A* P.434-436 (1989).

## Study of Optical Properties of ZnSe Thin Films Prepared by Thermal Evaporation

Ibrahim R. Agoor<sup>1</sup>, Ali H. Abed<sup>2</sup>, Zaenib H. B. Muhi<sup>3</sup> and Lamyaa M. Raoof<sup>4</sup>

<sup>1,2,4</sup>Physics Department, College of Science, Al-Mustansiriya University

<sup>3</sup>Physics Department, College of Education, Al-Mustansiriya University

Received 27/9/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تم ترسيب الأغشية الرقيقة من مركب سيلينيد الزنك لتحضير أغشية رقيقة مختلفة السمك باستعمال التبخير الحراري في الفراغ في درجة حرارة 323 كلفن، في جو فراغي ( $10^{-5}$  تور). أن قيم فجوات الطاقة للأغشية الرقيقة متعددة التبلور ذات السمك (nm 300,240,180) وجدت تساوي (ev 2.66,2.68,2.69) على التوالي، أما قيمة فجوة الطاقة للغشاء الرقيق العشوائي، ذو سمك 60 nm، وجدت تساوي (ev 2.57). أن الثوابت البصرية للأغشية الرقيقة التي تم دراستها تتضمن النفاذية، الامتصاصية، الانعكاسية. وجد أن الأغشية الرقيقة متعددة التبلور ذات نفوذية عالية تتراوح بين 75,99% في المنطقة المرئية من الطيف، أما الامتصاصية والانعكاسية في هذه المنطقة كانت نسبتها صغيرة جداً. تبين أيضاً أن الامتصاصية عالية جداً في المنطقة فوق البنفسجية من الطيف الكهرومغناطيسي.

### ABSTRACT

In this work the compound of Zinc selenide (ZnSe) for different thickness were deposited on glass substrate at temperature (323 K), using resistance heating evaporation technique under high vacuum condition (the base pressure is  $10^{-5}$  torr). The polycrystalline thin films with thicknesses 180, 240 and 300 nm are found to have direct bandgaps with values 2.69, 2.68 and 2.66 eV respectively. The amorphous film with thickness 60 nm has a direct bandgap and is found to be smaller than that of polycrystalline thin films which is equal to 2.57 eV. The optical parameters of ZnSe thin films which have been investigated, include the transmittance, absorbance and reflectance. The films have been found to exhibit high transmittance ranged between 75-99%, low absorbance, and low reflectance in the visible region. The absorbance of the films is found to be high in the ultraviolet region.

### INTRODUCTION

Zinc selenide (ZnSe) is a II-VI compound semiconductor with the zinc blende crystal structure [1-2]. The II-VI semiconductors can form the basis for a variety of efficient light-emitting devices, spanning the entire range of the visible spectrum since their direct bandgaps range from the infrared to the ultraviolet[3]. Emission of wavelengths in the range of 450 nm to 550 nm can be obtained from devices made by ZnSe and related compounds[4]. Thin films of ZnSe have a direct band gap (2.67 eV) at room temperature (300 K) and transparent over a wide range of visible spectrum[ 5,6]. In our work the polycrystalline thin films with thicknesses 180, 240 and 300 nm are found to have a direct bandgaps with values 2.69, 2.68 and 2.66 eV respectively at substrate temperature (323 K) and the amorphous film with thickness 60 nm has a direct bandgap(2.57 eV) . The films have been found to exhibit high transmittance ranged between 75-99%, low absorbance, and low reflectance in the visible region.



## MATERIALS AND METHODS

The bulk samples of ZnSe have been prepared by direct mixing of highly pure Zn (Purity 99.999%, Trade mark, Swilliams Ltd England) and Se (purity 99.999%, Trade mark, Swilliams Ltd England) according to the atomic ratio of their constituent elements (Zn 45.25% and Se 54.75%). In our work the glass slides have been used as substrates. the deposition of ZnSe thin films have been performed by using electrical resistance heated thermal evaporation process. The other conditions under which the samples with different thickness have been prepared are:

- (1) The materials of the films were evaporated from Molybdenum boat.
- (2) The pressure during the evaporation was approximated to  $10^{-5}$  torr.
- (3) The rate of deposition was controlled at about  $20 \text{ \AA} / \text{s}$ .
- (4) The distance between the source and substrate was kept at 9 cm.
- (5) The substrate temperature was held at 323 K.

The optical transmittance of the prepared films was measured by using [UV 210  $\text{\AA}$  Shimadza] double beam spectrophotometer in the spectral rang of a wavelength 320-750 nm. The absorbance ( $A$ ) and absorption coefficient ( $\alpha$ ) were determined by using the fundamental relations of photon transmission and transmittance ( $T$ ), [7].

$$I = I_0 e^{-\alpha t} \quad (1)$$

where  $t$  is the thickness of the sample,  $I_0$  and  $I$  are the intensity of incident and transmittance of radiation respectively.

$$A = \text{Log } I_0 / I = \text{Log } 1/T \quad (2)$$

$$\alpha = 2.303 A/t \quad (3)$$

## RESULTS AND DISCUSSION

In the domain of the fundamental absorption edge, the absorption coefficient ( $\alpha$ ) for allowed direct transition has been given by the expression

$$\alpha(h\nu) = B(h\nu - E_g)^{1/2} \quad (4)$$

Where  $B$  is constant and  $E_g$  is the optical energy gap.

According to equation (4), in vicinity of fundamental absorption edge, the dependence of  $(\alpha h\nu)^2 = f(h\nu)$  is linear [9]. Figure (1) shows this dependence for three of studied polycrystalline samples. The values of bandgap width ( $E_g$ ) can be determined by extrapolating the linear portions of the respective curves to  $(\alpha h\nu)^2 = 0$ . These values of the energy gap, which have been determined for polycrystalline films, are 2.69, 2.68, and 2.66 eV for 180, 240, and 300 nm thickness respectively. The energy gap is decreases with increasing of film thickness. This behavior can be attributed to the increasing in

dislocation density, microstrain and the lattice constant with thickness[8]. Figure (2) shows the energy gap of the amorphous film with 60 nm thickness. The energy gap of the amorphous film has been determined by using the relation (4). The observed linear dependence of  $(\alpha h\nu)^2$  on  $h\nu$  in the higher absorption side of the spectra (as shown in the figure 2) confirms that the amorphous film has a direct band gap[9]. The value of the optical energy gap of the amorphous film,  $E_g = 2.57$  eV, is found to be smaller than that of polycrystalline films. This can be attributed to the difference of electronic states in the two types of films. The values of the absorbance ( $A$ ) of ZnSe thin films are calculated using equation (2). Figure (3) shows the absorbance spectra of ZnSe thin films,

having different thickness. These spectra reveal that films growing under the same parametric conditions have low absorbance in the visible region, but the absorbance in the ultraviolet region is high. The enhanced absorbance is observed in the neighborhood of  $\lambda = 470$  nm, which is the wavelength in the neighborhood of the fundamental absorption edges[7]. As shown in the figure (3), there is a small absorption peak below the fundamental edge for the 300 nm thick polycrystalline film. This small absorption peak is due to the rapid change in the optical absorption coefficient, and is an indication that some states have been created in the region between the conduction and the valence band. These states may be due to some structural defects in the films[10].

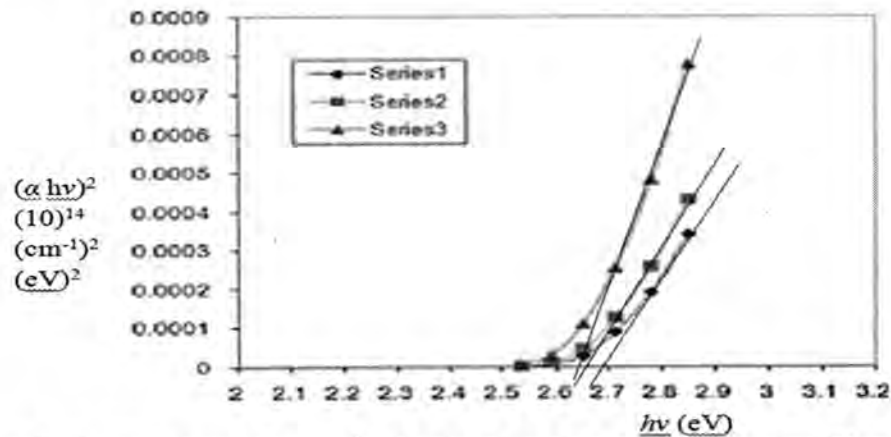
The transmittance ( $T$ ) of the prepared ZnSe thin films has been measured, by using the double beam spectrophotometer, as a function of wavelength ( $\lambda$ ). Figure (4) shows the optical transmittance spectra for the deposited ZnSe thin films. All the films demonstrate more than 75% transmittance at wave lengths longer than 470 nm (The wavelength in the neighborhood of the fundamental absorption edges). Below 460 nm there is a sharp fall in the transmittance of the films, which is due to the strong absorbance in this region. It has been observed that the transmittance spectra increase with the increasing wavelength. As shown in the figure (4) there is a small peak above the fundamental edge for the 300 nm thick polycrystalline thin film, and there is a rise and fall in the transmittance above 460 nm for the polycrystalline films. A similar behavior (rise and fall in the transmittance) is reported by S.Y. kim [11] for  $\text{TiO}_2$  thin films prepared using electron beam evaporation and is claimed to be due to interference of the light transmitted through the thin film and the substrate. These variations have been observed to increase with film thickness.

The optical transmittance spectrum of the amorphous thin film (series one) does not differ greatly from that of polycrystalline films but



without the peak and without the rise and fall in the transmittance spectra at wavelengths greater than that corresponding to the fundamental absorption edge. This behavior can be attributed to the difference in the electronics states for the polycrystalline films and that of the amorphous film, In addition to the small thickness of the amorphous film . The overall transmittance spectra decreases with the increasing film thickness at wavelengths smaller than the wavelength which corresponding to the wavelength of absorption edge. This behavior of transmittance is in contrast with the behavior of the absorbance as shown in figure (4). The reflectance has been found by using the relationship  $R+T+A=1$ . Figure (5) shows the reflectance spectra for the deposited ZnSe thin films. As expected the reflectance of ZnSe thin films is extremely small in the visible region. The extremely small values of the reflectance and the absorbance in the visible region at wave lengths ranged between 550 nm to 650 nm offered the most promise for realizing visible laser diodes (LD) and efficient Light-emitting-diode (LED) displays, by using ZnSe thin films in these devices [1].

All the films demonstrate 75% to 99% transmittance at wave lengths longer than 470 nm. The high transmittance of wave lengths ranged between 550 nm to 650 nm offered the most promise for realizing visible laser diodes (LD) and efficient Light-emitting-diode (LED) displays by using ZnSe thin films in these devices.



**Figure -1:** the variation of  $(\alpha h\nu)^2$  with photon energy for the polycrystalline ZnSe thin films. Series (1),(2) and (3) represent 180, 240 and 300 nm thickness respectively.



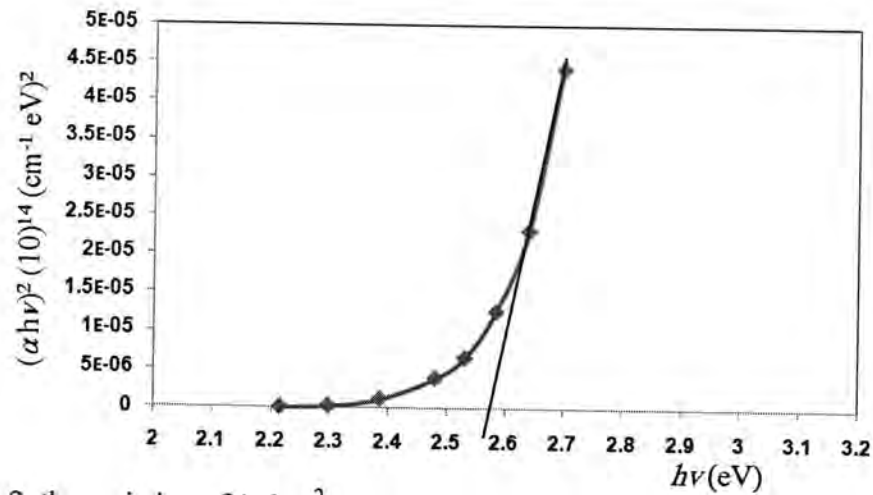


Figure-2: the variation of  $(\alpha h\nu)^2$  with photon energy for amorphous ZnSe thin film.

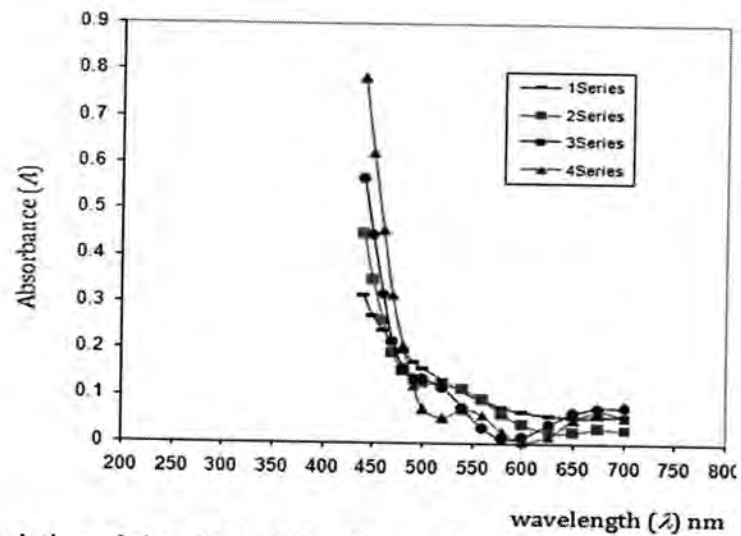


Figure-3: Variation of absorbance ( $A$ ) with wavelength ( $\lambda$ ), Series 1, 2, 3 and 4 represent 60, 180, 240 and 300 (nm) thicknesses respectively.

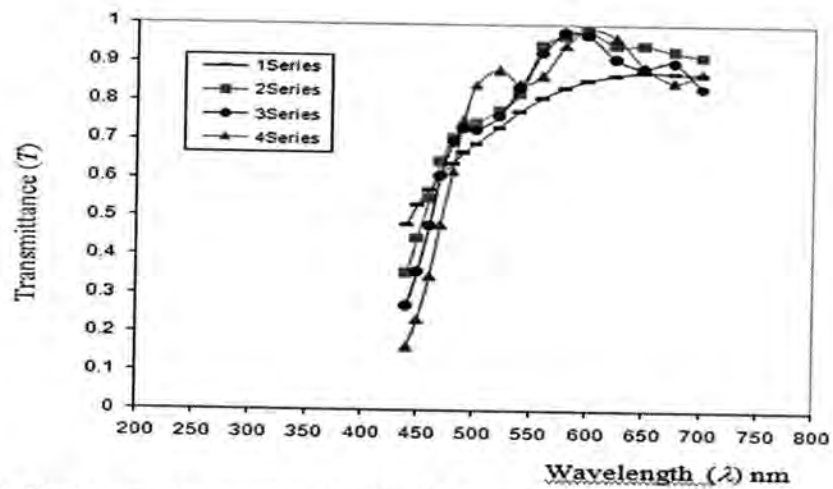


Figure -4: Variation of transmittance ( $T$ ) with wavelength ( $\lambda$ ), Series 1, 2, 3 and 4 represent 60, 180, 240 and 300 (nm) thicknesses respectively.

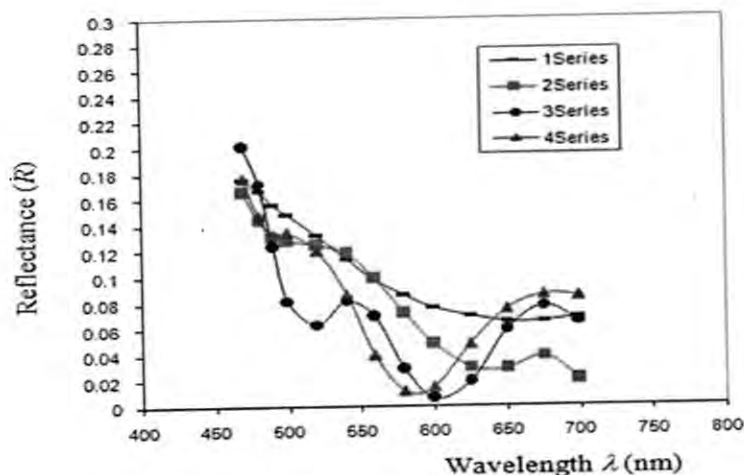


Figure -5: Variation of reflectance ( $R$ ) with wavelength ( $\lambda$ ), Series 1, 2, 3 and 4 represent 60,180,240 and 300 (nm) thickness respectively.

## REFERENCES

1. Zhonghai Yu, An investigation of hydrogen-related phenomenon and compensation in ZnSe, Morgantown, West Virginia (June 1996).
2. M. Aven and J. S. Prener, editor, Physics and Chemistry of II-VI Compounds, Amsterdam: North-Holland Publishing Company, (1967).
3. G. F. Neumark, R. M. Park, and J. M. DePuydt, Physics Today **47**, 26 (June 1994).
4. L. A. Kolodziejski, R. L. Gunshor, and A. V. Nurmikko, in Annu. Rev. Mater. Sci. **25**, 711 (1995).
5. R. F. S. Hearman, physics of solid state (New York: Academic Press). 408. (1969).
6. A. Schmidt et al. Crystal Growth, 101 758. (1990).
7. M.Y. NADEEM, Waqas AHMED, Optical Properties of ZnS Thin Films, TUBITAK 651-659 (2000).
8. K. L. Chopra, Thin Film Phenomena, (1969).
9. M.G.M. Choudhury, preparation and characterization of ZnSe-Al thin films acta physica slovaca vol. 54 No 4, 417-425 (2004).
10. A.A. Ibrahim, M.A. Kaid, Ashour\* Structural and electrical properties of evaporated ZnTe thin films, Vacuum 75 189-194. (2004)
11. S. Y. Kim, Appl. Opt. 35 (34) (1996).

## Nucleon Momentum Distributions and Elastic Electron Scattering form Factors of $^7\text{Li}$ , $^9\text{Be}$ and $^{11}\text{B}$ nuclei

Adel . K. Hamoudi and Marwan A. Hassan

Department of Physics, College of Science, University of Baghdad

Received 6/2/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

تم استخدام أنموذج تموج الكثافة المتشابهة في حساب كل من توزيعات زخوم النيوكليونات ( $NMD$ ) للحالة الأرضية وعوامل التشكل  $F(q)$  للاستطارة الكترونية المرنة لبعض النوى الفردية الواقعة ضمن القشرة  $1p$  (مثل  $^7\text{Li}$ ,  $^9\text{Be}$  و  $^{11}\text{B}$ ). وقد تم التعبير عن كل من  $NMD$  و  $F(q)$  بدلالة دالة التموج  $|f(x)|^2$  التي تحسب بواسطة توزيعات كثافة النيوكليونات ( $NDD$ ). في هذه الدراسة تم حساب دالة التموج من خلال استخدام النتائج النظرية والعملية لتوزيعات كثافة النيوكليونات. لقد تميزت نتائج توزيعات زخوم النيوكليونات (المستندة على دالة التموج النظرية والعملية) على صفة الذيل الطويل عند منطقة الزخم العالي. أظهرت هذه الدراسة بأن النتائج النظرية لعوامل التشكل المرنة المستحصلة من الحسابات الحالية تتفق تماماً مع النتائج العملية ولكل قيم الزخم المنتقل  $q$  في النوى قيد الدراسة. وأظهرت أيضاً بأن عوامل التشكل الرباعية  $F_{C2}(q)$  (المحسوبة بواسطة أنموذج القشرة  $p$ ) الغير مشوه مهمة جداً وأساسية للحصول على توافق بين النتائج النظرية والعملية لعوامل التشكل.

### ABSTRACT

Coherent density fluctuation model ( $CDFM$ ) has been used to calculate the nucleon momentum distributions ( $NMD$ ) and elastic electron scattering form factors  $F(q)$  for some odd mass nuclei of  $1p$ -shell (such as  $^7\text{Li}$ ,  $^9\text{Be}$  and  $^{11}\text{B}$ ). Both of the  $NMD$  and  $F(q)$  have been expressed in terms of the weight function  $|f(x)|^2$  which is determined by means of the nucleon density distributions ( $NDD$ ) of the nuclei and determined from theory and experiment. The feature of the long-tail behavior at high momentum region of the  $NMD$ 's has been obtained by both the theoretical and experimental weight functions. The experimental form factors  $F(q)$  of all considered nuclei are very well reproduced by the present calculations throughout all values of momentum transfer  $q$ . It is found that the contributions of the quadrupole form factors  $F_{C2}(q)$ , which are described by the undeformed  $p$ -shell model, are essential in obtaining a remarkable agreement between the theoretical and experimental form factors.

### INTRODUCTION

Elastic electron-nucleus scattering has been for many years a very useful tool to investigate the size and shape of stable nuclei [1,2]. Electrons interact with nuclei basically through the electromagnetic force. If the energy of the electrons is high enough, they become a relatively clean probe to explore precisely the internal structure of nuclei, insensitive to strong interaction effects. In particular, the analysis of electron-scattering data provides most valuable information about the cross sections, form factors and nucleon densities [3,4]. Electron scattering is an excellent tool for studying the nuclear structure



because of many reasons. Since the interaction between the electron and the target nucleus is relatively weak and known where the electron interacts electromagnetically with the local charge and current densities of nucleus. Besides, the measurements can be obtained without greatly disturbing the structure of the target. While in the case of scattering of a nucleon from nuclei, neither the interaction nor the structure of the target is well known therefore it is very complicated to distinguish between them by analyzing the experimental data [5]. Several theoretical methods used to study elastic electron-nucleus scattering, such as the plan-wave Born approximation (PWBA), the eikonal approximation and the phase-shift analysis method. The PWBA method, which assumes that both the initial and final electrons are plane waves, can give qualitative results and has been used widely for its simplicity. To include the Coulomb distortion effect, which is neglected in PWBA, the other two methods may be used [6]. For light nuclei where  $Z\alpha \ll 1$  ( $\alpha$  is the fine-structure constant), one can use, to a good approximation, the PWBA to describe the scattering process [7]. The elastic electron scattering form factors from spin zero nuclei can be determined purely by the ground state density distribution, where the form factor is Fourier transform of the density distribution and vice versa [8]. In the past few years, some theoretical studies of elastic and inelastic electron scattering form factors of 1p-shell nuclei have been performed [9-12].

There is scanty knowledge about the nucleon momentum distribution (*NMD*) in nuclei, especially in the high-momentum region  $k > k_F \approx 1.4 \text{ fm}^{-1}$ . In the last two decades, there has been significant effort for the determination of the *NMD* in nuclear matter and finite nucleon systems [13-15]. The *NMD* is related to the cross sections of various kinds of nuclear reactions. The experimental evidence obtained from inclusive and exclusive electron scattering on nuclei established the existence of long-tail behavior of *NMD* at high momentum region ( $k \geq 2 \text{ fm}^{-1}$ ) [16-19]. In principle, the mean field theories cannot describe correctly *NMD* and form factors  $F(q)$  simultaneously [20] and they exhibit a steep-slope behavior of *NMD* at high momentum region. In fact, *NMD* depends a little on the effective mean field considered due to its sensitivity to short range and tensor nucleon-nucleon correlations [20,21] which are not included in the mean field theories. In coherent density fluctuations model (*CDFM*), which is exemplified by the work of Antonov *et al.* [16,22,23], the local density distribution and *NMD* are simply related and expressed in terms of experimentally obtainable fluctuation function (weight function)  $|f(x)|^2$ . It is important to point out

that all above calculations obtained in the framework of *CDFM* proved a high momentum tail in the *NMD*.

The aim of the present study is to derive an analytical form for the *NDD*, applicable throughout all p-shell nuclei, based on the use of the single particle harmonic oscillator wave functions and the occupation numbers of the states. The derived form of the *NDD* is employed in determination the theoretical weight function  $|f(x)|^2$  which is used in the *CDFM* to study both the *NMD* and elastic  $F(q)$  for some 1p-shell nuclei, such as,  $^7\text{Li}$ ,  $^9\text{Be}$  and  $^{11}\text{B}$  nuclei. It is seen that the contribution of the quadrupole form factors  $F_{C2}(q)$  in these nuclei are important for getting a very good agreement between the theoretical and experimental form factors.

### Theory

The one body nucleon density distribution *NDD* is written as [24]:

$$\rho(r) = \frac{1}{4\pi} \sum_{nl} \eta_{nl} 4(2l+1) |R_{nl}(r)|^2 \quad \dots\dots\dots (1)$$

where  $\eta_{nl}$  is the nucleon occupation probability of the state  $nl$  ( $\eta_{nl} = 0$  or 1 for closed shell nuclei and  $0 < \eta_{nl} < 1$  for open shell nuclei) and  $R_{nl}(r)$  is the radial part of the single particle harmonic oscillator wave function. To derive an explicit form for the *NDD* of 1p-shell nuclei, we assume that there is a core of filled 1s-shell and the nucleon occupation numbers in 1p,  $2s_{1/2}$  and  $1f_{7/2}$  orbits are equal to, respectively,  $(A-4-\alpha)$ ,  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$ , and not to  $(A-4)$ , 0 and 0 as in the simple shell model. Using this assumption in eq. (1), an analytical form for the ground state *NDD* of 1p-shell nuclei is obtained as:

$$\rho(r) = \frac{2}{\pi^{3/2} b^3} \exp(-r^2/b^2) \left[ 2 + \frac{3\alpha_1}{4} + \frac{(A-4-\alpha-3\alpha_1)}{3} \left(\frac{r}{b}\right)^2 + \frac{\alpha_1}{3} \left(\frac{r}{b}\right)^4 + \frac{4\alpha_2}{105} \left(\frac{r}{b}\right)^6 \right] \quad (2)$$

where  $A$  is the nuclear mass number,  $b$  is the harmonic oscillator size parameter chosen in such away as to reproduce the experimental root mean square radii of nuclei and  $\alpha$  ( $\alpha = \alpha_1 + \alpha_2$ ) is the deviation of the nucleon occupation numbers from the prediction of the simple shell model ( $\alpha=0$ ).

The normalization condition of the *NDD* is given by [3,16]:

$$A = 4\pi \int_0^\infty \rho(r) r^2 dr \quad \dots\dots\dots (3)$$

and the mean square radii (*MSR*) of considered 1p-shell nuclei is given by [3,16]:

$$\langle r^2 \rangle = \frac{4\pi}{A} \int_0^\infty \rho(r) r^4 dr \quad \dots\dots\dots (4)$$

The central *NDD*,  $\rho(r=0)$ , is obtained from eq. (2) as:

$$\rho(0) = \frac{2}{\pi^{3/2} b^3} \left[ 2 + \frac{3\alpha_1}{4} \right] \quad \dots\dots\dots (5)$$

Then  $\alpha_1$  is obtained from eq. (5) as:

$$\alpha_1 = \frac{2(\rho_0(0)\pi^{3/2}b^3 - 4)}{3} \quad \dots\dots\dots (6)$$

Substituting eq. (2) into eq. (4) and after simplification gives :

$$\langle r^2 \rangle = \frac{b^2}{A} \left[ \frac{5}{2}A - 4 - \alpha_1 + 2\alpha \right] \quad \dots\dots\dots (7)$$

The parameter  $\alpha$  is obtained by substituting eq. (6) into eq. (7) as:

$$\alpha = \frac{A}{2b^2} \langle r^2 \rangle + 2 - \frac{5}{4}A + \frac{1}{3}(\rho_0(0)\pi^{3/2}b^3 - 4) \quad \dots\dots\dots (8)$$

The parameter  $\alpha_2$  is then obtained by  $\alpha_2 = \alpha - \alpha_1$ . In eq's (6) and (8), the values of  $\rho(0)$  and  $\langle r^2 \rangle$  are taken from the experiments.

Similarly, the ground state charge density distribution (*CDD*),  $\rho_{ch}(r)$ , of 1p-shell nuclei is also derived, using the assumption that there is a core of filled 1s-shell and the occupation numbers of the proton in 1p,  $2s_{1/2}$  and  $1f_{7/2}$  orbits are  $(Z - 2 - \beta)$ ,  $\beta_1$  and  $\beta_2$ , respectively, and given by :

$$\rho_{ch}(r) = \frac{2}{\pi^{3/2}b^3} \exp(-r^2/b^2) \left[ 1 + \frac{3\beta_1}{4} + \frac{(Z-2-\beta-3\beta_1)(r/b)^2}{3} + \frac{\beta_1(r/b)^4}{3} + \frac{4\beta_2(r/b)^6}{105} \right] \quad \dots\dots\dots (9)$$

In this equation, the parameters  $\beta$ ,  $\beta_1$  and  $\beta_2$  are determined exactly by the same procedure as those of eq. (2). Here, the normalization condition is given by [3,16] :

$$Z = 4\pi \int_0^\infty \rho_{ch}(r) r^2 dr \quad \dots\dots\dots (10)$$

The nucleon momentum distributions *NMD*,  $n(k)$ , for 1p-shell nuclei is also studied using two distinct methods. In the first, it is determined by the shell model using the single particle harmonic oscillator wave functions in momentum representation and is given by [25]:

$$n(k) = \frac{2b^3}{\pi^{3/2}} e^{-b^2k^2} \left[ 2 + \frac{(A-4)}{3}(bk)^2 \right] \quad \dots\dots\dots (11)$$

In the second method, the *NMD* is determined by the *CDFM*, where the mixed density is given by [16,22] :

$$\rho(r, r') = \int_0^\infty |f(x)|^2 \rho_x(r, r') dx \quad \dots\dots\dots (12)$$

Since:

$$\rho_x(r, r') = 3\rho_0(x) \frac{j_1(k_F(x)|\vec{r} - \vec{r}'|)}{k_F(x)|\vec{r} - \vec{r}'|} \theta(\bar{x} - \frac{1}{2}|\vec{r} + \vec{r}'|) \quad \dots\dots\dots (13)$$

is the density matrix for A-nucleons uniformly distributed in the sphere with radius  $x$  and fixed mean density  $\rho_0(x)$  where :

$$\rho_0(x) = \frac{3A}{4\pi x^3} \quad \dots\dots\dots (14)$$

The step function  $\theta$ , in eq. (13), is define by:

$$\theta(y) = 1, \text{ for } y \geq 0$$



$$= 0, \text{ for } y < 0 \quad \dots\dots\dots (15)$$

and the Fermi momentum is defined by:

$$k_F(x) = \left( \frac{3\pi^2}{2} \rho_0(x) \right)^{1/3} = \frac{\eta}{x}, \quad \eta = \left( \frac{9\pi A}{8} \right)^{1/3} \quad \dots\dots\dots (16)$$

According to the density matrix definition of equation (12), one-particle density  $\rho(r)$  is given by it's diagonal elements as :

$$\rho(r) = \rho(r, r')|_{r=r'} = \int_0^\infty |f(x)|^2 \rho_x(r) dx \quad \dots\dots\dots (17)$$

In eq. (17),  $\rho_x(x)$  and  $|f(x)|^2$  have the forms [16,22]:

$$\rho_x(r) = \rho_0(x) \theta(x-r) \quad \dots\dots\dots (18)$$

$$|f(x)|^2 = \frac{-1}{\rho_0(x)} \frac{d\rho(r)}{dr} \Big|_{r=x} \quad \dots\dots\dots (19)$$

It is important to point out that the weight function  $|f(x)|^2$  of eq. (19), determined in terms of the ground state *NDD*, satisfies the normalization condition:

$$\int_0^\infty |f(x)|^2 dx = 1 \quad \dots\dots\dots (20)$$

and holds only for monotonically decreasing *NDD*, i.e.  $\left( \frac{d\rho(r)}{dr} \right) < 0$  [16,22].

On the basis of eq. (17), the *NMD* is expressed as [16,22]:

$$n(k) = \int_0^\infty |f(x)|^2 n_x(k) dx \quad \dots\dots\dots (21)$$

Where :

$$n_x(k) = \frac{4}{3} \pi x^3 \theta(k_F(x) - |k|) \quad \dots\dots\dots (22)$$

is the Fermi-momentum distribution of a system with density  $\rho_0(x)$ . By means of eq's (19), (21) and (22), an explicit form for the *NMD* is expressed in terms of  $\rho(r)$  as:

$$n_{CDFM}(k; [\rho]) = \left( \frac{4\pi}{3} \right)^2 \frac{4}{A} \left[ 6 \int_0^{\eta/k} \rho(x) x^5 dx - \left( \frac{\eta}{k} \right)^6 \rho \left( \frac{\eta}{k} \right) \right] \quad \dots\dots\dots (23)$$

The normalization condition of eq's (11) and (23) is given by [22] :

$$\int n_{CDFM}(k) \frac{d^3k}{(2\pi)^3} = A \quad \dots\dots\dots (24)$$

The elastic monopole form factors  $F_{C0}(q)$  of the target nucleus is also expressed in the *CDFM* as [16,22] :

$$F_{C0}(q) = \frac{1}{A} \int_0^\infty |f(x)|^2 F(q, x) dx \quad \dots\dots\dots (25)$$

Where the form factor of uniform nucleon density distribution is given by [22]:

$$F(q, x) = \frac{3A}{(qx)^2} \left[ \frac{\sin(qx)}{(qx)} - \cos(qx) \right] \quad \dots\dots\dots (26)$$

Inclusion the corrections of the nucleon finite size  $f_{fs}(q)$  and the center of mass corrections  $f_{cm}(q)$  in the calculations requires multiplying the form factor of equation (23) by these corrections. Here,  $f_{fs}(q)$  is considered as free nucleon form factor and assumed to be the same for protons and neutrons. This correction takes the form [24] :

$$f_{fs}(q) = e^{\left(\frac{-0.43 q^2}{4}\right)} \quad \dots\dots\dots (27)$$

The correction  $f_{cm}(q)$  removes the spurious state arising from the motion of the center of mass when shell model wave function is used and given by [24] :

$$f_{cm}(q) = e^{\left(\frac{b^2 q^2}{4A}\right)} \quad \dots\dots\dots (28)$$

It is important to point out that all physical quantities studied in the frame work of the *CDFM* such as the *NMD* and form factors are expressed in terms of the weight function  $|f(x)|^2$ . In Refs [18,24], the weight function was obtained from the two parameter Fermi *NDD*,  $\rho_{2PF}(r)$ , extracted from the analysis of elastic electron-nuclei scattering experiments. In the present study , the weight function  $|f(x)|^2$  is obtained from theoretical consideration, using the derived *NDD* of eq. (2) in eq. (19), and given by:

$$|f(x)|^2 = \frac{8\pi x^4}{3Ab^2} \rho(x) - \frac{16x^4 e^{-x^2/b^2}}{3A\sqrt{\pi}b^5} \left[ \frac{(A-4-\alpha-3\alpha_1)}{3} + \frac{2\alpha_1}{3} \left(\frac{x}{b}\right)^2 + \frac{4(\alpha-\alpha_1)}{35} \left(\frac{x}{b}\right)^4 \right] \quad \dots\dots\dots (29)$$

In this study, the quadrupole form factors, which is important in  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  nuclei, is described by the undeformed p-shell model as [26]:

$$F_{C2}(q) = \frac{\langle r^2 \rangle}{Q} \left( \frac{4}{5P_J} \right)^{1/2} \int j_2(qr) \rho_{2ch}(r) r^2 dr \quad \dots\dots\dots (30)$$

where  $j_2(qr)$  is the spherical Bessel functions,  $Q$  is the quadrupole moment and considered as a free parameter to fit the theoretical form factors with the experimental data ,  $\rho_{2ch}(r)$  is the quadrupole charge density distributions assumed, according to the undeformed *p-shell* model, to be the same as that of ground state charge density distributions  $\rho_{ch}(r)$  and  $P_J$  is a quadrupole projection factor given by  $P_J = J(2J-1)/(J+1)(2J+3)$ , where  $J$  is the ground state angular momentum ( $J = \frac{3}{2}$  for  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  ).

## RESULTS AND DISCUSSION

In tables (1) and (2), we explore all parameters required by the calculations of the *NDD* and *CDD*.

The *NDD* of  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  nuclei is displayed in figure (1). The dash-dotted and solid distributions are the calculated *NDD*, using eq.

(2), with  $\alpha = \alpha_1 = \alpha_2 = 0$  and  $\alpha \neq \alpha_1 \neq \alpha_2 \neq 0$ , respectively. These distributions are compared with those of experimental data [3], denoted by the dotted symbols. It is clear that the dash-dotted distributions are in poor agreement with the experimental data, especially for small  $r$ . Considering the higher orbits  $2s_{1/2}$  and  $1f_{7/2}$  due to introducing the parameters  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  into the calculations leads to a good agreement with the experimental data as shown by the solid curves.

The  $n(k)$  of  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  nuclei is shown in figure (2). The dash-dotted distributions are the calculated *NMD* of eq. (11) obtained by the shell model calculation using the single particle harmonic oscillator wave functions in momentum representation. The dotted symbols and solid distributions are the *NMD* obtained by the *CDFM* of eq. (23) using the experimental and theoretical *NDD*, respectively. It is obvious that the behavior of the dash-dotted distributions obtained by the shell model calculations is in contrast with those of the dotted and solid distributions reproduced by the *CDFM*. The main feature of the dash-dotted distributions is the steep slope behavior when  $k$  increases. This behavior is in disagreement with other studies [13,16,19,20] and it is attributed to the fact that the ground state shell model wave function given in terms of a Slater determinant does not take into account the important effect of the short range dynamical correlation functions. Hence, the short-range repulsive features of the nucleon-nucleon forces are responsible for the high momentum behavior of the *NMD* [19,20]. It is seen that the general structure of the dotted and solid distributions at the region of high momentum components is almost the same for  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  nuclei, where these distributions have the feature of the long-tail behavior at momentum region  $k \geq 2 \text{ fm}^{-1}$ . The feature of the long-tail behavior obtained by the *CDFM* is related to the existence of high densities  $\rho_x(r)$  in the decomposition of eq. (17), though their weight functions  $|f(x)|^2$  are small.

The dependence of the  $F(q)$  on  $q$  (in  $\text{fm}^{-1}$ ) for  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  nuclei is shown in figure (3). The dashed and dash-dotted curves represent the contributions of the monopole form factors  $F_{C0}(q)$  and quadrupole form factors  $F_{C2}(q)$ , respectively, while the solid curves represent the total contribution  $F(q)$ , which is obtained as the sum of  $F_{C0}(q)$  and  $F_{C2}(q)$ . Here, the experimental data are represented by the symbols. In  ${}^7\text{Li}$  nucleus, the experimental data of Ref. [27] (triangles) and Ref. [7] (open circles) are described quite well after adding the contribution of the quadrupole form factors to the monopole form factors for all regions of momentum transfer as shown by the solid curve. In  ${}^9\text{Be}$  nucleus, the calculated  $F_{C0}(q)$  is not able to give a



satisfactory description with the experimental data of Ref. [28] (rhombs) and Ref. [29] (open circles) for the region of momentum transfer  $q > 1.5$ , but once the contribution of the  $F_{C2}(q)$  is added to the  $F_{C0}(q)$ , the obtained results for the form factors  $F(q)$  become in excellent agreement with the experimental data as shown by the solid curve. In  ${}^{11}\text{B}$  nucleus, the experimental data of Ref. [26] (open circles) are very well described by the calculated  $F_{C0}(q)$  up to momentum transfer  $q \approx 1.55 \text{ fm}^{-1}$ , whereas for  $q > 1.55 \text{ fm}^{-1}$  the calculated  $F_{C0}(q)$  underestimate these experimental data. It is very clear that the contribution of the  $F_{C2}(q)$  gives a strong modification to the  $F_{C0}(q)$  and bring the calculated values very close to the experimental data.

The *NMD* and elastic electron scattering form factors calculated by means of the *CDFM* are expressed in terms of the weight function  $|f(x)|^2$ . The weight function, which is related with the local density  $\rho(r)$ , is obtained from theory and experiment. The feature of the long-tail behavior of the *NMD* is reproduced by both of the theoretical and experimental weight functions and is related to the existence of high densities  $\rho_x(r)$  in the decomposition of eq. (17), though their weight functions are small. It is concluded that the contribution of the quadrupole form factors in  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  nuclei, which are described by the undeformed p-shell model, are essential in obtaining a remarkable agreement between the theoretical and experimental form factors. It is also concluded that the derived form of *NDD* of eq. (2) employed in the determination of theoretical weight function of eq. (29) is capable to reproduce information about the *NMD* and elastic form factors as do those of the experimental data.

Table-1: Experimental parameters to the *NDD* and *CDD* of 1p-shell nuclei

Nucleus	Parameters to the experimental <i>NDD</i> [5]			$\rho(0)$ ( $\text{fm}^{-3}$ ) [3]	$\rho_{ch}(0)$ ( $\text{fm}^{-3}$ ) [3]	$\langle r^2 \rangle_{\text{exp}}^{1/2}$ ( $\text{fm}$ ) [3]
	model	a ( $\text{fm}$ )	t ( $\text{fm}$ )			
${}^7\text{Li}$	HO	1.76	0.327	0.1546	0.075	2.36
${}^9\text{Be}$	HO	1.74	0.631	0.1575	0.076	2.46
${}^{11}\text{B}$	HO	1.703	0.811	0.1802	0.085	2.4

Table -2:Parameters to the *NDD* and *CDD* of 1p-shell nuclei

Nucleus	$b$ (fm)	Calculated parameters to the <i>NDD</i> of eq. (2)			Calculated parameters to the <i>CDD</i> of eq. (9)			$Q$ (e.fm <sup>2</sup> )
		$\alpha$	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\beta_1$	$\beta_2$	
<sup>7</sup> Li	1.69	0.128	0.105	0.023	0.1807	0.011	0.169	2.8
<sup>9</sup> Be	1.685	0.407	0.132	0.275	0.271	0.017	0.254	4
<sup>11</sup> B	1.62	0.41	0.179	0.231	0.241	0.0089	0.232	4.2

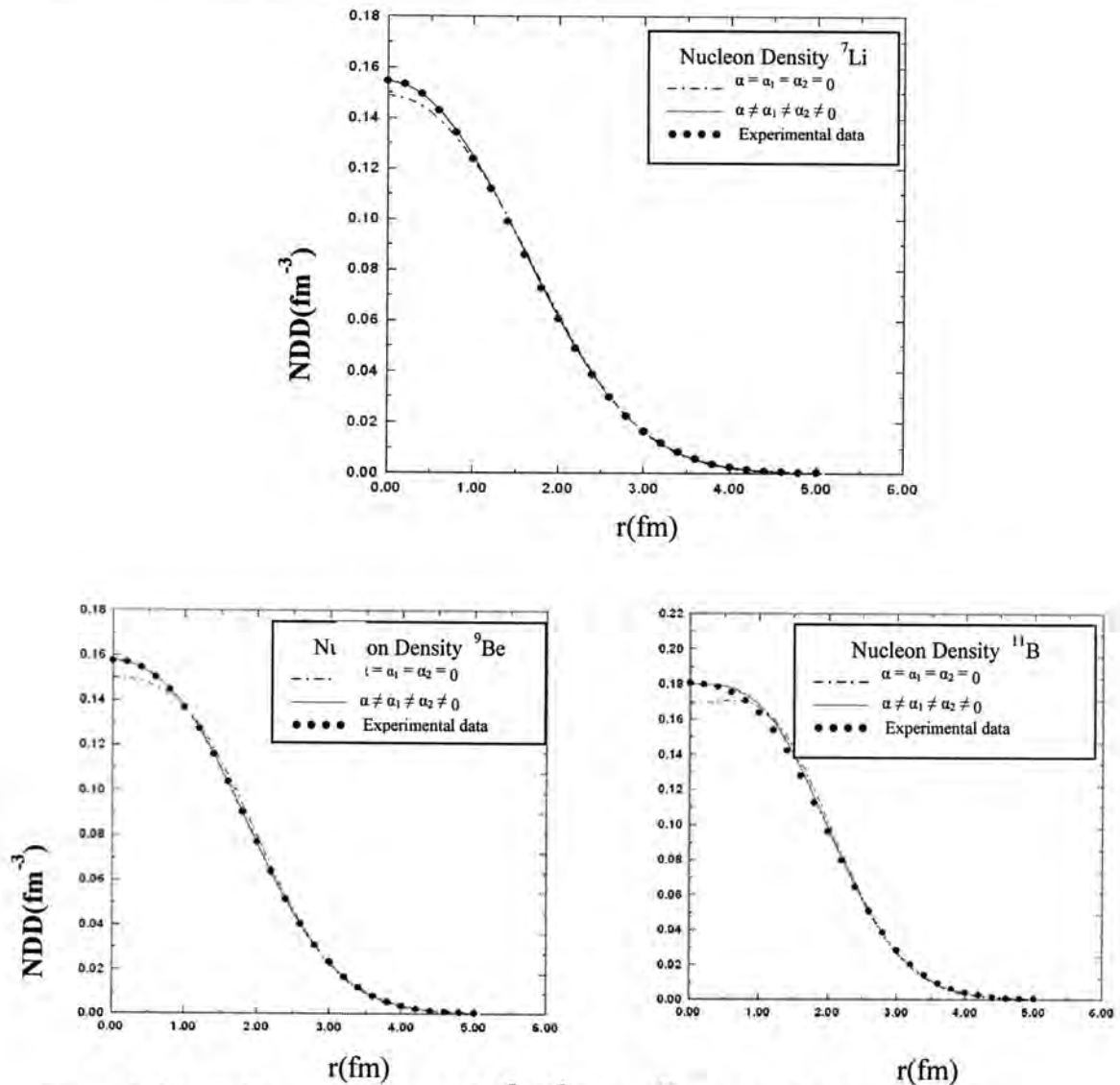


Figure-1: Dependence of *NDD* on  $r$  for <sup>7</sup>Li, <sup>9</sup>Be and <sup>11</sup>B nuclei. The dash-dotted and solid curves are the calculated *NDD* of eq. (2) when  $\alpha = \alpha_1 = \alpha_2 = 0$  and  $\alpha \neq \alpha_1 \neq \alpha_2 \neq 0$ , respectively. The dotted symbols are the experimental data of Ref. [3].

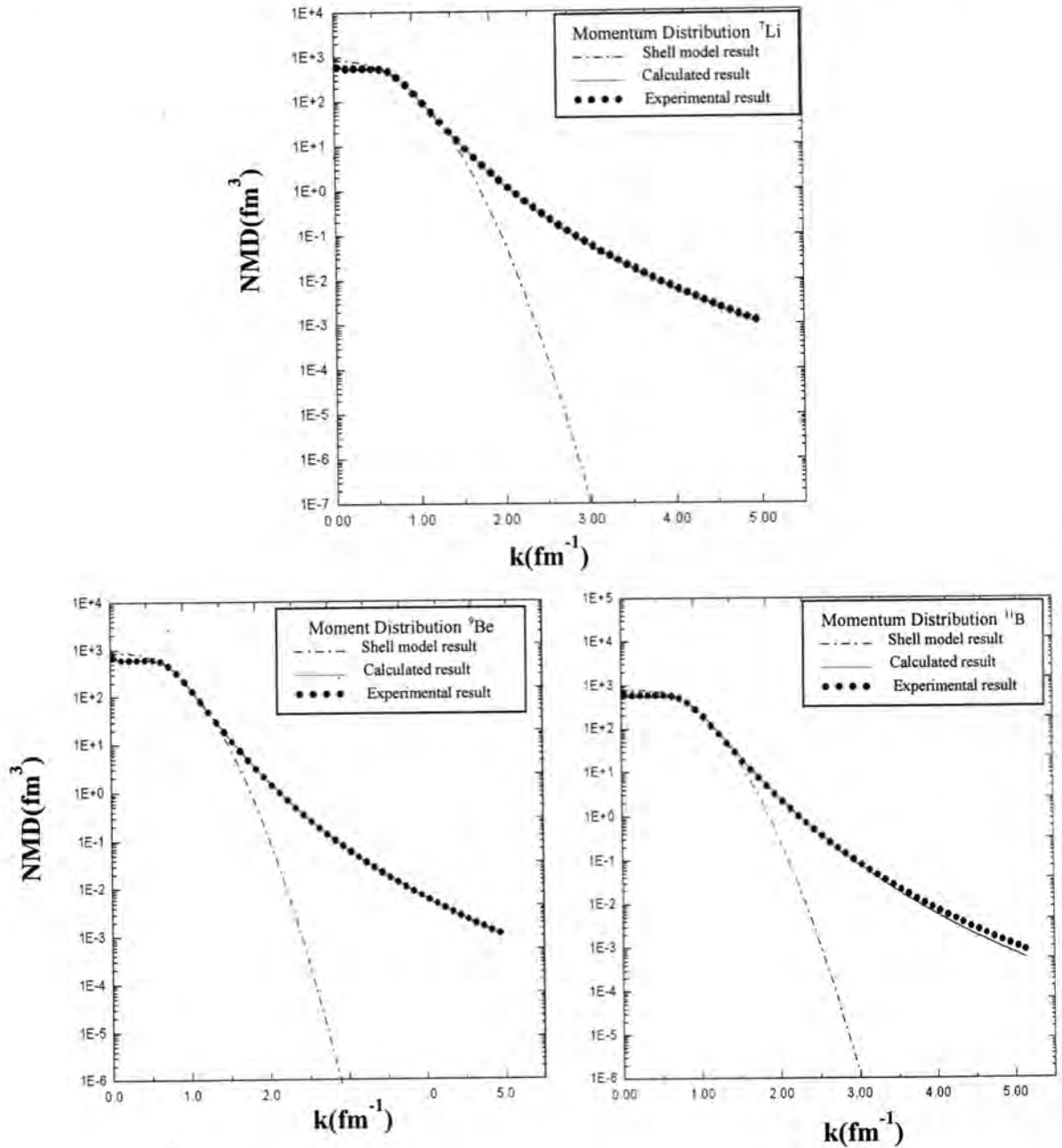


Figure -2: Dependence of  $NMD$  on  $k$  for  $^7\text{Li}$ ,  $^9\text{Be}$  and  $^{11}\text{B}$  nuclei. The solid curves and dotted symbols are the calculated  $NMD$  obtained in terms of the  $CDFM$  of eq. (23) using the theoretical  $NDD$  of eq. (2) and the experimental data [3], respectively. The dash-dotted curves are the calculated  $NMD$  of eq. (11) obtained by the shell model calculations using the single particle harmonic oscillator wave functions in momentum representation.



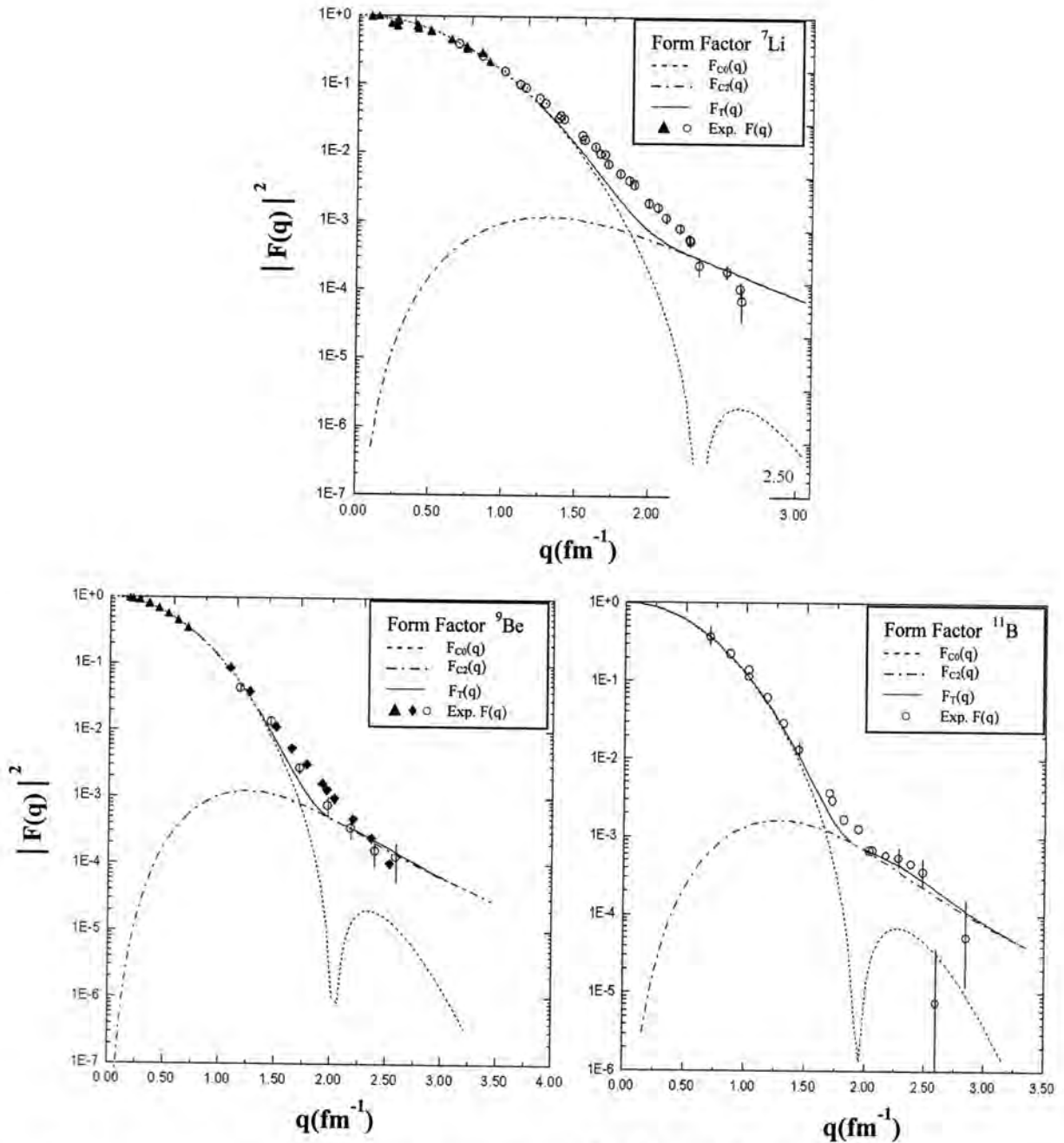


Figure -3: Dependence of the form factors on  $q$  for  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^9\text{Be}$  and  ${}^{11}\text{B}$  nuclei. The dashed and dash-dotted curves represent the contribution of the monopole form factors  $|F_{C0}(q)|^2$  and the quadrupole form factors  $|F_{C2}(q)|^2$ , respectively. The solid curves represent the total form factors of both contributions ( $|F_T(q)|^2 = |F_{C0}(q)|^2 + |F_{C2}(q)|^2$ ). The experimental data for  ${}^7\text{Li}$  are taken from Refs [7,27], for  ${}^9\text{Be}$  are taken from Refs [28,29,30] and for  ${}^{11}\text{B}$  are taken from Ref. [26].

## REFERENCES

1. I. Sick , ( Elastic electron scattering from light nuclei ), Prog. Part. Nucl. Phys., Vol.47, P.245 (2001).
2. X. Roca-Maza, M. Centelles, F. Salvat and X. Vinas , ( Theoretical study of elastic electron scattering off stable and exotic nuclei ), Phys. Rev. C, Vol.78, P.044332 (2008).
3. H. De Vries, C. W. De Jager and C. De Vries , ( Nuclear charge density distribution parameters from elastic electron scattering ), Atomic Data and Nuclear Data Tables, Vol.36, P.495 (1987).
4. I. Angeli , ( A consistent set of nuclear rms charge radii: properties of the radius surface  $R(N,Z)$  ), At. Data Nucl. Data Tables, Vol.87, P.185 (2004).
5. J. D. Walecka, " Electron scattering for nuclear and nucleon structure ", Cambridge University Press, United Kingdom, PP.10-15 (2004).
6. Y. Chu, Z. Ren, T. Dong and Z. W. Wang, ( Theoretical study of nuclear charge densities with elastic electron scattering ), Phys. Rev.C, Vol.79, P.044313 (2009).
7. L. R. Suelzle, M. R. Yearian and Hall Crannell,( Elastic electron scattering from  ${}^6\text{Li}$  and  ${}^7\text{Li}$  ), Phys. Rev., Vol.162, P.992 (1967).
8. R. Anni, G. Co', P.Pellegrino ,(Nuclear charge density distributions from elastic electron scattering data), Nucl. Phys.A, Vol.584, P.35 (1995).
9. R. B. Wiringa and R. Schiavilla, ( Microscopic calculation of  ${}^6\text{Li}$  elastic and transition form factors ), Phys. Rev. Lett., Vol.81, P. 4317 (1998).
10. E. Cravo, ( Three-body calculation of  ${}^9\text{Be}$  electromagnetic observables ), Phys. Rev.C, Vol.54, P.523 (1996).
11. Z. Wang and Z. Ren, ( Systematic study of charge form factors of elastic electron-scattering with the relativistic eikonal approximation ), Phys. Rev.C, Vol.71, P.054323 (2005).
12. A. N. Antonov, D. N. Kadrev, M. K. Gaidarov, E. Moya de Guerra, P. Sarriguren, J. M. Udias, V. K. Lukyanov, E. V. Zemlyanaya and G. Z. Krumova, ( Charge and matter distributions and form factors of light, medium, and heavy neutron-rich nuclei ), Phys. Rev.C, Vol.72, P.044307 (2005).
13. M. Dal Ri, S. Stringari and O. Bohigas, ( Effect of short range correlations on one- and two-body properties of nuclei ), Nucl. Phys.A, Vol.376, P.81 (1982).

- 14.M. V. Stoitsov, A. N. Antonov and S. S. Dimitrova, (Natural orbital representation in nuclei), Phys. Rev.C, Vol.47, P.R455 (1993).
- 15.F. Arias de Saavedra, G. Co' and M. M. Renis, (Effects of state dependent correlations on nucleon density and momentum distributions), Phys. Rev.C, Vol.55, P.673 (1997).
- 16.A. N. Antonov, P. E. Hodgson and I. Zh. Petkov , " Nucleon Momentum and Density Distributions in Nuclei " , Clarendon Press, Oxford, PP.92-107 (1988).
- 17.S. Frankel, W. Frati, O. Van Dyck, R. Werbeck and V.Highland ,(Inclusive cross sections for  $180^\circ$  production of high-energy protons, deuterons, and tritons in p-nucleus collisions at 600 and 800 Mev ), Phys. Rev. Lett., Vol.36, P.642 (1976).
- 18.V. I. Komarov, G. E. Kosarev, H.Muler, D. Netzbund and T.stiehler ,(Inclusive spectra and the angular distribution of protons emitted backwards in the interaction of 640 Mev protons with nuclei), Phys. Lett.B, Vol.69, P.37 (1977).
- 19.Ch. C. Moustakidis and S. E. Massen, (One-body density matrix and momentum distribution in s-p and s-d shell nuclei), Phys. Rev.C, Vol.62, P.034318 (2000).
- 20.M. Traini and G. orlandini, ( Nucleon momentum distributions in doubly closed shell nuclei ), Zeitschrift fur Physik A, Vol.321, P.479 (1985).
- 21.M. Dal Ri, S. Stringarl and O. Bohigas, ( Effects of short range correlations on one- and two-body properties of nuclei ), Nucl. Phys. A, Vol.376, P.81 (1982).
- 22.A.N.Antonov, V.A. Nikolaev and I.Zh. Petkov, (Nucleon momentum and density distribution of nuclei), Zeitschrift fur Physik. A, Vol.297, P.257 (1980).
- 23.A. N. Antonov, P. E. Hodgson and I. Zh. Petkov , " Nucleon Correlations in Nuclei ", Springer - Verlag, Berlin – Heidelberg - New York, PP.65-95 (1993).
- 24.A. K. Hamoudi, R. A. Radhi and K. N. Flaih, (Inelastic longitudinal electron scattering form factors for the low mass 2s-1d shell nuclei), Proceeding of 3<sup>rd</sup> Scientific Conference of College of Science, University of Baghdad, P.2066 (2009).
- 25.A. R. Ridha , ( Elastic electron scattering form factors and nuclear momentum distributions in closed and open shell nuclei ), M. SC. Thesis, University of Baghdad 2006.
- 26.T. Stovall, J. Goldemberg and D. B. Isabelle ,( Coulomb form factors of  $^{10}\text{B}$  and  $^{11}\text{B}$  ), Nucl. Phys., Vol.86, P.225 (1966).

27. F. A. Bumiller, F. R. Buskirk, J. N. Dyer and W. A. Monson, (Elastic electron scattering from  ${}^6\text{Li}$  and  ${}^7\text{Li}$  at low momentum transfer ), Phys. Rev. C, Vol.5, P.391 (1972).
28. J. P. Glickman, W. Bertozzi, T. N. Buti, S. Dixit, F. W. Hersman, C. E. Hyde-Wright, M. V. Hynes, R. W. Lourie, B. E. Norum, J. J. Kelly, B. L. Berman and D. J. Millener, ( Electron scattering from  ${}^9\text{Be}$  ), Phys. Rev. C, Vol.43, P.1740 (1991).
29. M. Bernheim, T. Stovall and D. Vinciguerra, ( Electron scattering from  ${}^9\text{Be}$  ), Nucl. Phys. A, Vol.97, P.488 (1967).
30. J. A. Jansen, R. Th. Peerdeman and C. De Vries, ( Nuclear charge radii of  ${}^{12}\text{C}$  and  ${}^9\text{Be}$  ), Nucl. Phys. A, Vol.188, P.337 (1972).



## Nonlinear Effective Thickness Determination Probed by Z-Scan Technique

Ali J. Mohammad<sup>1</sup>, Adawiya J. Haider<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Physics, College of Science, Al-Mustansiriya University

<sup>2</sup> School of Applied Sciences, University of Technology

Received 12/3/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

في بحثنا هذا نبين النتائج العملية التي تم التوصل إليها في مجال الخصائص البصرية اللاخطية والتي تتضمن امتصاص فوتونين (TPA)، والانحراف الحاصل للطول الموجي الناتج عن التغير اللاخطي لمعامل الانكسار لمادة شبه موصلة ذات فجوة طاقة عالية نسبياً. تم ترسيب غشاء أوكسيد الزنك (ZnO) بطريقة الرش الكيميائي الحراري على قاعدة زجاجية، وبتابع تقنية المسح المعتمدة على الموقع (Z-scan) ذو الفتحة المغلقة والمفتوحة وبتوظيف ليزر نيوديميوم – ياك بطاقة نبضة مقدارها (400 mJ) وبأمد مقداره (7 ns) وبتكرار دوري مقداره (10Hz) بتوليد التوافق الثاني (SHG) تمت دراسة الخصائص اللاخطية لهذا الغشاء. النتائج بينت أن كل من النفاذية من القمة إلى القعر وشكل المنحني الناتج ينحرفان بسبب عدم تجانس السمك وعدم انتظام التصرف اللاخطي للغشاء، أن مقدار المسافة من القمة إلى القعر كانت تساوي (4.306  $Z_0$ )، (2.153  $Z_0$ ) لكل من الفتحة المغلقة والمفتوحة على التوالي.

### ABSTRACT

We present experimental and a theoretical study on the Z-scan characteristics of the nonlinear optical thin films with simultaneous. Two-photon absorption (TPA) employing SHG pulsed Nd:YAG laser with pumping energy 400mJ. The ZnO thin films prepared by Spray pyrolysis, with different concentrations. The absorption ZnO thin films are a two-photon absorption process is confirmed by the peak-to-valley distance. In transmittances curve is around (4.306 $Z_0$ ) for closed aperture and (2.153 $Z_0$ ) for open aperture.

**Keywords:** Z-scan, Nonlinear properties, TCO thin films, Spray pyrolysis

### INTRODUCTION

Zinc oxide (ZnO) has gained increasing interest in the semiconductor research community because of its large band gap (3.37eV) and large exciton binding energy (60meV) [1], which account for the potential applications in optoelectronic devices [2]. It has some advantages over other possible materials such as  $\text{In}_2\text{O}_3$ , or  $\text{SnO}_2$  due to its unique combination of interesting properties: non-toxicity, good electrical, optical and piezoelectric behavior [3]. It has good electrical and optical properties, in combination with their large bandgap, abundance in nature and absence of toxicity [4]. The properties exhibited by ZnO thin films depend on the non-stoichiometry of the films, resulting from the presence of oxygen vacancies and interstitial zinc [5]. It can be widely used in various applications such as light-emitting diodes (LEDs), flat-panel displays, and solar cells [6].

ZnO is a low cost and abundant material and with a band gap of 3.3eV it shows an excellent transparency for the entire visible spectrum. Low resistivity and highly transparent layers have been deposited with a

variety of deposition methods such as metal organic chemical vapor deposition [7], laser ablation [8], spray pyrolysis [9], atomic layer deposition (ALD) [10], and sputtering [11].

As a wide direct band gap of ZnO thin films, it can be developed into ultraviolet-blue emitters and detectors [12], ZnO thick films have a large nonlinear second harmonic generation (SHG), thick polycrystalline films have larger value of susceptibility  $\chi^2$  than the bulk single crystal ZnO [13].

In this work, we report to prepare ZnO thin films by Spray pyrolysis technique and to study two photon absorption (TPA) and nonlinear refractive index. We discuss the origin of these nonlinear optic effects and applications in nonlinear optical limiting as optical limiter.

## MATERIALS AND METHODS

### a. Sample preparation

The ZnO films were prepared by using an aqueous solution of zinc chloride ( $\text{ZnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) with different molarities. The aqueous solution was diluted in distilled water and mixed by a magnetic stirrer, and in each deposition the volume used was (50ml). The ZnO thin films were deposited by spray pyrolysis technique using home made equipment. The deposition method involves the decomposition of an aqueous solution of zinc chloride, the spray solution of different molarities were sprayed on to heated substrates held at  $(623 \pm 5\text{K})$ , compressed air was used as a gas carrier and it was fed with the solution into a spray nozzle at a pre-adjusted constant atomization pressure.

The nozzle-to-substrate distance was 25cm and the spraying period was 5s with flow rate as 3ml/min. Aluminum electrodes were evaporated on the surface of ZnO thin films using thermal evaporation equipment through a mask giving sensitive area  $0.5 \times 0.5 \text{cm}^2$ .

### b. Z-scan setup

Measurements for both TPA and the nonlinear refractive index were conducted on single-beam Z-scan technique. A schematic diagram of the experimental setup is shown in Fig. (1). The laser source is a Q-switch second harmonic generation SHG Nd:YAG laser (Coherent MIRA 900-F). Laser pulses are 7ns wide, repetition rate is 10Hz, and energy out put is about 1J. Closed-aperture and open-aperture detectors are two identical. In close similarity to the scheme reported by Falconieri and Salvetti [14], both energies of the transmitted beam and reference beams, and their ratio were simultaneously measured by an energy ratio meter.

Thin film samples are held translation stage that moved the sample along the z-axis with respect to the focus of the lens. When measuring

the nonlinear refraction, a pinhole was placed in front of the transmission detector. The beam waist on the sample at the focal position is  $w_0=28\mu\text{m}$ . All the experiments reported here have been performed at wavelength of  $1.06\mu\text{m}$ . This setup allows us to measure the transmittance of both closed and open aperture for each position  $z$  of the sample.

## RESULTS AND DISCUSSION

Z-scan result on ZnO film with open-aperture ( $S=1$ ) was shown in Fig. (2), measured at a wavelength  $1.06\mu\text{m}$  with pump energy  $\sim 40\text{mJ}$ , where curve is symmetric with respect to the focus point ( $Z=0$ ) and a minimum transmittance (valley) shows a strong nonlinear absorption at  $1.064\mu\text{m}$ . There are two kinds of nonlinear absorption: free carrier absorption and nonlinear multi-photon absorption.

The linear transmittance of the far-field aperture, defined as the ratio of the pulse energy passing the aperture to the total pulse energy, while the transmittance of the nonlinear was measured to be a function of the sample position ( $z$ ).

In Fig. (3), we report the normalized traces of the closed aperture transmittance curve for a ZnO sample. In fact the absorption in ZnO thin film is a two-photon absorption process is confirmed by the peak-to-valley distance, in our transmittance curve is around  $4.306Z_0$  for closed aperture and  $2.153Z_0$  for open aperture.

The thermal characteristic time  $t_c$  defined as the relation:

$$t_c = \frac{\omega_0^2 \rho c_p}{4k} \dots\dots\dots(1)$$

where  $\omega_0$  is the laser beam radius around  $28\mu\text{m}$ ,  $\rho$  is the density ( $5.67\text{g/cm}^3$ ),  $c_p$  is the specific heat ( $9.6 \text{ cal.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ) and  $k$  is thermal conductivity ( $0.54 \text{ W.cm}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ).

We estimated  $t_c \sim 1.9\mu\text{s}$ , the period of laser pulses  $10\text{Hz}$  is about  $t=100\text{ms}$ . Therefore, the thermal-optical nonlinearity can be eliminated ( $t > t_c$ ). The time-dependent normalized transmittance can be expressed as [15]:

$$\frac{I}{I_0} = 1 + \left( \frac{v_{(q)}}{q} \right) \left( \frac{1}{(1 + \zeta^2)^{q-1}} \right) \tan^{-1} \left[ \frac{2q\zeta}{(2q+1)^2 + \zeta^2} \left( \frac{t_c}{t} \right) \left( \frac{1}{2qt} \right) + 2q + 1 + \zeta^2 \right] \dots\dots(2)$$

where  $q$  is the order of the multi-photon process leading to the heating effect,  $\zeta = z/z_0$  is the normalized coordinate position,  $z_0$  is the Rayleigh range of the laser beam

$$z_0 = \frac{k\omega_0^2}{2} \dots\dots\dots(3)$$

and  $v_{(q)}$  is the thermal lens strength

Here  $t/t_c \gg 10$ , then the relation (2) can be re-expressed as the time-independent relation as:

$$T = 1 + \left( \frac{v_{(q)}}{q} \right) \left( \frac{1}{(1 + \zeta^2)^{q-1}} \right) \tan^{-1} \left[ \frac{2q\zeta}{2q + 1 + \zeta^2} \right] \dots\dots\dots(4)$$

By fitting the experimental data of Fig. (3) to Eq. (4), we obtain the fitting parameters ( $q=2.01$ ) and ( $v_{(q)}=0.95$ ), from these values especially  $q$  around 2, then the Two Photon Absorption (TPA-induced thermal nonlinearity) is dominant then the sample excitation will occur at energy just below the band gap, the nonlinear absorption coefficient ( $\beta$ ) is related to thermal lens strength ( $v$ ) by [15]

$$\beta = \frac{v \lambda k \pi \omega_0^2}{2 p^2 d_c L} \left( \frac{1}{\frac{dn}{dT}} \right) \dots\dots\dots(5)$$

where  $p$  is the laser power,  $d_c$  is the laser duty cycle,  $L$  is the sample thickness and  $(dn/dT)$  is thermal-optical coefficient of ZnO crystal equal to  $0.7 \times 10^{-4} \text{K}^{-1}$ , the value of  $\beta$  can be deduced, We have obtained ( $\beta=585 \text{cm/GW}$ ), this value is closed to the one found in the open aperture method by Ganeev [16].

Figures (4) and (5) show the effective length of open and closed aperture z-scan respectively using the formula [17]:

$$L_{eff} = \frac{1 - e^{-\alpha L}}{\alpha} \dots\dots\dots(6)$$

where  $\alpha$  is the linear absorption coefficient and  $L$  is the thickness of sample . These figures describe the sample imperfection-induced nonlinear effects .

In conclusion , it was found that the optical distortions of each the open and closed z-scan are due to the nonuniform sample thickness . Then the z-scan is more suitable method to determine the nonuniform thickness , nonlinearity inhomogeneities , and curved surfaces of nonlinear materials . It is a practical choice for second- order nonlinear susceptibility , but it is not for higher orders .



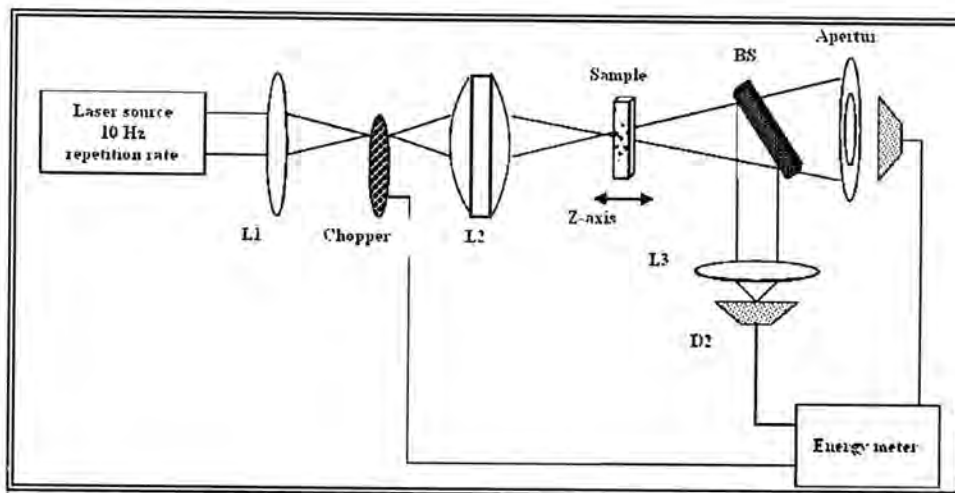


Fig. -1 : Z-scan set-up, L1, L2 and L3 are lenses, BS is a beam splitter, D1 and D2 are photo detectors

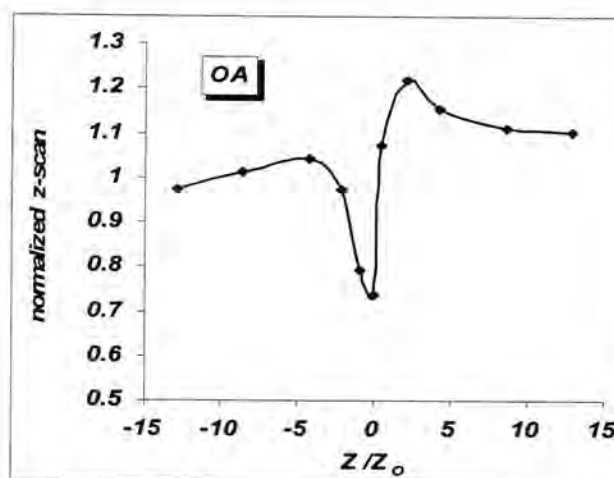


Fig.-2 : The open aperture z-scan

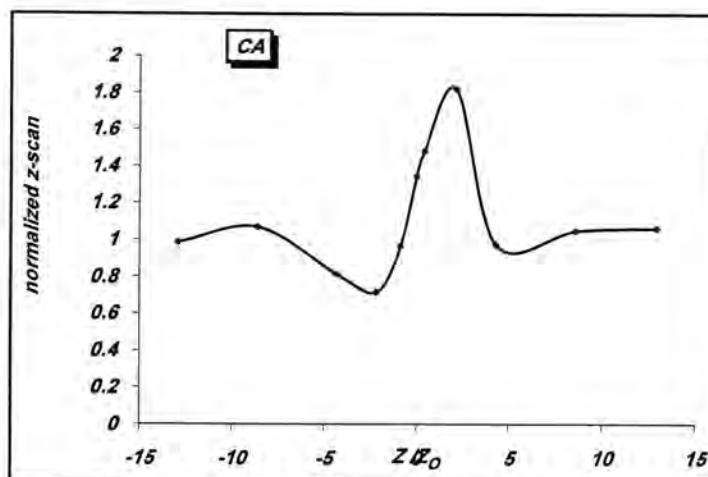


Fig. -3 : The closed aperture z-scan

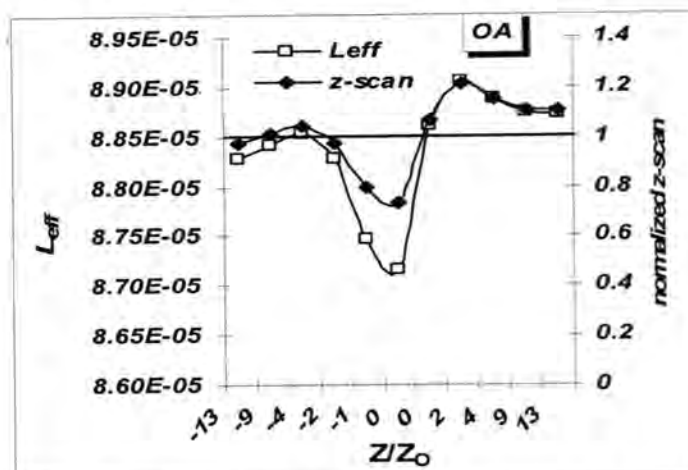


Fig. -4 : The effective length of open aperture z-scan

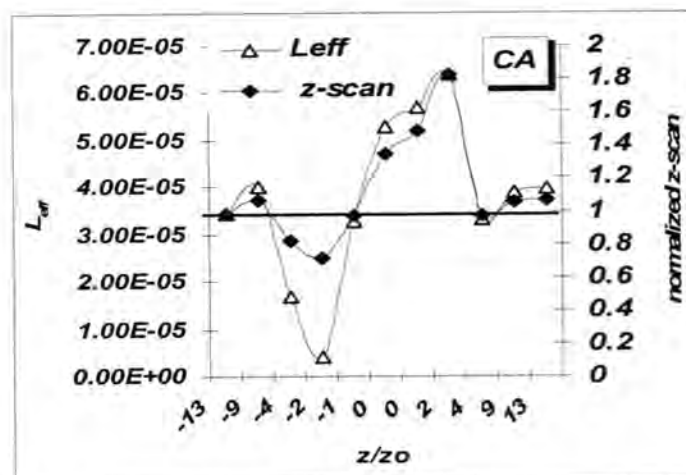


Fig. -5 : The effective length of closed aperture z-scan

## REFERENCES

1. Jun H. , Yingli Q. , Heping L. , Jun M. , and Wei J. , " Three – Photon Absorption in ZnO and ZnS Crystals " , OPTICS EXPRESS , 13 , 23 , (2005).
2. Khan A. , Vladimir A. , and Alexander A. , " Origin of the Optical Phonon Frequency Shift " Appl. Phys. Lett. , 86 , 53103 , (2005) .
3. Seeber W. T. , Abou-Helal M. O. , Barth S. , Beil D. , Höche T. , Afify H. H. , and Demian S. E. , " Transparent Semiconducting ZnO:Al Thin Films Prepared by Spray Pyrolysis " , Mater. Sci. Semic. Proc., 2 , 45 -55 , (1999) .

4. Jeong S. H. , Lee J. W. , Lee S. B. , and Boo J. H. , " Optical and Electrical Properties of Al Doped ZnO Films Prepared by RF Magnetron Sputtering " , Thin Solid Films, 435 , 78 , (2003) .
5. Minami T. , Sato H. , Nanto H. , and Takata S. , " Optical Properties of Aluminium Doped Zinc Oxide Thin Films Prepared by RF Magnetron Sputtering " , Jpn. Appl. Phys. , 24 , 8 , L605 , (1985)
6. Li X. , Yan Y. , Gessert T. A. , DeHart C. , Perkins C. L. , Young D. , and Coutts T. J. , " P-Type ZnO Thin Films Formed by CVD Reaction of Diethylzinc and NO Gas " , Electrochem. Solid Stat. Lett., 6 , 4 , C 56 , (2003) .
7. Robbins J. , Harvey J. , Leaf J. , Fry C. , and Wolden C. , " Transport Phenomena in High Performance Nanocrystalline ZnO:Ga Films Deposited by Plasma - enhanced Chemical Vapor Deposition " , Thin Solid Films , 473 , 35 , (2005) .
8. Christoulakis S. , Suche M. , Katharakis M. , Katsarakis N. , Koudoumas E. , and Kiriakidis G. , " ZnO Nanostructured Transparent Thin Films by PLD " , Rev. Adv. Mater. , 10 , 331 , (2005) .
9. Benny J. , Manoj P. , and Vaidyan V. , " Studies on Preparation and Characterization of Indium Doped Zinc Oxide Films by Chemical Spray Pyrolysis " , Bull. Mater. Sci. , 28 , 5 , 48 , (2005) .
10. Schuisky M. , Elam J. W. , and George S. M. , " In Situ Resistivity Measurements During the Atomic Layer Deposition of ZnO and W Thin Films " , Appl. Phys. Lett. , 81 , 180 , (2002) .
11. Sundaram K. B. , and Khan A. , " Characterization and Optimization of Zinc Oxide Films by RF Magnetron Sputtering " , Thin Solid Films , 295 , 887 , (1997) .
12. Ozgur U. , Alivov Y. , Liu C. , Teke A. , Reshchikov M. , Dogan S. , Avrutin V. , Cho S. , and Morkoe H. , " A Comprehensive Review of ZnO Materials and Devices " , J. Appl. Phys. , 98 , 41301 , (2005) .
13. Lin J. H. , Chen Y. J. , Lin H. Y. , and Hsich W. F. , " Two – Photon Resonance Assisted Huge Nonlinear Refraction and Absorption in ZnO Thin Films " , J. Appl. Phys. , 97 , 33526 , 1 , (2005) .
14. Falconieri M. , and Salvitti G. , " Simultaneous Measurement of Pure Optical and Thermo Optical Nonlinearities Induced by High –

- Repitition – Rate Femtosecond Laser Pulses Application to  $\text{CS}_2$  " ,  
Appl. Phys. B, 69 , 133 , (1999) 3.
15. Falconieri M. , " Thermo-Optical Effect in Z-Scan Measurement  
Using High - Repitition – Rate LASERS " , J. Opt. A. Pure Appl.  
Opt., 1 , 662 , (1999) .
16. Yang Q. , Seo J. T. , Creekmore S. , and Temple D. , " Distortions in  
Z-Scan Spectroscopy " , Appl. Phys. Lett., 82 , 1 , 19 , (2003) .
17. Ganeev R. A. , Rysnyasky A. I. , Baba M. , Suzuki M. , Ishizawa N.  
, Turu M. , Sakakibara S. , and Kuroda H. , " Nonlinear Refraction in  
 $\text{CS}_2$  " , Appl. Phys. , B78 , 433 , (2004) .



## Two Phase Flow Pressure Drop in a Horizontal Pipe

Ali A. Abaas

Affairs Contracts Department, The University of Mustansiriya

Received 27/9/2009 – Accepted 22/3/2010

[triplea71@yahoo.com](mailto:triplea71@yahoo.com)

### الخلاصة

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم العلاقات الرياضية المخمنة لعملية انخفاض الضغط للجريان ثنائي الطور في انابيب النقل الافقية بقطر داخلي (78) ملم باستخدام خليط من الهواء والماء بضغط قريب من الضغط الجوي والمعطيات التجريبية ممثلة بانخفاض الضغط الاحتكاكي (انحدار الضغط) كانت متمثلة كانخفاض ضغوط احتكاكية في شكل مضاعفات ثنائي الطور الاحتكاكي  $\phi_{fo}^2$  حيث تمت المقارنة مع العلاقات Lockhart and Martinelli, Chenoweth-Martin ونظرية الجريان المتجانس و ان النموذج المتجانس كان هو الافضل.

### ABSTRACT

The purpose of this study is to evaluate the correlations prediction for two phase flow pressure drops in a horizontal transparent pipe of (78 mm) nominal diameter by using air-water mixtures at a pressure close to atmospheric. The experimental data of friction pressure drop (pressure gradient) were presented as friction pressure drops in the form of two phase friction multipliers  $\phi_{fo}^2$  where compared with the correlations of Lockhart and Martinelli, Chenoweth-Martin and homogeneous flow theory. The homogeneous model was the best.

### INTRODUCTION

In designing two-phase flow system, the problem is to predict the relationship between pressure drop, fluid properties, flow rates, pipe diameter and pipe length. The two-phase pressure drop can be predicted on the basis of either homogeneous flow or separated flow. In homogeneous flow, the two phases are considered to be intimately mixed with no relative motion between them, either locally or overall. The separated flow model, on the other hand, recognizes that the two-phases can exist separately and can have different velocities.(i.e. slip can exist between the phases ). The two-phase mixture in homogeneous model is considered as quasi-single phase flow using mean mixture property values. The mean deficiency of this model is that it does not allow for relative movement between the phases (slip) and hence should only be used for well-mixed flows. It might reasonably be expected that this model will be valid for bubble flow or spray flow under certain conditions-particularly at high pressure and high mass flow rates. The assumption upon which it is based are[1]:

- (a) Equal gas (or vapor) and liquid velocity.
- (b) Thermodynamic equilibrium between phases.

- (c) The use of a suitably defined single-phase friction factor for two-phase flow.

The correlation developed by Lockhart and Martinelli was based on experimental two-phase pressure drop data taken in small diameter pipes at pressure up to (344.75 kpa.). Chenoweth and Martin [2] correlated these data as well as data of their own taken in pipes to (78mm) and pressure up to (689.5 kpa.). Both correlations were agreed reasonably to each other at low-pressure data, but at high pressure there was a deviation in some cases up to (25%)[3].

Duckler et al [4] presented a critical comparison of the correlations of Baker bank off, Chenoweth and Martin, Lockhart-Martinelli, and Yagi prediction by these methods. The result of their study leads Duckler et al to propose a correlation for two-phase friction pressure drop based on similarity analysis by using data bank consisting of short tube laboratory and long tube oil field data in their work. More than (20,000) experimental measurements have been taken.

Beggs and Brill[5] studied a wide range of conditions, and developed general correlations to predict, flow pattern, void fraction and pressure drop, through horizontal, vertical and inclined pipes. Pressure drop have been developed over pipelines operating data at low liquid-gas ratios. The use of a suitably defined single-phase friction factor for two-phase flow.

Baroczy correlation is based on data for steam, water-air and mercury-nitrogen for a wide range, in this correlation the pressure parameter was made more general by defining it as the liquid to gas viscosity and density ratio [6].

Chisholm presented a correlation, which allowed for mass flow effects and dispensed with graphical procedures. He shows the equation for predicting gradients during two-phase flow [7].

Khalid Aziz et al. [8] used different interfacial friction factor correlations to predict the liquid holdup and pressure gradient and compared them with experimental observations. The comparison results show that: (a) most existing correlations can lead to large deviations from measurements; (b) among available correlations, the Andritsos & Hanratty correlation, the modified Andreussi & Persen correlation, as well as the Hanratty & Andritsos correlation, are the best choices to determine the interfacial friction factor for stratified flow.

A new correlation for two-phase flow pressure drop in 180° return bends is proposed based on a total of 241 experimental data points for R-22 and R-410A. The data span smooth tubes with inner diameters (D) from 3.25 mm to 11.63 mm, bend radii (R) from 6.35 mm to 37.25 mm, and curvature ratios (2R/D) from 2.32 to 8.15. The

correlation predicts all data with a mean deviation of 15.7 %, and 75 % of the data fall within  $\pm 25$  % error bands [9]. .

Bhramara [10] study analysis of two phase flow of refrigerants inside a horizontal tube of inner diameter, 0.0085 m and 1.2 m length is carried out using (homogeneous model, Gronnerud Correlation, Friedel Correlation, Lockhart – Martinelli Correlation, Chisholm Correlation and Muller – Steinhagen and Heck Correlation) under adiabatic conditions. The refrigerants considered were R22, R134a and R407C. The analysis was performed at different saturation temperatures and at different flow rates to evaluate the local frictional pressure drop. For all the refrigerants, the pressure drop is evaluated using the different models of kinematic viscosity at saturation temperatures of 400C, 500C and 600C. The variation of pressure drop obtained using different models of  $\mu$ . The frictional pressure drop predictions based on separated flow model are considered for comparison as the CFD analysis is performed based on the special case of separated flow model.

Carlson et al. [11] studied multiphase dynamics and its characteristics for two-phase gas-liquid flow have been investigated by means of advanced numerical simulations. A comprehensive comparison of two state-of-the-art Computational Multi-Fluid Dynamics (CMFD) codes, Fluent and TransAT, have been performed. The two commonly used methods for two-phase flow simulations, namely Volume of Fluid implemented in Fluent and Level Set implemented in TransAT, could be compared as a result. Significant differences were observed between the two flow topologies predicted by the two codes. For the bubbly flow case, a recirculating flow was predicted inside the bubbles by TransAT, meanwhile no significant recirculation was observed in the solution with Fluent. For the slug flow case a significant deviation was observed between the results from Fluent and TransAT on the slug formation and frequency.

Christophe Vallée et al. [12] stratified two-phase flow, two horizontal channels with rectangular cross section were built. The channels were allowed of air/water co-current flows, especially the slug behaviour, at atmospheric pressure and room temperature. The test-sections are made of acrylic glass, so that optical techniques, like high-speed video observation or particle image velocimetry was applied for measurements. CFD post test simulations of stratified flows were performed using the code ANSYS. The Euler-Euler two fluid model with the free surface option was applied. The turbulence was modelled separately for each phase using the  $k-\omega$  based shear stress transport (SST) turbulence model. The results were compared very well in terms of slug formation, velocity, and breaking. The qualitative agreement

between calculation and experiment was encouraging and showed that CFD can be a useful tool in studying horizontal two-phase flow.

Gergely Kristóf et al. [13] presented the numerical model of a large evaporator used in the nuclear industry. The steam generator of the VVER-440 type nuclear reactors in Paks, Hungary. The physical processes were modeled include boiling heat transfer, bubbly flow through tube bundles, boiling and recondensation, gravity-driven flow, formation of free surface. The physical models were implemented using userdefined

functions by the ANSYS-FLUENT computational fluid dynamics software. Results for the flow field and for the settlement of suspended contaminants are presented.

### Theory

The single phase friction factor ( $\lambda$ ) can be expressed in the form of  $\lambda = k \text{Re}^{-n}$

The values of (k) and (n) were defined by [1] as (0.52) and (0.28) respectively. These quantities are necessary in some of the correlations considered

#### 1. Homogeneous Flow Models[14] :

$$\phi_{fo}^2 = \left[ x \frac{v_g}{v_f} + (1-x) \right] \left[ \beta \frac{\mu_g}{\mu_f} + (1-\beta) \right]^n \dots\dots\dots(1)$$

#### 2. Lockhart-Martinelli[15] :

Values of  $\phi_f^2$  to a base of (X) are presented by Martinelli as shown in table (1). Here the parameter (X) was defined in the following equation:

$$X^2 = \frac{\lambda_f (1-x)^2 G^2}{2d \rho_f} * \frac{2d \rho_g}{\lambda_g x^2 G^2} \dots\dots\dots(2a)$$

and

$$\phi_{fo}^2 = \phi_f^2 (1-x)^{2-n} \dots\dots\dots(2b)$$

#### 3. Chenoweth-Martin[16] :

Values of  $\phi_{fo}^2$  can be obtained from table (2) from known values of  $(1-\beta)$  and a parameter Z where[2]

$$Z = \frac{\rho_f}{\rho_g} \left[ \frac{\mu_g}{\mu_f} \right]^n \dots\dots\dots(3)$$



## RESULTS AND DISCUSSION

Comparison of  $\phi_{jo}^2$  values obtained from experimental work with those predicted by the three correlations was done. The relative measures of performance are measured statistically in terms of RMS (Root Main Square) error and AVE (Average) error of which the former are the more meaningful values in terms of accuracy of prediction. The average errors can often give good agreement due to the canceling of positive and negative prediction errors, but they do give an indication of general over prediction or under prediction. The RMS error values indicate that for homogeneous model gave a RMS error value of 61.4% which gives the best agreement with the experimental data.

Lockhart-Martinelli correlation and Chenoweth-Martin correlation have RMS errors well less 100% such as 96.193 % and 99.768 % respectively. There is also a variety of over prediction and under prediction suggesting that deficiencies exist in the correlations and not in the experimental data. RMS error and AVE error percentage values for each of the correlations were deduced and it confirms the comment that most of data presented in the literature on two phase flow are for pipes less than 50mm in diameter, and thus necessitated considerable extrapolation to the sizes of tubes and ducts normally encountered in industrial applications.

The homogeneous model (65.7238%) gives best agreement with the experimental. It is worth noting that:

None of the correlations gives overall prediction to RMS errors less than (60 %) over the data range.

2. Some of the correlations have very high RMS errors associated with predictions.
3. The best performance correlations tend to be under predicting the two-phase pressure gradient and the poor performance correlations that tend to be over predicted.
4. In general, the flow pattern has some effect on accuracy of prediction.

Table -1: Lockhart-Martinelli Parameter

X	All mechanism		Turbulent Turbulent		Viscous Turbulent		Turbulent Viscous		Viscous Viscous	
	$1-\alpha$	$\alpha$	$\phi_f$	$\phi_g$	$\phi_f$	$\phi_g$	$\phi_f$	$\phi_g$	$\phi_f$	$\phi_g$
0.01	-	-	128	1.28	120	1.20	112	1.12	105	1.05
0.02	-	-	68.4	1.37	64	1.28	58.0	1.16	53.5	1.07
0.04	-	-	38.5	1.54	34	1.36	31.0	1.24	28.0	1.12
0.07	0.04	0.96	24.4	1.71	20.7	1.45	19.3	1.35	17.0	1.19
0.1	0.05	0.95	18.5	1.85	15.2	1.52	14.5	1.45	12.4	1.24
0.2	0.09	0.91	11.2	2.23	8.90	1.78	8.79	1.74	7.00	1.40
0.4	0.14	0.86	7.05	2.83	5.62	2.25	5.50	2.20	4.25.20	1.70
0.7	0.19	0.81	5.04	3.53	4.07	2.85	4.07	2.85	02 308	2.16
1.0	0.23	0.77	4.20	4.20	3.48	3.48	3.48	3.48	2.61	2.16
2.0	0.31	0.69	3.10	6.20	2.62	5.25	2.62	5.24	2.06	4.12
4.0	0.40	0.60	2.38	9.50	2.05	8.20	2.15	8.60	1.76	7.00
7.0	0.48	0.52	1.96	13.7	1.73	12.1	1.83	12.8	1.60	11.2
10	0.53	0.47	1.75	17.5	1.59	15.9	1.66	16.6	1.50	15.0
20	0.66	0.34	1.48	29.5	1.40	28.0	1.44	28.8	1.36	27.3
40	0.76	0.24	1.29	51.5	1.25	50.0	1.25	50	1.25	50
70	0.84	0.16	1.17	82.0	1.17	82.0	1.17	82	1.17	82
100	0.90	0.10	1.11	111	1.11	111	1.11	111	1.11	111

Table -2: Chenoweth-Martin Parameters

Liquid Volume (1 - $\beta$ ) Fraction	Z=50	Z=100	Z=200	Z=500	Z=1000
0	50	100	200	500	1000
0.00001	56.5	113	225	565	1125
0.00002	58.5	117	235	585	1175
0.00004	62.0	124	248	620	1230
0.00007	63.5	127	254	635	1200
0.0001	64.5	129	258	645	1150
0.0002	66.0	132	225	580	950
0.0004	67.5	129	249	470	680
0.0007	65.0	121	219	385	470
0.001	62.0	115	199	325	370
0.002	58.0	99	153	215	215
0.004	50.0	82	105	120	120
0.007	41.0	60	71.0	72.5	72.5
0.01	34.5	48	53.0	53.0	53.0
0.02	24.0	29.2	29.2	29.2	29.2
0.04	15.0	16.1	16.1	16.1	16.1
0.07	9.9	9.9	9.9	9.9	9.9
0.1	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4
0.2	4.05	4.05	4.05	4.05	4.05
0.4	2.22	2.22	2.22	2.22	2.22
0.7	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

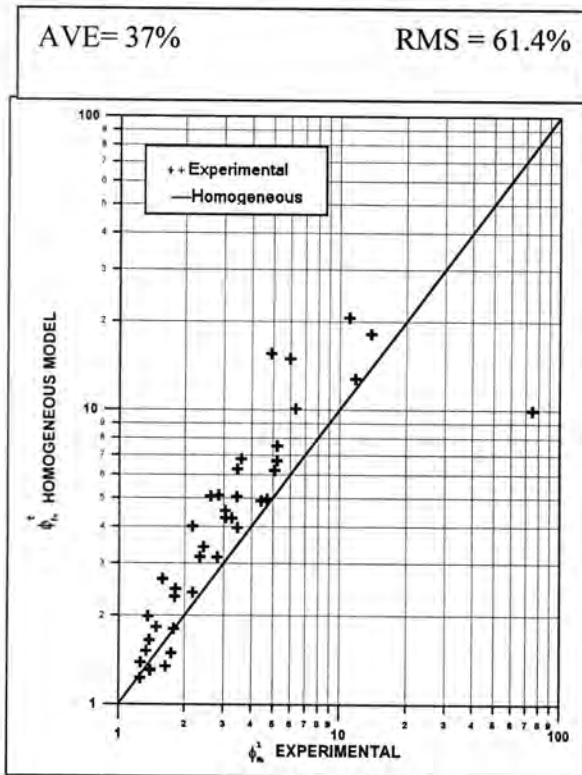


FIG. -1: Comparison between experimental and homogeneous model

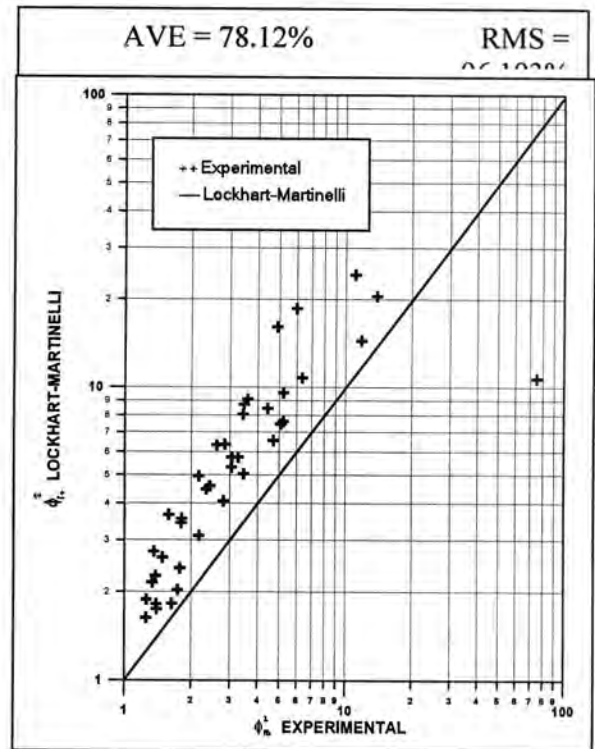


FIG.-2: Comparison between experimental and Lockhart-Martinelli prediction

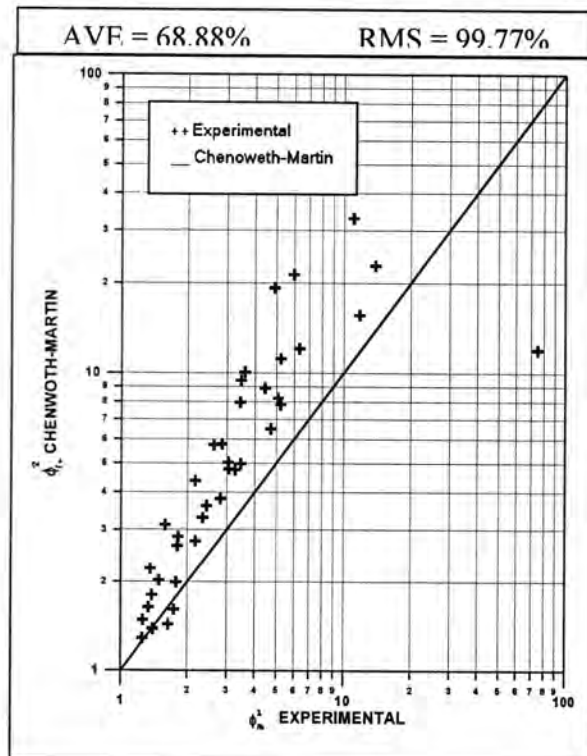


FIG. -3: Comparison between experimental and Chenoweth-Martin prediction

## Nomenclature

Symbol	Description	Dimension
$l$		$n$
$B$	Coefficient in Chisholm correlation	
$D$	Tube diameter	$m$
$G$	Mass velocity	$kg/m^2s$
$P$	Pressure	$KN/m^2$
$Re$	$\frac{\rho \cdot U \cdot D}{\mu}$ Reynolds number=	
$v$	$\frac{1}{\rho}$ Specific volume=	$m^3/kg$
$x$	$\frac{Q_g \rho_g}{Q_g \rho_g + Q_f \rho_f}$ Mass dryness fraction=	
$X$	Martinelli parameter	
$Z$	Factor in Chenoweth-Martin correlation	
Greek		
$\beta$	Volume dryness fraction	
$\lambda$	Friction factor = $4f$ (Fanning factor)	
$\lambda_1$	Single phase friction factor	
$\lambda_2, \lambda_T$	Two phase friction factor.	
$\mu$	Viscosity	$kg/m.s$
$\rho$	Density	$kg/m^3$
$\phi_{fo}^2$	Ratio of two phase friction pressure drop to single phase friction pressure drop if total flow rate was liquid	
$\phi_f^2$	Ratio of two phase friction pressure drop to single phase friction pressure drop if liquid fraction of flow rate flows alone	
$\phi_{go}^2$	Ratio of two phase friction pressure drop to single phase friction pressure drop if total Flow rate was gas	
$\phi_g^2$	Ratio of two phase friction pressure drop to single phase friction pressure drop if gas fraction of total flow rate flowed only	
$\frac{\Delta P}{\Delta Z}$	Fraction pressure gradient	$N/m^3$



## REFERENCES

1. Khalil E. J. Al-Jumaily "Two Phase Flow Pressure Drop In A Horizontal Pipeline" A Scientific Refereed Journal, Vol. 5, No. 4 ,PP.55-57 (1999).
2. Chenoweth J. M., And Martin M. W."Pressure Drop Of Gas-Liquid Mixtures In Horizontal Pipes" Petroleum Engineering, PP.565-575 (1956).
3. Isbin H.S., Rodrigues H.A., Larson H.C., And Pattie B.D., "Void Fraction In Two-Phase Flow" A.I. Chemical Engineering Journal, Vol. 33, PP.444- 454 (1959).
4. Duckler A. E., Wicks M. And Cleveland R. G." Friction Pressure Drop In Two-Phase Flow: B. An Approach Through Similarity Analysis" American Institute, Chemical Engineering Journal Vol.10,No.1, PP.45-51 (1964).
5. Beggs H. D. And Brill J. P. " A Study Of Two Phase Flow In Inclined Pipes" Journal Of Petroleum Technology, Vol. 40, PP.93-104 (1973).
6. Baroczy C. J. "Systematic Correlation For Two Phase Pressure Drop" Chemical Engineering Progresses Vol. 62, No. 64 ,PP. 232-249 (1966).
7. Chisholm D." Pressure Gradients Due To Friction During The Flow Of Evaporating Two-Phase Mixtures In Smooth Tubes And Channels" International Journal Of Heat And Mass Transfer Vol. 16,PP.347-358 (1973).
8. Khalid A., Thomas A. H., Sepehr A., Marilyn S. and Thomas B. R., " Productivity and Injectivity of Horizontal wells", Department of Petroleum Engineering, Stanford University, PP. 57-68 (1998).
9. Piotr A. D. and Christian J. L." An Improved Two-Phase Pressure Drop Correlation For 180° Return Bends", National Institute of Standards and Technology, 3rd Asian Conference on Refrigeration and Air-Conditioning, Gyeongju, Korea, May 21-23, PP.65 -62 (2006).
- 10.10)P. Bhramara, V. D. Rao, K. V. Sharma , And T. K. K. Reddy "CFD Analysis Of Two Phase Flow In A Horizontal Pipe – Prediction Of Pressure Drop" International Journal Of Fluid And Thermal Engineering VOI 33, NO 2,PP.274-281 (2008).
- 11.A. Carlson, P. Kudinov, C. Narayanan " Prediction Of Two-Phase Flow In Small Tubes: A Systematic Comparison Of State-Of-The-Art Cmfd Codes "5th European Thermal-Sciences Conference, The Netherlands, PP.126-130 (2008).
- 12.Christophe Vallée, Thomas Höhne, Horst-Michael Prasser, Tobias Sühnel "Experimental Investigation and CFD Simulation

- of Horizontal Stratified Two-Phase Flow Phenomena" Forschungszentrum Rossendorf, Vol. 25, PP.935-947 (2005).
13. Dr. Gergely Kristóf, Dr. Kálmán Gábor Szabó, Dr. Tamás Rékert "Modeling of Boiling Water Flow in the Horizontal Steam Generator of the Paks Nuclear Power Plant" darmstadtium wissenschaft kongresse, Darmstadt, Germany, CFD.HU Ltd., Budapest, Hungary, PP.75-81 (2008).
  14. AL-Jumaily K.E.J, "Two-phase flow pattern and pressure drop studies", M.Sc. thesis, University of Strathclyde (1981).
  15. Lockhart R.W. and Martinelli R.C., "Proposed correlation of data for isothermal two-phase, two-component flow in pipes", Chemical Engineering Progress, Vol.45, No.1, PP. 39-48 (1949).
  16. Chenoweth J. M., and Martin M. W. "Pressure Drop of Gas-Liquid Mixtures in Horizontal pipes" petroleum Engineering Vol106, PP. 30-37(1956).

## Noise Pollution Effect on Durra Power Station Workers

Kassim M. Wadi<sup>1</sup>, Abdulkhaliq A. Al-Naqeeb<sup>2</sup>, Bedri S. Jassem<sup>3</sup> and Mohammed A. AL-Ani<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Basic Science Department College of pharmacy AL-Mustansiriyah University

<sup>2</sup>Medical & Health Technology College, Baghdad

<sup>3</sup>Centre for Inspection , Safety and Environment/ Ministry of Electricity

<sup>4</sup>Durra Power Station / Ministry of Electricity

Received 26/10/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

يهدف البحث إلى تقدير ( تخمين ) مدى تأثير التلوث الضوضائي على صحة العاملين في محطة الدورة الحرارية تضمنت الدراسة ما يأتي :-

قياس شدة الضوضاء في مناطق مختلفة من المحطة وخاصة المرحل والتوربين. فحص حاسة السمع للعاملين في المناطق ذات التلوث الضوضائي العالي. استبيان آراء العاملين في المناطق عالية الضوضاء بالحالات المرضية التي يعانونها بطرح أسئلة والإجابة عليها وتحليل المعلومات الواردة فيها. تقويم السلامة المهنية من خلال تدقيق سجلات الحوادث في المحطة، نتيجة الضوضاء وعدم أدراك الأوامر والتعليمات الصادرة بخصوص السلامة وسوء تطبيقها. من خلال تحليل البيانات أعلاه ظهر وجود تأثير ملحوظ على صحة العاملين وتم التوجيه باتخاذ الإجراءات الوقائية والاحترازية بأجراء الفحوصات والقياسات الدورية.

### ABSTRACT

The research aimed to estimates the impact of the noise pollution on the workers health in the Durra Power Station . This study were included the Following:- Hearing tests for workers at places of high level noise intensity. Measuring the intensity level in different regions of the station. Survey questionnaire distributed to workers concerning their ill effects due to the noise situation. Identify the records of accidents to assess risks leading to accidents.

Analyzing the observed data generated from this study in order to set the required prevention procedures and to follow up the periodic testing programmed.

### INTRODUCTION

Noise is sound without agreeable musical quality , or defined as undesired sound produced by human activities [1] , unwanted in that it interferes with communication , work , rest ,recreation , or sleep [2] . Noise does not remain long in the environment. However while its effects are immediate in terms of annoyance [3], it is cumulative in terms of temporary or permanent damage [4]. Therefore even a pure musical tone can be perceived as noise if it is loud or very high [5]. Noise comprises a single frequency, as wide – band or as narrow band [6]. Noise can be described by its occurrence in time as having a steady state impact [7]. Steady state noise is one with negligible level [7], with fluctuations during the period of observation [8]. The sound – pressure level depends on the amplitude at the acoustic vibration and it is defined as the noise intensity. The loudness of sound increases with the sound intensity level at a constant frequency [9]. The relationship between them is a logarithmic relation [10]. Noise intensity is measured in decibel units; the decibel scale is a logarithmic relation with the

intensity level. The intensity level (LA) is measured in decibel (dB) and can be calculated by the following equation(1)

$$L(A) = 10 \log \frac{P_A}{P_0} \text{ dB}(A)$$

Where :

$P_A$  is the effective value of the sound pressure produced by the noise to be measured.

$P_0$  is the reference sound pressure

$\text{dB}(A)$  is the slow response ,in A-scale decibels .

Noise pollution is a growing problem in modern society not only unpleasant but can also result in permanent physiological damage to the hearing mechanism [ 11 ] There are relationships between intensity noise and permissible levels and the workers hours according to federal regulations [ 12 ] The equivalent continuous sound level , is the sound level in dB (A) which is present during a 40h per week would yield the same dB (A) compound noise exposure index as the various sound levels measured in the course of one week . This means that if the intensity is increased by 50 dB (A), the length of exposure should be halved. In order that the two degrees of noise exposure be equivalent [12]. Noise pollution in power stations refers to that created from turbines, steam generators and other auxiliary systems that cause the jarring and bearable sound to become un-wanted [13].

There are many factors that affect the noise pollution such as distance which diminishes the sound level reaching the ear. The duration of the exposure is also important [14] as the worker hearing sensitivity is decreased yearly cause of exposure to noise [15]

There are many risks from noise pollution apart from hearing loss such as lack of sleep , irritability , heartburn , indigestion , ulcers , high blood pressure , fatigue , annoyance , possibly heart diseases neurological and cardio vascular disturbance . In many individuals, prolonged or frequent exposure to such noise tends to make the physiological disturbances chronic. [16] In addition, noise induced stress. Creates severe mental health effects such as accelerates the development of latent neurosis / illness [17] it. Noise is recognized as a controllable pollutant that can yield to abatement technology [18].



## MATERIALS AND METHODS

### Equipment:-

- Noise dosimeter (Sound Level Meter).
- Blood pressure Sphygmomanometer.
- Audiogram system.

### Methods:

The methods used to measure and assess the intensity level of noise exposure to the workers in Durra Power Station are:

### Hearing Tests:

The tests were done in a specially constructed sound proof testing room.

Each ear was tested separately. Test sound can be sent to either ear through a comfortable head set.

The subject is asked to give a sign when he hears the test sound selected frequency, 250 to 8000 Hz were used.

At each frequency the operator raises and lowered the volume until a consistent hearing threshold was obtained. The hearing thresholds were then plotted on a chart and were compared to normal hearing thresholds.

### Intensity Level of Noise Pollution :

The teen measured the intensity level of noise pollution in different Areas. The sound level meter was used to measure the degree exposure and measurement was taken at the:

- Places occupied by workers.
- Points where the workers head was.
- Distance 1m from either side of the workers heads in the normal work posture.

### Auditing the hazard records:

The accidents were studied to pinpoint the hazard the accident workers were exposed to especially in high sound level areas.

### Health Situation of Workers:

A list of questions asked of the workers about some abnormal health situation that was felt by the workers due to noise pollution.

Table -A: The results of survey and evaluations of the health situation and noise pollution on workers Exposed to noise.

No.	Age	Period of work	Type of work	Time of work (hr)	Area of work	He	St	An	Agg	Ve	Fa	S.d	An	B	Tr	Wi	Hearing test
1	42	24	Ope.	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	32	14	Ope.	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	37	18	Ope.	10	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
4	37	5	Ope.	10	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
5	32	5	Ope.	8	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
6	55	33	Ope.	8	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
7	47	25	Ope.	8	2	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
8	35	21	Ope.	8	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
9	19	2	Ope.	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	37	14	Ope.	9	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
11	31	4	Ope.	12	2	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
12	38	10	Ope.	6	2	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
13	56	33	Mai.	6	3	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
14	38	18	Ope.	9	3	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
15	36	13	Ope.	6	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
16	30	10	Ope.	12	3	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
17	42	10	Ope.	6	3	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0
18	55	32	Mai.	10	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
19	48	10	Ope.	6	4	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0
20	45	20	Ope.	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
21	58	13	Ope.	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
22	39	13	Ope.	8	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
23	35	10	Ope.	8	3	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1
24	49	30	Ope.	10	4	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
25	33	11	Mai.	12	5	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
26	48	9	Ope.	8	5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	36	8	Ope.	6	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	21	3	Ope.	8	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	30	4	Ope.	10	6	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	47	18	Ope.	7	6	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
31	41	22	Ope.	10	7	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
32	41	20	Ope.	10	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	44	21	Mai.	10	7	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0

0: neg. (-ve)

1: pos. (+ve)

Abbreviations

He	Headaches
St	Stress
An	Annoyance
Agg	Aggression
Ve	Vertigo
Fa	Fatigue
S.d	Sleep disturbance
An	Anxiety
B	Blood pressure
Tr	Tremors
Wi	Withdrawal
Ope.	Operation
Mai.	maintenance

## RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 represents frequencies , percentages , cumulative percents and comparisons significant of some related variables such that Age , period of working , types of work and time of work ( per hour ) daily .

Table -1 : Observed frequencies , percentages , cumulative percents and comparisons significant of some related variables

Variable	Groups	Frequency DB	Percent	Cumulative Percent	C.S.
Age Groups	< 30	2	6.1	6.1	$\chi^2=15.121$ P=0.002.
	30 -39	16	48.5	54.5	
	40 -49	11	33.3	87.9	
	50 >	4	12.1	100	
Period of work	< 10	8	24.2	24.2	$\chi^2=6.394$ P=0.094 Sig.
	10 -19	14	42.4	66.7	
	20 -29	7	21.2	87.9	
	30 >	4	12.1	100	
Type of work	Operator	29	87.9	87.9	Binomial P=0.000 Sig.
	Maintenance	4	12.1	100	
Time of work	6 - 8	17	51.5	51.5	Binomial P=1.000 Non-Sig.
	8 - 12	16	48.5	100	

The results showed that a significant different at  $P < 0.05$  were obtained between the distribution of the observed frequencies by their expected in a randomness distribution assumed except the last variable ( time of work ) at  $P > 0.05$  , which indicated that a restricted outcomes would be presented and as follows :

- a- With age variable , the most workers full insides interval ( 30 – 50 ) years old .
- b- With period of working , the most workers full insides interval ( 10 – 20 ) years .
- c- With types of working , the most workers were operators .

Table - 2 : Represents frequencies , percentages and cumulative percents of Location

( Area of work ) variable that our sample had been selected of randomly .



Table -2 : Observed frequencies , percentages , cumulative percents and comparisons significant of some related variables

Location		Frequency	Percent	Cumulative Percent
Area of work	Turbine	6	18.2	18.2
	Boiler-6- ( Front and Back )	8	24.2	42.4
	Water Pump-( Front and Back )	7	21.2	63.6
	Gas unit - ( side and out )	3	9.1	72.7
	Sub station	3	9.1	81.8
	Air Pump for unit 5,6 and Gas unit	3	9.1	90.9
	Water Pump Station For Cooling	3	9.1	100

The results showed that most of them were located at Turbine , Boiler-6- ( Front and Back ) and Water Pump-( Front and Back ) , while the others were located in the last four area of works as it's recorded in that table .

the following tables represents the data collected from noise pollution and their effects on the workers health, and the environmental areas of power station.

Table -3 :The mean noise pollution intensity level (L A)) that measured in different regions

No. of region	Region	The mean level (LA) intensity in decibels
1	[Turbine]-1	86
	[Turbine]-2	87
	[Turbine]-3	95
	[Turbine]-4	95.6
	[Turbine]-5	103
	[Turbine]-6	95
2	Boiler-6-Front	81
	-Back	86
3	Water Pump-Front	113
	-Back	107.9
4	Gas unit -side	99
	-out	88
5	Sub station	80
6	Air Pump	90
	For unit 5,6	68.2
	For Gas Unit	63
7	Water Pump Station For Cooling	93

The results of mean noise pollution intensity level (L A) that measured in different regions ranged between ( 63 – 108 ) ( L A ) intensity in decibels which indicated a highly shifted among different regions . That obvious results ought to be needs more explanation and descriptive , in



order to enable us to know the actual differences in that regions which were treated in the next table .

The following tables represents the summary statistics of the data collected from noise pollution and their effects on the workers health, and the environmental areas of power station .

Table - 4 : Summary statistics ( Mean , Std D. , Std Error and 95% C.I. for population mean value of the data collected from noise pollution ( L A ) intensity in decibels

Area ( Location )	N	Mean	Std. D.	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
Turbine	6	93.6	6.2865	2.5665	87.0027	100.1973	86	103
Boiler-6- ( Front and Back )	2	83.5	3.5355	2.5	51.7345	115.2655	81	86
Water Pump- ( Front and Back )	2	110.45	3.6062	2.55	78.0492	142.8508	107.9	113
Gas unit – ( side and out )	2	93.5	7.7782	5.5	23.6159	163.3841	88	99
Sub station	1	80	—	—	—	—	80	80
Air Pump for unit 5,6 and Gas unit	3	73.7333	14.3253	8.2707	38.1474	109.3193	63	90
Water Pump Station For Cooling	1	93	—	—	—	—	93	93
Total	17	90.0412	12.7964	3.1036	83.4619	96.6205	63	113

The results showed that the highest ( L A ) intensity was found in the Water Pump-( Front and Back ) , then followed in the three located area ( Turbine , Gas unit - ( side and out ) and Water Pump Station For Cooling ) , while the low levels of intensity were found in the located area of ( Boiler-6- ( Front and Back ) , Sub Station and Air Pump for unit 5,6 and Gas unit ) . Graphically by Bar – Chart in the figure ( 1 ) represents the differences which were found in the studied of research area.

From the assessment and evaluation of the Noise pollution For many areas in the Durra power station , the hearing testing and hazard assessment showed :-

Lack of communications between management and workers. This requires a focused programmed of rising of communication skills through training and the organization of periodic large meetings with all staff (once monthly for instance) to drive the point home and to create a friendly relationship by which worker will feel less neglected.

Table 1 showed the sound intensity level much higher than the permissible figures. This situation needs to be addressed by:-

- Rotation of workers to minimize exposure.

- The wearing of suitable sound attenuation device such as the earmuff or earplug provided the workers select the most comfortable option.
- The resort to engineering solutions to each area depending on the source of noise .e.g. the use of screens or point of source treatment.

Table 2 showed examples of the different health effects on workers because of noise and the agency they are exposed to. This means that the solution is really a human effort to relieve them of headaches, high blood pressure, etc....

From the information in the P-3 of this study the team were derived an equation to calculate the relation ship between exposure time and the level of intensity of noise (Permissible exposure)and this named WANB equation, as shown at table -5 and figure 1.

Table -5 : the relationship between exposure time and the level of intensity of noise

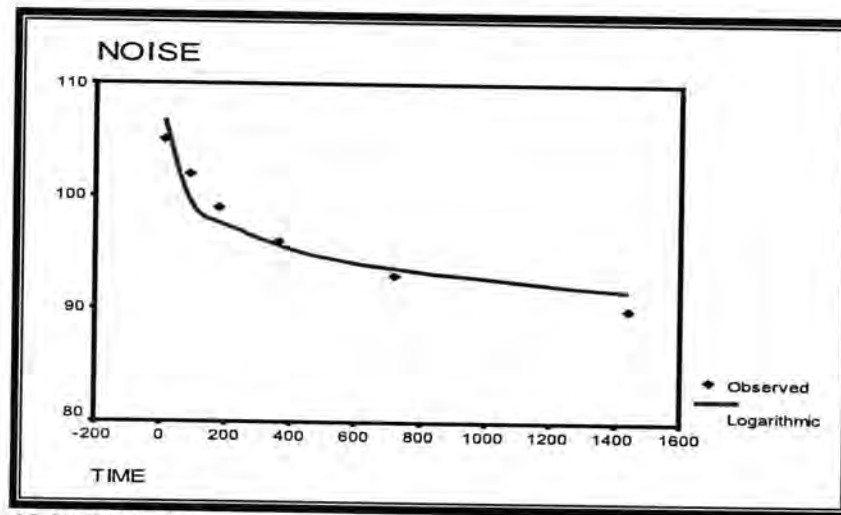
Dependent variable.. NOISE			Method.. LOGARITH		
Multiple (r)			.95478		
R Square			.91160		
Adjusted R Square			.88950		
Standard Error			1.86571		
Analysis of Variance (ANOVA)					
S.O.V.		DF	Sum of Squares	Mean Square	
Regression		1	143.57646	143.57646	
Residuals		4	13.92354	3.48088	
F =		41.24712	Sign if F =		.0030
----- Variables in the Equation -----					
Variable	B	SEB	Beta	t	Sig
Time	-2.881417	.448652	-.954776	-6.422	.0030
(Constant)	112.601229	2.471629		45.558	.0000

The evidence for effects of noise pollution on worker health is not stronger for annoyance, cognitive, performance in worker health. Occupational noise exposure shows small raised blood pressure. The physical illness attributable to environmental noise is quite small. there is a need for further research to clarifying the effect of noise pollution including buffer measurement of noise exposure and health cut comes it is necessary to choose the right hearing protection and put flush plug – In Installed on the boiler and steam generator to view the Noise meter and the worker must used ear muff or earplug

- There are clear evidence of negative health effects on workers exposed to noise in durra power station. This situation is not acceptable .as it, in the long run, will develop into permanent hearing



loss coupled with high blood pressure, fatigue...Etc. we can relieve our workers of this agency.



$$N = b_0 (b_1 + \ln T)$$

Where N=noise

$b_0$  : ( constant ) = 112.60

$b_1$  : ( slop ) = -2.88

The error type one in this equation ( Goodness of fit ) is not more than ( 0.003 )

Fig -1 : the relationship between exposure time and the level of intensity of noise

## REFERENCES

- 1- Luigi, p Encyclopedia of Occupation Health and Safety, International Lab. Office Geneva. Vol. (2L-Z). p.1465. (1985).
- 2- Rabat, A.Bouyer J.J. George .O.Le moal .M.Mayo.W. Chronic exposure of rats to noise: Relation ship between long –term memory deficits and slow wave sleep disturbance. Behavioral brain rese. P.303-312. (2006).
- 3- Rabat.A.Extra – auditory effects of noise in laboratory animal. The relation ship between noise and sleep Journal of the American Association for laboratory Animals gence. P.35-41. (2007).
- 4- Rabat, A., Bouyer, J.J., Aran, J.M., LeMoal, M., Mayo, W. Chronic exposure to an environmental noise permanently disturbs sleep in rats :Inter-individual vulnerability Brain Research.; Vol.1059, No.(1) pp.72-82 (2005).
- 5- Michel O'Neill, Paule Simard, "Choosing Indicators to Evaluate Healthy Cities Projects – Political Task", Health Promotion International , Vol.21 NO.2. p.80 (2007).
- 6- SK Nanda, DP Tripathy, SK Patra-Fuzzy inference system-based noise prediction models for opencast mines-international Journal

- of Mining, Reclamation and ..., -informaworld .com pp. 1-10. (2009).
- 7- National Safety Council Accident Prevention Manual For Industrial operation Chicago 6<sup>th</sup> ed. 120 International laboratory organization. (1970).
  - 8- Johnr Cameron, James G .SKotro nick Medical physics. Nwiley Interscience Publication John Wiley and Sons p.253. (1992).
  - 9- Lipfert, F.W., Wyzga, R.E., Baty, J.D., Miller, J.P. Traffic density as a surrogate measure of environmental exposures in studies of air pollution health effects: Long – term mortality in a cohort of US veterans Atmospheric Environment; vol.40 no. (1) pp.154-169. (2006).
  - 10- Shigeru Omi Regional Framework for Health promotion, who Regional Office for the Western Pacific. (2002).
  - 11- Pugh, R.J., Griffiths, R. Noise in critical care Care of the Critically I 11.; vol. (23) No. (4) pp.105-109. (2007).
  - 12- Smith Ap, Broad bent DE. Non – auditory Effect of Noise at Work A review at the literature HSE Contract Research reports No 30 London HMSO (1992).
  - 13- Rabat, A. Extra- auditory effects of noise in laboratory animals: The relationship between noise and sleep Journal of the American Association for Laboratory Animal Science.; vol. 46, No.(1) pp.35-41. (2007).
  - 14- Rabat, A., Bouyer, J.J., George, O., LeMoal, M., Mayo, W. Chronic exposure of rats to noise :Relationship between long – term memory deficits and slow wave sleep disturbances Behavioral Brain Rese. Vol. (171), no.(2). Pp.303-312. (2006).
  - 15- G., Arletti, R., Sandrini, and M Acute noise stress analgesia in relation to 5-HT<sub>2</sub> and  $\mu$ -opioid receptor changes in the frontal cortex of young mice Vitale,. Life Sciences . vol.(77), No.(20). Pp.2500-2513. (2005).
  - 16- Kryte KD. The effect of Noise and Man 2<sup>nd</sup> end Orlando, Fl Academic 10 ress (1985).
  - 17- Lang T, Fouriaul C, Jacquier MC . Length of Occupational Noise exposure and blood pressure In Arch Occup Environ Health. pp.369 and 72. (1992).
  - 18- Kryter Karl D. The Itaud book of hearing and the effect of Noise: physiology and public lteathh Sam Diego Calif A cadeduin C press (1994).



## Approximation Solution for Nonlinear Volterra Integral Equation by Using Adomian Decomposition Method

Waleeda S. Ali

College of Agriculture, Baghdad University

Received 16/3/2009 – Accepted 22/3/2010

### الخلاصة

في هذا البحث استعملت طريقة تحليل ادمومين لإيجاد حل تقريبي لمعادلة فولتيريه التكاملية غير الخطية من النوع الثاني. حل المعادلة في هذه الطريقة يمثل مجموع متسلسلة غير محددة تتقارب بسرعة وبخطوات قليلة إلى الحل الدقيق ، مع حد معقول من الخطأ. والمثال المطبق يوضح كفاءة ودقة هذه الطريقة.

### ABSTRACT

In this paper, Adomian decomposition method has been extensively used to find the approximate solution for nonlinear Volterra integral equation's of the second kind. In this method assume the solution of a functional equation is considered as the sum of an infinite series usually converging to the solution. It has been shown that the series has a fast converges, and with only few terms, this series approximates the exact solution with a fairly reasonable error. Finally, numerical example are prepared to illustrate the efficiency and accuracy of this method.

### INTRODUCTION

The integral equation is generally defined as an equation, which involves the integral of an unknown function  $u(x)$  that appears under the integral sign.

A linear (nonlinear) integral equation is an integral equation given by the following form, [1]:

$$a(x)u(x) - \int_{\Omega} k(x,t)u(t)dt = f(x) \quad \dots(1)$$

where  $a$ ,  $f$  and  $k$  are known functions;  $k(x,t)$  is called the kernel of the integral equation,  $u$  is the unknown function to be determined and  $\Omega$  be a measurable set in a measurable space  $E$ .

We can distinguish between two types of integral equations, which are, [2]:

1. Integral equation of the first kind when  $a(x) = 0$  in equation (1):

$$f(x) = - \int_{\Omega} k(x,t)u(t)dt \quad \dots(2)$$

2. Integral equation of the second kind when  $a(x) \neq 0$  (for simple of, set  $a(x)=1$ ), then equation (1) can be written as:

$$u(x) = f(x) + \int_{\Omega} k(x,t)u(t)dt \quad \dots(3)$$

Now, integral equations can be classified into different kinds according to the limits of integration:

1. If the limits of equation (1) are constants then this equation is called Fredholm integral equation. In this case, Fredholm integral equations of the first and second kinds will respectively have the following expressions, [3]:

$$f(x) = \int_a^b k(x,t)u(t)dt \quad \dots(4)$$

$$u(x) = f(x) + \int_a^b k(x,t)u(t)dt \quad \dots(5)$$

where a, b are constants.

2. If the upper limit of integration in equation (1) is a function of x then equation (1) is called Volterra integral equation. They are divided into two groups referred to as the first and second kinds.

Volterra integral equation of the first kind is,[3]:-

$$f(x) = \int_a^x k(x,t)u(t)dt \quad \dots(6)$$

and Volterra integral equation of the second kind is:-

$$u(x) = f(x) + \int_a^x k(x,t)u(t)dt \quad \dots(7)$$

where a is constant and x is variable.

### The Adomian Decomposition Method

In this section, we first describe the algorithm for the decomposition method to find the approximate solution for general nonlinear Volterra integral equation of the second kind [4,5,6].

Let us reconsider equation (7) of the form:

$$Ly + Ny = f(t) \quad , \quad \text{for } t \in (0,t) \quad \dots(8)$$

where the nonlinear term  $Ny = y^m$  for some positive integer  $m$ .

Since, we have

$$Ly = f(t) - Ny \quad \dots(9)$$

$$L^{-1}Ly = L^{-1}f(t) - L^{-1}Ny \quad \dots(10)$$

OR

$$y = y_0 - L^{-1}Ny \quad \dots(11)$$

where  $L = d/dt$  is the term of higher differential linear operator in  $t$ , and is assumed to have an inverse  $L^{-1}$ , in this case  $L^{-1}$  is a one-fold integral operator, which mean that

$$L^{-1} = \int_0^t (.)ds;$$

And  $y_0$  includes  $L^{-1}f(t)$  and appropriate terms depending on the order of  $L$  and specified conditions such as  $y(0) + ty'(0) + L^{-1}f$  for a second order operator and given initial conditions.

The standard decomposition method assumes a series solution for  $y$  given by

$$y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n = y_0 + y_1 + y_2 + \dots \quad \dots(12)$$

And the nonlinear operator  $Ny$  can be decomposed into

$$Ny = \sum_{n=0}^{\infty} A_n \quad \dots(13)$$

Now  $Ny$  is replaced by the  $A_n$  in equation (11); consequently

$$y = y_0 - L^{-1} \sum_{n=0}^{\infty} A_n \quad \dots(14)$$

where the  $A_n$ 's are Adomian's polynomials of  $y_0, y_1, y_2, \dots, y_n$  given by:

$$A_n = \frac{1}{n!} \frac{d^n}{d\lambda^n} \left[ N \left( \sum_{i=0}^{\infty} \lambda^i y_i \right) \right]_{\lambda=0}, \quad n = 0, 1, 2, \dots \quad \dots(15)$$

Here,  $\lambda$  is a parameter introduced for convenience and the  $A_n$ 's are polynomials defined by Adomian decomposition in the following way [5,6]:

$A_0 = Ny_0$ ,  $y_0$  is equal to the sum of components which are not function of  $y$ ,

$$y_1 = -L^{-1} A_0$$

$$A_1 = y_1 \left( \frac{dN}{dy} \right) y_0 \quad \text{and}$$

$$y_2 = -L^{-1} A_1$$

$$A_2 = y_2 \left( \frac{dN}{dy} \right) y_0 + \left( \frac{y_1^2}{2!} \right) \left( \frac{d^2 N}{dy^2} \right) y_0 \quad \text{and} \quad \dots(16)$$

$$y_3 = -L^{-1} A_2$$

More generally

$$A_n = \sum_{j=1}^n c(j, n) \left( \frac{d^j N}{dy^j} \right) y_0 \quad \text{and}$$

$$y_n = -L^{-1} A_{n-1}$$

Where the  $c(j, n)$  are products (or sum of products) of  $j$  components of  $y$  whose subscripts sum to  $n$  divided by the factorial of the  $n$  number of repeated subscripts.

As an example consider the nonlinear terms  $Ny = y^n$  then the coefficients  $c(j, n)$  are defined by:

$$c(1, n) = y_n \quad \text{for } j \geq 2 \quad c(j, n) = \sum_{i_1 + i_2 + \dots + i_j = n} \frac{\prod_{k=1}^j y_{i_k}}{P}; \quad \dots(17)$$

with  $0 < i_1 \leq i_2 \leq \dots \leq i_j \leq n$ . Also  $P$  is a product of factorial of  $\alpha_{i_k}$  where  $\alpha_{i_k}$  is the number of elements that are equal to  $y_{i_k}$ .

Consider the following example.

If  $\prod y_{ik} = y_1 y_2 y_3$  then  $P = 1 \times 1 \times 1!$ ,

Or if  $\prod y_{ik} = y_1 y_1 y_1 y_2 y_3 y_3$  then  $P = 3 \times 1 \times 2!$ .

So that decomposition of  $y$  into equation(12) yields

$$\begin{aligned} y_0 &= y_0 \\ y_1 &= -L^{-1} A_0 \\ y_2 &= -L^{-1} A_1 \\ y_3 &= -L^{-1} A_2 \\ &\vdots \\ y_n &= -L^{-1} A_{n-1} \end{aligned} \quad \dots(18)$$

And  $y$  is determined once the  $A_n$  are known. For  $Ny = y^3$  the  $A_n$  (or  $A_n(y^3)$ ) to specify it more completely are substituted into the above expressions to obtain the solution. For convenience some  $A_n$  are listed for power of  $y$ .

Let  $Ny = y^3$  the  $A_n$  are given by:

$$\begin{aligned} A_0 &= y_0^3 \\ A_1 &= 3y_0^2 y_1 \\ A_2 &= 3y_0^2 y_2 + 3y_1^2 y_0 \\ A_3 &= y_1^3 + 3y_0^2 y_3 + 6y_0 y_1 y_2 \\ A_4 &= 3y_0^2 y_4 + 3y_1^2 y_2 + 3y_2^2 y_0 + 6y_0 y_1 y_3 \\ A_5 &= 3y_0^2 y_5 + 3y_1^2 y_3 + 3y_2^2 y_1 + 6y_0 y_1 y_4 + 6y_0 y_2 y_3 \\ &\vdots \end{aligned} \quad \dots(19)$$

With the above substitution in equation(18) and application of the Adomian decomposition method (ADM) solution to nonlinear differential equation with polynomial nonlinearities can be made without linearization procedures.

In practice, all terms of series  $y(t) = \sum_{n=0}^{\infty} y_n(t)$  can not be determined and so the practical solution will be the  $n$ -term approximation  $\phi_n$  [7]

$$\phi_n(t) = \sum_{n=0}^{k-1} y_n(t) \quad \text{with} \quad \lim_{n \rightarrow \infty} \phi_n(t) = y(t) \quad \dots(20)$$

The initial approximation for the successive approximation method is usually zero function. In the other words, if the initial approximation in this method is selected  $y_0(t) = f(t)$ , then the Adomian decomposition method and the successive approximations method are exactly the same[8,7].



The following algorithm summarizes the steps for finding the approximation solution for the second kind of nonlinear Volterra integral equation (NVIE).

**Algorithm (ADM-NVIE)**

**Input:**  $(f(t), k(t, s), y(s), a, t)$ ,

**Output:** series solution of given equation

**Step1:**

Put  $y_0(t) = f(t)$

**Step2:**

Compute

$$A_n = \frac{1}{n!} \frac{d^n}{d\lambda^n} \left[ N \left( \sum_{i=0}^{\infty} \lambda^i y_i \right) \right]_{\lambda=0}, \quad n = 0, 1, 2, \dots$$

$$y_n = - \int_a^t k(x, t) A_{n-1} dt$$

**Step3:**

Find the solution  $y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n$

**End**

**Example:**

Consider the following nonlinear Volterra integral equation of the second kind with the exact solution  $y(x) = x^2 - x$ .

$$y(x) = -15/56x^8 + 13/14x^7 - 11/10x^6 + 9/20x^5 + x^2 - x + \int_0^x (x+t)[y(t)]^3 dt.$$

To derive the solution by using the decomposition method, we can use the following Adomian scheme:

Let

$$y_0(x) = -15/56x^8 + 13/14x^7 - 11/10x^6 + 9/20x^5 + x^2 - x, \text{ then}$$

For the first iteration, we have:

$$y_1(x) = \int_0^x (x+t)y_0^3(t)dt,$$

Considering (12), the approximated solution with two terms are:

$$y(x) = y_0(x) + y_1(x)$$

Next term is:

$$y_2(x) = \int_0^x (x+t)3y_0^2(t)y_1(t)dt,$$

In the same way, the component  $y(x)$  can be calculated for  $n = 2$  the

solution  $\sum_{n=0}^2 y_n$  with three terms are given as:

$$\begin{aligned} y(x) &= y_0(x) + y_1(x) + y_2(x) \\ y(x) &= -x + x^2 + 0.850x^5 - 1.10x^6 + 0.5357x^7 + 0.2696x^8 - 17/30x^9 \\ &\quad + 27/140x^{10} + 1047/2464x^{11} - 1631/1920x^{12} + 62437/7280x^{13} \\ &\quad - 23309/7840x^{14} - 0.4714x^{15} + 0.8506x^{16} - 0.7959x^{17} + 0.4099x^{18} + 0.2826x^{19} \\ &\quad - 0.8230x^{20} + 0.7768x^{21} - 0.3509x^{22} - 0.1073x^{23} + 0.4775x^{24} - 0.6105x^{25} \\ &\quad + 0.4120x^{26} - 0.0664x^{27} - 0.1874x^{28} + 0.2851x^{29} - 0.2536x^{30} + 0.1337x^{31} \\ &\quad - 8.4292e-004x^{32} - 0.0746x^{33} + 0.0832x^{34} - 0.0566x^{35} + 0.0235x^{36} \\ &\quad + 9.0880e-004x^{37} - 5.9526e-004x^{38} + 0.010x^{39} - 0.0053x^{40} + 0.0019x^{41} \\ &\quad - 4.2593e-004x^{42} + 5.8124e-005x^{43} - 3.6159e-006x^{44} \end{aligned}$$

Approximated solution for some values of  $x$  by using Adomian decomposition method and exact values  $y(x) = x^2 - x$  of Example, depending on least square error (L.S.E) are presented in Table(1) and Figure(1).

This paper presents the use of the Adomian decomposition method, for solving nonlinear Volterra integral equation of the second kind. As it can be seen, the Adomian decomposition method for nonlinear Volterra integral equation is equivalent to successive approximation method. A comparison of the approximate solution from the Adomian decomposition method with the exact  $y(x) = x^2 - x$  of the integral equation at  $x_i, i = 1, 2, \dots, 10$  yields the errors displayed in Table(1). We can see, also from Figure(1) that the approximation is very good. The curve, which represents the approximate solution almost coincide with the analytic solution.

Table -1: The results of Example using (ADM-NVIE) algorithm.

X	Exact $y(x)$	Approximation $y(x) = \sum_{n=0}^2 y_n(x)$	Error = $(y_{Exact}(x) - y_{Approximation}(x))^2$
0	0	0	0
0.1	-0.0900	-0.0900	3.0780e-010
0.2	-0.1600	-0.1602	3.6526e-008
0.3	-0.2100	-0.2106	4.0468e-007
0.4	-0.2400	-0.2413	1.6058e-006
0.5	-0.2500	-0.2518	3.4192e-006
0.6	-0.2400	-0.2421	4.5795e-006
0.7	-0.2100	-0.2120	4.0831e-006
0.8	-0.1600	-0.1615	2.3828e-006
0.9	-0.0900	-0.0909	7.6338e-007
1	0	-1.5894e-004	2.5262e-008
L.S.E			1.7301e-005

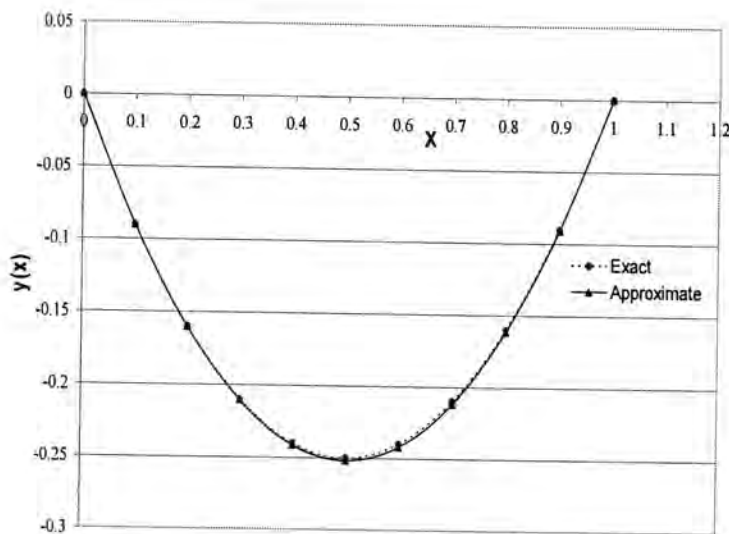


Figure-1: Approximation and exact solution of nonlinear Volterra integral equation of Example

## REFERENCES

1. Abdul J. jerri, "Introduction to Integral Equation with Applications" Marcel Dekker, Inc , New York, (1985).
2. Lapidus L. and Seinfeld J., "Numerical Solution of Differential Equations", Wiley Eastern Limited. New Delhi, (1979).
3. Atkinson K. E. "The Numerical Solution of Integral Equation of the second kind". Cambridge University press, C274, C279, (1997).
4. Ray S. Saha and Bera R. K, "Solution of an extraordinary differential equation by Adomian decomposition Method", Journal Applied Mathematics: Vol. 4 331-338 URL: <http://dx.doi.org/10.1155/S1110757X04311010>, (2004).
5. George A, "Nonlinear Stochastic Operator Equations", Academic Press INC. London, (1986).
6. George A, "Solving Frontier Problems of Physics The Decomposition Method", Kluwer Academic Publishers, London,(1994).
7. Vahidi A R. and Mokhtari M. , "On the decomposition method for system of linear Fredholm integral equations of second kind" Applied Mathematical Science, Vol. 2, No. 2, P. 57-62, (2008).
8. Ioan A. Rus and Egri Edith, "Numerical and Approximate methods in some mathematical models", Babes-Bolyai University of Cluj-Napoca, (2006).

# مجلة علوم المستنصرية

تصدر عن كلية العلوم الجامعة المستنصرية

رئيس التحرير  
أ. د. رضا ابراهيم البياتي

مدير التحرير  
د. اقبال خضر الجوفي

## هيئة التحرير

عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا

أ. م. د. ايمان طارق محمد العلوي  
أ. م. د. رمزي رشيد علي العاني  
أ. م. د. انعام عبد الرحمن حسن  
أ. م. د. عوني ادوار عبد الاحد  
أ. م. د. ماجد محمد محمود  
أ. م. د. سعد نجم باشخ  
أ. م. د. حسين كريم سليمان الوندائي

## الهيئة الاستشارية

رئيسا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا  
عضوا

أ. م. د. كاظم حسن حسين الموسوي  
أ. د. طارق صالح عبد الرزاق  
أ. د. مهدي صادق عباس  
أ. م. د. عبد الله احمد رشيد  
أ. م. د. حسين اسماعيل عبد الله  
أ. م. د. مهند محمد نوري  
أ. م. د. منعم حكيم خلف  
أ. م. د. عامر صديق الملاح  
أ. م. د. طارق سهيل نجم  
أ. م. د. يوسف كاظم عبد الامير



## بسم الله الرحمن الرحيم

### تعليمات النشر لمجلة علوم المستنصرية

1. تقوم المجلة بنشر البحوث الرصينة التي لم يسبق نشرها في مكان آخر بعد إخضاعها للتقويم العلمي من قبل مختصين وبأي من اللغتين العربية أو الانكليزية .
2. يقدم الباحث طلبا تحريريا لنشر البحث في المجلة على أن يكون مرفقا بأربع نسخ من البحث مطبوعة على الحاسوب ومسحوب بطابعة ليزيرية وعلى ورق ابيض قياس (A4) مع قرص مرن (Disk) محمل بأصل البحث ويكون عدد صفحات البحث 10 صفحات وبضمنها الاشكال والجداول على أن لا يكون الحرف اصغر من قياس 12 .
3. يطبع عنوان البحث واسماء الباحثين (كاملة) وعناوينهم باللغتين العربية والانكليزية على ورقة منفصلة شرط ان لا تكتب اسماء الباحثين وعناوينهم في أي مكان اخر من البحث ، وتعاد كتابة عنوان البحث فقط على الصفحة الاولى من البحث .
4. تكتب اسماء الباحثين كاملة بحروف كبيرة وفي حالة استخدام اللغة الانكليزية وكذلك الحروف الاولى فقط من الكلمات ( عدا حروف الجر والاضافة ) المكونة لعنوان البحث ، وتكتب عناوين الباحثين بحروف اعتيادية صغيرة .
5. تقدم خلاصتان وافيتان لكل بحث ، احدهما بالعربية والاخرى بالانكليزية وتطبع على ورقتين منفصلتين بما لا يزيد على (250) كلمة لكل خلاصة.
6. يشار الى المصدر برقم يوضع بين قوسين بمستوى السطر نفسه بعد الجملة مباشرة وتطبع المصادر على ورقة منفصلة ، ويستخدم الاسلوب الدولي المتعارف عليه عند ذكر مختصرات اسماء المجلات.
7. يفضل قدر الامكان تسلسل البحث ليتضمن العناوين الرئيسية الاتية : المقدمة ، طرائق العمل ، النتائج والمناقشة و الاستنتاجات، المصادر، وتوضع هذه العناوين دون ترقيم في وسط الصفحة ولا يوضع تحتها خط وتكتب بحروف كبيرة عندما تكون بالانكليزية .
8. يتبع الاسلوب الاتي عند كتابة المصادر على الصفحة الخاصة بالمصادر: ترقيم المصادر حسب تسلسل ورودها في البحث ، يكتب الاسم الاخير ( اللقب) للباحث او الباحثين ثم مختصر الاسمين الاولين فعنوان البحث ، مختصر اسم المجلة ، المجلد او الحجم ، العدد ، الصفحات ، (السنة) . وفي حالة كون المصدر كتابا يكتب بعد اسم المؤلف او المؤلفين عنوان الكتاب ، الطبعة ، الصفحات ، (السنة) الشركة الناشرة ، مكان الطبع .
9. بخصوص اجور النشر يتم دفع مبلغ (25000) عشرون الف دينار عند تقديم البحث للنشر وهي غير قابلة للرد ومن ثم يدفع الباحث (25000) عشرون الف دينار اخرى عند قبول البحث للنشر وبهذا يصبح المبلغ الكلي للنشر خمسون الف دينار .

## المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
تأثير المعطرات وموانع التعرق في بكتريا الجلد المعزولة من منطقة الإبط	7-1
اسراء عبد الجبار ابراهيم	
دراسة الظروف المثلى لانتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريث من العزلة المحلية <i>Pseudomonas fluorescence</i> PF6	16-8
عصام فاضل الجميلي و نجوى شهاب احمد و واثق عباس الدراغي	
التأثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية الطبية تجاه بعض العزلات البكتيرية	28-17
رغد اكرم عزيز و شهباء حميد مجيد و أمينة محمد علي	
تقييم القدرة المضادة للتطهير للمركبات الفلافونويدية المستخلصة من نبات الروجة . <i>Hypericum perforatum</i> L في الفئران المختبرية	38-29
شذى علي شفيق و رنا عزيز و امل كاظم جلوب	
تأثير المعاملة بالمبيد الفطر الحيوي <i>Trichoderma koningii</i> والمبيدين الكيماوين بروليكس وثيوفنيت ميثيل 70 على نمو وانتاجية نبات الباذنجان <i>Solanum melongena</i> L	46-39
عماد عيال مطر و بدر محمد عباس العزاوي	
اختزال الضوضاء الجمعية من الاشارة الكلامية باستخدام مرشح المعدل المحسن	59-47
احلام مجيد كاظم و علي عبد داود الزكي	

## تأثير المعطرات ومانعات التعرق في بكتريا الجلد المعزولة من منطقة الإبط

اسراء عبد الجبار ابراهيم  
كلية التربية- ابن الهيثم قسم علوم الحياة

تاريخ تقديم البحث 2009/6/1 - تاريخ قبول البحث 2010/3/22

## ABSTRACT

The study included isolation and identification of bacterial isolates from the armpit to 50 volunteers, diagnosed within the three groups of bacteria including coagulase negative *Staphylococcus*, coagulase positive *Staphylococcus* and *Micrococcus* spp. Measured concentration of aluminum ions for seven types of deodorants and antiperspirants commercially available in the local market ranged from 3.1-21.37%. To know the impact of these products on such bacterial isolates, their inhibitive effect was tested using the nutrient agar culture *in vitro*. These products (containing aluminum salts) gave an adverse effect on the bacterial isolates ranging from 14.28-100%. The proposed alternative materials (fresh lemon juice and rose water), which are free of salts of aluminum, gave an adverse effect ranging from 80-100% for fresh lemon juice and 0-75% for rose water. Hence, both these alternatives can be considered as safer products in comparison with such deodorants and antiperspirants adopted as alternative to a safer health of those products.

## الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص عزلات بكتيرية من منطقة الإبط لخمسين متطوعاً، شخّصت ضمن ثلاث مجاميع بكتيرية رئيسية هي *Staphylococcus* coagulase positive و *Staphylococcus* coagulase negative و *Micrococcus* spp. قيس تركيز أيونات الألومنيوم لسبعة أنواع من المعطرات ومانعات التعرق التجارية المتوفرة في الأسواق المحلية ووجد أنها تتراوح بين 3.1-21.37%. ولمعرفة تأثير هذه المنتجات على مثل هذه العزلات، اختبر تأثيرها المثبط باستخدام طريقة الزرع بالأكار المغذي في الزجاج. وقد وجد أن هذه المنتجات (الحاوية على أملاح الألومنيوم) أعطت تأثيراً مضاداً للعزلات البكتيرية تراوحت نسبته بين 14.28-100%، فيما أعطت المواد البديلة المقترحة (عصير الليمون الطازج وماء الورد)، الخالية من أملاح الألومنيوم، تأثيراً مضاداً تراوحت نسبته بين 80-100% لعصير الليمون الطازج و 0-75% لماء الورد. لذا يمكن اعتماد هذين البديلين كمنتجات أكثر أماناً مقارنة مع تلك المعطرات ومانعات التعرق.

## المقدمة

تحتوي منطقة الإبط في الإنسان على عدد غزير من الغدد العرقية والدهنية. وتفرز تلك الغدد مواداً تستقر على سطح الجلد وتعمل على غلق المسام مما يسمح للبكتريا المتواجدة على سطحه بالتضاعف وبالتالي ظهور الروائح المميّزة وأحياناً تؤدي إلى حدوث الإلتهاب (1). لذا يلجأ عدد كبير من الناس إلى استخدام المعطرات أو مضادات التعرق قبل تركهم منازلهم (2)، إذ تعمل المعطرات على تغطية رائحة الجسم بينما تمنع مضادات التعرق إستمرار إفراز مادة العرق (3). وتشكل مركبات الألومنيوم (على هيئة أملاح) المكون الرئيس لأغلب مانعات التعرق المصنعة تجارياً ومنها aluminum trichlorohydrate، aluminum chloride، aluminum hydroxybromid (2). ولم يقتصر إستعمال هذه المعطرات حديثاً بل ورد في الأدبيات الصينية والمصرية إستعمال الشب potassium alum عاملاً مختزلاً لرائحة الجسم (4). وأظهرت دراسة محلية سابقة (5) إن 40.6% من مانعات التعرق المستخدمة تحتوي على أملاح الألومنيوم. وحذر كثير من الباحثين من الإستعمال الواسع لأملاح الألومنيوم، لقدرة



الألمونيوم الحر  $Al^{+++}$  على المرور بحرية خلال أنسجة وأعضاء الجسم مثل الغضاريف، نخاع العظم، الكبد، الكلى والدماغ (4). كما يرتبط عنصر الألمونيوم بحالات سرطان الثدي breast cancer حيث يرتبط عنصر الألمونيوم مع مستقبل هرمون الإستروجين MCF7 مما يؤثر في تعبير الجين gene expression (6) وأشار بحث آخر (7) إلى فعالية aluminum zirconium في إتلاف الحامض النووي الديوكسي رايبوزي DNA في خلايا Madin- Darby Canine Kidney Cells. كما أشارت دراسة أخرى أجريت على الفئران المختبرية (8)، إلى إن قدرة إمتصاص كلوريد الألمونيوم عن طريق الجلد هي أضعاف ما يتم إمتصاصه عن طريق الفم. وسجل بعض الباحثين تواجد تراكيز متباينة للألمونيوم في أنسجة دماغ المصابين بمرض الزهايمر Alzheimer's disease (9). ولعدم وجود دراسة محلية لتقييم التأثير المباشر للمعطرات وموانع التعرق على بكتريا الجلد، فقد صمم البحث لاختبار ما يلي:

- 1- تحديد تركيز عنصر الألمونيوم في عدد من المعطرات وموانع التعرق التجارية.
- 2- اعتماد طريقة مبسطة لتحديد كفاءة أي معطر أو مانع للتعرق.
- 3- تحديد فعالية أملاح الألمونيوم على البكتريا المعزولة من منطقة الإبط.
- 4- إقتراح بدائل طبيعية لمزيلات رائحة العرق وبأقل تأثير جانبي.

## المواد وطرائق العمل

### جمع العينات البكتيرية

جمعت 50 عزلة بكتيرية هوائية من منطقة الإبط لمتطوعين وباستعمال المسحة القطنية المعقمة. تم تنبيه المتطوعين بالتوقف عن إستعمال المعطرات وموانع التعرق قبل 24 ساعة من جمع العينة. شخّصت العزلات البكتيرية إستناداً إلى Forbes *et al.* (10).

### قياس عنصر الألمونيوم

قدر تركيز الألمونيوم في المعطرات وموانع التعرق قيد الدراسة باستعمال جهاز Atomic Absorption Flame /Shimodzu 680G باستخدام غاز الأستلين/النايتريز (الطول الموجي لعنصر الألمونيوم 309 نانوميتر)، في مركز ابن سينا/ وزارة الصناعة والمعادن. تم أخذ وزن معين من النموذج (0.6207 غرام) في بيكر مع إضافة الماء الملكي المتكون من حجم واحد من حامض الهيدروكلوريك وثلاثة أحجام من حامض النتريك مع الحرارة المناسبة لإزالة المادة الدهنية الداخلة في تركيب المعطر وموانع التعرق قيد الدراسة، عند ذلك يذوب فلز الألمونيوم بالحرارة أما طبقة الدهون الشحمية فتطفو في أعلى البيكر لتشكل طبقة صلبة. فصلت الطبقة المائية عن الطبقة الصلبة. سحبت الطبقة المائية وأكمل النموذج إلى حجم 25 مل وتم قياس عنصر الألمونيوم باعتماد عينات قياسية مجهزة من قبل المركز نفسه.

### المعطرات وموانع التعرق قيد الدراسة

تم اختبار سبعة أنواع من المعطرات وموانع التعرق التجارية المتوفرة في الأسواق المحلية وهي Lady speed stick 1، Lady speed stick 2، Dove، Rexona، Silver، Axe، Alum حددت مواصفاتها في الجدول (1). تحتوي المنتجات المذكورة إضافة إلى المواد الفعالة، مواد غير فعالة تدخل في تركيب المنتج مثل المواد اللونية، المواد العطرية، وسط لإذابة المادة الفعالة، مركبات لحماية المنتج من التلوث بالأعفان ومواد مرطبة. وتم إجراء عملية إزالة الدهون من تلك المنتجات، لإحتواء عدد منها على مركبات دهنية مثل sunflower oil، butter fat، castor oil، glycerol وباستعمال خليط من المذيبات العضوية وكالاتي: 1acetone:2water:2petroleum ether (60-80°C) (11،12). تم مزج غرام واحد من العينة وخليط من المذيبات العضوية وبمقدار 4 مل ماء مقطر و 4 مل



الإيثر النفطي وملليتر واحد أسيتون وباستعمال قمع الفصل. رشح المحلول باستعمال مرشح دقيق بقطر 0.22 مايكروليتر وحفظ في قناني معقمة حتى الإستعمال.

### المواد الطبيعية البديلة

عصير حامض الليمون الطازج fresh lemon juice بتركيز 100%، ماء الورد flower water بتركيز 100% (معمل الياسمين لتحضير العطور، بغداد) والمستعمل كمعطر في صناعة الحلويات.

### اختبار حساسية العزلات البكتيرية تجاه المعطرات وموانع التعرق التجارية والمواد الطبيعية البديلة

لقت أطباق حاوية على وسط الاكار المغذي Nutrient agar بالعزلات البكتيرية قيد الدراسة نمطة لمدة 18 ساعة وبعدد تقريبي  $5 \times 10^4$  CFU/ml وبالإعتماد على أنبوب ثابت العكورة القياسي MacFarland standard. وزعت أقراص ترشيح معقمة وبقطر 5 ملليمتر على سطح الأطباق ومشبعة بالمحاليل قيد الدراسة، ثم حضنت بدرجة 37 لمدة 16-20 ساعة. تم تحديد الفعالية بقياس قطر التثبيط (13).

### النتائج والمناقشة

أظهرت الدراسة الحالية إن تركيز أيونات الألمونيوم الحر في المعطرات وموانع التعرق التجارية تراوحت بين 3.1-21.37 % (الجدول 1). وعلى الرغم من كون هذه التراكيز ضمن ما حددته منظمة الغذاء والدواء FDA، وعلى الرغم من أن تراكيز أملاح الألمونيوم المسموح بها في موانع التعرق يتراوح بين 8-25 % (14)، إلا إن عددا من البحوث أشارت إلى إن الاستعمال المستمر لموانع التعرق يؤدي إلى تراكم عنصر الألمونيوم في الأنسجة (4) مما يسبب مشاكل صحية على المدى البعيد وأن تواجد أيون الألمونيوم في دم المستخدمين لموانع التعرق يستمر لمدة 15 يوما بعد استخدامه في منطقة الإبط (15). وأشارت دراسة سابقة لعلاقة الاستعمال المنتظم والمستمر لموانع التعرق بالإصابة بسرطان الثدي (16). وأن قدرة إمتصاص الألمونيوم وتأثيره يزداد عند المصابين بنقص امتصاص الكالسيوم المزمن chronic calcium deficiency (17). يتراوح التركيز السمي للألمونيوم في خلايا دماغ القط بين 4-6 مايكروغرام لكل غرام من الوزن الجاف للخلايا (18). والتعرض المستمر إلى الألمونيوم بتركيز 25 ملغم/ كلغم من وزن الجسم يؤدي وبصورة ملحوظة إلى إنخفاض في محتوى دماغ القرد من الليبيدات الكلية، الليبيدات المفسفرة والليبيدات الكلايوجينية (19).

شخصت ثلاث مجاميع من بكتريا الجلد لخمسين متطوعا، وكانت كالتالي: 38 عزلة coagulase positive *Staphylococcus*، وثمان عزلات *Micrococcus* spp. (الجدول 2). حوالي 90% من الرجال و 70% من النساء يمتلكون أنواعا متباينة من بكتريا الجلد لمنطقة الإبط مسؤولة عن رائحة الجسم (20). وتشمل أربع مجاميع بكتيرية أساسية هي *Staphylococcus*، *Micrococcus*، *Propionibacteria*، aerobic Coryneforms فضلا عن فطريات الجنس *Malassezia* (21).

يوضح الجدول (2) نتائج الفعالية ضد الميكروبية لتأثير كل من المعطرات وموانع التعرق التجارية قيد الدراسة مقارنة مع المنتجات الطبيعية الأخرى والمعروفة قديما كمواد معطرة للجسم مثل ماء الورد وعطر الليمون. تراوح تأثير المعطرات وموانع التعرق التجارية المحتوية على الألمونيوم وكما يلي: على البكتريا coagulase negative *Staphylococcus* بين 14.28-81.8% وأظهرت تلك المنتجات فعالية بنسبة 100% على البكتريا coagulase positive *Staphylococcus*. يعتبر مركب 3-methyl botanic acid المركب الأساس المسؤول عن رائحة الجسم والنتائج من الفعل الأيضي لبكتريا *Staphylococcus epidermidis* (22).

أظهر الشبب alum (المصنع محليا) بتركيز 5.96% للألمونيوم، تأثير مثبطا لنمو البكتريا المعزولة من منطقة الإبط تراوحت نسبته بين 75-83.3%. علما أنه لا توجد دراسة سابقة تحدد تركيز الألمونيوم المؤثرة على نشاط البكتريا يمكن اعتمادها للمقارنة، في حين تشير أغلب الدراسات على الحيوانات المختبرية أو أنسجة المصابين بسرطان الثدي أو الزهايمر إلى وجود نسبة عالية من الألمونيوم نتيجة تراكمها (23، 24).

أظهر عصير الليمون الطازج نسبة تأثير مثبطة تراوحت بين 80-100% في مجموع العزلات البكتيرية. وهذا يعزز حقيقة إن رذاذ عصير الليمون في الهواء يلعب دورا مهما في السيطرة على أعداد بكتريا typhoid، meningococcus، Staphylococcus، pneumococcus خلال 15-180 دقيقة (25). ومن الجدير بالذكر إن عصير الليمون الحامض يحتوي على المواد التالية: calcium, copper, folic acid, magnesium, manganese, phosphorus, zinc, vitamin B6, potassium, vitamin C bioflavonoid، anti-bacteria (26) ويحتوي أيضا على 5% من حامض الستريك. وبسبب انخفاض الحامضية في عصير الليمون والتي تتراوح بين 2-3، فإنه يساعد على إزالة رائحة الفم الناتجة بفعل البكتريا (27). وللفعالية التطهيرية antiseptic لعصير الليمون فإنه يستعمل في تنظيف بشرة الوجه (26).

أظهر ماء الورد flower extract تأثيرا اقل على كل من coagulase negative Staphylococcus، coagulase positive Staphylococcus مقارنة مع عصير الليمون إذ تراوحت الفعالية بين 0-75%. وفي دراسة مبكرة، أظهرت بتلات عدد من أنواع النباتات الفعالية ضد الميكروبية (28). وأشار أحد الباحثين إلى الفعالية ضد الميكروبية لآزهار نبات Rosa damascena ضد كل من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام (29).

تشير نتائج الدراسة الحالية إلى أهمية اعتماد محددات جديدة في مجال عمل التقييس والسيطرة النوعية وذلك بالإشارة إلى بعض المركبات الفعالة الداخلة في تصنيع مواد التجميل والمعطرات عموما، وتحديد نسبة تلك المواد وبيان تأثيرها المباشر على المستهلك وعلى المدى البعيد. ونتيجة تباین المحتوى المايكروبي للأفراد واختلاف تأثير فعالية المواد المعطرة ومضادات التعرق على البكتريا المعزولة، يمكن اعتماد الطريقة المستعملة في الزرع البكتيري أنفة الذكر لتحديد كفاءة تلك المواد لأي مستخدم، وذلك بأخذ مسحة من الشخص المعني وتقييم فعالية المنتجات التي يفضلها.

جدول-1: أهم مواصفات المعطرات وموانع التعرق التجارية المستخدمة

العينة	المنتشا	التأثير	النوعية	المكون الفعال	تركيز الألمونيوم Al <sup>+++</sup> %
Lady speed stick 1	Jordan	مانع تعرق ومعطر	صلبة	Aluminum chlorohydrate	5.18
Lady speed stick 2	Jordan	مانع تعرق ومعطر	صلبة	Aluminum zircounium	3.1
Dove	USA	مانع تعرق ومعطر	صلبة	Aluminum zircounium tetrachlorohydrate	3.59
Rexona /men	Egypt	مانع تعرق ومعطر	سائلة	Aluminum chlorohydrate	21.37
Alum	Iraq	مانع تعرق	صلبة	Potassium alum K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> AL <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 2H <sub>2</sub> O	5.96
Axe	India	معطر	رذاذ	Ethanol	----
Silver	France	معطر	رذاذ	Octoxyglycerin	----



جدول-2: فعالية المعطرات وموانع التعرق ومنتجات طبيعية أخرى ضد البكتريا المعزولة من منطقة الإبط

المعطرات وموانع التعرق التجارية المستعملة								Flower extract (%)	Fresh lemon juice (%)	البكتريا المعزولة (وعددتها)
Alum stock (%)	Ethanol (75%)	Silver (%)	Axe (%)	Rexona /men (%)	Dove (%)	Lady speed 2 (%)	Lady speed 1 (%)			
83.3	33.3	0	57.14	14.28	81.8	75	62.5	27.27	80	<i>Staphylococcus coagulase negative</i> (38)
75	66.6	100	0	100	100	100	100	0	100	<i>Staphylococcus coagulase positive</i> (4)
75	50	0	0	100	50	75	50	75	100	<i>Micrococcus</i> (8)

ملاحظة:- قطر قرص ورقة الترشيح 5 ملم، وقطر منطقة التثبيت يتراوح بين 8 - 30 ملم

## المصادر

1. Natsch A., Gfeller H., Gygax P., Schmid J. and Acuna G. A specific bacterial aminoacylase cleaves odorant precursors secreted in the human axilla. J. Biol. Chem. 278(8): 5718-5727 (2003).
2. Achtert S., Scholermann A., Schreiber J., Dieck K.H., Rippke F. and Bielfeldt S. Axillary pH and influence of deodorants. Sk. Res. Tech. 6: 87-91 (2000).
3. Laden K. Antiperspirants and deodorants, 2<sup>nd</sup> edition, (1999). CRC Press, London.
4. Deodor T. Natural deodorant. (2008). <http://www.pure-earth.com/deodorant.htm>
5. Ibrahim I.A-J and Hadaria S. A-M. The microbiology of the human axilla among some students and employee of the College of Education- Ibn Al-Haitham, University of Baghdad. Ibn Al-Haitham J. Pure Appl. Sci. (Accepted April 2009).
6. Darbre P.D. Aluminum, antiperspirants and breast cancer. J. Inorg. Biochem. 99(9): 1912-1919 (2005).
7. Gloria Y. Antiperspirant induced DNA damage in canine cells by comet assay. Toxicol. Mech. Meth. 15(1): 25-28 (2004).
8. Anane R., Bonini M., Grafeille J.M. and Creppy E.E. Bioaccumulation of water soluble aluminum chloride in the hippocampus after transdermal uptake in mice. Arch. Toxicol. 69(8): 568-571 (1995).
9. Marytn C. Geographical relationship between Alzheimer's disease aluminium in drinking water. Lancet 1: 59 (1989).

10. Forbes B.A., Sahm D.F. and Weissfeld A.S. Diagnostic Microbiology, 11<sup>th</sup> edition. pp. 323-332 Bailey & Scotts. Mosby, Missouri(2002).
11. Mohriy R.J., Hammond C.N., Morrill T.C. and Neckers D.C. Experimental organic chemistry. pp.749-759 (1998). W.H. Freeman, New Delhi.
12. Bahl A. and Bahl B.S. A text book of organic chemistry. pp.535-547 S. Chand Co. New Delhi(2005).
13. Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Pfaller M.A. and Tenover F.C. Manual of Clinical Microbiology. 7<sup>th</sup> edition, pp.449-450 (1999).ASM Press, Philadelphia.
14. Rados C. Antiperspirant awareness: Its mostly no sweat. FDA Consumer Magazine. US Food and Drug Administration, (2008). [http://www.fda.gov/fdac/features/2005/405\\_sweat.htm](http://www.fda.gov/fdac/features/2005/405_sweat.htm).
15. Bin F.R.T., Elmore D. and Hemb S.L. A preliminary study of the dermal absorption of aluminum from antiperspirant using aluminium-26. Food Chem. Toxicol. 39: 163-168 (2008).
16. Mirick K.D., Davis S. and Thomas B.D. Antiperspirant use and the risk of breast cancer. J. Nat. Cancer Inst. 94(20): 1575-1580 (2002).
17. Gitelman H.J. Aluminium and health: A critical review. (1988). CRC Press, London.
18. Crapper D.R., Krishnan S.S. and Quittkat S. Aluminum, neurofibrillary degeneration and Alzheimer's disease. Brain. 99(1): 67-80 (1976).
19. Sarin S., Gupta V. and Gill K.D. Alterations lipid composition and neuronal injury in permit chronic aluminum exposure. Biol. Trace Elem. Res. 59(1-3): 133-143 (1997).
20. Alekyovska A. Thread for armpit odor. (2004). <http://www.physicsfofums.com/showedthread.php?t=42543>.
21. Taylor D., Daulby A., Grimshaw S., James G., Mercer J. and Vaziri S. Characterization of the microflora of the human axilla. Int. J. Cosmet. Sci. 25(3): 137-145 (2003).
22. Marshall J., Holland K.T. and Gribbon E.M. A comparative study of the cutaneous microflora. J. Appl. Bacteriol. 65(1): 61-68 (1988).



23. McGrath K.G. An earlier age of breast cancer diagnosis related to more frequent use of antiperspirants, deodorant and underarm shaving. *Eur. J. Cancer Prev.* 12(6): 476-485 (2003).
24. Exley C. and Birchall J.D. The cellular toxicity of aluminium. *J. Theoret. Biol.* 159: 83-98 (1992).
25. Pederson K. Lemon juice health benefits. (2008).  
[http://ezinearticles.com/?expert=keven\\_pederson](http://ezinearticles.com/?expert=keven_pederson).
26. Morton J.F. Fruits of warm climates. (1999). Morton J.F., Miami.
27. Pavia M., Pileggi C., Nobile CG. and Angelillo IF. Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: A meta-analysis of observational studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 83(5): 1126-1134 (2006).
28. Fabry W., Okemo P.O. and Ansorg R. Antibacterial activity of East African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 60: 79-84 (1998).
29. Ozkan G., Sagdic O., Baydar N.G. and Baydar H. Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. *Food Sci. Technol. Int.* 10(4): 277-281 (2004).

## دراسة الظروف المثلى لانتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت من العزلة المحلية *Pseudomonas fluorescence* PF6

عصام فاضل الجميلي و نجوى شهاب احمد و واثق عباس الدراغي  
فرع التقنية الاحيائية / معهد الهندسة الوراثية والتقنية الاحيائية للدراسات العليا / جامعة بغداد

تاريخ تقديم البحث 2009/3/8 - تاريخ قبول البحث 2009/10/5

### ABSTRACT

The viability of six locally bacteria *Pseudomonas fluorescence* on the production of Poly-hydroxy-beta hydrobutrate (PHB), three isolates have the ability for (PHB) accumulation, *Pseudomonas fluorescence* PF6 highest strains (PHB) producer 12.45% after Sudan black stain that is the appearance of black crystals-blue in the cell. The effect of different conditions on the (PHB) production, examined the optimal conditions by use mineral salts containing 1% glucose source and tryptone as nitrogen source and inoculum conc.  $1 \times 10^8$  cell / ml. The highest productivity 54.34% when pH 7, temperature 28°C.

### الخلاصة

اختبرت قابلية ستة عزلات محلية من بكتريا *Pseudomonas fluorescence* على انتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت PHB ، وظهرت ثلاثة عزلات القابلية على الانتاج بعد التصبغ بصبغة الاسود السودان بظهور بلورات سوداء- زرقاء اللون داخل الخلية وانتخبت العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 بكونها الاغزر انتاجا اذ بلغت انتاجيتها 12.45% . درس تأثير الظروف المثلى لانتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت باستخدام وسط الاملاح المعدنية والحاوي على 1% كلوكوز كمصدر كاربوني والتربتون كمصدر نايتروجيني وتركيز اللقاح  $10^8 \times 1$  خلية / مليلتر واعطت أعلى انتاجية اذ بلغت 54.34% عند رقم هيدروجيني 7 ودرجة حرارة الحضانة 28 °م.

### المقدمة

بعد متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت PHB من البوليمرات الحيوية المشتقة من المصادر الطبيعية القابلة للتدوير والتحلل الحيوي ويمتاز بشكله السائل غير المتبلور ليتحول الى مادة صلبة عالية التبلر هشة عند الاستخلاص بالمذيبات العضوية (1) .  
متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت هو المصدر البديلة للبلاستيك الذي يمتلك الصفات الفيزيائية المشابهة للبوليمر (polypropylene) والتي يمكن تحليلها حيويًا (Biodegradable) بسهولة بفعل الظروف الهوائية واللاهوائية (2). يعزل PHB من الساييتوبلازم كما انه يتربط برابطه استريه تشكل PHB . تعد بكتريا *Alcaligenes eutrophus* من الاحياء الرائدة في مجال انتاج PHB والتي تعطي حوالي 80% من وزنها الجاف (3) ' وحاليا تستخدم في مجال المزارع المستمرة وعلى نطاق تجاري (4) . ان PHB له استخدامات متعددة في مجال استبدال العظام و الاظافر والبراغي المثبتة للعظام (5) وفي مجال معالجة التهاب نقي العظام (6) .

وجد Arun (7) بان انتاج PHB من قبل بكتريا *Alcaligenes eutrophus* بلغ اعلى كميًا عند زراعتها على وسط التركيبى محدود النتروجين وبالمقابل اعطت الاوساط الزراعية الصلبة من الزراعة اعلى انتاجية سيما بقايا محصول زيت السمسم باعتباره مصدر كاربوني . في حين وجد Mercan وجماعته (8) بان عزلات البكتريا *Rhizobium spp.* تنتج اقل كمية من PHB عند زراعتها في وسط مستخلص الخميرة الحاوي على المانتول وبلغ أعلى مستوى للانتاج عند زراعتها في وسط حاوي على الحامضين الامينيين الستانيين والكلايسين إذ بلغت 0.285 غرام / لتر وبنسبة 74.03% بعد مرور 48 ساعة . ووجد (9)

Murray et al. بان التراكيز العالية من المصدر الكربوني يؤدي الى تثبيط التعبير الجيني المسؤول عن انتاج الانزيمات التي لها دور في تخليق متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت وتعمل على تثبيط الفعاليات الحيوية للبكتريا وانخفاض سرعة النمو لزيادة الضغط الازموزي (10).  
استخدمت بكتريا *E.coil* الحاوية على البلازميد الخاصة بالجين المسؤول عن التعبير لمركب متعدد PHB والماخوذ من بكتريا *Azotobacter sp.* لزيادة انتاجية متعدد PHB من مخلفات منتجات الالبان كالشرش إذ بلغت الانتاجية 72.9% بعد مدة حضن 24 ساعة (11 و 12).

في دراسة وجدت تاج الدين (13) بان بكتريا *Pseudomonas cepacia* PS3 المعزولة محليا من مصادر بيئية مختلفة (مياه وتربة) اعطت اعلى انتاجية من PHB بلغت 54.4% وذلك بتنميتها في وسط الاملاح المعدنية بتركيز 0.25 غرام /لتر من كلوريد الامونيوم و 10 غرام /لتر كلوكلوز وبكمية لقاح  $10^6 \times 1.8$  عند رقم هيدروجيني (pH 7) ولمدة 45 ساعة من الحضن بدرجة 33 °م في حاضنة هزازة بسرعة 250 دورة / دقيقة.  
تهدف الدراسة الحالية الى دراسة قابلية العزلات المحلية من بكتريا *Pseudomonas fluorecence* على انتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت وتحديد تأثير ظروف المختلفة (المصدر النايتروجيني و الكربوهيدراتي وحجم اللقاح و الرقم الهيدروجيني الابتدائي ودرجة الحرارة المثلى) في زيادة الانتاج.

#### المواد وطرائق العمل

تم الحصول على ستة عزلات بكتيرية من *Pseudomonas fluorescence* والمعزولة من بنبات مختلفة (تربة ومياه واماكن نفايات) والمتوفرة في معهد الهندسة الوراثية فرع التقنية الاحيائية / جامعة بغداد وبعد التأكد منها بالفحص التشخيص المجهرى وفقا لماورد في (14).

نميت بكتريا *Pseudomonas fluorescence* على وسط الاملاح المعدنية Mineral salt broth المستخدم في انتاج PHB والجاي على كلوكوز وفوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين وكلوريد الامونيوم وكبريتات المغنيسيوم وكلوريد الحديد وبرقم هيدروجيني 7.0 (15).

تم الكشف عن انتاج PHB بمعاملة البكتريا بصبغة اسود السودان وفق الطريقة الموصوفة من قبل (13). اما عملية التخمير فقد تمت في دوارق حجم 250 مليلتر تحتوي على 100 مليلتر من الوسط الانتاجي وحضنت بدرجة حرارة 30 °م في حاضنة هزازة بسرعة 100 دورة / دقيقة لمدة 48 ساعة.

#### استخلاص متعدد بيتا هيدروكسيد بيوتاريت

تم استخلاص PHB وفق الطريقة الموصوفة من قبل (15) وذلك بنبذ المزروع البكتيري بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 xg لمدة 10 دقائق وبعدها اخذ الراسب واضيف اليه محلول هايپوكلورات الصوديوم وحضنت بدرجة 37 م لمدة ساعة ثم نبذ مركزيا بسرعة 3000 xg لمدة 10 دقائق وغسل الراسب بالماء المقطر المعقم ونبذ مركزيا بسرعة 3000 xg لمدة 10 دقائق بعدها غسل الراسب بالاسيتون ونبذ مركزيا بسرعة 3000 xg لمدة 10 دقائق ، اخذ الراسب واضيف اليه الكلورفورم مع التسخين بالحمام المائي ثم نبذ مركزيا بسرعة 3000 xg لمدة 10 دقائق بعدها غسل الراسب بالماء المقطر وجفف الراسب الحاوي على PHB بدرجة 45 °م لمدة ساعتين بعدها تم وزنه .

#### تقدير وزن الخلايا الجاف

نبذ المزروع البكتيري 10 مليلتر بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000xg لمدة 10 دقائق واخذ الراسب وغسل مرتين بالماء المقطر ، ثم جففت الخلايا بدرجة حرارة 45 °م لمدة يوم كامل ثم وزنت بالميزان الحساس .



## تقدير وزن متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت

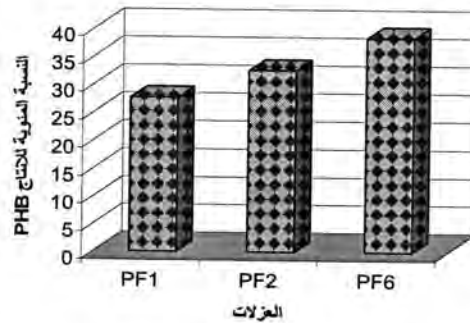
اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Das وجماعته (15) استخلص PHB من الخلايا وجففت بدرجة 50 °م مدة ساعتين ووزن بميزان الحساس وتم حساب النسبة المئوية للمتععد من خلال حساب وزن PHB بالغرام الى وزن الخلايا الجافة (غرام)  $\times 100$ .  
تم تحديد العزلة المحلية المنتجة للمتععد بيتا هيدروكسي بيوتاريت بعد تنميتها على وسط الانتاج المحضر وفق الطريقة الموصوفة من قبل (16) تم الكشف عن الانتاج بمعاملة البكتريا بصبغة اسود السودان .

## تعيين الظروف المثلى لانتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت

زرعت بكتريا *Pseudomonas fluorescence* PF6 في وسط الاملاح المعدنية mineral salt broth المستخدم للانتاج متعدد هيدروكسي بيوتاريت وقد تم استبدال المصدر الكربوني ممثلا بالكلوكوز بمصادر أخرى وهي ( المانتول و المالتوز و السكروز و المانوز و اللاكتوز ) وبتركيز 1% لكل منها ، وفيما يخص اختيار المصدر النايتروجيني وتركيزه فقد تم استخدام مصدر التريتون ونسب مختلفة (1.5-2.5%) فضلا عن كلوريد الامونيوم و كبريتات الامونيوم و نترات الامونيوم والبيتون و مستخلص الخميرة ، فيما يخص حجم اللقاح فقد لقم وسط التخمر باعداد مختلفة من تركيز الخلايا الحية من  $10^{-5}$  الى  $10^{-10}$  (خلية /ملييلتر ، اما الارقام هيدروجينية ابتدائية ( 3 و 4 و 5 و 6 و 7 و 8 و 9) ودرجة الحرارة المثلى للانتاج تراوحت بين ( 25 و 28 و 35 و 37 ) °م .

## النتائج والمناقشة

تم الحصول على 6 عزلات من بكتريا *Pseudomonas fluorescence* بعد ان تم التأكد وتشخيص العزلات، اختبرت قدرة هذه العزلات على تجميع متعدد هيدروكسي الكانويتز (PHB) وذلك من تصبغ الخلايا بصبغة اسود السودان B ، إذ لوحظ احتواء الخلايا البكتيرية على حبيبات سوداء ظهرت بلون اسود -ازرق . ان تصبغ هذه الحبيبات بهذه الصبغة وهي محبة للدهون لان متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت عبارة عن متعدد استرات تتكون من وحدات احادية من احماض دهنية كاربوكسيلية (17) .  
وجد بان ثلاثة عزلات منها قادرة على تجميع متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت . كانت كميات المتعدد المنتج تراوحت بين ( 27.62 - 38.41 %) (الشكل 1) وقد اظهر العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 اعلى كمية اذ انتجت 38.41% . تختلف نسبة تجميع PHB لبكتريا *E.coli* المعدله وراثيا في وسط الاملاح المعدنية الحاوي على المولاس إذ بلغت 39.5 غرام /لتر (19).

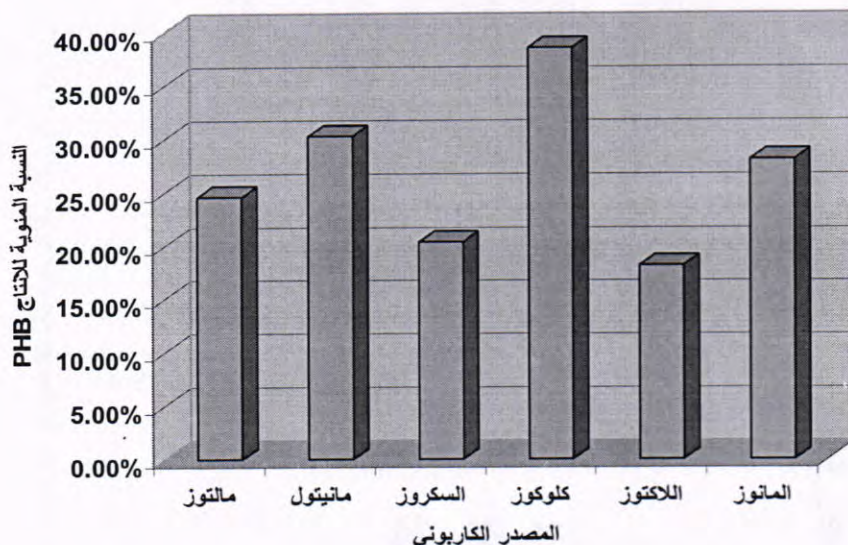


شكل-1 : النسب المئوية لمتعدد هيدروكسي بيوتاريت المنتج من العزلات بكتريا *Pseudomonas fluorescence* PF6



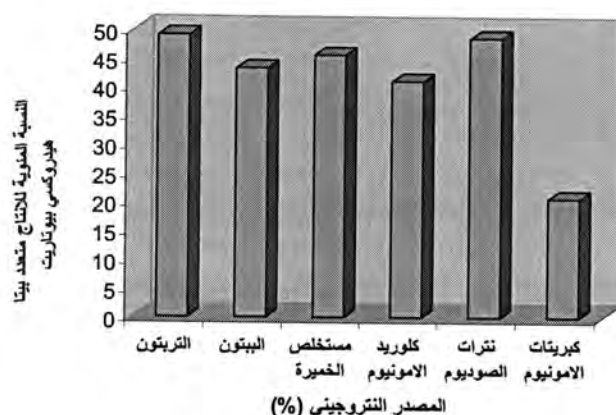
### تعيين الظروف المثلى للانتاج PHB

يتضح من الشكل (2) ان المصدر الكربوني الكلوكوز اعطى اعلى نسبة تجميع لمتعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت بكتريا *Pseudomonas fluorescence* إذ بلغت نسبة التجميع 38.50% ويليه المصدر الكربوني المانتول بنسبة 30.3%. اما اوطى نسبة تجميع فقد حصلت عند استخدام اللاكتوز كمصدر كربوني إذ بلغت 18.20%. لقد استخدم Mercan وآخرون (8) المصدر الكربوني السكروز وكان هو الافضل في تجميع (PHB) من بكتريا *Rhizobium spp.* 2426. اما تاج الدين (13) فقد اشارت الى ان افضل وسط كربوني كان الكلوكوز لتجميع (PHB) المنتج من بكتريا *Pseudomonas. cepacia* PS3.



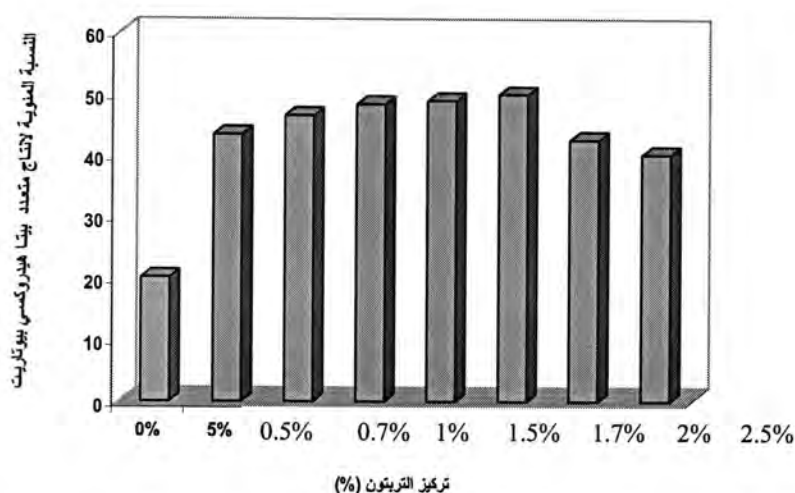
شكل 2- تأثير نوع المصدر الكربوني على النسبة المئوية للتجميع المتعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت من العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 عند درجة حرارة 30 مئوية ولمدة 48 ساعة .

إما المصدر النايتروجيني الامثل للانتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت (PHB) ، فقد اظهرت النتائج ( الشكل 3) بان اعلى نسبة مئوية للانتاج 49.12% عند استخدام التريبتون كمصدر للنايتروجين ، اما كبريتات الامونيوم فقد اعطت اقل كمية من الانتاج اذ بلغت 20.64%. ان PHB لا يحتوي في تركيبه على النتروجين الا ان انتاجه يتغير تبعاً لمصدر النتروجين وتركيزه في الوسط نتيجة تأثيره في العمليات الايضية للبكتريا وربما يعود الى المركبات المرتبطة مع المصدر النايتروجيني (12) . في حين لاحظ Mercan (8) بان اعلى تجميع من متعدد هيدروكسي بيوتاريت من قبل العزلة *Rhizobium spp.* 2426 كان عند استخدام سسائتين والكلايسين كمصدر للنايتروجين اذ بلغ 70% و 61.43% على التوالي اما بالنسبة للعزلة *Rhizobium spp.* 640 فقد كان (13.40% و 56.6%) على التوالي . اما تاج الدين (13) فقد وجدت بان نسبة تجميع متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت في بكتريا *Pseudomonas cepacia* PS3 كانت 34.1% عند استخدام كلوريد الامونيوم كمصدر نايتروجيني. في دراسة لكل من Khanna و Sirvastava (20) باستخدام بكتريا *Wautersia eutropha* وجد بان اليوريا كانت افضل مصدر نايتروجيني بتركيز 2.5 غرام / لتر عند استخدام المزارع المستمرة وبوجود فركتوز بتركيز 90 غرام / لتر إذ اعطت كتلة حيوية بلغت 27.7 غرام / لتر مع تركيز للـ PHB بلغ 5.5 غرام / لتر .



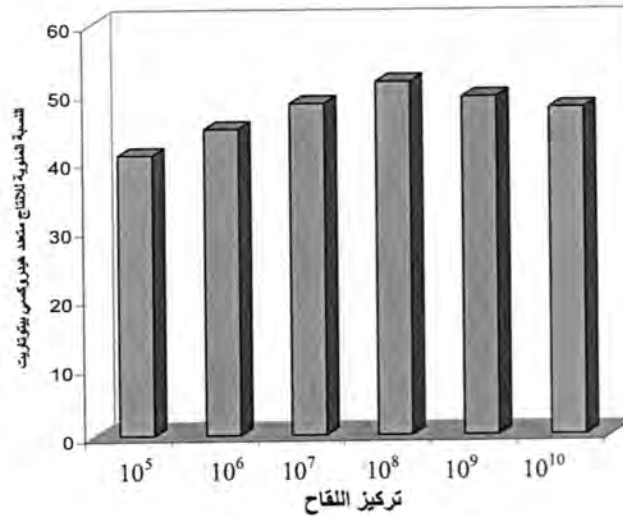
شكل-3: تأثير المصدر النيتروجيني على النسب المئوية لتجميع متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت في العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 عند درجة حرارة 30 مئوية ولمدة 48 ساعة .

عند دراسة التركيز الأمثل للتريتون كمصدر نيتروجيني فقد اظهرت النتائج ( الشكل 4 ) ان نسبة التجميع متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت بلغت 55.04% عند التركيز 1.7% ، في حين بلغت اقل نسبة تجميع للمتعقد عند تركيز 0% للتريتون اذ بلغت 20.23% .



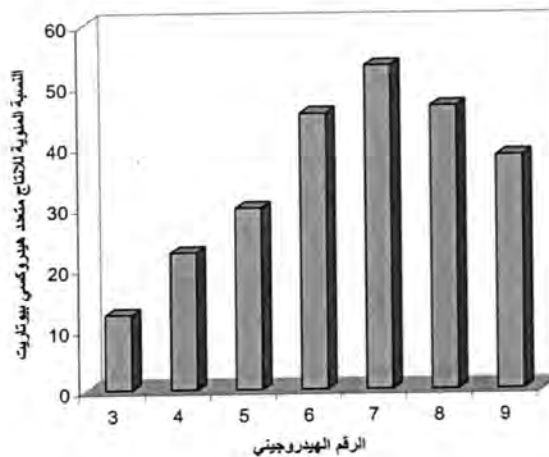
شكل -4: النسب المئوية لتجميع PHB في العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 عند تنميتها في اوساط حاوية على نسب مختلفة من التريتون . عند درجة حرارة 30 مئوي ولمدة 48 ساعة.

اما التركيز الأمثل للحجم اللقاح للانتاج لمتعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت فقد اظهرت النتائج ( الشكل 5 ) ان اللقاح بتركيز  $10^8$  كان التركيز الأمثل للانتاج اذ كانت نسبة الانتاج 51.46% ، وكانت النتائج الانتاج تزداد وصولا الى التركيز الأمثل لحجم اللقاح بعدها انخفض الانتاج بعد زياد تركيز حجم اللقاح الى  $10^{10}$  اذ بلغت الانتاجي 47.64% . جاءت هذه النتائج متقاربة مع ماتوصلت اليه تاج الدين (13) إذ بلغت الانتاجية لمتعقد بيتا هيدروكسيد بيوتاريت 50.8% عند تركيز حجم اللقاح  $1.8 \times 10^6$  خلية / مليلتر .



شكل 5: النسب المئوية لتجميع متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت PHB في العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 عند تلقيح وسط الإنتاج بأعداد مختلفة من الخلايا عند حضنها بدرجة 30 °م ومدة 48 ساعة.

إما الرقم الهيدروجيني الأمثل لإنتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت PHB فقد كان 7 ، إذ بلغت النسبة المئوية للإنتاج 53.12 % ، وقد قلت الإنتاجية بصورة كبيرة عند الرقم الهيدروجيني 3 وكانت 12.34 % ( الشكل 6 ) . أما دراسة تاج الدين (13) فقد أكدت في بان أفضل رقم هيدروجيني لإنتاجية متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت كان عند الأرقام المتعادلة (6.5-7.5) إذ بلغت الإنتاجية 51.5% في الوسط ذي الرقم الهيدروجيني 7 .

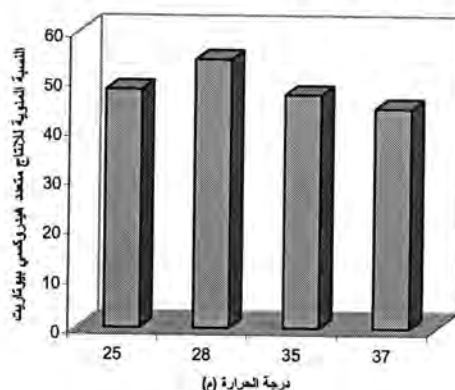


شكل 6: النسب المئوية لإنتاج المتعدد في العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 عند تنميتها بأرقام هيدروجينية مختلفة عند حضنها بدرجة 30 °م ومدة 48 ساعة .

إما درجة الحرارة المثلى لتجميع متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت في بكتريا *Pseudomonas fluorescence* فكانت 28 °م إذ بلغت الإنتاجية عندها 54.34% كما في الشكل (7) ، وقد قلت الإنتاجية عند درجة الحرارة 37 °م إذ بلغت 44.53% . ذكرت تاج



الدين (13) انتاجية بكتريا *Pseudomonas cepacia* PS3 من متعدد PHB فقد بلغت 54.99% عند درجة حرارة 33 °م.



شكل 7: النسب المئوية لانتاج المتعدد في العزلة *Pseudomonas fluorescence* PF6 عند تنميتها بدرجات حرارية مختلفة لمدة 48 ساعة.

من الدراسة الحالية يمكن ان نستنتج بان أنتاج متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت من العزلة المحلية *Pseudomonas fluorescence* PF6 وبكميات عالية عن طريق تحسين ظروف الانتاج وبالتالي التحكم في زيادة الانتاجية ولكن هنالك الطرائق الهندسة الوراثية التي بواسطتها يمكن زيادة الانتاجية عن طريق ادخال الجين المسؤول عن المتعدد PHB والمعروفة حالياً بـ *pha* الى بكتريا *E.coli* والتي دخلت الان في مراحل الانتاج الصناعي وعلى المستوى العالمي.

#### المصادر

1. Doi, Y. Microbiol. Synthesis physical properties and biodegradability of polyhydroxy alkanoates. Macromol. Syn. 98:585-599 (1995).
2. Hankermeyer, C.R. and Jieerde, R.S. Polyhydroxybutrate plastic and degraded by microorganism. Appl. Environ. 64:2859-2863 (1998).
3. Doi, Y.; Kunioka, M.; Nakamura, Y. and Soga, K. Biosynthesis of copolyester acetone and propionate. Macto. Molecules. 20: 2988-2991 (1987).
4. Gostomski, P.A. and Bungay, H.R. Effect of glucose and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> levels on poly(hydroxybutyrate) production and growth in a continuous culture of *Alcaligenes eutrophus*. Biotechnology Progress. 12,(4): 234-239 (2008).
5. Azegar A.L.; Raouf, T. Surface properties and microparasits of hydroxyl butrate under SEM. Annals. Of Microscopy. 3:221-225 (2003).
6. Fusun, T.; Zaynep, F. Biosynthesis of PHB and its copolymer and their use in control drug release. Turk. J. Med. Sci. 30, 535-541 (2003).
7. Arun, A.; Murragappan, Rm.; David Ravindran, A.D.; Veramanikandan, V. and Badaji, S. Utilization of various industrial wastes for the production of poly-hydroxy butyrate (PHB) by



- Alcaligenes eutrophus*. African J. Biotechnology. 5(17) : 1524-1527 (2006).
8. Mercan ,N.;Aslim,B.;Yukeskdag,Z.N. and Beyatli,Y.Production of poly-B –hydroxybutyrate by some Rhizobium bacteria .Turk.J.Biol .26:215-219 (2002).
  9. Murray, R.G. ; Doetsch, R.N. and Robinow, C.F.Determinative and cytological light microscopy, in: P. Gerhard, R.G.E. Murray, W.A. Wood and Krieg, N.R. (eds.) Manual Methods for General Bacteriology. Vol. 10. American Society for Microbiology; Washington, DC.P.21-41 (1994).
  10. Chen, H.J.; Pan, S-C. And Show, G.C. Identification and characterization of a novel intracellular poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase from *Bacillus megaterium*. Applied and Environmental Microbiology.75 (16): 5290-5299. (2009).
  11. Nikel, P.I.; de Almeida, A.; Melillo, E.C. ; Galvagno, M.A. and Pettinari, M.J. New Recombinant *Escherichia coli* strain tailored for the production of poly (3-Hydroxybutyrate)from agroindustrial by – products. Applied and Environmental Microbiology. 72, No.6. pp 3949-3954. (2006).
  12. Khanna, S. and Srivastava, K. Recent advances in microbial poly-hydroxyalkanoates. Process.Biochem. 40:607-619. (2005).
  13. تاج الدين ، وجدان رضا محمود. انتاج واستخلاص متعدد بيتا هيدروكسي بيوتاريت (PBH) من بكتريا *Pseudomonas* ودراسة العوامل المؤثرة في صفاته . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة بغداد (2006) .
  14. Kanso,S.and Patel,B.K.Microvigna subterranean gen amoderat thermopile from a deep subsurface austration thermal aquifer .Int.J .Syst. Evol .Microbiol .53:401-40 (2000).
  15. Das,Q.; Chowdhury,J.U. & Anwar, M.N. Isolation, Purification & Characterization of biodegradable polymer producing bacteria *Listeria murrayi* . Pakistan J. of Biological Sci.. 7(11):2018-2021 (2004).
  16. Aslim ,B; Yuksekdag ,Z.N and Beyatli,Y. Determination of PHB growth quantities of certain Bacillus species isolated from soil .Turkish Electronic Journal of Biotechnology 52:24-30 (2002) .
  17. Yu, Ksekdag,Z.N.;Beyatli,Y.&Astim,B. Determination of Poly-Hydroxy-Butayrate (PHB) production by some mesophlic & thermophilic lactic acid bacteria. Truk. F. Biol. 27: 37-42. (2003).
  18. Son,H.J.;Kim,K.K.;Kim,H-S. Kim, Y.K.and Lee,S.J. Enhanced production of poly ( -hydroxy butyrate –co- 3- hydroxyvalerate ) by fe-batch cultures of *Pseudomonas sp* . J. of Industrial Microbiology and Biotechnology .24:36-40 (2000) .

19. Liu, F.; Li, W. ;Ridyway, D.; Gu.T. and Shen, Z. Production of poly-B-hydroxybutyrate on molasses by recombinant *E.coli*. Biotechnology Letters, 20.4, pp345-348 (1998).
20. Kanna, S. and Sirvastava, A.K.Continuous production of poly-hydroxybutyrate by high cell-density cultivation of *Wautersia eutropha*. J. of Chemical Technology & Biotechnology. 83: ( 6 ) : 799-805 (2008).

## التأثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية الطبية تجاه بعض العزلات البكتيرية

رغد اكرم عزيز و شهباء حميد مجيد و آمنة محمد علي  
قسم العلوم كلية التربية الأساسية الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2009/6/29 - تاريخ قبول البحث 2010/3/22

### ABSTRACT

This study was aimed to evaluating the effectiveness of the extract of *Coriandrum sativum*, *Piper nigrum*, *Zingiber officinale* and *Thyme vulgaris* against five species of bacteria causing illness and spoiling food like *Salmonella enterica* serovar typhimurium, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* By well diffusion and determination of minimum inhibitory concentration (MIC). The results were refer to found a number of effective compounds in plant extracts like Glycosides, Flavonoids, Resins, Alkaloids and Phenols. The result of Microbiological test were show some differences between the effect of some medical plants on the growth inhibition of the tested bacterial species. Inhibition zone against bacteria were 0.75-2.4 cm for all alcoholic extract. While the (MIC) for four alcoholic extracts were 10-30 mg/ml against the tested bacterial species.

### الخلاصة

هدفت الدراسة الى تقييم فاعلية المستخلصات النباتية للكزبرة *Coriandrum sativum* والفلفل الأبيض *Piper nigrum* والزنجبيل *Zingiber officinale* والزعتر *Thyme vulgaris* تجاه خمسة عزلات من البكتيريا المرضية والمسببة لتلف وفساد الأغذية وقد شملت كل من بكتيريا *Salmonella enterica* serovar typhimurium, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* بطريقتي الانتشار بالحفر والتركيز المثبط الأدنى (MIC)، وأسفرت نتائج الاختبار المبدئي للمستخلصات النباتية عن وجود عدد من المركبات الفعالة في جميع النباتات قيد الدراسة مثل الكلايكوسيدات والفلافونويدات والراتنجيات، فضلاً عن وجود مواد قلويدية وفينولية، وبينت نتائج الاختبارات المكملة وجود فرق بين تأثير أنواع النباتات الطبية في قدرتها على تثبيط نمو العزلات البكتيرية المختبرة، إذ تراوح قطر منطقة التثبيط بين (0.75 - 2.4) سم لكافة المستخلصات الكحولية، في حين تراوح التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلصات الكحولية الأربعة بين (10 - 30) ملغم / مل ضد العزلات البكتيرية المختبرة.

### المقدمة

احتل التداوي بالأعشاب المكانة الرئيسة كطب شعبي طوال آلاف السنين وبالفعل دأب العلماء والباحثون في مجال إنتاج العقاقير الطبية على إيجاد علاجات بديلة من مصادر طبيعية (1؛ 20؛ 23)، ويمثل الكزبرة *Coriandrum sativum* أحد النباتات التي تمتلك فعالية حيوية وهو نبات عشبي حولي ذو رائحة عطرية قوية يصل ارتفاعه الى 50 سم له أوراق علوية دقيقة التقطيع وازهاره صغيرة بيضاء اللون وتعطي ثماراً دائرية صغيرة صفراء الى بنية اللون، ويكون الجزء المستعمل منه الأوراق والبذور والزيت الطيار الذي يحوي مركبات عدة مثل اللينالول واليورنيول وبارا سايمن والكافور والجيرانول والليمونين والفابانين، كما يحتوي النبات على الكومارينات والفلافونيدات فضلاً عن احتواءه على العديد من العناصر المعدنية مثل البوتاسيوم والكالسيوم والمغنسيوم والحديد وفيتامين C، وقد ثبت أن لزيت الكزبرة تأثير منبه لإفراز العصارات الهضمية، كما أن له تأثيراً مضاداً للبكتيريا والفطريات، فضلاً عن تأثيره المنشط لخلايا البنكرياس الذي يؤدي الى تحفيز إفراز الأنسولين والحفاظ على نسبة السكر الطبيعية في الدم، فضلاً عن دوره المنشط لخلايا الكبد وتأثيراً واثقاً من مرض السرطان لما يحتويه من مركبات مضادة للاكسدة (5؛ 7؛ 8؛ 24؛ 29)، أما نبات الفلفل



الأبيض *Piper nigrum* هو شجيرة صغيرة الحجم له ساق اسطوانية الشكل ملساء يكون لونها ارجوانيا، أوراق النبات عريضة قلبية الشكل والازهار توجد على هيئة عناقيد والثمار كروية الشكل ملساء وتكون ذات لون احمر وذلك لارتفاع نسبة الفلافونويدات في النبات، ويحتوي النبات على زيوت طيارة تكون مسؤولة عن رائحته المميزة وتتضمن مركبات الفلاندرين والديبيتين، كما يحوي النبات على قلويد يعرف باسم ببيرين يعطي الطعم الحار المميز فضلا عن احتواءه على البروتين والنشا، وقد أثبتت الدراسات ان تناول الفلفل الأبيض مع الطعام ينشط عمل المعدة ويزيل النزلات الصدرية كما يستخدم لعلاج الإسهال والقيء الناتج من تسمم الأغذية سيما بكتريا *Vibrio cholera* و *Shigella dysenteriae* (23)؛ (27)، اما نبات الزنجبيل *Zingiber officinale* فيتميز باحتوائه على زيت طيار بنسبة 2.5-3% له رائحة نفاذة وطعم لاذع، كما يحوي على الراتنجات مثل مركب *Gingenol* و *Shogaol* الذي يعزى إليهما الطعم الحار، ويشاع استعمال الجذور والسيقان المدفونة في الأرض من هذا النبات، وللزنجبيل دور كمضاد للبكتيريا وللפטريات كما اتضح انه يخفض معدل نسبة الكوليسترول في الدم، فضلا عن دوره في توسيع الاوعية الدموية (31؛ 32؛ 34)، اما الزعتر *Thymus Vulgaris* فهو نبات له رائحة عطرية قوية وطعمه حار مر قليل، والجزء الطبي المستعمل منه هي الفروع المزهرة والأوراق، وتكون له أهمية وفائدة طبية في شفاء كثير من الأمراض سيما ما يتعلق بالجهاز التنفسي مثل السعال الديكي والالتهابات التنفسية والربو، ويتميز الزعتر باحتوائه على مادة الثيمول التي تعمل على تثبيط نمو البكتريا والفطريات والطفيليات كما يحوي على مواد مضادة للأكسدة مما يمكن الاستفادة منه بإضافة زيت الزعتر إلى المواد الغذائية المعلبة لمنع الأكسدة بدلا من إضافة مواد صناعية قد تضر بصحة الإنسان (4؛ 13). ونظراً لأهمية النباتات الطبية ودورها الفعال المثبط لنمو العديد من العزلات البكتيرية أجريت هذه الدراسة لتقييم فعالية بعض النباتات الطبية المتوافرة في الأسواق المحلية ضد عزلات عدة من البكتريا المرضية والمسببة لتلف وفساد الاغذية.

#### المواد وطرائق العمل

##### جمع العينات النباتية وتحضيرها:

تم الحصول على العينات النباتية وهي نبات الكزبرة *Coriandrum sativum* ونبات الفلفل الأبيض *Piper nigrum* ونبات الزنجبيل *Zingiber officinale* ونبات الزعتر *Thyme vulgaris* من الأسواق المحلية في مدينة بغداد، وطحنت النباتات كل على حدة في طاحونة كهربائية صغيرة، وبعد الحصول على مسحوق النباتات المختبرة تم وضع مسحوق كل نبات في علب زجاجية محكمة الغلق لحين استعمالها.

##### الاستخلاص:

اتبعت الطريقة المذكورة من قبل Harborne (15) وذلك بخلط 100غم من مسحوق كل نبات على حدة في 300 مل من الكحول الايثيلي ذي تركيز 95% (3 كحول: 1 مسحوق نبات) بوساطة خلاط كهربائي، وبعد ذلك وضع في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 25م لمدة 24 ساعة لزيادة نسبة الاستخلاص، ثم رشح المزيج تحت التفريغ وجرى جمع الراشح وركز بالجهاز البخار الدوار بدرجة حرارة 40م، ثم وضع المستخلص المركز في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة وتم تجفيف الكحول المتبقي في فرن كهربائي بدرجة حرارة 40م حتى تبخر الكحول بشكل تام والحصول على مسحوق يمثل المستخلص الخام، وتم وضع كل عينة في اوعية محكمة الغلق، وبعد تعليمها خزنت في درجة حرارة التجميد لحين الاستعمال، هذا بالنسبة للاختبارات الكيميائية أما بالنسبة للاختبارات الميكروبية فقد تم تحضير تركيز 100 ملغم/مل وعقم عبر أوراق ترشيح خاصة ذات ثقوب بقطر 0.22 مايكرون.

##### الكشف الكيميائي لبعض المكونات الفعالة في المستخلصات النباتية قيد الدراسة:

أجريت بعض الاختبارات الكيميائية النوعية لتحديد بعض المجاميع والمكونات الفعالة في المستخلص الكحولي للنباتات الأربعة وكما يأتي:



اجري الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides باستعمال كاشف فهلنك، كما تم الكشف عن الفينولات Phenols باستخدام محلول كلوريد الحديدك، واجري الكشف عن القلويدات Alkaloids ايضاً باتباع الطريقة المذكورة من قبل Harborne (15)، وللكشف عن التربينات Terpenes استعملت الطريقة الموصوفة من قبل Abu-Shanab وجماعته (1) في الكشف، وللكشف عن الراتنجات Resins و الصابونينات Saponins تم استعمال الطريقة المذكورة من قبل Shihata (30)، وللكشف عن التانينات Tannins اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Harbone (16)، وفي الكشف عن الكومارينات Coumarins استعملت الطريقة الموصوفة من قبل Geisman (11)، اما الكشف عن الفلافونويدات Flavonoids فقد اجري باتباع الطريقة الموصوفة من قبل Jaffer (18).

**العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة:**

تم الحصول على عدد من العزلات البكتيرية النقية من قسم علوم الحياة / كلية العلوم - جامعة بغداد وكذلك من قسم علوم الحياة / كلية العلوم - الجامعة المستنصرية، لإجراء الاختبارات اللازمة عليها، اذ ان قسم من هذه العزلات هي بكتريا مسببة لتلف وفساد الأغذية وقسم منها عزلات مرضية، وقد شملت كل من بكتريا *Salmonella enterica serovar typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*.

### اختبار تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة في فعالية العزلات البكتيرية الاختبارية:

اعتمدت طريقة الانتشار بالحفر (Well diffusion) التي ذكرها Giani وجماعته (13) لاختبار فعالية المستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة في تثبيط نمو العزلات البكتيرية الاختبارية، اذ استخدمت التراكيز المتدرجة من التركيز الأصلي للمستخلصات الكحولية المحضرة سابقاً والمخففة بالماء المقطر والمعقم والتي هي (25، 50، 75، 100) ملغم / مل، وقد حددت فعالية كل تركيز من المستخلصات النباتية بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone حول كل حفرة.

اختبار التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلصات الكحولية النباتية قيد الدراسة في البكتريا الاختبارية:

اعتمدت الطريقة الموصوفة من قبل Mounchid وجماعته (25) في تقدير فعالية اقل تركيز مثبط لنمو البكتريا الاختبارية من المستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة ضد البكتريا الاختبارية، وقد استخدمت تراكيز مختلفة بلغت (5، 10، 20، 30، 40، 50) ملغم / مل، وحدد اقل تركيز مثبط من عدم وجود هالة حول القرص الحاوي على المستخلصات النباتية، وقد اجري هذا الاختبار لكل بكتريا على افراد وللمستخلصات جميعها.

### النتائج والمناقشة

#### الاستخلاص الكحولي للنباتات المدروسة:

يعد الكحول الايثيلي مذيب عضوي قطبي له القابلية على إذابة العديد من المواد الفعالة في النباتات منها الفلافونيات والتانينات والفينولات المتعددة والتربينات والقلويدات (9)، وعليه يمكن ملاحظة احتواء المستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة على العديد من المركبات الفعالة.

#### الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في المستخلصات الكحولية للنباتات المدروسة:

بينت نتائج الكشف الكيميائي للمستخلصات الكحولية لنباتات الكزبرة والفلفل الابيض والزنجبيل والزعتر احتواء اغلبها على العديد من المركبات الفعالة وكما موضحة في الجدول رقم (1)، والتي تمتاز بفعاليتها الحيوية العالية ضد العديد من الأحياء المجهرية، اذ اظهرت

النتائج احتواء جميع النباتات المستعملة في الدراسة على الكلايكوسيدات والفلافونويدات فضلاً عن القلويدات والراتنجات وكذلك الفينولات، في حين لم يحتوي مستخلص نبات الكزبرة على التانينات والصابونينات وهذا يتوافق مع ما ذكره (5؛ 14)، أما مستخلص نبات الفلفل الأبيض فلم يحتوي على التانينات فقط، كما وقد أظهر الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة في المستخلص الكحولي لنبات الزنجبيل احتواءه على الكلايكوسيدات والفلافونويدات والقلويدات والراتنجات والفينولات باستثناء وجود المركبات الفعالة المتمثلة بالكومارينات، وقد جاءت النتائج متوافقة مع بعض الدراسات الى احتواء بذور نبات الفلفل على القلويدات والتي تعد المركبات الفعالة الرئيسية فيه والمتمثلة بـ Piperin و Piperidine وكذلك احتواء بذور الفلفل على الصابونينات، وقد جاءت نتائج الكشف الكيميائي للمستخلص الكحولي لنبات الزنجبيل مقارنة لما توصلت اليه الكثير من البحوث في احتواءه على نسبة من المركبات الكيميائية الفعالة لاسيما المركبات الفينولية والتي تمتاز بتأثيرها التثبيطي ضد كل من الفايروسات والبكتيريا وكذلك الفطريات (20؛ 34)، كما وتتوافق النتائج في احتواء الزعتر على العديد من المركبات الفعالة حيويًا مع ما اشار اليه (9) ومن هذه المركبات هي Quinic acid و Ellagic acid و Caffeic acid، فضلاً لما ذكره (26) عن احتواء نبات الزعتر على التانينات والتربينات، فمثلاً التانينات تعمل على إيقاف النزف والافرازات وتثبيط عمل الانزيمات والبروتينات الناقلة في غشاء الخلية، في حين تعد التربينات من المركبات المضادة للفايروسات والبكتيريا والفطريات (13).

جدول - 1: الكشف الأولي عن المركبات والمجاميع الفعالة في نباتات الدراسة

المركب الفعال	نبات الكزبرة	نبات الفلفل الأبيض	نبات الزنجبيل	نبات الزعتر
التانينات	-	-	+	+
الكلايكوسيدات	+	+	+	+
الصابونينات	-	+	+	+
الفلافونويدات	+	+	+	+
الراتنجات	+	+	+	+
الكومارين	+	+	+	+
القلويدات	+	+	+	+
الفينولات	+	+	+	+
التربينات	+	+	+	+

#### تأثير المستخلصات الكحولية لنباتات الدراسة في تثبيط البكتيريا الاختبارية:

أجريت العديد من الدراسات والبحوث في مجال استعمال المستخلصات النباتية الخام أو مركباتها الفعالة والمفصولة بصورة نقية في تثبيط الأحياء المجهرية لاسيما المرضية منها، وتوضح الأشكال رقم 1 و 2 و 3 و 4 نتائج تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات الأربعة والتي هي المستخلص الكحولي لنبات الكزبرة والمستخلص الكحولي للفلفل الأبيض والمستخلص الكحولي لنبات الزنجبيل والمستخلص الكحولي للزعتر، اذ لوحظ تنوعاً في تثبيط نمو أنواع البكتيريا قيد الاختبار والذي يعود الى اختلاف المركبات الفعالة ومكونات المستخلص النباتي الكحولي الأساسي لمكونات النبات نفسه، اذ تبين الأشكال نفسها أقطار هالات التثبيط التي أحدثها المستخلص الكحولي للنباتات وبتركيز متدرجة 25، 50، 75، 100 ملغم / مل، ضد البكتيريا المختبرة، اذ أظهر المستخلص الكحولي لنبات الكزبرة *Coriandrum sativum* ونبات الفلفل الأبيض *Piper nigrum* ونبات الزنجبيل *Zingiber officinale* ونبات الزعتر *Thyme vulgaris*، تأثير مثبطاً على بعض العزلات البكتيرية الاختبارية، اذ سجل مستخلص نبات الزنجبيل أعلى قيم لهالة التثبيط وكان ضد بكتيريا *Bacillus subtilis* وبلغ 2.4 سم في حين بلغ قطر هالة تثبيط نفس المستخلص 0.75 سم ضد بكتيريا



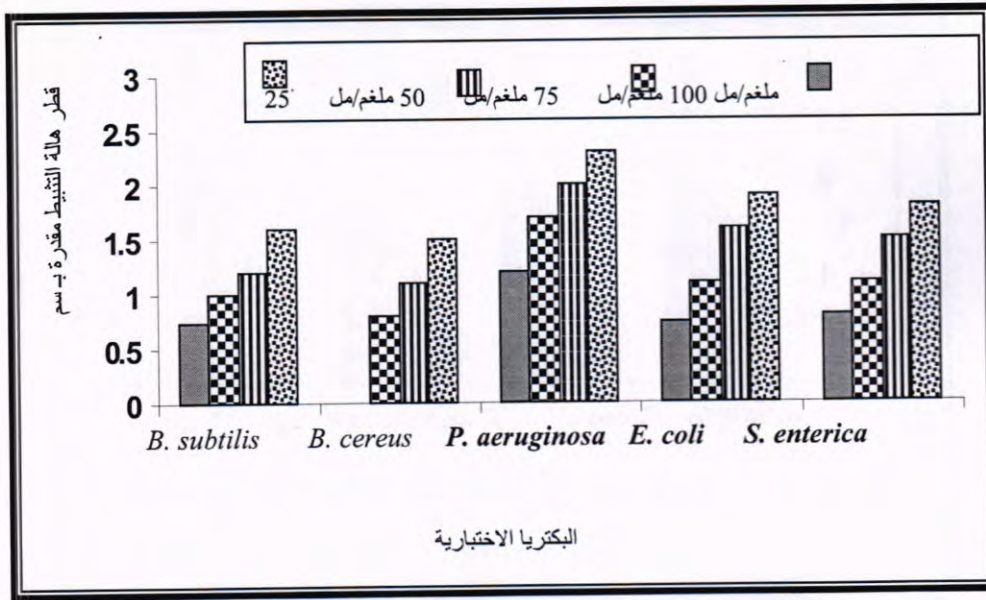
*Salmonella enterica* serovar typhimurium وعدت اقل هالة تثبيط ضد البكتريا الاختبارية، اما بالنسبة للمستخلص الكحولي لنبات الكزبرة فقد بلغت أعلى قيمة لقطر هالة التثبيط 2.3 سم ، وكان ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* اما اقل قيمة لقطر هالة التثبيط فسجلت ضد بكتريا *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* وكانت 0.75 سم ، كما بينت النتائج ان المستخلص الكحولي لنبات الفلفل الأبيض اظهر اكبر قيمة لقطر هالة التثبيط ضد بكتريا *Bacillus cereus* اذ بلغ 2.3 سم، اما اقل قطر لهالة التثبيط اظهره هذا المستخلص فبلغ 0.8 سم وكان ضد كل من بكتريا *Escherichia coli* و *Salmonella enterica* serovar typhimurium، وقد اظهر المستخلص الكحولي لنبات الزعتر فعالية تثبيطية ضد البكتريا الاختبارية، اذ سجل أعلى قيمة لقطر هالة التثبيط ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* اذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط 2.2 سم، اما اقل قيمة لقطر هالة التثبيط التي سجلها مستخلص الزعتر الكحولي ضد بكتريا الاختبار فكانت ضد *Bacillus subtilis* اذ بلغ قطر هالة التثبيط 0.8 سم، ويتضح من الاشكال نفسها ان اقطار منطقة التثبيط للمستخلص الكحولي لنبات الكزبرة يتراوح بين 0.75 - 2.3 سم وللبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام، اذ ان المستخلص الكحولي لنبات الكزبرة كان له تأثير مضاد اتجاه البكتريا الاختبارية، وقد يعود السبب في ذلك الى احتواء مستخلص الكزبرة على المركبات الفعالة مثل الكومارينات والفلافونيدات (6؛ 7؛ 14)، كما ان فعالية مستخلص نبات الكزبرة التثبيطية فهي تعود ايضا الى ما يحويه المستخلص من مركبات كحولية والديهيدية أهمها Cuminaldihyde و Cuminalcohol التي اثبتت العديد من المصادر فعاليتها ضد الاحياء المجهرية (5)، كما ويوضح الجدول نفسه اقطار مناطق التثبيط لمستخلص نبات الفلفل الأبيض اتجاه انواع من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام والتي كان معدل اقطار مناطق التثبيط لها يتراوح ما بين 0.8 و 2.3 سم، وهذا يتفق مع ما اشار اليه (19) في دور المستخلصات الكحولية لنبات الفلفل ضد انواع من البكتريا، ويمكن تفسير كفاءة المستخلص الكحولي للعديد من النباتات في تثبيط اكبر عدد من البكتريا يعود إلى محتواه العالي من المركبات القلويدية (Alkaloids) التي لها قابلية عالية في الذوبان في الكحول الايثيلي تفوق بكثير قابلية ذوبانها في الماء (9)، وان هذه القلويدات خصوصا العطرية منها يكون لها القدرة على التداخل Intercalate مع الدنا (DNA) لخلايا البكتريا مؤدية إلى قتلها، واهم هذه القلويدات هي Piperine, Piperidine, Piperettine حيث أكد (12) ان Piperine من القلويدات التي توجد في الفلفل والتي لها فعالية مضادة لبكتريا *E.coli* والاعقان (27). وتبين الاشكال نفسها ايضا اقطار مناطق التثبيط لمستخلص نبات الزنجبيل اتجاه انواع من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام والتي كان اقطار مناطق التثبيط لها يتراوح ما بين 0.75 - 2.4 سم، وجاءت النتائج متوافقة مع ما اشارت اليه العديد من الدراسات لدور الزنجبيل التثبيطي ضد العديد من الانواع البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام (31؛ 32؛ 34)، اذ ان احتواء المستخلصات الكحولية لنبات الزنجبيل على الكلايكوسيدات فضلا عن تأثير المجاميع الفعالة الاخرى مثل القلويدات والراتنجات والمركبات الفينولية والتانينات والزيوت الاساسية في جعل المستخلص ذو فعالية اتجاه الاحياء المجهرية الاختبارية (31)، وتتوافق النتائج مع ما جاء به (32) من ان النباتات ولاسيما نباتات العائلة الزنجبالية التي تحتوي على الفينولات والفلافونيات والتربينات والكلايكوسيدات تكون قاتلة للاحياء المجهرية ومضادة للاكسدة (32؛ 34)، ويبين الجدول نفسه ان اقطار منطقة التثبيط للمستخلص الكحولي لنبات الزعتر كانت بين 0.8 - 2.2 سم وللبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام، وقد يرجع هذا التأثير الى احتواء المستخلص الكحولي لنبات الزعتر على العديد من المركبات الفعالة، وجاءت هذه النتيجة موافقة لما اشار اليه (3) في ان المستخلص الكحولي لنبات الزعتر له تأثير مثبط لحيوية بعض الانواع من البكتريا المرضية و المسببة للتسمم الغذائي في الإنسان مثل *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhi* وكان بتركيز 5000 جزء بالمليون،

في حين لاحظ (26) ان للمستخلص الكحولي بتركيز 70 ملغم / مل تأثير مثبطا ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ، وقد جاءت نتيجة تثبيط المستخلص الكحولي للزعر لنمو انواع من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام مقارنة لما توصل اليه الكثير من الباحثين من تأثير هذا المستخلص في العديد من الاحياء المجهرية واذ يعود هذا التأثير لاحتواء الزعر على نسبة عالية من المركبات الفينولية التي تشكل 55% من المركبات الكيميائية التي يتكون منها نبات الزعر (4؛33)، وكذلك من المواد المهمة في المستخلص الكحولي للزعر هي *Caffeic acid* و *Thymol* والتي تشكل 64.8% من المركبات الفينولية والتي تمتاز بتأثيرها التثبيطي ضد انواع من البكتريا (10؛13).

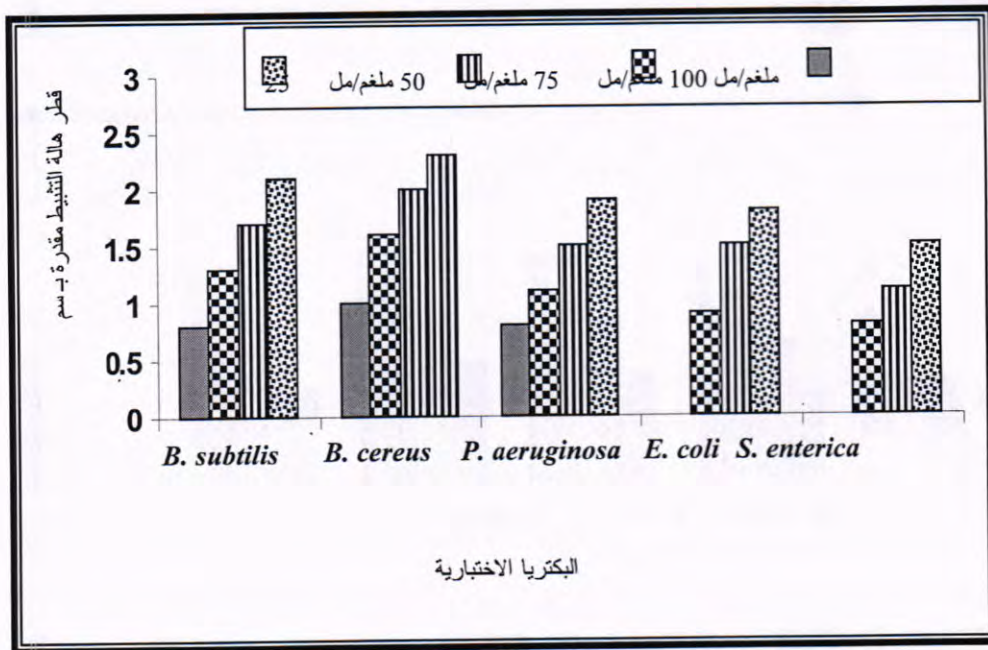
تقدير فعالية اقل تركيز مثبط (MIC) لنمو البكتريا الاختبارية من المستخلصات الكحولية للنباتات المدروسة:

يبين الشكل رقم (5) قيم اقل تركيز مثبط للمستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة ضد نمو البكتريا الاختبارية ، اذ تراوحت معدلات قيم اقل تركيز مثبط لنمو البكتريا الاختبارية بين 10 – 30 ملغم/مل اذ بلغ اقل تركيز مثبط (MIC) لمستخلص نبات الزعر 20 ملغم / مل وكان ضد بكتريا *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* ، اما مستخلص نبات الفلفل الابيض كان اقل تركيز مثبط 10 ملغم / مل وكان ايضا ضد بكتريا *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* ، في حين ان مستخلص نبات الزنجبيل بلغ اقل تركيز مثبط (MIC) 10 ملغم/مل وكان ضد بكتريا *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* ، وقد بينت النتائج ايضا ان اقل تركيز مثبط (MIC) كان 10 ملغم/مل وذلك لمستخلص نبات الزعر ضد بكتريا *Bacillus cereus* ، ان هذه النتيجة عززت النتائج الأولية لاختبار فعالية المستخلصات الكحولية للنباتات المدروسة ضد البكتريا، وقد اوضحت العديد من الدراسات ان ميكانيكية عمل المستخلصات الكحولية للنباتات في فعاليتها كمضادات ميكروبية اذ تعمل على تمزيق أغشية خلايا الاحياء المجهرية (Membrane disrupton)، اما المركبات القلويدية فإنها تتداخل مع جدران خلاياها وكذلك مع الدنا DNA مسببة تثبيطها في حين ان المركبات الفينولية وبالإضافة إلى تمزيقها أغشية الخلايا فإنها تعمل كمثبطات لأنزيمات الاحياء المجهرية. ان تفاوت حساسية الاحياء المجهرية تجاه المستخلصات النباتية يعود الى وجود مواد حامية داخل خلايا الاحياء المجهرية التي تكون اما ناتجة عن تعرض تلك الاحياء الى جهد خارجي او انها تصل اليها عن طريق عمليات النقل الفعال من البيئة المحيطة بها، وان هذه المواد تزيد من حماية البكتريا وخلاياها معتمدة على نوع الخلايا أو نوع المؤثر الخارجي التي تتعرض لها الخلايا وغيرها من العوامل غير الطبيعية ومن أهم هذه المواد الحامية هي الكربوهيدرات (13؛ 17؛ 19؛ 33).

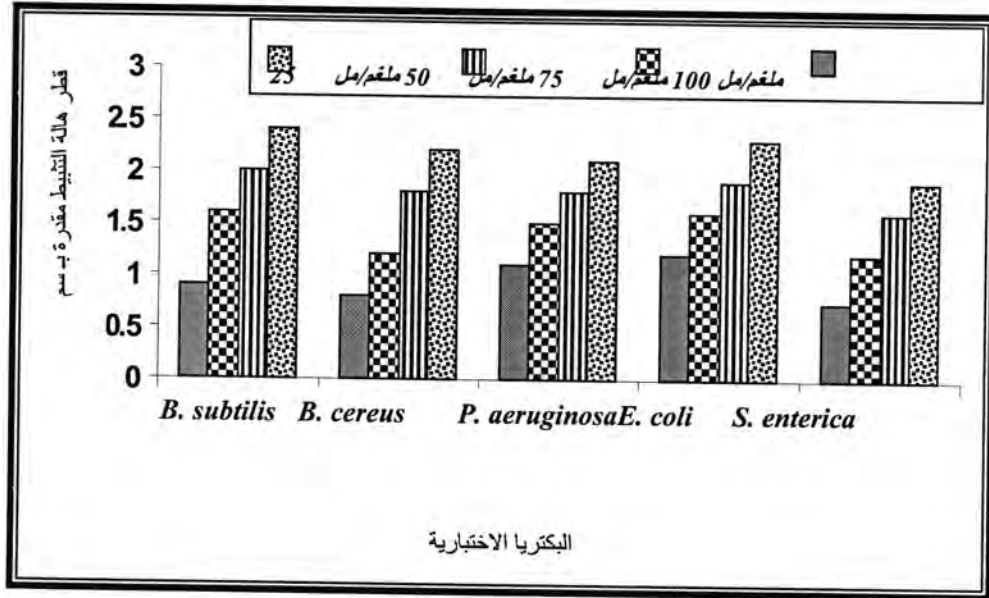




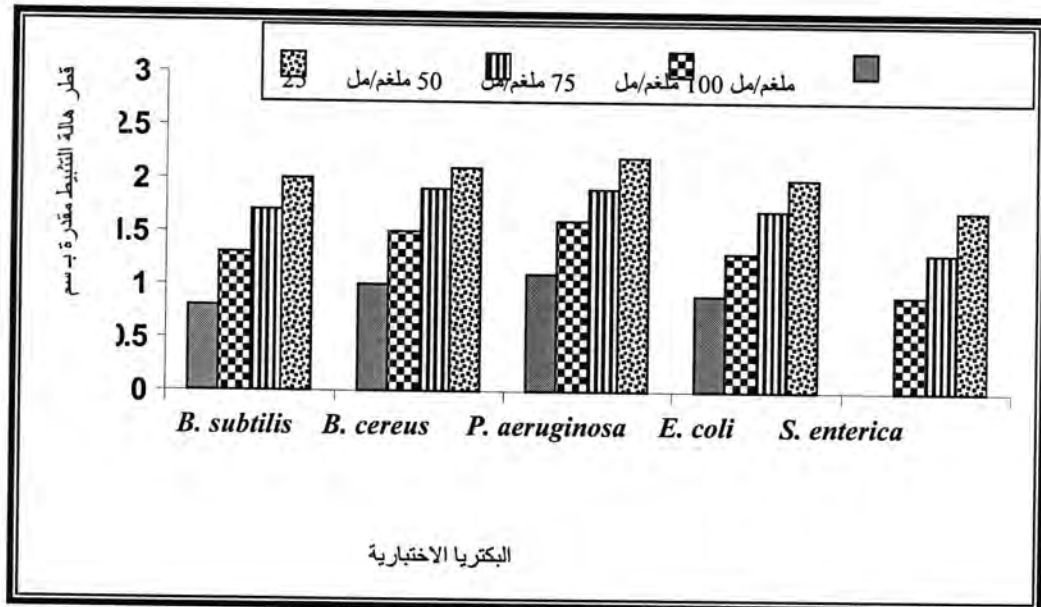
شكل 1- تأثير مستخلص نبات الكزبرة على نمو العزلات البكتيرية الاختبارية.



شكل 2- تأثير مستخلص نبات الفلفل الأبيض على نمو العزلات البكتيرية الاختبارية.

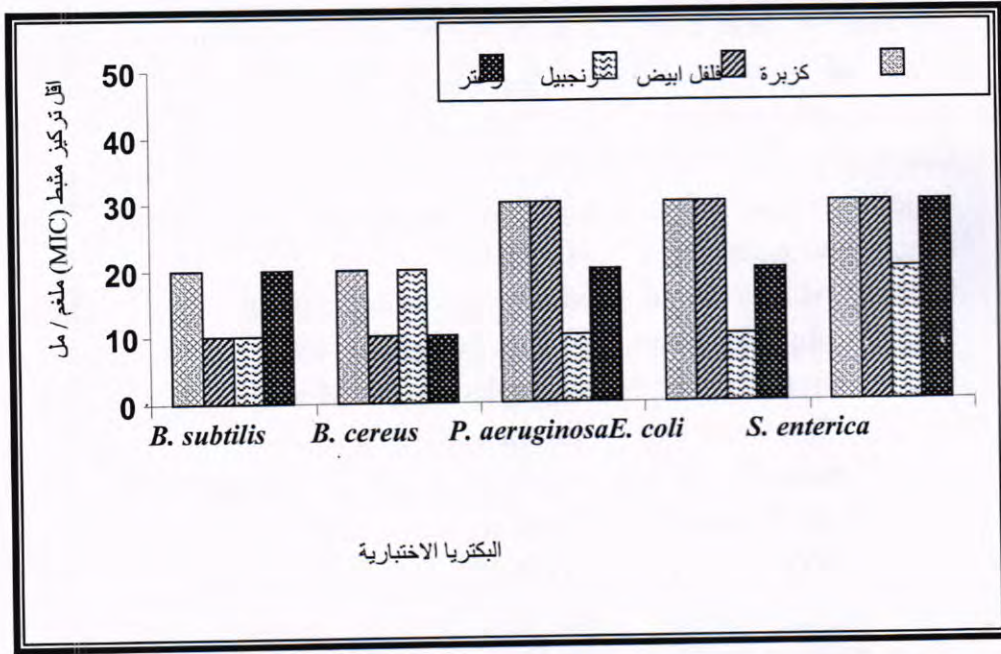


شكل-3: تأثير مستخلص نبات الزنجبيل على نمو العزلات البكتيرية الاختبارية.



شكل-4: تأثير مستخلص نبات الزعتر على نمو العزلات البكتيرية الاختبارية.





شكل 5- اقل تركيز مثبط (MIC) للمستخلصات الكحولية النباتية ضد البكتريا الاختبارية.

#### المصادر

1. Abu-Shanab, B.; Adwan, G.; Adwan, K. and Abu-Shanab, F. Efficacy of Aqueous and ethanol extracts of some palestinian medicinal plants for potential antibacterial activity. J. Islamic Univer. 16(2): 77-86.(2008).
2. Al-Abid, M. R. Zurrzusamme mse turungder Abschla B membrane in *Phoenix dactylifera*. Wurburg University. Wuzzburg, F. R. of Germany, 140-153.(1985).
3. Akgul, A. and Kivance, M. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some food-born fungi. Int. J. Food Microbiol. 6: 263-268.(1988).
4. Burt, S. A.; Vlieland, R.; Haagsman, H. P. and Veldhuizen, E. J. Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol *Escherichia coli* O 157:H7 by addition of food stabilizers. J. Food Prot. 68: 919-926.(2005).
5. Camela, L.G.; Heredia, O. S. and Gil, A. Nitrogen Phosphorus, and potassium accumulation in coriander (*Coriandrum sativum* L.). Journal of Herb. Spices and Medicinal Plants. 3(4): 35-40.(1996).
6. Chithra, V. and Leelamma, S. Hypolipidemic effect of coriander seeds (*Coriandrum sativum*): mechanism of action. Plant Foods Hum. Nutr. 51: 167-72.(1997).

7. Chithra, V. and Leelamma, S. *Coriandrum sativum* changes the levels of lipid peroxides and activity of antioxidant enzymes in experimental animals. Ind. J. Biochem. Biophys. 36:59-61.(1999).
8. Chithra, V. and Leelamma, S. *Coriandrum sativum*--effect on lipid metabolism in 1,2-dimethyl hydrazine induced colon cancer. J. Ethnopharmacol. 71:457-463.(2000).
9. Cowan, M.M. Plant products as Antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 12 (4).p. 564-582.(1999).
10. Escop. Thymi herba: Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs. Exeter, U.K. European Scientific Cooperative on Phytotherapy. 31-40.(1997).
11. Geisman,T. Chemistry of Havonoids compounds . Macimillan . Co., New York, pp.90-101.(1962).
12. Ghoshal, S.; Krishna, B. and Lakshmi, V. Antiamoebic activity of *Piper longum* fruits against *Entamoeba histolytica* in vitro and in vivo. J. Ethnopharmacol. 50:167-170.(1997).
13. Giani, F.; Maria, D.; Cardoso, L.; Menna, B. and Maurili, J. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. Parasitology Research. 100(4): 783-790.(2006).
14. Guler, O.N.; Ertas, M. and Dalk, I.C. The effect of coriander seed (*Coriandrum sativum* L.) as diet ingredient on the performance of Japanese quail. South African Journal of Animal Science. 35 (4) : 260-266.(2005).
15. Harborne, J.B. Phytochemical method. Champman and Hall. London , New York.(1973).
16. Harbone,J.B. Phytochemical methods: Aguide to modern techniques of plant analysis 2nd ed ., Chapman and Hall, London.P.288.(1984).
17. Hossein, H. and Mohammad, M. Anticonvulsant effects of *Coriandrum sativum* L. Seed extracts in mice. Arch. Irn. Med. 3:182-184.(2000).
18. Jaffer,H.T. ; Mahmoud, M. and Al - Nailb,A. Phytochemical and biological screening of some Iraqi plant. Fitoterapialix, P. 299.(1983).
19. Josefina, C.E.; Sandra, G. A.; Rafael, V. P. and Jesus, J. E. Antimutagenicity of coriander (*Coriandrum sativum*) juice on the mutagenesis produced by plant metabolites of aromatic amines. Toxicology Letters. 153 (2): 283-292.(2004).



20. Kanan, G. and Al-Najar, R. In vitro antifungal activities of various of plant crude extracts and fractions against citrus post-harvest disease agent *Penicillium digitatum*. Jordan Journal of Biological Sciences. 1(3):89-99.(2008).
21. Konning, G. H.; Agyare, C. and Ennison, B. Antimicrobial activity of some medicinal plants from Ghana. Science Direct. 75(1):65-67.(2003).
22. Kubo, I.; Fujita, K. I.; Nihei, K. and Ogura, T. Antibacterial activity of Coriander volatile compounds against *Salmonella choleraesuis*. J. Agric. Food Chem. 52(11):3329-3332.(2004).
23. Maoz, M. and Neeman, I. Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. Appl. Micro. 26:61-63.(1998).
24. Mohamed, F. and Jorg, T. Oil composition of coriander *Coriandrum sativum* L. fruit seeds. Eur. Food Res. Technol. 215 (3):204-209.(2002).
25. Mounchid, K.; Bourjilat, F.; Dersi, N.; Aboussaouira, T.; Rachidai, A.; Tantaoui - Elaraki, A. and Alaoui-Ismaili, M. The susceptibility of *Escherichia coli* strains to essential oils of *Rorismarinus officinalis* and *Eucalyptus globulus*. African Journal of Biotechnology. (10):1175-1176.(2005).
26. Nascimento, G.G.F.; Locatelli, J.; Freitas, P. C. and Silva, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic - resistant bacteria. Braz.J. Micro. 31(4):1-16.(2000).
27. Park, K.; Lee, S.; Shin, S.; Park, J. and Ahn, Y. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. J. Agric. Food Chem. 50(7):1866-1870.(2002).
28. Radha, F. M.; Al-Rawi, H. H. and Al-Khazraji, N. K. The constitution of essential oils from Iraqi plants. Proc. 5 th . Sci. Conf. SRC. Iraq. 250-251.(1989).
29. Ramadan, M.; Kroh, L. and Morsel, J. Radical scavenging activity of black cumin (*Nigella sativa*), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed and oil fractions. J. Agric. Food Chem. 51(24):6961-6969.(2003).
30. Shihata, I.M. A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M.D. Vet. Thesis, Cairo University.(1951).
31. Stirling, A. M. The causes of poor establishment of ginger (*Zingiber officinale*) in Queensland Australia. Austr. Plant Patho. 33(2):203-210.(2004).

32. Smith, M.K.; Hamill, S.D.; Gogel, B. J. and Severn, A. A. Ginger (*Zingiber officinale*) autotetraploids with improved processing quality produced by an in vitro colchicine treatment. *Austra. J. of Exper. Agric.* 44(10):1065-1072.(2004).
33. Van, D.B. Ther methyated flavones from *Thymus vulgaris* . *Phytochemistry*.21:2581 - 2584.(1982).
34. Waggas, A. M. Neuroprotective evaluation of extract of Ginger (*Zingiber officinale*) root in monosodium glutamate induced toxicity in different brain areas male rats. *Pakistan J. of Biolo. Scie.* 12(3):201–212.(2009).

## تقييم القدرة المضادة للتطهير للمركبات الفلافونويدية المستخلصة من نبات الروجة . *Hypericum perforatum L* في الفئران المختبرية

شذى علي شفيق<sup>1</sup> و رنا عزيز<sup>2</sup> و امل كاظم جلوب<sup>3</sup>  
<sup>1,2</sup> كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية – قسم علوم الحياة  
<sup>3</sup> كلية طب الأسنان - الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2009/7/22 - تاريخ قبول البحث 2010/3/22

### الخلاصة

استهدفت الدراسة الحالية تقييم فعالية المركبات الفلافونويدية احد المركبات الفعالة المستخلصة من نبات الروجة *Hypericum perforatum L* على بعض مقاييس الوراثة الخلوية من خلال تثبيطه للتأثيرات الوراثة الخلوية لعقار المايتومايسين - C Mitomycin-C (MMC) في ذكور الفئران البيض ، اذ تم تجريب الفئران عن طريق الفم Orally بالمطفر MMC بتركيز (0.5) ملغم / كغم ، ثم اجري الكشف عن تأثير تلك المادة من خلال حساب معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم (MI%) Mitotic index ، التشوهات الكروموسومية (CA%) Chromosomal aberrations و تشوهات رؤوس النطف Sperm head abnormalities . حيث اظهرت النتائج الى وجود تأثيرات وراثية خلوية متمثلة بانخفاض معامل الانقسام الخيطي وزيادة نسبة التشوهات الكروموسومية وتشوهات رؤوس النطف. وبعد التأكد من عدم وجود تأثير سمي وراثي للفلافونويدات المستخلصة وبناءا على الاختبارات السمية تم انتخاب جرعة واحدة (100) ملغم / كغم و اجري التداخل مابينها وعقار المايتومايسين - C (MMC) بتركيز (0.5) ملغم / كغم وبشكل معالمتين قبل وبعد التطهير وذلك لاختبار فعالية هذه المركبات في منع او تحويل او تقليل فعل العقار والالية التي تعمل بها تلك المركبات وقد توصلت الدراسة الى امكانية خفض التأثيرات الوراثة الخلوية للمطفر عند تداخله مع الفلافونويدات المستخدمة اذ اظهر ان تأثير الفلافونويدات المستخلصة من نبات الروجة عند معاملته قبل اعطاء العقار افضل من معاملته بعد المطفر لذا صنفنا هذه المركبات على انها مضادة للتطهير الوراثة من النوع المباشر بالدرجة الاولى ومضاد حيوي للطفرات بالدرجة الثانية .

### ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the activity of flavonoids compounds extracted from plant (*Hypericum perforatum L*.) on some cytogenetic parameters through out the inhibition of cytogenetic effects of Mitomycin - C (MMC) at a concentration of 0.5 mg / kg in male mice orally administrated with MMC by Mitotic index (MI%), chromosomal aberrations (CA%) and sperm head abnormality assays were calculated the result shown there are cytogenetic effects by via decreasing of MI% and increasing in CA% and sperm abnormality .

To assess the cytotoxicity and mutagenicity of flavonoids extracted , according to toxic tests one concentration was selected to examine the antimutagenic effect of flavonoids extracted , an interaction was made between the extracted flvonoids (100) mg / kg and Mitomycin- C (MMC) (0.5) mg/kg using two kinds of treatment (before and after ) given mutagen to determing the antimutagenic efficiency of extracted flavonoids , the result shown the capacity of decrease of cytogenic effects for mutagen when interaction ( before) treatment was prefer from ( after) treatment , therefore flavonoids extracted were classified as a desmutagen in first order and a bioantimutagen in the second order .

### المقدمة

نبات الروجه *Hypericum perforatum L* نبات عشبي ينمو في المناطق الشمالية والشمالية الغربية من العراق ، ينتمي الى عائلة hypericaceae استخدم كاعشاب طبية منذ اكثر من 2000 سنة فقد كان يعرف قديما بأسم عشبة القديس جون Saint John's wort



شذى ورناء وأمل

وتشكل المركبات الفلافونويدية ضمن تركيبه الكيميائي حوالي 11.71% من مجموع المركبات الثانوية في الأوراق وبنسبة 7.4% في السيقان من الوزن الجاف للنبات . وتشمل الفلافونويدات كلا من , Proanthocyanidin , Quercetin , Rutin , Hyperoside , Catchin , Isoquercetin , Kaempferol , Biapigenin (1) وهي عبارة عن نواتج أيض نباتية ثانوية متعددة الفينول polyphenol توجد عادة بصورة مواد كليكوسيدية glycosides ونادراً ما تكون بصورة حرة ألكليكون Aglycone ، وتكمن قدرة هذا النبات بوجود هذه المركبات في تشخيص العديد من الوظائف الحياتية المهمة bio-functions مثل الفعالية المضادة للتطهير Anti- mutagenic والفعالية المضادة للتسرطن Anti- carcinogenic من خلال تثبيط تكوين الـ DNA-adducts المستحثة بفعل المطفرات (2) ومنع تراكم الطفرات في الجسم فهي تقلل أو تمنع حدوث الخطوة الأولى من عملية التسرطن initiation phase (3) . بالإضافة إلى الفعالية المضادة للالتهاب Anti-inflammations (4) فضلاً عن الفعل المضاد للتأكسد Antioxidants (5) ، كما اختبرت قدرة المستخلص الميثانولي لأوراق وسيقان هذا النبات على تثبيط فعل بعض المطفرات من خلال كسح الجذور الحرة الفعالة free radicals scavenging المتولدة من هذه المطفرات (6). ولتوضيح دور المستخلص الفلافونويدي الخام أحد المركبات الفعالة الداخلة في التركيب الكيميائي لنبات الروجة على الخصائص الوراثية الخلوية ارتأينا دراسته من خلال الكشف عن السمية الوراثية واختبار قابليته المضادة للتطهير لمعرفة الآلية التي يعمل بها كمثبطات لعقار الـ MMC من خلال اختلاف المعاملة بين المادة المثبطة والمادة المطفرة .

#### المواد وطرائق العمل

##### طريقة استخلاص الفلافونويدات الخام

تم طحن أوراق وسيقان النبات المستخدم بعد تجفيفها باستعمال الطاحونة ثم أجريت عملية استخلاص المركبات الفعالة الفلافونويدات الخام تبعاً " لطريقة هاربر (7) والمحورة من قبل الكروي (8)

##### تهينة الفئران المختبرية

استخدمت في هذه الدراسة الحيوانات المختبرية وهي ذكور الفئران المختبرية البيض من نوع *Mus musculus* الضرب Balb/C وبمعدل عمر تراوح بين (12-14) اسبوعاً وبوزن (25-30) غم والتي جهزت من قبل معهد العقم/ وزارة الصحة حيث وزعت في أقفاص لدائنية بهينة مجاميع وحسب حاجة التجربة. وقد تم إعطاء الحيوانات الماء والعلقة المتكاملة والمصنعة محلياً في معهد العقم .

##### طريقة اختيار الجرعة وكيفية التجريب

اختبرت ثلاث جرعة من المستخلص الفلافونويدي الخام من نبات الروجة وهي (100، 150، 200) ملغم/ كغم من وزن الجسم إذ تم التجريب عن طريق الفم Orally وباستخدام محقنة خاصة سعة (1) مل وذات إبرة محورة Modified Needle .

##### تجربة دراسة السمية الوراثية للمستخلص الفلافونويدي الخام والمائتومايسين

تم تهينة (9) فئران وبمعدل ثلاثة فئران لكل جرعة من الجرعة الثلاث إذ جرعة كل فأر بحجم (0.25) مل يومياً من المستخلص الفلافونويدي الخام ولمدة سبعة أيام متتالية وفي الوقت نفسه جرعت ثلاثة فئران بحجم (0.25) مل من PBS لمدة سبعة أيام وعدت كسيطرة سالبة فيما تم تجريب ثلاثة فئران أخرى بحجم (0.25) مل من المطفر مائتومايسين- C (MMC) بتركيز (0.5) ملغم/كغم وعدت كسيطرة موجبة ثم شرحت الحيوانات بعد مرور (24) ساعة تم الحصول على نقي العظم والنطف من الحيوانات لأجراء الفحوصات لاحقاً (9) .



### تجربة دراسة الفعل الوقائي والعلاجي للمستخلص الفلافونويدي الخام

استخدم في هذه التجربة جرعة واحدة من المستخلص الفلافونويدي الخام وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها من اختبار معامل الانقسام الخيطي MI% Mitotic index والزيغ الكروموسومي CA % Chromosomal aberrations وتشوهات رؤوس النطف Sperm head of abnormality وقد كانت الجرعة (100) ملغم/كغم، حيث خصصت (9) فئران لهذا الاختبار فقد جرعت (3) فئران بـ (0.25) مل يومياً من المستخلص الفلافونويدي الخام بتركيز 100 ملغم / كغم ولمدة ستة أيام متتالية وفي اليوم السابع جرعت الفئران بـ (0.25) مل من المطفر (MMC) وشرحت بعد مرور (24) ساعة وفي الوقت نفسه فقد تم تجريع (3) فئران بـ (0.25) مل من (PBS) لمدة سبعة أيام. شرحت بعد ذلك وعدت كسيطرة سالبة. فيما تم تجريع (3) فئران بـ (PBS) Phosphate Buffer Solution (PBS) مدة ستة أيام. وفي اليوم السابع جرعت بالمطفر (MMC) وشرحت بعد مرور 24 ساعة وعدت كسيطرة موجبة وهذه تمثل دراسة الفعل الوقائي لان المستخلص اعطي قبل العقار. في حين خصص (9) فئران أخرى جرعة (3) منها بحجم (0.25) مل من المطفر MMC وبعد مرور (24) ساعة من وقت التجريع جرعت كل (3) فئران بـ (0.25) مل من المستخلص الفلافونويدي الخام بتركيز 100 ملغم / كغم يومياً ولمدة ستة أيام اما بقية الفئران فقد تم تجريعها بـ (0.25) مل من (PBS) يومياً ولمدة ستة أيام وفي اليوم السابع جرعت بالمطفر MMC وشرحت بعد مرور 24 ساعة وعدت كسيطرة موجبة، اما السيطرة السالبة فقد خصص لها 3 فئران جرعت بحجم (0.25) مل من PBS ولمدة سبعة أيام، وهذه تمثل دراسة الفعل الوقائي للمستخلص على اعتبار انه تم اعطائه بعد حدوث التغيرات السمية.

### الاختبارات الوراثية الخلوية

اجريت الاختبارات الوراثية في حساب معامل الانقسام الخيطي MI % والتشوهات الكروموسومية CA% لخلايا نقي العظم وذلك باستخدام طريقة Allen وجماعته (10)، في حين استخدمت طريقة Wyrobe و Bruce (11) في فحص تشوهات رؤوس النطف وتم فحص الشرائح بعد ان جفت في المجهر الضوئي وباستخدام العدسة الزيتية اذ تم حساب النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف من خلال فحص (1000) نطفة ومقارنة اشكال تلك النطف مع الشكل الطبيعي، ولغرض حساب نسبة الحماية التي تقوم بها الفلافونويدات المستخلصة من نبات الروجة تجاه تأثيرات عقار MMC من خلال المعادلة الآتية (12)

$$\text{نسبة الحماية} = \frac{100 \times (أ - ج)}{أ - ب}$$

حيث أن أ = مجموعة السيطرة الموجبة (المعاملة فقط)، ب = مجموعة السيطرة السالبة (غير معاملة)

ج = مجموعة التداخل (المعاملة بالعقار والمستخلص الفلافونويدي الخام).

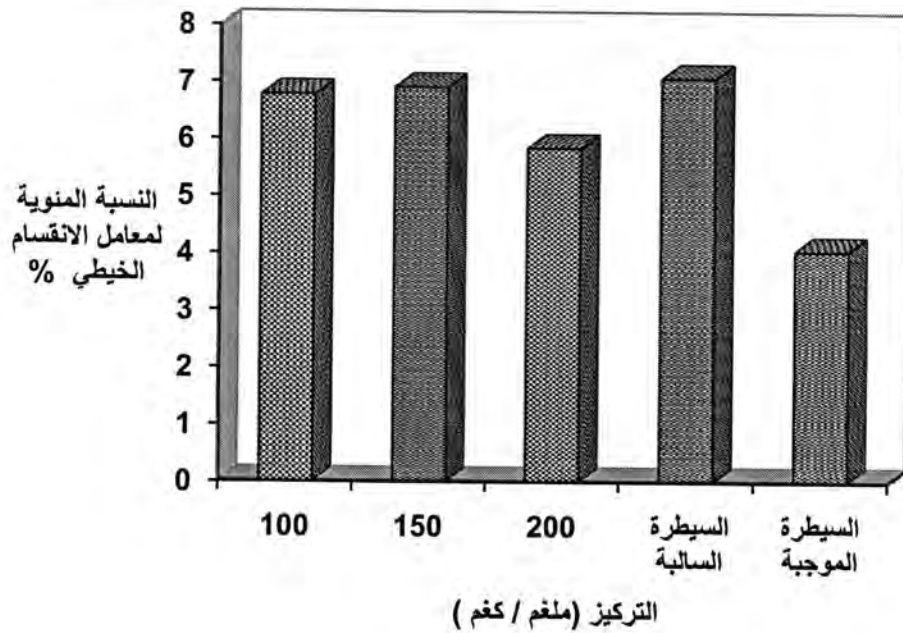
### التحليل الإحصائي

حللت البيانات احصائياً باستخدام برنامج الحقيبة الاحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical Package for Social Science (SPSS) فقد تم تطبيق تحليل التباين الاحادي (One way analysis of variance) ومن ثم المقارنات المتعددة (multiple comparisons).

### النتائج والمناقشة

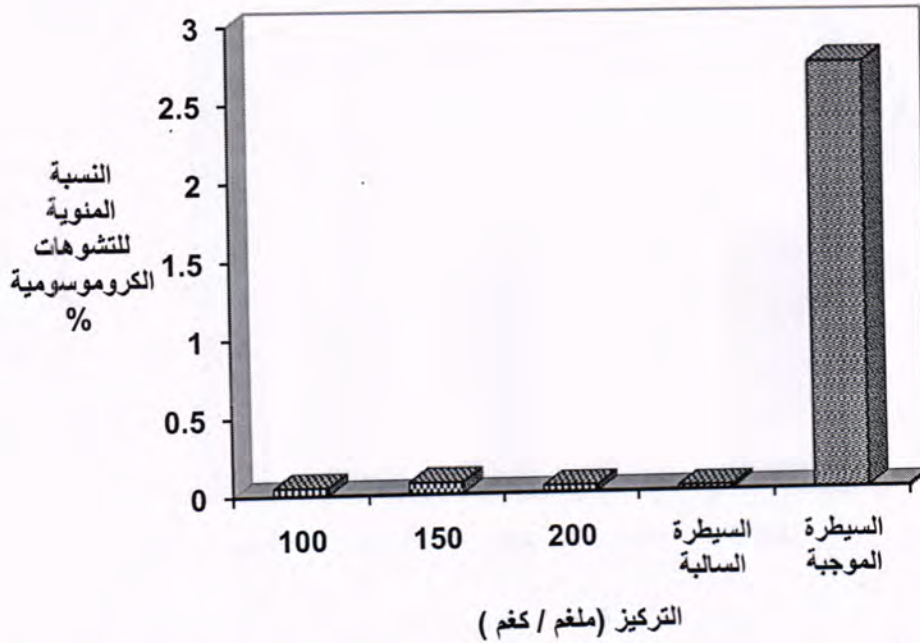
#### نتائج تجربة السمية الوراثية للمستخلص وعقار المايتومايسين.

أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (1) ان المستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجة وبالجرع الثلاث (100, 150, 200) ملغم / كغم سبب تأثيرات متباينة في معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم الفئران المجرعة بها وباختلاف الجرعة ، فقد أدت الجرعة (200) ملغم / كغم الى انخفاض قيمة هذا المعامل (5.85%) وبفرق معنوي عند احتمالية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع السيطرة السالبة والتي كان معامل الانقسام الخيطي فيها يساوي (6.78) % في حين لم تشكل الجرعتان (100, 150) ملغم / كغم فروقا معنوية حيث كانت قيم هذا المعامل في الحيوانات المجرعة هي (6.91, 6.78) % على التوالي بينما انخفضت قيمة معاملة السيطرة الموجبة المتمثلة بعقار MMC وتركيز 0.5 ملغم / كغم الى (4.05) % .



شكل 1- تأثير جرعة مختلفة من المستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجة في النسب المئوية لمعامل الانقسام الخيطي في خلايا نقي العظم في الفئران المختبرية .

ويظهر الشكل (2) عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ( $P < 0.05$ ) في استحثاث التشوهات الكروموسومية وبالنسب (0.050, 0.075, 0.040) % للجرع الثلاث (200, 150, 100) ملغم / كغم على التوالي وهي تتماثل مع نتائج السيطرة السالبة (0.025) % في حين ازدادت قيمة هذا المعامل معنوياً الى 2.75 % عند معاملة السيطرة الموجبة .

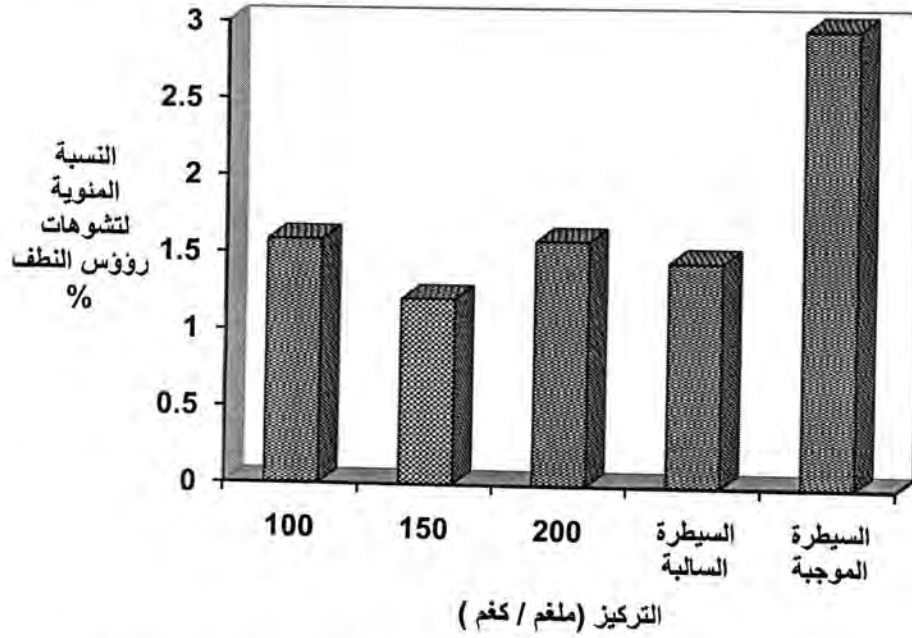


شكل -2: تأثير جرعة مختلفة من المستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجه في النسب المئوية للتشوهات الكروموسومية في خلايا نقي العظم

كما يبين الشكل (3) عدم وجود تأثيرات معنوية عند مستوى ( $P < 0.05$ ) في رفع او خفض نسبة تشوهات رؤوس النطف للحيوانات المجرعة بها عند المقارنة مع السيطرة السالبة التي كانت نسبة هذه التشوهات فيها (1.45) % ومعاملة السيطرة الموجبة التي ازدادت نسبة التشوهات زياده معنوية الى 2.95 % بينما كانت نسبة تشوهات رؤوس النطف في الحيوانات المجرعة بالمستخلص الفلافونويدي الخام هي (1.58 , 1.20 , 1.58) % للجرع الثلاث (100 , 150 , 200) ملغم / كغم على التوالي. يتضح من هذه الاشكال الموضحة مسبقا ان مستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجه خال من التأثيرات السمية بالتراكيز المستخدمة (100, 150, 200) ملغم / كغم وهذه النتائج مشابهة لنتائج دراسات اخرى منها دراسة الجنابي عند تجريع الفئران بجرع مختلفة من المركبات الفلافونويدية والمستخلصة من بذور حبة البركة (13) والطائي للمستخلصات الفلافونويدية الخام من اوراق نباتات اكليل الجبل والمرمية والكجرات (14) وقد اوعزت تأثير هذه المستخلصات في رفع معامل الانقسام الخيطي لكون لها قابلية تحفيزية للخلايا على الانقسام الخيطي من خلال التأثير في نفاذية غشاء خلايا الدم البيضاء بصورة غير مباشر او التأثير المباشر مثل حثه على تحديد النشاط والحيوية للخلايا للمفاوية او حثه لعملية تضاعف ال DNA (15).

وبناء على نتائج التغيرات في كل من نسب معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم ونسب التغيرات الكروموسومية فضلا "عن نسب التشوهات في رؤوس نطف ذكور الفئران تم انتخاب الجرعة (100) ملغم / كغم للمستخلص الفلافونويدي الخام من نبات الروجه لاختبار القدرة الوقائية او العلاجية لهذا المستخلص





شكل 3- تأثير جرعة مختلفة من المستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجة في النسب المئوية لتشوهات رؤوس النطف في خلايا نقي العظم

#### نتائج دراسة الفعل الوقائي والعلاجي للمستخلص الفلافونويدي الخام

ان نتائج هذا التداخل موضحة في الجدول (1) اذ يتضح قدرة المطفر MMC السيطرة الموجبة في احداث انخفاض واضح في معامل الانقسام الخيطي للحيوانات المجرعة به بحيث شكل هذا الانخفاض اختلافا معنويا عند مستوى ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع السيطرة السالبة ويعود سبب التأثيرات السمية والتطهيرية للعقار الى قدرته على خفض معامل الانقسام الخيطي بسبب ارتباطه التساهمي بقاعدة الكوانين لشريط ال DNA نفسه (inter strand) او بين شريطي ال DNA (intra strand) لذا فان هذا الارتباط لل MMC ب DNA هو المسؤول عن التقليل من النمو والانقسام الخيطي (15).

وعند اجراء التداخل مابين المطفر والمستخلص لهذا النبات وبجرعة 100 ملغم / كغم وفي المعاملتين ( قبل وبعد ) نجد ان هذا التداخل حقق نتائج متباينة الا انها جميعا لم تستطع الوصول الى قيمة السيطرة السالبة ففي التجربة الوقائية لمعاملة بالمستخلص قبل العقار وصل قيمة المعامل الى ( 6.58 ) % وبفرق غير معنوي عن السيطرة السالبة بينما بلغت قيمة المعامل في التجربة العلاجية وامعامله بالمستخلص بعد العقار بعد ( 6.35 ) % الا ان هذا الاختلاف شكل فرقا معنويا عند مستوى ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع السيطرة السالبة (7.08) % . وقد بلغت نسبة الحماية التي سببها المستخلص الفلافونويدي الخام من تأثير المطفر MMC في معامل الانقسام الخيطي قبل التطهير ( 82.50 ) % و ( 75.90 ) % بعد التطهير ، وهذا يدل على كفاءة التجريع بالمعاملة (قبل) مقارنة مع المعاملة (بعد) وهذا قد يعود الى مقدرة المركبات الفعالة النباتية من ضمنها الفلافونويدات على تحفيز الخلايا الجذعية على الانقسام لكي تعوض النقص في الخلايا الدموية في مجرى الدم نتيجة لتأخر في عملية الانقسام او موت بعض الخلايا نتيجة المعاملة بالعقار (16).

جدول 1-:التأثير الوقائي والعلاجي لمستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجه في النسبة المئوية لمعامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية

المعاملات	MI% ± الانحراف المعياري	نسبة الحماية %
السيطرة السالبة	0.0 ± 7.08	
السيطرة الموجبة	0.24 ± 4.05*	
(قبل) التطهير	0.10 ± 6.58	83.49
(بعد) التطهير	0.32 ± 6.35*	75.90

\* معنوي عند مستوى احتمالية (P<0.05)

كما اظهرت خلايا نقي عظم الفأر زيادة معنوية في احداث تشوهات كروموسومية مختلفة عند معاملة الفئران بعقار الـ MMC وبتراكيز (0.5) ملغم / كغم وحسب الجدول (2) مما يدل على تأثيره السمي والتطفيري من خلال قدرته على التداخل مع المادة الوراثية الـ DNA لانه يعترض عملية تضاعف الـ (DNA- DNA Replication) (17) وهو قادر على حث اكسدة الـ DNA وتكوين جذور حرة super oxide radicals (18) . وعند اجراء التداخل ما بين المستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجه مع المطفر MMC لوحظ انخفاض في نسب التغيرات الكروموسومية عند تجريع الحيوانات ( قبل ) التطهير بالعقار حيث كانت النسبة (1.65) % وبفرق معنوي عند مستوى (P<0.05) عن السيطرة الموجبة ، كما اظهرت هذه المركبات المستخلصة الكفاءة ذاتها تقريبا عند تجريع الحيوانات ( بعد ) التطهير فقد انخفضت النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية الى ( 1.23 ) % وشكلت هذه الاختلافات فرقا بدلالة معنوية عند المقارنة مع السيطرة الموجبة وباعتماد على النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية فقد تم حساب نسبة الحماية للنبات تجاه المطفر MMC اذ دلت النتائج على ان المستخلص الفلافونويدي الخام اظهر اعلى نسبة حماية بلغت ( 55.27 ) % قبل التطهير و ( 42.12 ) % بعد التطهير من خلال ذلك نشير الى ان المستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجه تصنف ضمن المثبطات المباشرة بالدرجة الاولى اي تعمل على تثبيط التنشيط الايضى للمطفر او حدوث تداخل كيميائي مباشر بين المطفر والمادة المضادة للتطهير وضمن المثبطات الحيوية بالدرجة الثانية اي تعمل على تنشيط عمليات اصلاح الطفرة وهذا يتفق مع ماتوصلت اليه الطائي من ان الفلافونويدات المستخلصة من اكليل الجبل والمرامية والكجرات تعد من المثبطات المباشرة للمطفر الميثوتركسيت Methotrexate كونه يعمل على تقليل الاثر السمي لهذا المطفر عند تجريعها (قبل) التطهير (14) .

جدول 2-: تأثير التداخل بين المستخلص الفلافونويدي الخان لنبات الروجه في النسبة المئوية لتشوهات الكروموسومية لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية

المعاملات	CA% ± الانحراف المعياري	نسبة الحماية %
السيطرة السالبة	0.00 ± 0.025	
السيطرة الموجبة	0.10 ± 2.75*	
(قبل) التطهير	0.17 ± 1.23*	55.27
(بعد) التطهير	0.11 ± 1.65*	42.12

\* معنوي عند مستوى احتمالية (P<0.05)

اما فيما يخص تشوهات رؤوس النطف فقد اشارت نتائج الموضحة في الجدول (3) الى ان الجرعة 0.5 ملغم / كغم من المطفر MMC السيطرة الموجبة احدثت تشوهات في رؤوس نطف ذكور الفئران مقدارها 2.95 % وهذا يشكل فرقا معنويا عند مستوى ( $P<0.05$ ) عند المقارنة مع السيطرة السالبة (1.45%) في حين اظهر المستخلص قابلية واضحة في خفض نسبة التشوهات فروقا معنوية عند مستوى ( $P<0.05$ ) عند المقارنة مع السيطرة الموجبة فقد انخفضت نسبة التشوهات في المعاملة (قبل ) التطهير الى (1.88) % و (1.73) % بعد التطهير ونسبة حماية (71.33)% و (81.33) % على التوالي . وبصورة عامة يعتقد ان المسالك الشائع لكثير من العوامل المطفرة وبالاخص العقارات الكيميائية التي تستخدم بشكل واسع لمعالجة الاورام السرطانية المبكرة مثل الميثوتركسيت MTX والسايكلوفوسفاميد CP Cyclophosphamide والمايتومايسين MMC بقدرتها على احداث تشوهات كروموسومية واعطت نتائج ايجابية باستخدام هذا الفحص متمثلة في التشوهات المختلفة لرؤوس النطف من خلال تحديد المرحلة التي تكون فيها الخلايا الجرثومية Germ cell اكثر حساسية للمواد المطفرة اثناء تكون النطف (19 و 20) كما وجد الباحث Kasuyoshi قدرة فلافونويد الـ Quercetin المستخلص في توفير الحماية من اثر المادة المطفر 2,4-D ( Dichlorophenoxyacetic acid ) من خلال تقليل الضرر الحاصل في الخلايا الجرثومية بفعل هذه المادة المطفرة (21). نستنتج من هذه الدراسة قدرة المركب الفعال المستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجة في تثبيط التأثيرات السمية والتطهيرية المستحثة بفعل عقار MMC ولاسيما المعاملة قبل التطهير لذا يمكن تصنيف المستخلص الفلافونويدي الخام ضمن المثبطات المباشرة Desmutagens بالدرجة الاولى وضمن المثبطات الحيوية Bioantimutagenes بالدرجة الثانية .

جدول-3: تأثير التداخل بين فلافوالمستخلص الفلافونويدي الخام لنبات الروجة في النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف لذكور الفئران المختبرية .

المعاملات	CA% ± الانحراف المعياري	نسبة الحماية %
السيطرة السالبة	0.10 ± 1.45	
السيطرة الموجبة	0.15 ± 2.95*	
(قبل) التطهير	0.00 ± 1.88*	71.33
(بعد) التطهير	0.14 ± 1.73*	81.33

\* معنوي عند مستوى احتمالية ( $P<0.05$ )

#### المصادر

1. Jiang , X. Effects of herbal medicines of the pharmacokinetics and pharmacodynamic of warfarin healthy subjects . PhD, Thesis Faculty of Pharmacy , Sydeny University . ( 2004) .
2. Aleisa , A. M. Cytological and biochemical effects of Saint john's wort , Rosemary and spirulina ) on somatic and germ cells of (2008) . Swiss Albino Mice . J, Environ Res Public health, 5(5) : 408-417.



3. Toker , Z.. Variation of total hypericin, phenolic and flavonoid compounds in *Hypericum triquetrifolium* during its phenological cycle . Pharmaceutical Biology , 47 ( 4): 285-288 . (2009).
4. Kazlauskas , S. Quantitative analysis of active substances in Saint. john,s wort ( *Hypericum perforatum* L. ) by the high performance liquid chromatography method. Medicina , 40( 10) : 975- 981. (2004).
5. Yanping, Z. ; Yanhua , L. and Dongzhi , W. Antioxidant activit of a flavonoid \_ rich extract of *Hypericum perforatum* L . *in vitro* . j. Agr. Biotech. 52(16) : 5032-5039.(2004).
6. Raghu , Ch. H. ; Venkatesh , P. ; Arumugam , M. Estimation of total phenols with special emphasis to antioxidant potentials of few *Hypericum* species . Pharmacology Onlines . 1: 680-689. (2009) .
7. Harbore , J. B.. Phytochemical methods , second edition Chopman Hall pp : 288 . (1973).
8. الكروي ، طلال عبد الرزاق علي . استخلاص بعض المركبات الفلافونويدات من اوراق نبات السدر واستعملها كموا د مضادة للاكسدة ومفيدة للمعادن في زيت زهرة الشمس ، إطروحة دكتوراه ،كلية الزراعة، جامعة بغداد. (2000).
9. الخياط، بشرى محمد امين . دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفر لبعض النباتات الطبية العراقية ، إطروحة دكتوراه، كلية التربية ابن الهيثم، جامعة بغداد. (1999)
10. Allen, J.W.;Shuler, C.F.;Mendes ,R. W. and Latt , S. A . Asimplified technique for *in vivo* analysis of sister chromatid exchanges using 5- bromo- deoxyuridine tablets Cytogenetic. Cell Genet .,18:231-37. .(1977).
11. Wyrobek , A.J. and Bruce , W.R . Chemical induction of spermalities in mice . proc . Natle . Acad . Sci .(U.S.A) 72:425-29 Morton , R.k., 1954 . The purification of alkalinenosphatase of animal tissues\_ Biochem .J., 57:595-603 ( 1975) .
12. Rawat , A . K. S .; Methrotra, S. ; Tripothi , S. C. and Shome, U. Hepatoprotective activity of Boerhavia diffuse L-roots a popular Indian ethnomedicine . J. Ethno.,56:61-66. (1997).
13. الجنايبي ، ازهار محمود حليم . دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في الخلايا اللمفاوية لمرضى ابيضاض الدم النخاعيني المزمن، إطروحة دكتوراة، كلية العلوم ،الجامعة المستنصرية . ( 2004) .

14. الطائي ، شذى علي شفيق . تاثير فلافونويدات بعض الانواع النباتية في الفعل التطفيري لعقار الميثوتركسيت MTX وسم افلا B1 ، اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية. (2005).
15. Warren , A. J. ; Maccubbin , A. E. ; Hamilton , H. Detection of mitomycin - C DNA adducts *in vitro* by p33 – post labeling : Time course for formation and removal of adduct and biochemical modulation . Cancer Res 58: 453-461. (1998.) .
16. Travis, E. L. Primer of medical radiobiology, Year Book Medical publisher, USA. (1995).
17. Ochs , K. ; Sobol , R. W. ; Wilson, S. H. and Kaina , B. Cells deficient in DNA polymerase Beta are hypersensitive to alkalyting agent induced apoptosis and chromosomal breakage . Cancer Res , 59 : 1544-1551 . ( 1999) .
18. Niikawa , M. ; Nakamura , T. and Nagase , H. Suppressive effects of aspirin on chromosomal aberration induced by mitomycin-c in mice . Biol. Pharm . Bull . 24 (8) : 964-966.( 2001).
19. Mahrous, K. F.; El- Fiky , S. ; El- Nahass , E. and Mohamed, A . The protective effect of an isothiocyanate prodrug against chromosomal aberrations induced by some mutagenic drugs in mice, bio . techn. 5(1) . 1-11. (2002) .
20. Padmanabhan , S. ; Tripathi , D. ; Vikram , A. and Ramarao , P. Cytotoxic and genotoxic effects of Methotrexate in germ cells of male Swiss mice , Mutat . Res . 655( 1-2) : 59-67 .( 2008).
21. Yuling , M. ; Zhang , C. and Kazuyoshi , T. Quercetin protects spermatogonial cells from 2,4 D- induced oxidative damage in embryonic chickens . Medicina , 53 (4) : 749-754.( 2007).



تأثير المعاملة بالمبيد الفطر الحيوي *Trichoderma koningii*  
والمبيدين الكيماويين بروليكس وثيوفنيت ميثيل 70 على نمو وانتاجية نبات الباذنجان  
*Solanum melongena L*

عمادعيل مطر<sup>1</sup> و بدر محمد عباس العزاوي<sup>2</sup>  
القسم التحليلات المرضية / كلية اليرموك الجامعة  
القسم علوم الحياة / كلية العلوم الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2009/3/10 - تاريخ قبول البحث 2010/3/22

## ABSTRACT

The experiment was study the effect of three levels of *Trichoderma koningii* with three levels of Fungicide prolex and thiophanate methyl 70 on growth and yield of eggplant which was include plant height, fruit number/ plant, total yield and chemical characteristics .

The experiment was carried out in field eggplant in south of Baghdad the experiment design according to RCBD method with 5 treatment and each treatment was replicated 3 times .

Results showed that increasing in plant yield treated with fungus inoculators 3gm/m into 39 ton/donum Compare to 31 ton/donum treated without fungus inoculators. The rate of plant height grew up 112 and 114 cm of treatment compare with control treatment 93 cm and with fungus inoculators 2 and 3 gm/m<sup>2</sup> compare with control treatment. Whereas plants grew up into 99 and 101 cm of treatments compare with control treatment 93 cm and with (prolex) 6 and 12 gm/m<sup>2</sup> compare with control treatment.

Significant difference was shown with treatment of *Trichoderma koningii* and fungicide prolex for increase the percentage of proteins, phosphorus and potassium of fruit and non significant differences between the treatment of *Trichoderma koningii* & fungicider on the percentage of dry material and solanin of fruit.

## الخلاصة

تضمن البحث دراسة تأثير ثلاث مستويات من لقاح الفطر *Trichoderma koningii* (0 و 2 و 3 غم/م<sup>2</sup>) مع ثلاثة مستويات من مخلوط المبيد الفطر بيروليكس وثيوفنيت-ميثيل 70 (0 و 6 و 12 غم/م<sup>2</sup>) في نمو وانتاجية نبات (*Solanum melongena L*). والتي تتضمن ارتفاع النبات ، عدد الثمار ، الحاصل الكلي والصفات الكيميائية لثمار الباذنجان.

لقد اجري البحث حقلياً في حقل مزروع بالباذنجان في جنوب بغداد وقد تم تصميم الحقل الى خمس معاملات حسب الطريقة RCBD وبواقع ثلاثة مكررات للمعاملة الواحدة. أشارت النتائج تفوق معاملة لقاح الفطر عند تركيز 3 غم/م<sup>2</sup> ، في زيادة إنتاج نبات الباذنجان اذ بلغ 39 طن/دونم مقارنة بـ 31 طن/دونم عند عدم استخدام لقاح الفطر، كما حققت معاملات إضافة لقاح الفطر 2 و 3 غم/م<sup>2</sup> زيادة في معدل ارتفاع النبات بلغ 112 و 114 سم للمعاملات على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة 93 سم، فيما أعطت معاملات إضافة المبيد الكيميائي بروليكس وثيوفنيت 6 و 12 غم/م<sup>2</sup> ارتفاعاً مقداره 99 و 101 سم على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة 93 سم.

كما أوضحت النتائج وجود فروق معنوية في النسبة المئوية للبروتينات والفسفور والبوتاسيوم للثمار في معاملات إضافة لقاح الفطر *T. koningii* والمبيد الفطري بروليكس ولم تظهر فروقات معنوية في معاملات لقاح الفطر والمبيد الفطري بروليكس على النسبة المئوية للمادة الجافة والسولانين.

## المقدمة

يعد الباذنجان من اهم الخضروات التي تزرع في العراق، ويؤثر السماد الحيوي بشكل معنوي على صفات النمو وانتاجية الباذنجان بالمقارنة مع استخدام نفس مستوى الأزوت من



الاسمدة الكيماوية (1) و (2) يتجه العالم نحو تقانات نظيفة مع التقليل ما امكن من التلوث وبالتالي فان استخدام مواد طبيعية مثل الاسمدة الحيوية يعد بديلاً مناسباً عن الاسمدة الكيماوية (3)، ان الاستخدام العشوائي للاسمدة الكيماوية ينتج عنه عدة مشاكل، فعند اضافة الاسمدة الازوتية للتربة تبدأ بعض المشاكل بالظهور مثل ضياع قسم من آزوت السماد عن طريق ارجاع النترات، عكس التآزوت وتطاير الامونيا، كما ان بعض الاسمدة الازوتية من الممكن ان تغسل الى الماء السطحي والاراضي مما يسبب تلوث البيئة (4). ان استخدام الاسمدة الحيوية يحسن خواص التربة الفيزيائية والكيميائية ويحسن صفات النمو وزيادة انتاجية النبات كما تزيد هذه الكائنات من تيسر العناصر الكبرى NPK في التربة.

ظهرت في الآونة الاخيرة مبيدات احيائية مادتها الفعالة احياء مجهرية من فطريات وبكتيريا (5). أشار (6) الى ان الفطر *T. koningii* أعطى كفاءة عالية في اختزال النمو الشعاعي للفطر *Rhizoctonia solani* وأكد (7) ان عملية التضاد التي يقوم بها الفطر *T. koningii* تعتمد على افراز انواع من الانزيمات التي تقوم او تعمل على تحلل جدران خلايا الفطريات المرضية للنبات واهم هذه الانزيمات هي الـ B-1,3 و Cellulase و Lipase و Chitinase و Gluconase. كذلك وجد ان السلالة T-22 من الفطر *T. koningii* لها قدرة عالية في تعزيز وامتصاص النتروجين من قبل النبات وتؤدي دوراً مهماً في ذوبان العناصر الصغرى Trace elements والتي يحتاجها النبات تحت الظروف غير الحامضية (8). وأشار (9) الى ان العناصر التي تختزل الحديد والنحاس والمنغنيز هي مواد احيائية يفرزها الفطر *Trichoderma sp* وهذا دليل على ان السلالة T-22 للفطر *T. koningii* تنتج عدد من المواد الكيماوية التي تسهم في ذوبان وجاهزية المغذيات الصغرى للنبات. كما ان هذا الفطر يساعد النبات في تحمل الاجهاد المسلط عليه في الظروف البيئية الصعبة فمثلاً زيادة تحمله للجفاف أدت الى تعزيز نمو الجذور للنباتات المعاملة بلقاح الفطر وقد أشار (10) الى ان اضافة السلالة T-22 للفطر *T. koningii* لنبات الذرة الصفراء أدى الى تحسين النمو وزيادة استجابته للسماد النيتروجيني وزيادة الحاصل كما توصل (11) الى ان اضافة لقاح الفطر *T. koningii* و *T. harzianum* الى التربة المعقمة أدت الى زيادة معنوية في بزوغ بادرات الباذنجان وزيادة الوزن الجاف للمجموع الجذري والخضري للنبات.

ويتمثل الهدف الرئيس لهذا البحث باختيار تأثير لقاح الفطر *T. koningii* مقارنة مع تأثير استخدام مخلوط المبيدين الفطرين بروليكس وثيوفنيت ميثيل 70 على بعض صفات النمو وانتاج نبات الباذنجان لغرض التقليل من استخدام الاسمدة الكيماوية.

## المواد وطرائق العمل

### العمل الحقل:-

اجرى هذا البحث في حقل خاص مساحته 2/1 دونم جنوب بغداد وللعام 2007 وقد استخدم في هذه التجربة ا ثلاثة تراكيز من لقاح الفطر *Trichoderma koningii* 0 , 2 , 3 غم<sup>2</sup> وثلاثة تراكيز من المبيد الكيماوي بروليكس 0 , 6 , 12 غم/م<sup>2</sup> خلطت معه ثلاثة تراكيز من مبيد ثيوفنيت - ميثيل 70 المستخدمة ضد مسببات الامراض الفطرية بالتراكيز 0 , 6 , 12 غم/م<sup>2</sup>. اضيفت المادة العضوية خلطاً مع التربة وبمستوى واحد بمقدار 80 طن/هكتار وتم عمل مساطب بابعاد 0.3 0.8 3 م للمعاملة الواحدة. وضعت عليها انابيب الري بالتنقيط وزرعت شتلات الباذنجان صنف بلاك بيوتي جوار المنقطات وغطيت بالبلاستيك بشكل انفاق وسمدة التجربة بالسماد النيتروجيني بمستوى نصف الكمية المقدرة 30كغم. دونم يوريا و60كغم دونم مبيد فوسفات ثلاثي. وقد تم تصميم الحقل وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD (12) وحسب المعاملات التالية:

1-  $T_0$  معاملة السيطرة (Control) = صفر غم/م<sup>2</sup>

2-  $T_1$  معاملة المستوى الثاني من لقاح الفطر

$$2 \text{ غم/م}^2 = \text{Trichoderma koningii}$$

3-  $T_2$  معاملة المستوى الثالث من لقاح الفطر

$$3 \text{ غم/م}^2 = \text{Trichoderma koningii}$$

4-  $B_1$  معاملة المستوى الثاني للمبيد الكيميائي = 6 غم / م<sup>2</sup> بروليكس + 6 غم/م<sup>2</sup> من المبيد ثيوفنيت - ميثيل 70.

5-  $B_2$  معاملة المستوى الثالث للمبيد الكيميائي = 12 غم / م<sup>2</sup> من بروليكس + 12 غم/م<sup>2</sup> من المبيد ثيوفنيت - ميثيل 70. وقد تم استعمال ثلاثة مكررات لكل معاملة :

العمل المختبري:

درست المتغيرات التالية:

أ- ارتفاع النبات: تم تسجيل النتائج اسبوعياً لمدة سنة لقياس طول الساق الرئيسي من محل اتصاله بالتربة الى القمة النامية للنبات بواسطة مسطرة يدوية 100سم وقد تم تخصيص نباتين من كل وحدة تجريبية والتي وضعت عليها علامات مميزة .  
ب- عدد الثمار للنبات الواحد: تم حساب عدد الثمار للنبات الواحد حسب المعادلة التالية عدد ثمار المرزبين الوسطيين / عدد النباتات المأخوذة منها الثمار  
ج- الحاصل الكلي: وقدرت لوحدة المساحة (دونم) حيث اخذت قياسات الحاصل من نباتات المرزبين الوسطيين وتم جني الحاصل مرة واحدة بالاسبوع في بداية جمع الحاصل ونهاية الموسم .

د- الصفات الكيميائية للثمار:

1- النسبة المئوية للمادة الجافة في الثمار: اختيرة ثمرتين من مجموع الثمار بصورة عشوائية من حاصل الوحدة التجريبية وتم وزنها وهي طرية ثم جففت داخل فرن كهربائي وعلى درجة حرارة 70<sup>0</sup> م ثم قدرة الوزن الجاف بعد ثبات الوزن بعدها استخرجت نسبة المادة الجافة وفق المعادلة التالية

$$\text{النسبة المئوية للمادة الجافة} = \frac{\text{الوزن الجاف}}{\text{الوزن الطري}} \times 100x$$

2- النسبة المئوية للبروتينات في الثمار:

لغرض اجراء التحاليل الكيميائية في الثمار تم اخذ خمسة ثمار من عدد الثمار الكلي بصورة عشوائية من حاصل الوحدة التجريبية وذلك عند منتصف فترة الاثمار حيث جففت داخل فرن كهربائي وعلى درجة 70<sup>0</sup> م واعقب ذلك طحنها بمطحنة كهربائية صغيرة وحفظت العينات المطحونة داخل قناني زجاجية صغيرة محكمة الفوهة ، ثم اخذ 0.3 غم من العينات المطحونة وتم هضمها باضافة 3مل من حامض الكبريتيك 98% وبمساعدة بيروكسيد الهيدروجين وذلك حسب طريقة (13) حيث قدرت نسبة الهيدروجين في العينة بواسطة جهاز مايكرو كدال وبعد ذلك قدرت نسبة البروتين بضرب نسبة النيتروجين في 6.25

3- النسبة المئوية للفسفور :

تم تقدير الفسفور في العينات المهضومة سابقاً بطريقة (13) وبواسطة جهاز UV ( SP 400-6 spectrophotometer)

4- النسبة المئوية للبوتاسيوم :

قدرت نسبة البوتاسيوم في العينات المهضومة سابقاً بطريقة (13). وبواسطة جهاز flame analyzer .

5- النسبة المئوية لمادة السولانين :

تم تقدير مادة السولانين في العينات المهضومة سابقاً بطريقة (14).

لقد تم تحليل النتائج احصائياً حسب اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) على مستوى 5% (12



## النتائج والمناقشة

### 1- ارتفاع النبات:

بينت النتائج في الجدول (1) وجود فروق معنوية عند ( $p \leq 0.05$ ) في معدل ارتفاع النباتات في معاملات اضافة لقاح الفطر *T. koningii* عند المستوى 0.5 اذا اعطت معاملات اضافة لقاح الفطر معدلات ارتفاع 93 و 112 و 114 سم للمعاملات 0 و 2 و 3 غم/م<sup>2</sup> على التوالي، فيما اعطت معاملات المبيد بروليكس معدلات اطوال 93 و 99 و 101 سم للمعاملات 0 و 6 و 12 غم/م<sup>2</sup> على التوالي. ونلاحظ في هذه النتائج تفوق معدلات اطوال النباتات في معاملات الفطر *T. koningii* مقارنة بمعاملات المبيد الكيماوي وقد يعزى السبب الى دور الفطر في تحليل المواد العضوية المتوافرة التي تحتوي على نسبة جيدة من المغذيات التي بدورها تدعم نمو النبات ودور الفطر في تكوين معقدات عضوية ومعدنية العناصر الصغرى ومنها Mn و Zn و Cu و Fe التي تزيد من جاهزيتها وهذا انعكس على النمو الخضري للنبات (3).

### 2- عدد الثمار / نبات:

اظهرت النتائج (جدول 1) عدم وجود فروق معنوية عند ( $p \leq 0.05$ ) في معدل عدد الثمار للنبات الواحد في معاملة لقاح الفطر *T. koningii* (2 غم/م<sup>2</sup>) مقارنة بالنباتات غير المعاملة. ولكن ادت المعاملة من لقاح الفطر (3 غم/م<sup>2</sup>) الى زيادة عدد الثمار بصورة معنوية مقارنة بالنباتات غير المعاملة ويتضح بانه لا توجد فروق معنوية عند ( $p \geq 0.05$ ) في معدل عدد الثمار للنبات الواحد في معاملات المبيد الكيماوي بروليكس وهذا يتفق ما توصل اليه (15) و (16).

### 3- الحاصل الكلي:

بنيت النتائج في الجدول (1) وجود فروق معنوية عند ( $p \leq 0.05$ ) بين المعاملات في الحاصل النهائي للباذنجان في نهاية الموسم فقد اعطت معاملة المقارنة معدل مقداره (31) طن/دونم فيما اعطتنا المعاملة 3 غم/م<sup>2</sup> من اللقاح الفطري انتاج مقداره (39) طن/دونم كما تفوقت معاملة المبيد بروليكس بانتاج مقداره 34 طن/دونم ففي كلتا الحالتين فان زيادة الانتاج تعزى الى نشاط الانزيمي في التربة توصل (17) الى ان الانزيمات التي يفرزها تزيد من استحداث المقاومة لدى النبات ضد مسببات الامراض النباتية. وربما تعود هذه الزيادة في الانتاج الى دور الفطر *T. koningii* في افراز منشطات النمو مثل الاكسينات والجبرلينات والسيتوكينات والتي تلعب دوراً هاماً في تحفيز نمو النبات والنشاط الميكروبي ينعكس على تحسين بيئة النمو والانتاج (18) و (19) و (20) ان اضافة المبيدين الكيماويين بروليكس وثيوفينيت ميثيل 70 ادى كليهما دوراً هاماً في التأثير في خصائص التربة الكيميائية والفيزيائية وبالتالي تعزيز نمو جذور النباتات المعاملة ورفع كفاءة استخدام الاسمدة النيتروجينية المضافة من قبل النبات بمستوى اعلى والذي انعكس في معايير النمو والحاصل.

### 4- الصفات الكيميائية للثمار

يتضح من الجدول (2) بأن لقاح الفطر *T. koningii* والمبيد الكيماوي بروليكس لم يؤثر معنويًا على النسبة المئوية للمادة الجافة في الثمار ولكن ادى كليهما الى زيادتها وبصورة غير معنوية مقارنة بثمار النباتات غير المعاملة.

كذلك يبين الجدول (2) وجود تأثيرات معنوية لمعاملات لقاح الفطر *T. koningii* والمبيد الكيماوي بروليكس على النسبة المئوية للبروتينات في الثمار حيث ادى كليهما الى زيادتها وبصورة معنوية مقارنة بثمار النباتات غير المعاملة وهذا يتفق مع (21) و (22) اللذان لاحظا ان اكبر محتوى للثمار من النيتروجين نتج من استخدام لقاح الفطر *T. koningii* الذي له قدرة عالية في تعزيز وامتصاص النيتروجين من قبل النبات وبالتالي انتقاله



الى الثمار حيث يدخل عنصر النتروجين في تكوين الاحماض الامينية التي هي وحدة بناء البروتينات.

وكذلك يبين جدول (2) وجود تأثيرات معنوية لمعاملات لقاح الفطر *T. koningii* والمبيد الكيميائي بروليكس على النسبة المئوية للفسفور في الثمار حيث ادى كليهما الى زيادتها وبصورة معنوية مقارنة بثمار النباتات غير المعاملة حيث تفوقت معاملة اللقاح الفطري 3 غم/م<sup>2</sup> بنسبة 0.052 % وهذا يعود لدور اللقاح الفطري في زيادة تيسر فسفور التربة وبالتالي امتصاصه من قبل النبات لما تفرزه هذه الاحياء من احماض عضوية ومعنوية و CO<sub>2</sub> (23) و (24).

وكذلك يبين جدول (2) الى تفوق معاملات اللقاح الفطري *T. koningii* 2 غم/م<sup>2</sup> و 3 غم/م<sup>2</sup> حيث بلغت النسبة المئوية 3.40 % و 4.40 % على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة، ويعزى ذلك الى دور هذه الاسمدة مجتمعة في زيادة محتوى التربة من العناصر المغذية وتحسين خواص التربة الفيزيائية والكيميائية والحيوية (3) و (8).

وقد لوحظ بان لقاح الفطر *T. koningii* والمبيد الكيميائي بروليكس لم يؤثر معنويا على النسبة المئوية لمادة السولانين ولكن ادى كليهما الى تقليلها وبصورة غير معنوية مقارنة بثمار النباتات غير المعاملة وقد يعزى السبب الى اختلاف الصنف المستخدم وطريقة المعاملة واختلاف الظروف البيئية وخاصة ظروف التربة التي نمت فيها نباتات الباذنجان.

جدول 1: تأثير لقاح الفطر *T. koningii* والمبيدين الكيماويين بروليكس وثيوفينيت ميثيل 70 في ارتفاع النبات، عدد الثمار والحاصل الكلي لنبات الباذنجان .

المعاملة	التركيز	ارتفاع النبات سم	عدد الثمار / نبات	الحاصل الكلي طن/دونم
معاملة السيطرة	0	*c 93	b 18	c 31
T <sub>1</sub> معاملة لقاح الفطر <i>T. koningii</i>	2 غم/م <sup>2</sup>	b 112	b 19	b 36
T <sub>2</sub> معاملة لقاح الفطر <i>T. koningii</i>	3 غم/م <sup>2</sup>	a 114	a 21	a 39
B <sub>1</sub> معاملة المبيد الكيماوي بروليكس + المبيد الكيماوي ثيوفينيت ميثيل 70	6 غم/م <sup>2</sup> + 6 غم/م <sup>2</sup>	d 99	b 18	c 32
B <sub>2</sub> معاملة المبيد الكيماوي بروليكس + المبيد الكيماوي ثيوفينيت ميثيل 70	12 غم/م <sup>2</sup> + 12 غم/م <sup>2</sup>	d 101	b 18	b 34

\* الارقام التي تشترك بنفس الحروف الابجدية لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن عند مستوى 5 % .

جدول 2:

المعاملة	التركيز	المادة الجافة %	البروتينات %	الفسفور %	البوتاسيوم %	السولانين %
معاملة السيطرة	0	7.3	*c 10.0	b 0.048	c 2.00	0.7
T <sub>1</sub> معاملة لقاح الفطر <i>T. koningii</i>	2 غم/م <sup>2</sup>	7.5	b 11.4	ab 0.051	b 3.40	0.6
T <sub>2</sub> معاملة لقاح الفطر <i>T. koningii</i>	3 غم/م <sup>2</sup>	7.6	a 12.4	a 0.052	a 4.40	0.6
B <sub>1</sub> معاملة المبيد الكيماوي بروليكس + المبيد الكيماوي ثيوفينيت ميثيل 70	6 غم/م <sup>2</sup> + 6 غم/م <sup>2</sup>	7.4	b 11.0	b 0.049	b 3.00	0.5
B <sub>2</sub> معاملة المبيد الكيماوي بروليكس + المبيد الكيماوي ثيوفينيت ميثيل 70	12 غم/م <sup>2</sup> + 12 غم/م <sup>2</sup>	7.4	b 11.2	ab 0.050	b 3.20	0.5

\* الارقام التي تشترك بنفس الحروف الابجدية لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن عند مستوى 5 % .

عماد و بدر

ان هذه الدراسة قد افرزت عن نتائج والتي اجابت على بعض الاسئلة ولكن فتحت افاق لدراسات اخرى عديدة وهي الخاصة التي تمتاز بها الدراسات الفسلجية ومن اهم الاستنتاجات هي:

- 1- كفاءة لقاح الفطر *T. koningii* كانت مماثلة الى كفاءة المبيد بروليكس في تحقيق زيادة في معايير نمو النبات والانتاج.
- 2- ان لقاح الفطر *T. koningii* يعمل على تحسين وزيادة جاهزية العناصر ونمو المجموع الجذري ويؤدي دوراً هاماً في تحليل المواد العضوية وهو الذي انعكس على معايير نمو النبات والانتاج.

### المصادر

- 1- Ahmed A. H. , effect of organic manures, biofertilizers and NPK mineral fertilizers on growth, yield and chemical composition of tomato plants. Egypt. J. Agric. Res., 68 (3),(2007).
- 2- Merghany, M. M. , Effect of irrigation systems and regimes in relation to farmyard manure levels on potato yield and quality in new reclaimed sandy soils. Annals of Agric. Sci. Moshtohor, 36 (2) : 997-1014,(1998).
- 3- El. Akabawy M. A. ,Effect of some biofertilizers and farmyard manure on yield and nutrient uptake of Egyptian clover grown on lomy sand soil. Egypt. J.Agric. Res.,78 (5),(2000).
- 4- Hammad A. M. M. .evaluation of alginate-encapsulated Azotobacter chroococcm as a phage-resistant and effective inoculum. J. Basic Microbiol. 38.1, 9-16 ,(1998).
- 5- Heulim, P., O. Berge, and F. Serio . Bacterial antagonists of sunflower (*Helianthus annus L.*) Fungal Pathogen plant and soil. 133 : 131-140 ,(2001).
- 6- Stephan, Z. A.; Hassoon, I. K. and Antoon, B. G. Field Application of Biocontrol agent fungi, rug by and Mocapon root knot nematode. Nematology. 16(2),(1998).
- 7- Sivan , A . and Chet, I. . the possible role of competition between trichoderma harziation and fusarium oxysprum on Rhizosphere. Colonization phytopathol. 79:198-2003,(1989).
- 8- Biorkman, A.T..Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Riafi. 1295-22. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2926-2933,(2001).
- 9- Graham, R. D., and webb, M. J. .Micronutrients and disease resistance and tolerance in plant. Soil. Sci. soc. Of Amer. 329-370 ,(1991).

- 10- Harman, G. E. .Myths and dogmas of biocontrol changes in perception derived from research on *Trichoderma koningii* plant disease. 84 (4) : 377-393(2000).
- 11- Windham , M.T., Elad Y., and Baker , R. .amechanism for increased growth induced by *Trichoderma* spp.phytopathology .76: 518-521,(2007).
- 12- Steel, R.G.D.and j.h torrie . . principles and procedures of statistics MC Graw- Hill book company, New york,(1960).
- 13- Schuffelen , A.C, A.Muller and J.C.H. van Schouwenburg . Quick tests for soil and plant analysis user by small laboratories, neth .j . agric .sci., 9:2-16,(1961).
- 14- Shaffer; P.A And A.F Hartmann.the iodometric determination of cupper and its use in sugar analysis (modified by noakell E.J.and EL-Gawadi , A., Barnell : New.phytol., 35:229-266. J.Biol , chem.. , 45:365,(1921).
- 15- Zaghloui R. A. . Biofertilization and organic manuring efficiency on growth and yield of potato plants. Recent Technologies in Agriculture. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> congress Faculty of Agriculture, Cairo University V.I,(2004).
- 16- Ali, M. Z. and Hammad, A. M. . Nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteriaas biofertilizers for eggplant plants under Minia conditions. First Egyptain Hungarian Hort. Conf., Kafr El-Sheikh; Egypt 13-15 sept,(2002).
- 17- Howell, C. R., L. E. Hanson, R. O. Stipanovis and L. S. Puckhaber. Induction of Terpenoid synthesis potato roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma Virens*. Phtopathol. 90:248-252,(2000).
- 18- Huggings D. R., W. L. pan . Nitrogen efficiency component analysis : An evaluation of cropping system differences in productivity. Agron. Jour. 80 : 898-905,(2000).
- 19- Emskine W., N. P. Saxena, M. C. Saxena . Iron deficiency in intil: yield loss and geographic distribution in a germplasm collection. Plant and soil 151: 249-254,(1993).
- 20- Foad M., Abdella N. F. and Hammad, H. E. . The possible use of nitrogen fixing *Azospirillum* as biofertilizer for tomato Plants. Egypt. J. of sciences 20, 199-206,(2005).



- 21- Doikova, M. . For higher eggplant yield and quality, B. lgarski plodove zelenchutsi i konservi; No. 9:26-28. (C.F. Hort. Abst. 48(2), 1978. Abst. No. 1468),(2005).
- 22- Gnamakumari and G. Satyanarayana . Effect of N, P and K fertilizers at different rates on flowering, yield and composition of brinjal (*Solanum melongena L.*) Ind. J. Agric. Sci.; 41 (6): 554-558,(2006).
- 23- Alexander M. . Introduction to soil Microbiology. Wiley, New York,(1977).
- 24- Taha S. M., S. A. Z. Mahmoud, A. H. Eldamaty. A. M. A. Elhafeg. Activity of phosphate – dissolving bacteria in Egyptian soils . plant and soil 31,149-160,(1969).

## اختزال الضوضاء الجمعية من الاشارة الكلامية باستخدام مرشح المعدل المحسن

احلام مجيد كاظم و علي عيد داود الزكي  
الجامعة المستنصرية ، كلية العلوم، قسم الفيزياء

تاريخ تقديم البحث 2009/5/3 - تاريخ قبول البحث 2010/3/22

## الخلاصة

تعد معالجة الإشارة الصوتية احد الفروع المهمة لمعالجة الإشارات الرقمية الواسعة التطبيق في مجالات عدة وخاصة أنظمة الاتصالات والهواتف النقالة إلا أن الإشارات الصوتية غالبا ما يرافقها تشويه وضوضاء والتي تسبب ضعف عملية تحليل وتمييز الإشارات الصوتية، لذا توجهنا لدراسة الإشارات الصوتية ودراسة الضوضاء الكاوسية المرافقة لها ، درسنا هنا العديد من تقنيات معالجة الإشارة لغرض إزالة الضوضاء منها وتحسينها وتحليلها تم توليد ضوضاء كاوسية جمعية باستخدام برنامج حاسوبي وحالات مختلفة من الانحراف المعياري للضوضاء المضافة ( $\sigma_g = 1, 2, \dots, 10$ ) وبمعدل صفري وتم إضافة هذه الضوضاء بشكل جمعي لعناصر الإشارة وتمت معالجة الإشارات الصوتية المشوبة بالضوضاء باستخدام مرشح المعدل التقليدي وتم دراسة الخصائص الإحصائية للإشارات الناتجة من المعالجة لتحديد جودة الإشارة بعد المعالجة وتحديد كفاءة المرشح ولوحظ أن عملية المعالجة تؤدي إلى فقدان بعض السمات المهمة للإشارة، لذا تم تحسين المرشح باعتماد شروط إضافية وذلك للمحافظة على السمات المهمة للإشارة وتمت معالجة الإشارة المشوبة باستخدام المرشح المحسن ثم دراسة الخصائص الإحصائية للإشارة الناتجة من المعالجة وأعطى مرشح المعدل بصيغته المحسنة نتائج جيدة في تحسين الإشارة المشوبة بالضوضاء كما تم دراسة كفاءة عملية إزالة الضوضاء باستخدام مجموعة من المعايير الإحصائية [وهي المعدل  $\mu$  ، والانحراف المعياري  $\sigma$  ، ونسبة الإشارة الى الضوضاء [ SNR ] للإشارات المشوبة والإشارات النقية والمحسنة حيث لوحظ تحسن كبير في هذه الخصائص مع المحافظة على السمات المهمة والمميزة للإشارة الصوتية .

## Abstract

Audio signal processing is one of the most significant branches of processing digital signals. It has wide applications in many fields, especially in communication and mobile phones systems, But the audio signals are often accompanied by distorted and the noise and causes weakness of the analysis and discrimination audio signals so for the purpose of improving the efficiency of audio signals must study and analysis of audio signals before treatment Collective Gaussian noise were produced using a computer software, for different conditions of standard deviation ( $\sigma_g = 1, 2, 3 \dots 10$ ) and zero mean. Noise was added collectively for different rates of audio signal, we are studies sound signals and the effective additive noise on signal , we make simulation to additive Gaussian noise by makes noise with many value of standard deviation and then we add this noise to the signal by additive form we are study effective filtering process by using mean filter to reduce noise, statistics significant features .Therefore mean filter was enhanced by adding some conditions to improve performing and conservation to maintain the significant feature of audio signals that results from using mean filter has been studied .we notice that mean filter in adaptive form give good result in enhancement signals that mix with noise.

## المقدمة

تعد الضوضاء بيانات غير مرغوب فيها تظهر نتيجة التقلبات التي تحدث على إشارة الصوت أو الإشارات التي تتداخل مع إشارة الصوت فتسبب تشويها وعدم وضوحها فالميكروفون يعمل على تسجيل الصوت المطلوب ويسجل معه الإشارات الصوتية التي تأتي من مصادر صوتية أخرى بالقرب من مصدر الصوت المطلوب ومنها الضوضاء التي تسببها مراوح الكمبيوتر أو نقرات لوحة المفاتيح أو صوت محرك السيارة أو صوت الريح أو

صوت المطر وغيرها والتي تعتبر خلفية ضوضائية وهي تضيف قيم عشوائية إلى كل عنصر من عناصر الإشارة الصوتية وهذه تعتبر أول مؤثر لظهور الضوضاء لذلك فإن الإشارة الناتجة من التسجيل الصوتي لا يمكن أن تخلو من الضوضاء، وعملية اختزال الضوضاء هي مسألة مهمة في تطبيقات متعددة مثل اتصالات الهاتف النقال وتمييز الكلام، ومعالجة الإشارات الطبية والراديو والسونار والعديد من التطبيقات [3-1] لذا توجهنا إلى دراسة المرشحات المثلى لغرض إزالة الضوضاء ومن ثم دراسة كفاءة اختزال الضوضاء بمعايير كمية كفوءة.

☐ عام 2001 درس طارق احمد حسن العامري كامل الاختبار الكمي ( الشبني)

objective measures لاختبار الإشارة الكلامية، حيث إن تقييم الكلام مهم جدا لعمل أنظمة الاتصالات وذلك لأنه يحدد مقدار الضغط في الإشارات الصوتية [4].

☐ عام 2004 قدم احمد حمود فليح دراسة لأنظمة تعريف المتكلم وتحديد هوية

أصوات المكائن وتمييز الكلمات المنفصلة لنص ثابت وضمن مجموعة مغلقة بدءا من قاعدة البيانات المرجعية المتمثلة بالطبقات المرجعية للأصوات [5].

a. قدم احمد كامل حسن عام 2005 دراسة لإزالة الضوضاء من الصوت باستخدام

تحويل الموجة واستخدام طرق مختلفة لإزالة الضوضاء الطبيعية واستند على طريقة

فصل المقاطع الصوتية عن المقاطع غير الصوتية [6].

#### التمثيل الرقمي للصوت والضوضاء

يعرف الصوت بأنه اضطراب تضاعطي ينتقل خلال المادة فالاhtزازات التي تحدثها الأصوات تعمل على إزاحة جزيئات الهواء وتضطرها على الاقتراب من بعضها البعض والتجمع وبذلك تنتج منطقة ضغط عالٍ تؤدي بها إلى الاندفاع نحو الجزيئات المحيطة بها لينتقل الاضطراب إليها ثم إلى سلسلة الجزيئات التي تليها وهكذا تتولد مناطق ضغط عالٍ (تضاعطات) ومناطق ضغط منخفض (تخلخلات) حيث أن سلسلة التتابعات السريعة للتضاعطات والتخلخلات في الهواء تصل إلى الأذن التي تكون عادة في حالة تلامس مع الهواء مما يسبب حركة طبلة الأذن والإحساس بالسمع والكلام هو نتيجة عمليات معقدة، تحول (الرسالة الكلامية) التي تصاغ في الدماغ بطريقة ما إلى إشارة عصبية تنقل عبر الأعصاب إلى الجهاز الصوتي الذي يكون مسؤولا عن توليد الصوت الذي ينطلق من الفم مولدا موجة كلامية وتحتوي إشارة الكلام معلومات مختلفة حول المتكلم حيث يمكن من خلالها فهم مستوى عالٍ من الخواص حول المتكلم مثل اللهجة والسياق وأسلوب المتكلم والحالة العاطفية للمتكلم وصفات أخرى والموجة الكلامية عبارة عن سلسلة من التغيرات في ضغط الهواء يمكن للأذن البشرية التقاطها كصوت إن التمثيل الرقمي للكلام (المعلومات المحتواة في الإشارة الكلامية) عادة يتطلب عددا كبيرا من الثنائيات (البت bits)، كما إن العديد من تطبيقات نقل الكلام في مجال الاتصالات تتطلب ضغط الكلام بنسب جيدة بحيث يمكن الحفاظ على مستوى جيد من جودة الكلام، في الأنظمة الصوتية تظهر فيها الضوضاء كإشارات صوتية عشوائية أو أصوات غير مرغوب فيها عند معالجة الإشارة أو تحليلها تعتبر الضوضاء بيانات ليست ذات معنى فهي ناتج عرضي ينتج بتأثير المؤثرات الأخرى وليس بتأثير الإشارة الفعلية وهي بيانات تدخل مع بيانات الإشارة تؤدي إلى تحريف أو خرق أو تغيير محتوى الرسالة المحمولة في الإشارة الرقمية وخلال عملية نقل الإشارة من جهاز الإرسال إلى جهاز الاستلام تحدث تأثيرات غير مرغوبة فيها تضعف الإشارة ومن أبرز هذه التأثيرات هي الضوضاء Noise وهي إشارة عشوائية وتأتي نتيجة إشارات كهربائية عشوائية تتولد نتيجة أسباب طبيعية تظهر داخل النظام أو خارجة وهذه التغيرات العشوائية تضيف إلى الإشارة معلومات يمكن إن تخفيها جزئيا أو كليا، وتعد التغيرات التي تطرأ على الإشارة نتيجة عمليات الترميز والتحويل من التماثلي إلى الرقمي من مسببات الضوضاء أيضا وتعالج باستخدام مرشحات تنعيم الإشارة وإزالة الضوضاء [7-9].



وعادة ما تمتزج الكثير من انواع الاشارات الرقمية بالضوضاء الكاوسية او الضوضاء التي لها توزيع كاوسي والتي قد تكون ناتجة عن ضوضاء حرارية في منظومة نقل الاشارة او تسجيلها ، وتمثل هذه الضوضاء عادة بالتوزيع الطبيعي، والذي يتخذ شكل الجرس ويدعى بالتوزيع الكاوسي. ويوصف التوزيع باقتران دالة كثافة الاحتمالية (Probability Density Function) بالمعادلة التالية [10-11] :

$$f(N) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_N} \exp - \frac{(N - \mu_N)^2}{2\sigma_N^2} \dots\dots\dots(1)$$

إذ أن N يمثل المتغير العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً .  
 $\mu_N$  يمثل المتوسط الحسابي للمتغيرات العشوائية (المعدل)  
 $\sigma_N$  .a يمثل الانحراف المعياري للمتغيرات العشوائية حول المعدل  $\mu_N$  .

### مرشحات التنعيم الرقمية Digital Smoothing Filters

تستعمل مرشحات التنعيم الرقمية أساساً لإزالة الآثار الزائفة التي يمكن أن تكون موجودة في الإشارة ، كالضوضاء الناتجة عن عملية ترميز الإشارة ، أو الأخطاء المصاحبة لعملية التسجيل والإرسال والاستلام وتعد المرشحات التقليدية من أبسط التقنيات المستخدمة في تنعيم الاشارة والتي يمكن تطبيقها مباشرة على الإشارة المشوبة ، دون الحاجة إلى معرفة مسبقة بالخصائص الإحصائية التي تتحكم بتوزيع الشدة في مناطق الإشارة ومن أبرز هذه المرشحات ، مرشح المعدل Mean Filter [12-13] ، تبرز كفاءة هذه المرشحات في إخماد تأثير الضوضاء في المناطق المتجانسة من الإشارة .

**مرشح المعدل Mean Filter :** يعمل هذا المرشح باستخدام نافذة صغيرة متحركة على طول الإشارة ، ويتم الحصول على الإشارة المنعمة Smoothing signal بأخذ معدل قيم ا لعناصر الإشارة المحتواة في النافذة المنزلقة ، واستبدالها بقيمة المعدل ، وبتعبير آخر يتم الحصول على الإشارة المحسنة باستخدام نافذة بتطبيق العلاقة الآتي [12]:

$$R(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=-\frac{N-1}{2}}^{\frac{N-1}{2}} I(t+i) \dots\dots\dots 2$$

حيث أن

R(t) يمثل قيمة المعدل للعناصر

I(t+i) تمثل قيمة عنصر الإشارة في النافذة .

### أهم الخصائص الإحصائية التي تحدد جودة للإشارة الصوتية

تستند معالجة الإشارة الصوتية الرقمية بشكل أساسي إلى المعلومات المحتواة في الإشارة وأسلوب توزيعها ، وهذه المعلومات التي تم تحسبها وفقاً للمبدأ الفيزيائي تخضع إلى مبدأ النمذجة الرياضية والتوزيعات الإحصائية لذا فإن إحصائيات الإشارة تكون مهمة جداً في عملية تحليل ومعالجة الإشارة الرقمية وكما إن هذه الإحصائيات تعطي سمات وصفات لطبيعة الإشارات وكيفية توزيع المعلومات فيها [13-15].

**a. المعدل (mean (μ :** معدل الشدة للإشارة يعرف بالرمز  $\mu$  وهي مفردة إحصائية تعني متوسط القيمة للإشارة وتأتي من جمع كافة عينات الإشارة الصوتية ثم القسمة على العدد الكلي للعينات N وبحسب المعدل  $\mu$  من العلاقة الآتية [13-15]:

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_{t=0}^N I(t) \dots\dots\dots (3)$$

حيث I(t): رمز عام للإشارة الصوتية

N: عدد عناصر الإشارة الكلي

b. الانحراف المعياري (Standard Deviation ( $\sigma$ ): يعرف بأنه مقدار انحراف قيم الإشارة عن المعدل ويحسب الانحراف المعياري  $\sigma$  من العلاقة التالية [13-15]:

c. الفرق بين أكبر وأصغر عنصر في الإشارة الصوتية MM: تستخرج قيمة العنصر الأكبر  $M_x$  وقيمة العنصر الأصغر  $M_n$  في الإشارة الصوتية ثم يحسب الفرق بينهما حسب المعادلة التالية:

$$MM = M_x - M_n \dots\dots\dots(4)$$

d. نسبة الإشارة إلى الضوضاء Signal to Noise Ratio (SNR): إن الفرق بين الإشارة الداخلة والإشارة الخارجة يمثل الضوضاء بحيث إن كل عنصر في الإشارة الخارجة يتألف من عنصر الإشارة الداخلة إضافة إلى الضوضاء فإذا كانت الإشارة عبارة عن جزء متجانس مستقطع من الإشارة الصوتية فإن نسبة الإشارة إلى الضوضاء تعطى بالعلاقة الآتية [13-15]:

$$SNR = 20 \log \left( \frac{\mu}{\sigma} \right) \dots\dots\dots(5)$$

حيث  $\mu$ : المعدل  $\sigma$ : الانحراف المعياري

e. دالة احتمالية التوزيع (Probability Density Function (PDF): يعبر عنها بالصيغة  $p(f)$  وهي تمثل احتمالية توزيع الشدة لعناصر الإشارة الصوتية  $I(t)$  حيث إن الدالة  $I(t)$  تأخذ المدى  $-\infty < I(t) < \infty$  وأن الاحتمالية تكون محددة بالعلاقة  $0 < p(I) < 1$  والعلاقة بين  $p(I)$  وقيم  $I(t)$  تدعى بالمخطط التكراري للإشارة Histogram معظم الأنظمة الفيزيائية تكون فيها دالة كثافة الاحتمال يمكن تخمينها عن طريق الملاحظة فإذا تكررت التجربة لعدد من المرات وبشكل كافي عندها نستطيع حساب الاحتمالية أو التكرار للعناصر ورسم العلاقة بين العنصر وتكراره واحتماليته يسمى المخطط التكراري [13-15]. تم اعتماد الإشارات الصوتية التالية مع تصنيفاتها المختلفة:

- الإشارات الأصلية الخالية من الضوضاء  $O(t)$ .
- الإشارات المشوبة بالضوضاء NOS(t) وهي الإشارات التي تمت إضافة الضوضاء الكاوسية  $n(t)$  إليها ولحالات مختلفة من الانحراف المعياري  $(1, 2, 3, 4, \dots, 10)$   $\sigma_g$  وحسب المعادلة التالية:

$$NOS(t) = O(t) + n(t) \dots\dots\dots(6)$$

c. الإشارة التي تمت معالجتها بواسطة مرشح المعدل ويرمز لها  $S(t)$  وهي تمثل الإشارة المحسنة.

#### خوارزميات العمل

تم التعامل في هذا البحث مع الملفات الصوتية من نوع (8 bit) والملف من نوع wave وهو ملف عام عرف من قبل شركة مايكروسوفت والذي يستخدم حالياً في أنظمة windows وتم بناء برنامج حاسوبي لتنظيم عمل المرشح وإيجاد الخصائص الإحصائية للإشارات الصوتية لغرض مقارنة النتائج للإشارتين المشوبة بالضوضاء والمحسنة وأهم الخوارزميات المستخدمة في العمل هي كما يلي:

## خوارزمية 2: عمل مرشح المعدل mean filter algorithm

Input:

- noisy sound signal Nos(t)  $t=1,2,3,...,J$
- J= total number of elements
- Filter block size ( w ) =1,3,5,7, .....

Output:

- smoothed sound signal S(t)

- a. سحب الإشارة الصوتية المشوية بضوضاء كاسية Nos(t) لأجراء المعالجة عليها .
- b. تحديد حجم نافذة الترشيح w .
- c. يؤخذ العدد الصحيح لنواتج قسمة عدد عناصر نافذة المعالجة  $w1 = \frac{w}{2}$
- d. يتم تحديد أول عنصر من الإشارة الصوتية تجري عليه المعالجة (bs2) كما يلي :  $w2 = w1 + 1$
- e. تحديد آخر عنصر في الإشارة الصوتية تتم معالجته بالمرشح وفقاً للمعادلة التالية:  $J1 = J - w1$
- f. فتح دورة تكرار لمسح عناصر الإشارة الصوتية التي تجري عليها المعالجة بواسطة النافذة المستخدمة كما يلي:
- For k = w2 to J
- g. تحديد العنصر الأول والعنصر الأخير لنافذة المعالجة كما يلي :
- $t1 = t - 1$   $t2 = t + 1$
- h. وضع قيمة ابتدائية لمجموع عناصر النافذة المستخدمة في المعالجة
- i. فتح دورة تكرار لعناصر نافذة المعالجة وفقاً للمعادلة التالية
- j. نراكم عناصر النافذة في S
- k. إنهاء دورة التكرار لعناصر النافذة بالخطوة
- l. حساب المعدل لمجموع عناصر النافذة وهو يمثل قيمة العنصر المركزي الذي تجري عليه المعالجة حسب المعادلة التالية:
- $$S(t) = C \int \frac{K}{w}$$
- حيث أن C int عدد صحيح
- m. إنهاء دورة التكرار بالخطوة Next .
- n. تخزين الإشارة الصوتية الناتجة S(t) .



## خوارزمية 2 : خطوات عمل مرشح المعدل المحسن adaptive mean filter algorithm

- Input:** إدخال الإشارة المشوبة وحجم النافذة وعتبات التحسين  
 $t=1,2,3,...,J$   
 $J = \text{total number of elements}$
- noisy sound signal  $Nos(t)$
  - filter block size  $W = 1,3,5,7...$
  - filter optimization threshold  $Th1, Th2$
- output:** إخراج الإشارة الصوتية المحسنة
- smoothed sound signal  $S(t)$

## خطوات العمل

- A. إدخال الإشارة الصوتية المشوبة بضوضاء كاسية  $Nos(t)$  إزالة الضوضاء منها.
- B. إدخال عتبات التحسين للمرشح  $Th1, Th2$ .
- C. تحديد حجم نافذة الترشيح  $W$ .
- D. تحسب مقدار إزاحة النافذة  $W_1$  من اليسار واليمين للإشارة كما يلي  $W_1 = \text{Int}(\frac{W}{2})$  :  
 تأخذ العدد الصحيح وتهمل الكسر.  $\text{Int}()$  حيث
- E. حساب تسلسل آخر عنصر في الإشارة يتم معالجته
- F. تحديد تسلسل العنصر الوسطي في النافذة كما يلي:
- G. فتح دورة تكرار لمسح عناصر الإشارة تبدأ من  $W_2$  وتنتهي  $J_1$  كالآتي:  
 $J_1 = J - W_1$   
 $W_2 = W_1 + 1$   
 For  $t = W_2$  to  $J_1$
- a. تحديد بداية النافذة المنزلقة
- b. تحديد نهاية النافذة المنزلقة
- H. نضع قيمة ابتدائية لمجموع عناصر النافذة
- I. نفتح دورة تكرار للنافذة المنزلقة من  $t_1$  إلى  $t_2$  كالآتي:
- J. نراكم القيم لعناصر النافذة
- K. ننهي الدورة في الخطوة I
- L. نحسب المعدل لعناصر النافذة  $av = \text{Round\_Integer}(\frac{S}{W})$
- تعني التقريب إلى أقرب عدد صحيح.  $\text{Round\_Integer}$  حيث
- M. نحدد عنصر النافذة المركزي
- N. نحدد شرط تعديل المعالجة للنافذة
- إذا كان مقدار الفرق بين العنصر المركزي  $a_1$  والمستوى الصفري للإشارة الصوتية أكبر من 128 (  $Th1$  )
- تطبق شروط التحسين لقيمة المعدل أي أن  $Th1$  ( أكبر من 128 )
- إذا كان الفرق بين العنصر المركزي  $a_1$  والمعدل أكبر من العتبة  $Th2$  نستبدل قيمة المعدل بقيمة العنصر المركزي كما يلي:
- If  $|a_1 - av| > Th1$  then
- إذا كانت قيمة العنصر المركزي أكبر من قيمة العنصر الذي قبله والذي بعده نضع  $av = a_1$  أي أن
- If  $a_1 > Nos(t-1)$  and  $a_1 > Nos(t+1)$  then  $av = a_1$
- إذا كانت قيمة العنصر المركزي أصغر من قيمة العنصر الذي قبله والذي بعده نضع  $av = a_1$  أي أن
- If  $a_1 < Nos(t-1)$  and  $a_1 < Nos(t+1)$  then  $av = a_1$
- end if
- $S(t) = av = a_1$
- Next t
- O. ننهي شرط الخطوة N
- P. ستكون قيمة الإشارة المحسنة هي كما يلي:
- Q. تنتهي الدورة في الخطوة G

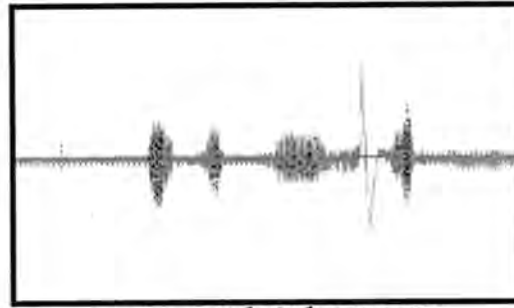
### النتائج والمناقشة

تم تسجيل اشارات الصوتية (مقطع صوتي مؤلف من كلمتين) والشكل (1) يوضح الشكل الموجي لهذه الاشارات الصوتية وتم تشويب هذه الإشارة بضوضاء كاوسية تم توليدها في المختبر حيث تم توليد ضوضاء عشوائية تحاكي الضوضاء الطبيعية وفقاً لموديلاتها الرياضية وهي الضوضاء الكاوسية وبمعدل صفري  $\sigma_g = 0$  وبقيم انحراف معياري مختلفة للضوضاء ( $\sigma_g = 1, 2, \dots, 10$ ) وتم اضافة الضوضاء المولدة (ملفات الضوضاء) للإشارات الصوتية للحصول على اشارات صوتية مشوبة بالضوضاء باستخدام مرشح المعدل التقليدي والمرشح الرقمي الذي تم اضافة شروط لتحسين عمله.

حيث تم اضافة الضوضاء الكاوسية إلى الإشارة الصوتية وحالات مختلفة من الانحراف المعياري ( $\sigma_g = 1, 2, 3, 4, \dots, 10$ ) وتم اضافة الضوضاء الى 100% من عناصر الإشارة الصوتية حيث يضاف نفس المقدار من الضوضاء على كل عنصر من عناصر الإشارة الصوتية تم رسم العلاقات البيانية بين الانحراف المعياري للضوضاء الكاوسية المضافة للإشارة  $\sigma_g$  مع المتغيرات التالية ( $SNR_s$ ,  $MM_s$ ,  $\sigma_s$ ) للإشارات الناتجة من المعالجة باستخدام مرشح المعدل التقليدي والمحسن حيث تم الاعتماد في عملية المعالجة لكل مرشح رقمي على النوافذ (3, 5, 7, 9) لكل قيمة من قيم  $\sigma_g$  للضوضاء الكاوسية المضافة للإشارة ، ويمكن تقييم كفاءة المرشح وجود الإشارة الصوتية الناتجة من المعالجة الرقمية من خلال دراسة المخططات البيانية للمتغيرات الإحصائية كما موضح في الاشكال (2,3) وكانت نتائج إزالة الضوضاء واختزالها باستخدام المرشح التقليدي والمحسن كما يلي :



الإشارة الصوتية الكلامية الأولى (الحمد لله)



الإشارة الكلامية الثانية (الرحمن الرحيم)

شكل -1: يبين مخطط شكل الإشارة الصوتية  $I(t)$  كدالة للزمن  $(t)$

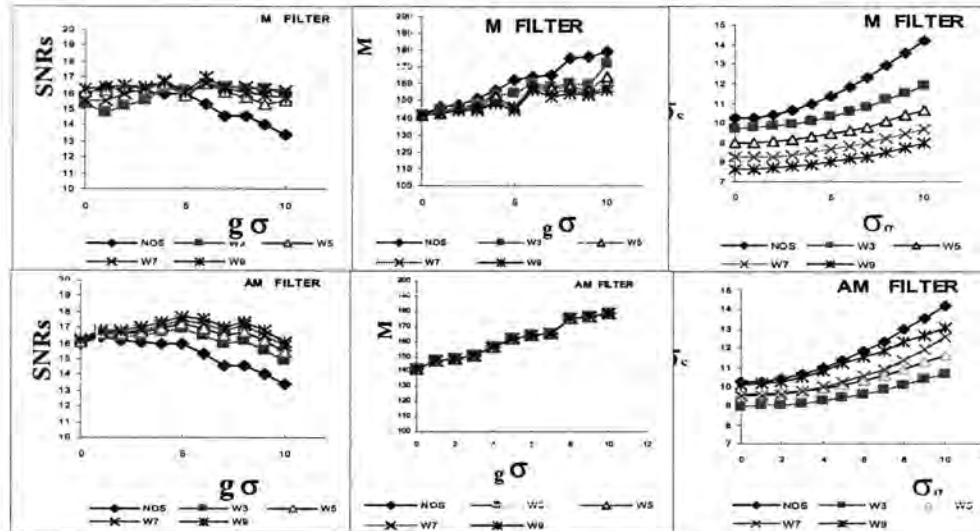
### A. نتائج التحسين باستخدام مرشح المعدل M في المعالجة

ظهرت نتائج تحسين الإشارة الصوتية الكلامية باستخدام مرشح المعدل M جيدة جداً من خلال دراسة المتغيرات الإحصائية للإشارة من الشكل (2) يظهر ان استخدام مرشح المعدل في المعالجة قد خفض الزيادة الحاصلة في الانحراف المعياري  $\sigma_g$  للإشارة المشوبة

بالضوضاء وان استخدام النافذتين (9, 7) اعطى نتائج افضل من استخدام النافذتين (5, 3) ، الشكل (2) يلاحظ فيه التحسين للإشارة واضحا من خلال اقتراب نتائج الفرق بين اكبر العناصر وأصغرها في الإشارة الصوتية  $MM_S$  من قيمتها للإشارة الأصلية قبل اضافة الضوضاء للإشارة ، ملاحظة الشكل (2) يظهر فيها ان نسبة الإشارة الى الضوضاء  $SNR_S$  قد ارتفعت قيمتها وخاصة عند قيم  $\sigma_g$  العالية بعد ان أدت إضافة الضوضاء إلى خفضها نتيجة تشويه الإشارة الصوتية ويلاحظ تحسن واضح من خلال اقتراب قيمة  $SNR_S$  من قيمتها للإشارة الأصلية بعد ان أدت اضافة الضوضاء الى انخفاضها نتيجة اضافة الضوضاء للإشارة الصوتية ، يلاحظ من الشكل (3) ان استخدام المرشح لتحسين الإشارة الصوتية الكلامية الثانية أعطى نتائج مشابهة للتي استحصلت من معالجة الإشارة الصوتية الكلامية الأولى.

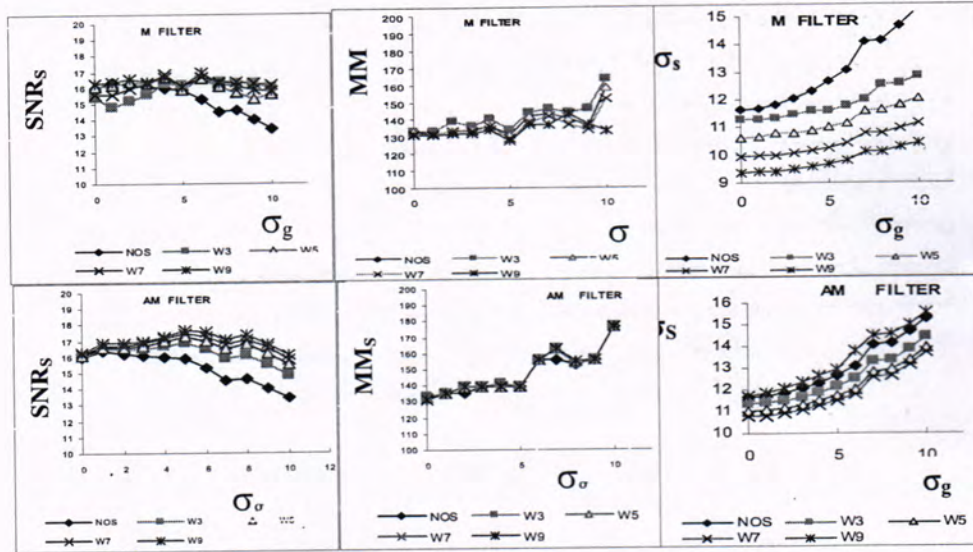
### B. نتائج التحسين باستخدام مرشح المعدل المحسن AM

ان الشروط التي اعطيت في الخوارزميات (1,2) للمرشح AM المذكورة قد جعلت عملية المعالجة تعطي نتائج افضل في المحافظة على السمات المهمة في الإشارة حيث حافظ المرشح المحسن AM على مناطق الارتفاعات والانخفاضات المهمة في الإشارة الصوتية مما ينتج محافظة على الفرق بين اكبر العناصر وأصغرها  $MM_S$  ثابتا ورفع لنسبة الإشارة الى الضوضاء بنفس الوقت اعطت نسبة جيدة من التحسين بعد المعالجة، يلاحظ من الشكل (2) ان استخدام مرشح المعدل المحسن AM قد خفض الزيادة الحاصلة في الانحراف المعياري  $\sigma_s$  للإشارة المشوبة بالضوضاء وان استخدام النافذتين (9, 5, 7) اعطى نتائج افضل من استخدام النافذتين (3) يلاحظ من الشكل (2) يلاحظ فيه التحسين للإشارة واضحا من خلال اقتراب نتائج الفرق بين اكبر العناصر وأصغرها في الإشارة الصوتية  $MM_S$  من قيمتها للإشارة الأصلية قبل اضافة الضوضاء للإشارة ، يلاحظ من الشكل (2) ارتفاع واضح في قيمة  $SNR_S$  للإشارة الكلامية بعد المعالجة وأعطت جميع نوافذ المعالجة نتائج ممتازة، ويلاحظ من الشكل (3) تظهر نتائج التحسين للإشارة الكلامية الثانية مشابهة لنتائج تحسين الإشارة الكلامية الأولى.



شكل 2-: نتائج التحسين للمعايير الإحصائية التي تم اعتمادها في البحث الإشارة الأولى

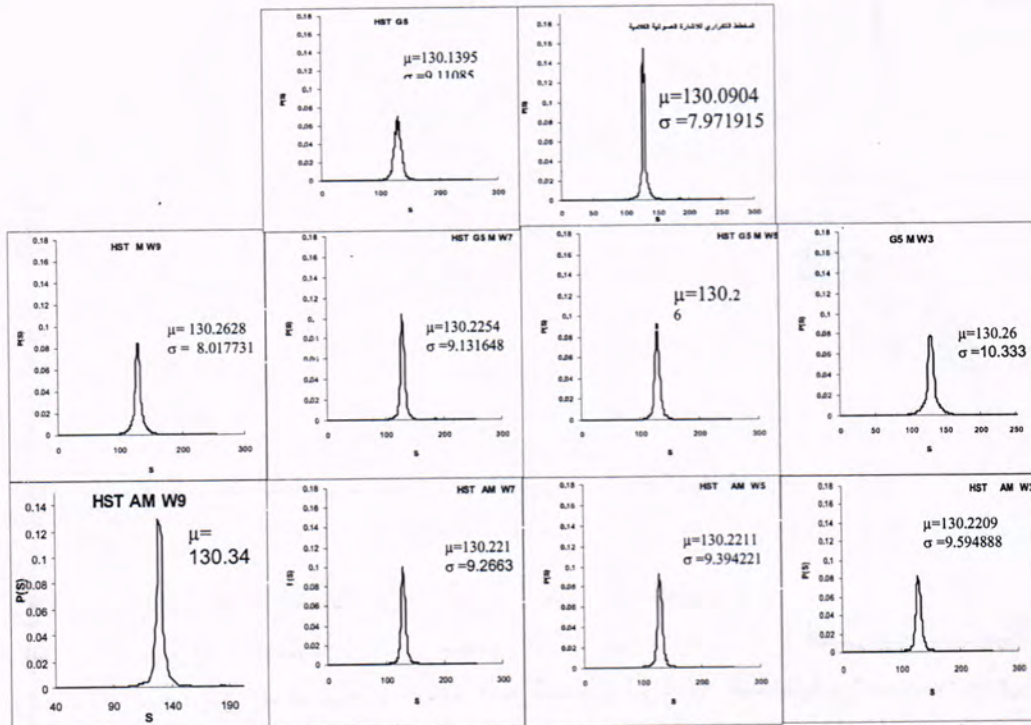




شكل 3: نتائج التحسين للمعايير الإحصائية التي تم اعتمادها في البحث الإشارة الثانية

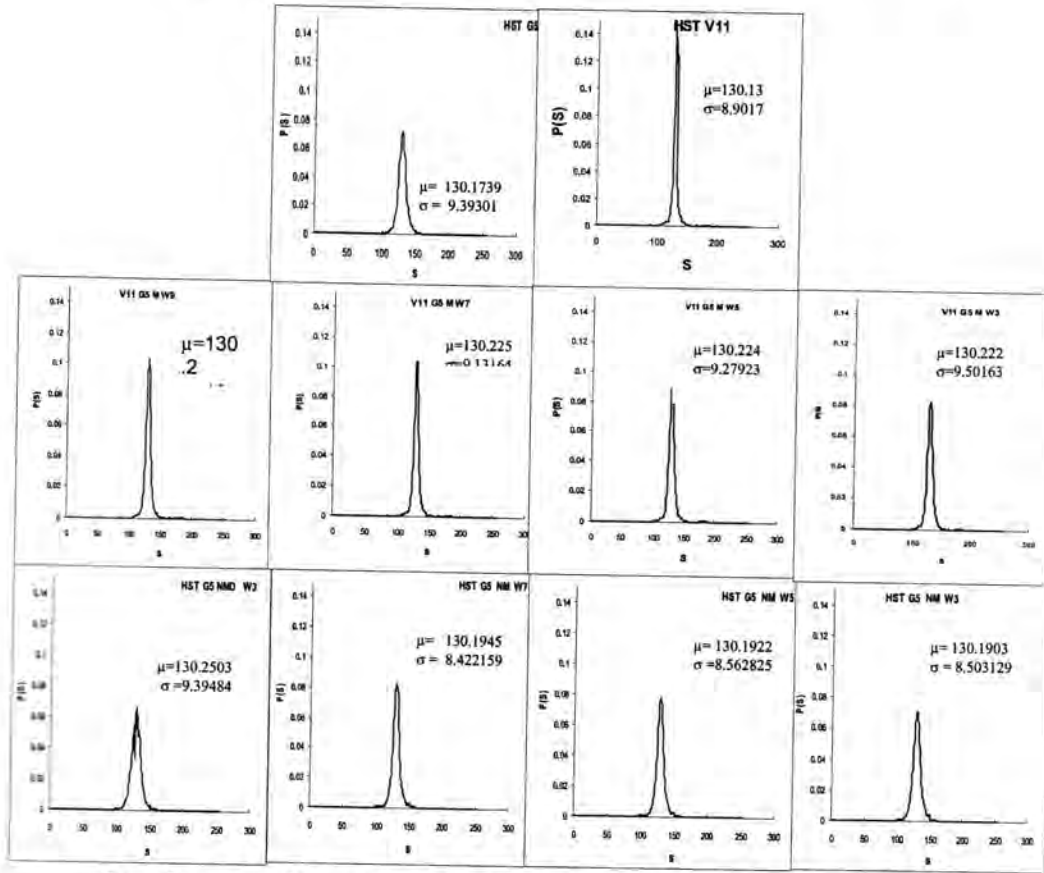
### رسوم رسوم المخططات التكرارية للإشارة الصوتية

المخططات التكرارية تم دراستها للإشارات النقية والمشوبة بالضوضاء والمحسنة بقيمة الانحراف المعياري  $\sigma_g=5$  للضوضاء الكاوسية وهي قيمة وسط من قيم  $\sigma_g$  من خلال ملاحظة الشكلين (4,5)



شكل 4: لمخطط التكراري للإشارة الأولى للإشارة النقية والمشوبة بالضوضاء والمحسنة

نلاحظ مدى الفرق في شكل المخطط التكراري للإشارتين النقية والمشوبة بالضوضاء حيث ان عرض المنحني للإشارة المشوبة اكبر من عرضة للإشارة النقية وهذا ناتج من الزيادة الحاصلة في الانحراف المعياري  $\sigma$  بسبب تشوه الإشارة الصوتية نتيجة إضافة الضوضاء إليها، عند ملاحظة المخططات التكرارية للإشارات المحسنة يظهر ان شكل المخطط التكراري لها يقترب من شكل المخطط التكراري للإشارة النقية وان النافذتين (7,9) تعطينا تنعيما عاليا مقارنة باستخدام النافذتين (3,5) لكن هذا لا يعني إنهما الأفضل وذلك لان شكل المنحني التكراري لا يعطي السمة الأساسية في كفاءة التنعيم للإشارة وإنما هو باختصار مقياس إحصائي لمجمل عناصر الإشارة ولا يأخذ بنظر الاعتبار ترتيبها ودورية ظهورها من عدمه وهذا هو المهم في كفاءة وصف الإشارة الصوتية ، و الرموز في الشكلين (4 ، 5) هي = [ W3 النافذة 3 و النافذة 5 = W5 و النافذة 7 = W7 و النافذة 9 = W9 ]



شكل 5: المخطط التكراري للإشارة الثانية للإشارة النقية والمشوبة بالضوضاء والمحسنة

### نتائج استقطاع أجزاء متجانسة من الإشارة الصوتية الكلامية

تم استقطاع أجزاء متجانسة الشدة (مناطق الصمت) من الإشارة الصوتية الكلامية لغرض دراسة تأثير المعالجة بواسطة المرشحات الرقمية التقليدية والمحسنة على الإشارة الصوتية المشوبة بالضوضاء ، تم حساب المتغيرات (  $\mu_R$  و  $\sigma_R$  ) للأجزاء المستقطعة من الإشارة الصوتية النقية والمشوبة بضوضاء والمحسنة وتم مقارنة النتائج للإشارات الثلاثة لمعرفة مدى اقتراب هذه المتغيرات للإشارات المحسنة من قيمها الأصلية.

جدول 1: نتائج استقطاع مناطق متجانسة من الإشارة الأولى

$\sigma_g$	window	Type	$\mu_r$	$\sigma_r$	SNR <sub>r</sub>	$\sigma_g$	window	type	$\mu_r$	$\sigma_r$	SNR <sub>r</sub>
R2		SIGNAL	130	2.29	56.91	R1		SIGNAL	130	2.00	64.92
2		NOISY	130	3.09	42.14	2		NOISY	130	2.92	44.60
2	3	M	130	2.70	48.21	2	3	M	130	2.53	51.39
2	3	A M	130	2.70	48.21	2	3	A M	130	2.53	51.39
2	5	M	130	2.55	51.15	2	5	M	130	2.40	54.20
2	5	A M	130	2.55	51.15	2	5	A M	130	2.40	54.20
2	7	M	130	2.44	53.44	2	7	M	130	2.32	56.15
2	7	A M	130	2.44	53.44	2	7	A M	130	2.40	54.20
2	9	M	130	2.35	55.42	2	9	M	130	2.26	57.55
2	9	A M	130	2.35	55.42	2	9	A M	130	2.26	57.55
6		NOISY	130	6.50	20.04	6		NOISY	130	6.22	20.91
6	3	M	130	4.78	27.24	6	3	M	130	4.55	28.57
6	3	A M	130	4.86	26.83	6	3	A M	130	4.56	28.56
6	5	M	130	4.18	31.21	6	5	M	130	3.98	32.67
6	5	A M	130	4.26	30.58	6	5	A M	130	3.98	32.66
6	7	M	130	3.81	34.20	6	7	M	130	3.66	35.51
6	7	A M	130	3.91	33.31	6	7	A M	130	3.67	35.49
6	9	M	130	3.56	36.60	6	9	M	130	3.45	37.69
6	9	A M	130	3.67	35.51	6	9	A M	130	3.45	37.67
10		NOISY	130	10.22	12.74	10		NOISY	130	9.89	13.15
10	3	M	130	7.25	17.96	10	3	M	130	7.05	18.45
10	3	A M	130	8.17	15.95	10	3	A M	130	7.74	16.80
10	5	M	130	6.19	21.04	10	5	M	130	6.06	21.48
10	5	A M	130	7.40	17.60	10	5	A M	130	6.96	18.68
10	7	M	130	5.57	23.39	10	7	M	130	5.48	23.73
10	7	A M	130	7.01	18.60	10	7	A M	130	6.53	19.93
10	9	M	130	5.14	25.32	10	9	M	130	5.08	25.58
10	9	A M	130	6.76	19.28	10	9	A M	130	6.26	20.79

جدول 2: نتائج استقطاع مناطق متجانسة من الإشارة الثانية

$\sigma_{gus}$	window	Type	$\mu$	$\sigma$	SNR <sub>r</sub>	$\sigma_{gus}$	window	type	$\mu$	$\sigma$	SNR <sub>r</sub>
R2		SIGNAL	130	2.29	56.91	R1		SIGNAL	130	2.13	60.98
2		NOISY	130	2.49	52.32	2		NOISY	130	2.34	55.55
2	3	M	130	2.35	55.40	2	3	M	130	2.21	59.03
2	3	A M	130	2.35	55.40	2	3	A M	130	2.21	59.03
2	5	M	130	2.26	57.61	2	5	M	130	2.15	60.44
2	5	A M	130	2.26	57.61	2	5	A M	130	2.15	60.44
2	7	M	130	2.20	59.28	2	7	M	130	2.12	61.45
2	7	A M	130	2.20	59.28	2	7	A M	130	2.12	61.45
2	9	M	130	2.14	60.85	2	9	M	130	2.08	62.46
2	9	A M	130	2.14	60.85	2	9	A M	130	2.08	62.46
6		NOISY	130	3.91	33.28	6		NOISY	130	3.56	36.57
6	3	M	130	2.99	43.53	6	3	M	130	2.72	47.82
6	3	A M	130	3.10	42.03	6	3	A M	130	2.73	47.75
6	5	M	130	2.71	47.96	6	5	M	130	2.49	52.20
6	5	A M	130	2.84	45.79	6	5	A M	130	2.50	52.09
6	7	M	130	2.55	51.00	6	7	M	130	2.37	54.97
6	7	A M	130	2.69	48.34	6	7	A M	130	2.37	54.84
6	9	M	130	2.44	53.46	6	9	M	130	2.28	56.96
6	9	A M	130	2.58	50.40	6	9	A M	130	2.29	56.82
10		NOISY	130	5.49	23.69	10		NOISY	130	5.47	23.80
10	3	M	130	3.76	34.60	10	3	M	130	3.76	34.61
10	3	A M	130	4.50	28.96	10	3	A M	130	4.50	28.96
10	5	M	130	3.26	39.89	10	5	M	130	3.27	39.77
10	5	A M	130	4.19	31.07	10	5	A M	130	4.19	31.07
10	7	M	130	2.99	43.50	10	7	M	130	3.02	43.18
10	7	A M	130	4.01	32.45	10	7	A M	130	4.04	32.30
10	9	M	130	2.81	46.33	10	9	M	130	2.85	45.77
10	9	A M	130	3.90	33.38	10	9	A M	130	3.94	33.09



يلاحظ من الجدولين (1, 2) ان المرشحين AM و M قد عملا بكفاءة وهذا واضح من خلال التحسن في قيم  $SNR_R$  و  $\sigma_R$  للإشارات المحسنة عن قيمها للإشارة المشوبة بالضوضاء ، يلاحظ أيضا ثبوت قيمة  $\mu_R$  للإشارات النقية والمشوبة والمحسنة ، وهذا لا يمثل مقياسا دقيقا وكفؤا في فحص جودة عملية الترشيح ولا يمكن استخدامه منفردا لبيان كفاءة عملية الترشيح وذلك لأنه يأخذ بنظر الاعتبار المناطق المتجانسة فقط من الإشارة أو المناطق التي تمثل لحظات الصمت وهنا المرشح الأمثل هو المرشح الذي يعمل على تنعيم عال لأن مثل هذه المناطق لا تحتوي على معلومات مهمة لكن هذه النتائج تبين مدى قوة المرشحات في إزالة الضوضاء من المناطق المتجانسة أو التي لا تحتوي على تقلبات شديدة وكثيرة في الإشارة.

#### الاستنتاجات

اعطى مرشح المعدل M كفاءة عالية في المعالجة للإشارة الكلامية وهذا يظهر واضحا من خلال المخططات البيانية للإشارة الكلامية وباستخدام مرشح المعدل المحسن كانت النتائج افضل من مرشح المعدل، حيث تظهر قوة العمل من خلال العديد من المعايير التي تم اعتمادها لتحديد جودة الإشارة الصوتية بعد اجراء عملية المعالجة الرقمية.

#### المصادر

1. Fontaine Jean-Marc . "Sound recording Evolution through its history some stages " University Paris 6-CNRS - MCC -Laboratory' Acoustique [jmfontai@ccr.jussieu.fr](mailto:jmfontai@ccr.jussieu.fr) Musicale E-mail : (2002).
2. Kintzel, T." A programmers Guide Sound " Addison \_ Wesly , England , (1998).
3. Plataniotis K.N.D. Androutsos, A.N.Venet Saopoulos, "Multi channel filter for color image" , signal processing , image communication , 11-pp.171-177, (1998).
4. Tariq Ahmed Al-Amree " Speaker Identification Using Wavelet Transform And Probabilistic Neural Network" M.Sc. thesis , Computers Department , collage of science , Al- Mustansiriyah University ( 2005).
5. Ahmed Hmood Flesh Al-Saidia" voice and speech recognition systems". M.Sc. thesis, Physics Department , collage of science , Al- Mustansiriyah University (2004).
6. Plataniotis K.N.D. Androutsos, A.N.Venet Saopoulos, "Multi channel filter for color image" , signal processing , image communication , 11-pp.171-177(1998).
7. Ahmed Kamil Hassan " Speech Denoising Using Wavelet Transform" M.Sc. thesis , Electrical Engineering Department , College of Engineering , Mustansiriya University ( 2005).
8. Alan Hedge www.© "Sound Nature and Measurement" , Report , Cornell University, January (2008).
9. " بوش \ " أساسيات الفيزياء" ، الطبعة السابعة الدار الدولية للنشر والطباعة (1998).

10. Nabeel Mubarak Meerza Al-Dalawy "A study of TV images quality for channels Broadcast Television Terrestrial" M.Sc. thesis , Physics Department , College of Science , AL-Mustansiriyah University ( 2008).
11. عبد الله حمود محمد الجبوري، "دراسة الضوضاء المرافقة لصور البث التلفزيوني الأرضي وطرق تقليل تأثيرها"، أطروحة دكتوراه \ قسم الفيزياء \ كلية العلوم \ الجامعة المستنصرية \ (2006).
12. Gonzalez , R.C. and Wintz, P, "Digital image processing" , Addison-wistey(1987).
13. Niblack, .W "An Introduction to digital image processing" , prentice Hall International (UK) LTD ( 1986) .
14. Mukul v.shiraikar," An optimal measure of camera focus & Exposure " , electrical engineering Department ,university of Texas (2004).
15. CH 2 Steven W. Smith "Statistics, Probability and Noise" Ph.D. Thesis , scientist and Engineers Guide to Digital Signal Processing ( 2006) .