



# Al-Mustansiriyah

## ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 22, No. 4, 2011



Issued by College of Science - Mustansiriyah University

Vol. 22  
No. 4  
2011

# Al- Mustansiriyah Journal of Science

Issued by College of Science- Al- Mustansiriya  
University

Special Edition  
Researchs of The 7<sup>th</sup> Conference College Of  
Science Al-Mustansiriyah University  
From 4-5 May

## Head Editor

Prof. Dr. Redha I. AL-Bayati

## General Editor

Asst. Prof. 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. Ahmed Sami Hassan	Member
Dr. Majid Mohammed Mahmood	Member
Dr. Bashar Maki Ni'mah	Member
Dr. Hussain Kareem Al-Windawi	Member

## Consultant Committee

Dr. Yosif Kadhīm Al-Haidari	Member
Dr. Hassan Hashim Salman	Member
Dr. Amir Sidiq Al-Malah	Member
Dr. Tariq Salih AbdulRazaq	Member
Dr. AbdulAmir Nasir Ghaloob	Member
Dr. Abdulla Ahmad Rasheed	Member
Dr. Saad Najim Bashikh	Member
Dr. Tariq Suhail Najim	Member
Dr. Hamid Jasim Jaafar	Member

Mobile: 07711184399

e-mail: mustjsci@yahoo.com



## 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 patten: INTRODUCTION, EXPERIMENTAL (MATERIALS AND METHODS), RESULTS AND 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), initials 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

Sr.	Subject	Page No.
1-	Effect of Hepatitis C Virus Infection on Lymphocytes Proliferation <b>Abbas Arrak Abbas al-Tamimi</b>	1-13
2-	Patulin Production by <i>Penicillium expansum</i> Isolated From Apples <b>Batool Zainal Ali, Fadhil Muhsin Abid and Sumaia Nuaima Hawar</b>	14-25
3-	Effect of Melatonin as Antimicrobial Agent Against Some Pathogenic Bacteria <b>Suhad F. Hatem, Nuha J. Kandela and Rawaa A.Salman</b>	26-38
4-	Evaluation of serum levels of INF- $\gamma$ and IL-12 in patients with chronic hepatitis B. <b>Muhammed A. Al-Dabagh, Eman G. Khalil, Kasim Sh. Al-Mayah</b>	39-48
5-	Determination of Optimum Conditions for Plantaricin VGW8 Production by <i>Lactobacillus plantarum</i> VGW8 <b>Wala'a Shawkat Ali and Rashid M. Musleh</b>	49-63
6-	Detection of Cytotoxic Activity of Clinical Isolates of <i>Aeromonas hydrophila</i> on RD and L20B Cells <b>Bahaa Abdullah Laftaah AL-Rubai, Rabab Qassim AL-Segar and Salma Nasrullah Malik</b>	64-78
7-	Effect of Hot Aqueous Extract of the Fungus <i>Agaricus bisporus</i> on Cancer and Normal Cell Lines <i>In Vitro</i> . <b>Israa H. Hamzaa, Abd Al-Amer N. -Rikabi and Saad M. Nada</b>	79-93
8-	A Study on Relationship of Small Plasmid with Multidrug-Resistance Pattern in Pathogenic <i>E.coli</i> Local Isolates. <b>Zainab M. Naji, Haider Y. Ahmed And Hayder J. Mohamed</b>	94-101
9-	Synthesis of New Schiff bases Derivatives from 1, 3, 4-Thiadiazole and it's Resins <b>Redha I. AL-Bayati, Mahmood Abdul Jabar Issa and Eman M.M.Hassan</b>	102-110
10-	Theoretical Studies and Biological Activities of New Mannich Bases Triazole Derivative with VO(IV), Co(II), Cu(II), Pd(II), Rh(III), Pt(IV), Zn(II) and Cd(II)Ions <b>Rehab A.M. Al-Hasani</b>	111-133
11-	Flow-Injection Analysis (FIA) for the Spectrophotometric Determination of Bromhexine Hydrochloride in Pharmaceutical Preparations <b>Mouyed Q. Al-Abachi and Hind S. Al-Ward</b>	134-146
12-	Construction of Indium (III) Selective Electrodes Based on Promethazine Hydrochlorid in A PVC Matrix Membrane <b>Khaleda Hamid Al-Saidi and Zainab Watheg Ahmed</b>	147-158

13-	Serum Levels of Copper, Zinc, Iron and Magnesium in Iraqi's Women with HCMV Infection <b>Safaa I. Kader</b>	159-165
14-	Synthesis of New Pyrano Pyrazole Derivatives <b>Redha I. H. AL-Bayati, Foad M. Saed and Wassan B. Ali</b>	166-174
15-	Physical and Mechanical Properties of PVAc-Gypsum Composite <b>Tariq S. Najim, Atheer Alaa Abdulhussein and Suhad A. Yassin</b>	175-187
16-	Thermal Initiation of Methyl methacrylate Polymerization by Oxotris (dibenzyl dithiocarbamate) Vanadium (V) <b>S. M. Abdullah</b>	188-201
17-	The Relationship Between IL-10 and Dislipidemia in Type 2 Diabetics <b>Majid Kadhun Hussain, Sura Muhsin Abood and Lameia Adnan Shaker</b>	202-213
18-	Isolation and Identification of Three Flavonoids from <i>Artemisia herba-alba</i> (Asteraceae) <b>Hamed .J.Jaffer and Muhanned .J.Mahmoud</b>	214-221
19-	Specroscopic and biological activity studies of thiadiazole ligand type N <sub>2</sub> O and its complexes with Fe(II), Co(II) and Ni(II) <b>Hasan A. Hasan, Ali H. Samir and Wurood Ali Jaafar Al-Saedi</b>	222-232
20-	Influence of Thickness on Dispersion Parameters of Silver Nitrate Doped Poly (Vinyl Alcohol) <b>Saad Farhan Oboudi, Sami Salman Chiad and Nadir Fadhil Habubi</b>	233-239
21-	Induced Neutron Cross Sections Evaluation on the Statistical Simulation in Cd-108 <b>Iman Tarik AL-Alawy, Radhi H.AL-Taweel and Dheyaa A.Nassrullah</b>	240-254
22-	Simulation of Cherenkov Light Lateral Distribution Function in Extensive Air Showers for Tunka25 EAS Array <b>Ahmed Al-Rubaiee, Muhammed Ali Abid and Sarah Hussein Ali</b>	255-261
23-	Calculation the Alpha Yields from (p, $\alpha$ ) Reactions for Fe and Se Element Targets <b>Iman Tarik AL-Alawy and Waleed Jabbar Mhana</b>	262-275
24-	Thermal Properties of Carbon Nano Tubes Reinforced Epoxy Resin Nano Composites <b>Bahjat B. Kadhim, Faiza M. Salim and Haider O. Muhsen</b>	276-290
25-	A Least-Squares Polynomial Fitting to Simulate Cross Section Variations in Cd-106 <b>Iman Tarik AL-Alawy, Radhi H.AL-Taweel and Dheyaa A.Nassrullah</b>	291-307



26-	Mutual Correlation between MUF and FOT Parameters at Baghdad for the Maximum Solar Cycle 23 <b>Khalid A. Hadi</b>	308-319
27-	Reciprocity Theory and the Empirical Formulae to Calculate the Cross Sections from (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) Reactions for Ni (A=58,60,61) <b>Iman Tarik Al-Alawy and Waleed Jabber Mhana</b>	320-341
28-	Partitions by Subgeometries of Projective Plane Over Finite Field of Order Sixteen. <b>Najm Abdulzahra Makhrib</b>	342-350
29-	(Flat) Modules that are Fully Invariant in Their Pure-Injective (Cotorsion) Envelopes <b>Mehdi Sadik Abbas and Mohanad Farhan Hamid</b>	351-359
30-	Free intersection space (F-space) <b>Khaleel Kh.Asadullah</b>	360-366
31-	Some Properties of 2-Coprobabilistic Normed Space <b>Faria Ali C. and Suad Naji Kadhim</b>	367-378
32-	The Degree of Best Approximation by the Linear Positive Operator in the Weight Spaces <b>Sahib K. AL- Saidy and Zainab Esa Abdul Naby</b>	379-388

## Effect of Hepatitis C Virus Infection on Lymphocytes Proliferation

Abbas Arrak Abbas al-Tamimi

Department of Biology-College of Science-Al-Mustansiriyah University

Submitted : 13/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

الشفاء من الإصابة الفايروسية يعتمد بالدرجة الاولى على كفاءة المناعة الخلوية. تم اجراء هذا البحث لمعرفة كفاءة الخلايا للمقاومة في السيطرة على الإصابة بفايروس التهاب الكبد نمط سي

اخذت عينات دم من مرضى مصابين بالتهاب الكبد الفايروسي نمط سي بعد اجراء الفحوص الاولى ELISA والتوكيدية RIBA وقد قسمت العينات الى مجموعتين استنادا الى درجة تطور المرض حسب فحوص وظائف الكبد والتصوير بالامواج فوق الصوتية. المجموعة الاولى تضم 6 مرضى من الحاملين للفايروس (3 منهم من متبرعي الدم في المركز الوطني لنقل الدم و 3 من مراجعي العيادات الخاصة ) وصنفت الإصابة كونها حديثة او في طور الحاد اما المجموعة الثانية فشملت 8 مرضى من مراجعي العيادات الخاصة وصنفت الإصابة كونها قديمة او مزمنة .

تم سحب 10 نماذج من اصحاء (HCV negative) لغرض المقارنة.

اجري فحص lymphocyte proliferation باستخدام الملزن الدموي النباتي phytoheamagglutinin (PHA) على المجاميع الثلاثة واستخرج عامل انقسام الخلايا mitotic index.

اجريت العمليات الاحصائية للمقارنة بين المجاميع الثلاثة قبل وبعد اضافة الملزن وايجاد معنوية الفروقات باستخدام فحص t-test

اظهرت النتائج

1- وجود انخفاض معنوي في قابلية الخلايا للمقاومة للاستجابة لمحفز PHA في مجموعة المصابين في طور المزمن مقارنة بالمصابين في طور الحاد للمرض او من غير المصابين.

2- ألمحت النتائج الى إمكانية تحديد درجة تطور الإصابة من خلال معرفة درجة استجابة الخلايا للمقاومة للمحفز.

## ABSTRACT

Recovery from viral infection depends mainly on the potential of the cellular immunity. This work was performed to assess the efficiency of T-lymphocytes in control hepatitis C virus infection.

Fourteen HCV patients included in this study were categorized to two groups according to disease development as assessed by biochemical tests and ultrasound images. Six patients at acute phase or recent infection group and Eight patients at group of chronic phase. Another 10 HCV negative subjects were included as negative control for comparison. Lymphocyte proliferation test was applied on blood obtained from each subject under study using phytohemagglutinin (PHA) and the mitotic indices were calculated. Statistical analyses were applied using t-test to assess the significance of the differences between samples tested.

Results showed:

- 1- Significant decrease was found in the ability of T-lymphocytes from chronic HCV patients to respond to PHA mitogen compared to acute HCV cases or negative controls.
  - 2- The results were promising towards the ability of determining the stage of disease development depending on the degree of response of T-lymphocytes to the mitogen.
- 

## INTRODUCTION

Hepatitis C virus (HCV) is a major blood-borne virus that infects over 100 million people worldwide. It is estimated that in less than 20% of HCV-infected individuals the virus is cleared spontaneously, while in the majority of patients the virus persists and causes chronic hepatitis that may lead to end-stage liver diseases requiring liver transplantation (1). The mechanisms underlying different outcomes of infection are not clear at this time. The host immune responses, including innate immunity and adaptive immunity, play a critical role in determining the outcome of viral infection, as well as in the nature and extent of liver cell injury during HCV infection (2,3). Since the rate of persistence for HCV is much higher than other hepatitis viruses, for example, hepatitis B virus (HBV) that persists in only less than 10% of immunocompetent adults who are infected (4), HCV appears to be more successful than many other viruses in terms of evading the protective immunity of the host. However, little is known regarding the exact reasons for the failure of the host immune system in fighting HCV.

Innate immunity is an important first line of defense against infection, quickly responding to potential attacks by pathogens. One of its arm is the lymphocytic cells (natural killer [NK] and natural killer T [NKT] cells) which can kill pathogens nonspecifically. However, the role



of NK cells in human HBV and HCV infections is less clear because of a lack of suitable small-animal models (5).

*In vitro* culture experiments showed that NK cells inhibit HCV replication in human hepatoma cells via an IFN-dependent mechanism. A retrospective study revealed that individuals with a genetic predisposition to enhanced NK function had greater chances of spontaneously clearing HCV during acute infection (6) suggesting that NK cells play an important role in early antiviral defenses against HCV. In contrast, HCV can escape the antiviral response of NK cells by inhibiting NK cell function, and this results in chronic HCV infection in the majority of patients (7-9). HCV may have a pervasive influence on the general T cell immunity of infected hosts, which is not limited to HCV-specific T cells.

A critical factor for the development and differentiation of T cells into functional memory and effector cells is the stimulation that they receive during the primary response (10). Stimulation of T cells from virally infected individuals with the lectin phytohemagglutinin (PHA) found to increase cytokines production (11) and to enhance the anti-viral effect of certain antiviral agents (12) and to distinguish between patients at different stages of certain viral diseases (13).

However, in order to understand the apparent weak or abnormal lymphocytes immunity to HCV, it is important to investigate the efficacy of lymphocyte response leading to the antiviral innate and adaptive immunity.

## MATERIALS AND METHODS

Twenty four individuals were included in this study divided into three groups. Anti-HCV positive patients were divided into two groups according to biochemical tests and ultrasound pictures done by internal medicine specialists.

Group(1): Includes six anti-HCV positive individuals (3 individuals were blood donors from the national center for blood transfusion and 3 individuals from special clinics ) diagnosed as acute or recent infections.

Group(2): Includes eight anti-HCV positive patients (visitors of special clinics) diagnosed as chronic infections.

Group (3): includes ten anti-HCV negatives. This group used as control for comparison.

Venous blood samples (5 ml) were obtained from each subject studied using disposable syringes. Each sample was distributed into two tubes: 1ml of blood was added into tube containing 20ul of heparin to be used in the Mitotic index assay. The remaining of the blood sample was left to clot and sera were collected and kept in freezer to be used in the virological and serological assays.

Mitotic index Assay: The procedure of (14) was followed with slight modification using Phytohemagglutinin (PHA) as mitogen (supplied by Iraqi center for cancer researches and medical genetics) :

- 1) 0.3 ml of heparinized blood was inoculated into two venoject tubes contain 4ml of culture medium for each. 0.3ml of PHA is added to one of them and labeled as (withPHA), the other tube is not treated with PHA and labeled as (without PHA).
- 2) The tubes are incubated at 37C for 72 hrs with gentle shaking two times daily.
- 3) The cultures are transferred to centrifuge tubes and spinned at 1500 rpm for 10 min.
- 4) The supernatant is discarded and 10ml of pre-warmed (0.075 M) KCl is added and mixed thoroughly.
- 5) The tubes are inocubated at 37C for 50 min.
- 6) The tubes are centrifuged at 1500 rpm for 10 min. and the supernatant is discarded.
- 7) 5 ml of freshly prepared fixative (3 parts of methanol to 1 part of acetic acid) is added drop by drop and shaken gently.
- 8) Steps 6 and 7 are repeated at least twice more.
- 9) The tubes are spinned at 1500 rpm for 10 min.
- 10) Cells pellet is resuspended in a small volume of fresh fixative and dropped (from about 50 cm high) onto a highly-cleaned microscopic slide and allow to dry in air.
- 11) Slides are stained for 15 min. with Giemsa's stain, wash with tab water, dry, and examine for the presence of lymphoblast cells.
- 12) At least 500 cells are counted and the result is recorded as:

$$\text{Mitotic index} = \frac{\text{No. of Lymphoblast}}{\text{Total no. of lymphocytes counted}} \times 100$$

Hepatitis C virus detection was done by using the third generation bio Elisa HCV screening kit (supplied by biokit, Spain). Anti- HCV positive cases were confirmed by using recombinant immunoblot assay (RIBA). recomBlot HCV IgG (supplied by Microgen, Germany).

t-test for independent samples (spss v17) was used for comparing means of mitotic indices of anti-HCV positive and negative groups with confidence interval (95%). For PHA-treated lymphocytes, differences in the mitotic indices of lymphocytes before and after treatment with PHA for anti-HCV positive and negative groups were calculated, and then a comparison between the two means was made.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Table -1: Mitotic indices of Anti- HCV positive & Negative groups before and after treatment with PHA.**

Anti- HCV positive				Anti-HCV negatives	
Acute (or recent)		Chronic			
PHA treated	untreated	PHA treated	untreated	PHA treated	Untreated
52	12	32	15	44	1
58	8	30	16	41	0
42	10	43	25	26	2
54	8	38	22	56	1
25	12	22	10	48	4
44	11	35	20	52	4
		34	18	58	1
		36	21	52	3
				49	2
				36	10

Means of the mitotic indices (table 1) were calculated (table 2) and it is clear that anti-HCV positive samples, either of acute or chronic cases, have higher means than that of negative group before treatment with the mitogen.

The difference in mitotic index of samples before and after treatment with PHA reveals that chronic HCV cases had the lesser mean within the groups suggesting that HCV infection is implicated in this process.

**Table -2: Calculated means of mitotic indices of the tested groups.**

Anti-HCV		PHA Treatment	Mean	Std. deviation	Std.error mean
Positive	Acute (6 subjects)	Treated	45.83	11.87	4.84
		Untreated	10.16	1.83	0.74
		Difference between Treated & untreated	35.66	13.155	5.37
	Chronic (8 subjects)	Treated	33.75	6.158	2.177
		Untreated	18.37	4.68	1.657
		Difference between Treated & untreated	15.37	1.846	0.652
Negative (10subjects) control		Treated	46.2	9.761	3.086
		Untreated	2.8	2.859	0.904
		Difference between Treated & untreated	43.40	10.905	3.448



The significance of these differences was tested (as shown in table 3).

Table 3 shows that untreated anti-HCV positive samples have significantly higher mitotic index than anti-HCV negative group. Moreover, untreated HCV chronic samples showed significant increase in mitotic index compared to samples of acute cases. These results clearly indicates that HCV infection stimulate lymphocytes proliferation.

No significant difference between untreated samples of acute and control groups reveals that HCV infection may requires along period of time to negatively affect lymphocytes proliferation capacity.

The significance of differences within each group before and after treatment indicates that PHA can stimulate lymphocytes proliferation in HCV positive samples, as well as in negative group, although with less ability in chronic group ( mean difference is 15.37 as compared with 35.66 and 43.4 for acute and control groups, respectively. This difference indicates that the lymphocytes of chronic HCV patients lost much of their potential to respond to the stimulator.

After treatment with the mitogen, significant decrease in mitotic index was found in HCV acute cases compared with the control group. Comparison of the mitotic index between chronic HCV with acute HCV groups showed significant decrease in the index of chronic group. This means that HCV disease progression from acute to chronic stage simultaneous with decreased capacity of lymphocytes to proliferate in response to stimulators.

**Table -3: t- test for the equality of means of mitotic indices of the tested groups.**

Tested groups	t- test for equality of means			
	T	Sig.(2-Tailed)	Mean Difference	Std.error Difference
Acute (untreated) VS Acute (treated)	7.272	.000	35.66	4.904
Acute (untreated) VS chronic (untreated)	4.03	0.002	8.208	2.036
Acute (untreated) VS control (untreated)	5.613	0.00	7.366	1.312
Chronic (untreated) VS chronic (treated)	5.618	0.00	15.375	2.736
Chronic (untreated) VS control (untreated)	8.708	0.00	15.575	1.788
Control (untreated) VS control (treated)	13.492	0.00	43.40	3.216
Acute (treated) VS chronic (treated)	2.488	0.29	12.083	4.856
Acute (treated) VS control (treated)	0.067	0.947	0.366	5.455
Chronic (treated) VS control (treated)	3.13	0.006	12.45	3.974

The mean of differences between treated and untreated samples (as shown in table 4) of each group found to be significant and the difference between chronic and acute cases was less than that between chronic and control groups.

**Table -4: Results of t-test for the differences in mitotic indices between anti-HCV positive and anti-HCV negative groups**

Mean of differences between treated & Untreated samples	t- test for equality of means			
	T	Sig.(2-Tailed)	Mean difference	Std.error Difference
Acute VS chronic	4.365	0.001	20.291	4.648
Acute VS Control	1.274	0.224	7.733	6.072
Chronic VS Control	7.144	0.00	28.025	3.922

Since disease persistence and progression to chronicity strongly associated with the efficiency of the cellular response, mitogen-stimulated PBML widely used in assessing the functions and efficiency of T-cells in controlling viral infections.

PHA- stimulated lymphocytes successfully used in T-cell cytotoxicity test for distinguishing between the different stages of HIV infections (13).

Accumulating evidence suggests that dendritic cells (DCs) are susceptible to HCV infection (15-18). Several groups have reported dysfunction of DCs that may potentially affect adaptive immunity in patients with persistent HCV infection. These include impaired allostimulatory abilities to CD4 T cells (15,17, 19-21), defects in responding to maturation stimuli (20), as well as impaired ability to secrete IL-12, a cytokine important for the development of CD4 helper T cell responses (21-22).

Although HCV persists in the majority of infected individuals, a small fraction of patients can successfully clear the infecting virus. The number of cases with self-limited HCV infection that have been carefully studied is relatively small, such studies usually reveal a vigorous HCV-specific T cell response, including CD4 T cell response (23-26) and CD8 T cell response (24,25,27-29). These responses were detected early during the acute phase (24,25) and sustained for many years after the clearance of HCV (24). They were usually broadly targeted at multiple epitopes restricted by different MHC molecules, without a dominant epitope (29). Significantly high mitotic index mean of samples from acute

HCV cases in this study which reflects the high potential of T cells to respond to stimulators strongly support these findings. Moreover, high numbers of PHA-stimulated lymphocytes of acute phase samples reveals that HCV infection, for unknown reasons, does not rapidly affect the proliferation capacity of T cells inspite that it considered targets for HCV replication.

In contrast, patients with chronic HCV infection usually have weak or defected T cell responses against HCV, as indicated by the low response to PHA stimulation compared to samples of acute cases or controls. Previous studies reported low frequencies for the specific T cells (29,30), short-lived responses (31,32), narrowly targeted epitopes (29), as well as defects in the effector functions of the specific T cells (33,34) which support our findings. Although the mechanism for HCV to evade host immune responses and establish chronic infection is still poorly understood, accumulating data indicate that HCV may play an active role in attenuating host adaptive immunity to benefit its persistence. In HCV chronically-infected patients treated with IFN, increased T cell immunity after IFN therapy has been demonstrated for HCV-specific CD4 T cells (35-37) and CD8 T cells (38,39) which reflect the initial role of T cells in eliminating or persistence of HCV infection.

Taken together, these studies strongly suggest that the host T cell responses are a key factor in determining the outcome of HCV infection.

In this study, HCV chronicity found to be associated with low T-lymphocytes response to stimulation in comparison with acute or control samples. Upon these findings, further studies needed to determine the exact mitotic index value corresponding to the stage of HCV disease in order to manage disease treatment and control in order to replace the sever, invasive, and complicated technique, liver biopsy, by simple, ease, less invasive and cost effective one.

## REFERENCES

1. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. "The Prevalence of Hepatitis C Virus Infection in the United States 1988 through 1994". *N Engl J Med.*; 341: 556-562. (1999) [PubMed]
2. Reherrmann B, Chisari FV. "Cell mediated immune response to the hepatitis C virus". *Curr Top Microbiol Immunol.* 242: 299-325. (2000) [PubMed]
3. He XS, Greenberg HB. "CD8+ T-cell response against hepatitis C virus". *Viral Immunol.* 15: 121-131. (2002) [PubMed]



4. Hollinger FB, Liang TJ. "Hepatitis B virus". In: Knipe DM, Howley PM., editors. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; pp. 2971–3036. (2001)
5. Gao B, Won-Il Jeong,<sup>1</sup> and Zhigang Tian. "Liver: An Organ with Predominant Innate Immunity". *HEPATOLOGY*;47:729-736. (2008)
6. Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, et al. "HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus Infection". *Science*;305:872-874. (2004)
7. Sun R, Gao B. "Negative regulation of liver regeneration by innate immunity (natural killer cells/interferon-gamma)". *Gastroenterology*;127:1525-1539. (2004)
8. Radaeva S, Sun R, Jaruga B, Nguyen VT, Tian Z, Gao B. "Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2 Ddependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand dependent manners". *Gastroenterology*;130:435-452. (2006)
9. Melhem A, Muhanna N, Bishara A, Alvarez CE, Ilan Y, Bishara T, et al. "Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC". *J Hepatol*;45:60-71. (2006)
10. Lanzavecchia A, Sallusto F. "Progressive differentiation and selection of the fittest in the immune response". *Nat Rev Immunol.*; 2: 982–987.(2002) [PubMed].
11. Fan XG, Tang FQ, Yi H, Liu WE, Houghton M, Hu GL. "Effect of IL-12 on T-cell immune responses in patients with chronic HCV infection". *APMIS*. Jul-Aug;108(7-8):531-8. (2000)
12. Meier V, Bürger E, Mihm S, Saile B, Ramadori G." Ribavirin inhibits DNA, RNA, and protein synthesis in PHA-stimulated human peripheral blood mononuclear cells: possible explanation for therapeutic efficacy in patients with chronic HCV infection". *J Med Virol*. Jan;69(1):50-8. (2003)

13. Tambussi G, Ridolfo AL, Gori A, Albarello V, Galli M, Moroni M." Natural killer cytotoxic test in the presence of phytohemagglutinin distinguishes between patients in the early and late stages of human immunodeficiency virus infection". *J Infect Dis.* Nov;164(5):1027-8. (1991)
14. Verma. Ram S & Babu. Arvind." Human chromosomes: Principles and techniques" 2<sup>nd</sup> ed. McGraw – Hill, inc.: 11-13.(1995)
15. Bain C, Fatmi A, Zoulim F, Zarski JP, Trepo C, Inchauspe G. "Impaired allostimulatory function of dendritic cells in chronic hepatitis C infection". *Gastroenterology.*; 120: 512–524. (2001) [PubMed].
16. Goutagny N, Fatmi A, De Ledinghen V, Penin F, Couzigou P, Inchauspe G, Bain C." Evidence of viral replication in circulating dendritic cells during hepatitis C virus infection". *J Infect Dis.*; 187: 1951–1958. (2003) [PubMed]
17. Tsubouchi E, Akbar SM, Horiike N, Onji M. "Infection and dysfunction of circulating blood dendritic cells and their subsets in chronic hepatitis C virus infection". *J Gastroenterol.*; 39: 754–762. (2004a) [PubMed]
18. Navas MC, Fuchs A, Schvoerer E, Bohbot A, Aubertin AM, Stoll-Keller F. "Dendritic cell susceptibility to hepatitis C virus genotype 1 infection". *J Med Virol.*; 67: 152–161. (2002) [PubMed]
19. Kanto T, Hayashi N, Takehara T, Tatsumi T, Kuzushita N, Ito A, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. "Impaired allostimulatory capacity of peripheral blood dendritic cells recovered from hepatitis C virus-infected individuals". *J Immunol.*; 162: 5584–5591.(1999) [PubMed]
20. Auffermann-Gretzinger S, Keefe EB, Levy S. "Impaired dendritic cell maturation in patients with chronic, but not resolved, hepatitis C virus infection". *Blood.*; 97: 3171–3176. (2001) [PubMed]
21. Kanto T, Hayashi N. "Distinct susceptibility of dendritic cell subsets to hepatitis C virus infection: a plausible mechanism of dendritic cell dysfunction". *J Gastroenterol.*; 39: 811–812. (2004) [PubMed]

22. Anthony DD, Yonkers NL, Post AB, Asaad R, Heinzl FP, Lederman MM, Lehmann PV, Valdez H. "Selective impairments in dendritic cell-associated function distinguish hepatitis C virus and HIV infection". *J Immunol.*; 172: 4907–4916. (2004) [PubMed]
23. Gerlach JT, Diepolder HM, Jung MC, Gruener NH, Schraut WW, Zachoval R, Hoffmann R, Schirren CA, Santantonio T, Pape GR. "Recurrence of hepatitis C virus after loss of virus-specific CD4(+) T-cell response in acute hepatitis C". *Gastroenterology.*; 117: 933–941.(1999 ) [PubMed]
24. Takaki A, Wiese M, Maertens G, Depla E, Seifert U, Liebetrau A, Miller JL, Manns MP, Rehermann B. "Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C". *Nat Med.*; 6: 578–582. (2000) [PubMed]
25. Thimme R, Oldach D, Chang KM, Steiger C, Ray SC, Chisari FV. "Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection". *J Exp Med.*; 194: 1395–1406. (2001) [PubMed]
26. Rosen HR, Miner C, Sasaki AW, Lewinsohn DM, Conrad AJ, Bakke A, Bouwer HG, Hinrichs DJ. "Frequencies of HCV-specific effector CD4+ T cells by flow cytometry: correlation with clinical disease stages". *Hepatology.*; 35: 190–198.(2002) [PubMed]
27. Gruner NH, Gerlach TJ, Jung MC, Diepolder HM, Schirren CA, Schraut WW, Hoffmann R, Zachoval R, Santantonio T, Cucchiari M. et al. "Association of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells with viral clearance in acute hepatitis C" [In Process Citation]. *J Infect Dis.*; 181: 1528–1536. (2000) [PubMed]
28. Lechner F, Wong DK, Dunbar PR, Chapman R, Chung RT, Dohrenwend P, Robbins G, Phillips R, Klenerman P, Walker BD. "Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus". *J Exp Med.*; 191: 1499–1512. (2000b) [PubMed]
29. Lauer GM, Barnes E, Lucas M, Timm J, Ouchi K, Kim AY, Day CL, Robbins GK, Casson DR, Reiser M. et al. "High resolution analysis of cellular immune responses in resolved and persistent hepatitis C virus infection". *Gastroenterology.*; 127: 924–936.(2004) [PubMed]

30. He XS, Rehermann B, Lopez-Labrador FX, Boisvert J, Cheung R, Mumm J, Wedemeyer H, Berenguer M, Wright TL, Davis MM, Greenberg HB. "Quantitative analysis of hepatitis C virus-specific CD8(+) T cells in peripheral blood and liver using peptide-MHC tetramers". *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 96: 5692–5697.(1999) [PubMed]
31. Lechner F, Gruener NH, Urbani S, Uggeri J, Santantonio T, Kammer AR, Cerny A, Phillips R, Ferrari C, Pape GR, Klenerman P." CD8+ T lymphocyte responses are induced during acute hepatitis C virus infection but are not sustained". *Eur J Immunol.*; 30: 2479–2487. (2000a)
32. Ulsenheimer A, Gerlach JT, Gruener NH, Jung MC, Schirren CA, Schraut W, Zachoval R, Pape GR, Diepolder HM." Detection of functionally altered hepatitis C virus-specific CD4 T cells in acute and chronic hepatitis C". *Hepatology.* 2000a 2003; 37: 1189–1198. (2000a ) [PubMed]
33. Gruener NH, Lechner F, Jung MC, Diepolder H, Gerlach T, Lauer G, Walker B, Sullivan J, Phillips R, Pape GR, Klenerman P. "Sustained dysfunction of antiviral CD8+ T lymphocytes after infection with hepatitis C virus". *J Virol.*; 75: 5550–5558. (2001) [PubMed]
34. Wedemeyer H, He XS, Nascimbeni M, Davis AR, Greenberg HB, Hoofnagle JH, Liang TJ, Alter H, Rehermann B." Impaired effector function of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells in chronic hepatitis C virus infection". *J Immunol.*; 169: 3447–3458. (2002) [PubMed]
35. Cramp ME, Rossol S, Chokshi S, Carucci P, Williams R, Naoumov NV. "Hepatitis C virus-specific T-cell reactivity during interferon and ribavirin treatment in chronic hepatitis C". *Gastroenterology.*; 118: 346–355. (2000) [PubMed]
36. Barnes E, Harcourt G, Brown D, Lucas M, Phillips R, Dusheiko G, Klenerman P."The dynamics of T-lymphocyte responses during combination therapy for chronic hepatitis C virus infection". *Hepatology.*; 36: 743–754. (2002) [PubMed]
37. Kamal SM, Fehr J, Roesler B, Peters T, Rasenack JW. "Peginterferon alone or with ribavirin enhances HCV-specific CD4 T-helper 1 responses in patients with chronic hepatitis C". *Gastroenterology.*; 123: 1070–1083. (2002 ) [PubMed]



38. Vertuani S, Bazzaro M, Gualandi G, Micheletti F, Marastoni M, Fortini C, Canella A, Marino M, Tomatis R, Traniello S, Gavioli R. "Effect of interferon-alpha therapy on epitope-specific cytotoxic T lymphocyte responses in hepatitis C virus-infected individuals". *Eur J Immunol.*; 32: 144–154. (2002) [PubMed]
39. Morishima C, Musey L, Elizaga M, Gaba K, Allison M, Carithers RL, Gretch DR, McElrath MJ. "Hepatitis C virus-specific cytolytic T cell responses after antiviral therapy". *Clin Immunol.*; 108: 211–220. (2003) [PubMed]

## Patulin Production by *Penicillium expansum* Isolated From Apples

Batool Zainal Ali\*; Fadhil Muhsin Abid\*\* and Sumaia Nuaima Hawar\*

\* Biology Department, College of Education Ibn- AlHaitham, Baghdad University.

\*\*Ministry of Science and Technology, Chemical Researches Center.

Submitted : 20/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

استهدفت الدراسة الحالية عزل الفطر المسبب لتعفن التفاح الاصفر وتشخيصه بالاعتماد على العديد من الصفات المورفولوجية والفسلجية وقابلية العزلات على انتاج بعض المواد الايضية الثانوية مثل القلويدات الاندولية (اختبار ايرلك Ehrlich) وسم الباتوليون. تم الحصول على 35 عزلة شخّصت على انها نوع *P. expansum* فقط بالاعتماد على الصفات المذكورة اعلاه. اختبرت 33 عزلة لانتاج سم الباتوليون. اظهرت النتائج قابلية جميع العزلات لانتاج السم بأنتاجية مختلفة باختلاف العزلات. وكانت الانتاجية بكمية تراوحت (2.074 - 12254.85) جزء بالمليون لجميع العزلات. يعتبر سم الباتوليون من السموم المهمة بالنظر لتأثيراته الصحية في الانسان خاصة فيما يتعلق باستهلاك التفاح ومنتجاته.

### ABSTRACT

The present study was conducted to isolate the fungus (different isolates) that cause rotting of the yellow apple and identify the fungus depending on many characters including morphological, physiological, and the ability of the isolates to produce some secondary metabolites (Extrolites) like indole alkaloids (Ehrlich test) and the mycotoxin patulin.

Results showed isolation of 35 isolates of *Penicillium expansum* only. Capability of 33 isolates of this fungus to produce patulin was tested. All isolates were capable of producing patulin. The amount of patulin produced varied with isolates, the average production by all isolates was within the concentration (12254.84- 2.074) ppm. Patulin contamination is considered of great concern especially in apples and apple products due to its harmful effect on human life.

### INTRODUCTION

The mycotoxin patulin (4- hydroxy- 4H- Fural [3,2-C] Pyran- 2(6H)- one, is a fungal secondary metabolite that exhibits acute toxic, carcinogenic, teratogenic and mutagenic properties (1,2,3). Within the food industry, patulin contamination is considered of great concern in apples and apple products, which are the main sources of human patulin consumption (4).

Patulin has also been found at significant concentrations in other fruits, such as pear, peaches and grapes (5,6). Patulin presence was suggested to be indicative of the quality of the fruit used in production (7). Patulin is mainly produced by species of fungi belonging to the genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Byssosclamis* (8,9). *Penicillium expansum* in particular, is considered the main producer of patulin in fruits (10,11). *Penicillium expansum* is the predominant post harvest and a common spoilage fungus found mainly on apples.

The objective of the present study was to isolate and identify isolates of *penicillium expansum* from rotting apples and to evaluate their ability to produce patulin in synthetic media quantitatively using HPLC.

## MATERIALS AND METHODS

### - Isolation and Identification of the Fungus:-

The causal agent of the apple infection was isolated from the external surface of the rotting apple fruits (Golden Delicious Variety) directly by taking tissue samples (1-2) cm diameter, cut from the edge of infected lesion of the apples, sterilized for (30) seconds with (10)% sodium hypochlorite solution, washed in three changes of distilled water, then placed on PDA in Petri plates and incubated at (25)°C (3). Identification was based on Phenotypic characters (12). Growth was compared on: a- corn yeast extract agar (CYA). b- PDA, c- Czapek's DOX (CZ) agar. Colony diameter, microscopic characters were determined after (7) days (15 days on CZ agar).

### - Ehrlich test:-

The test is used to indicate production of cyclopiazonic acid and other alkaloids. All isolates examined for their reaction with Ehrlich reagent using a filter paper method. Ehrlich reagent consists of (2) g of 4-dimethylaminobenzaldehyde in (96%) ethanol (85 ml) added (15) ml of 10N HCL. Approximately four millimeter agar plug is cut out of the center of a colony grown on CYA (Czapek yeast autolysate agar) (12) incubated for 5-9 days at (25)°C, and a round piece (1 cm diameter) of the wetted filter paper (Whatman No.1) is placed on the mycelial side of the plug. If a violet ring appears after 2-6 min the culture contains cyclopiazonic acid or related alkaloids. After 10 min the violet ring will fade away (12).

### - Patulin Production:-

Method of (3) was used. Thirty three different isolates of *P. expansum* isolated and identified as mentioned previously were examined for their capability to produce patulin. Two inoculum discs (5 mm diameter) were taken from the edge of active colonies (age 5-7 days) grown on PDA,

transferred to conical flasks (250 ml) containing (50) ml modified PDB (Potato dextrose broth supplemented with 152  $\mu\text{mol/L}$  manganese chloride  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (13). Flasks were incubated at  $(20 \pm 2)$  for (7) days. At the end of this period, fungal biomass was separated by filtration through whatman (No.1) paper, then refiltered through a millipore filter (0.45  $\mu\text{m}$  porosity) to remove spores. The filtrate was washed with a similar volume of ethyl acetate (50 ml), shaken for (10) min, and the organic phase then collected in a separate flask, dried with anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (10) g and washed with (25) ml of ethyl acetate. The solution was then reduced to almost dryness using rotary evaporator at  $(48^\circ\text{C})$ . The residue was dissolved in (2) ml of ethanol and kept in a deep freeze until used for detection.

#### - Stock solution:

A stock standard solution of patulin was prepared by dissolving (1.3) mg of pure crystalline patulin (Sigma) in (25) ml methanol. Stock solution with concentration of (52) ppm was kept in a deep freezer.

#### - Determination of patulin by HPLC:

The HPLC analysis was carried out on a Shimadzu model, equipped with a CTO-2AS column oven, a LC-4A pump and a Shimadzu SPD-2AS UV-visible detector. Separation was performed on a M-Band pack C-18 (250X 4.6 mm i.d), column of (5)  $\mu\text{m}$  diameter particle size. The mobile phase was methanol: water (70:30). The flow rate was (0.5) ml/min. The elution was monitored by UV absorption at (276) nm (3). Patulin quantified by comparing the peak areas in the samples with the reference standard. The concentrations were calculated using the formula

$$\text{Patulin conc. (ppm)} = \frac{\text{Peak area of sample}}{\text{Peak area of standard}} \times \text{Standard concentration}$$

## RESULTS AND DISCUSSION

#### - Identification of *P. expansum* isolates:

*P. expansum* is related to the subgenus *Penicillium*, section *Penicillium*, series *expansa* (13). The identification of the taxa of subgenus *Penicillium* is difficult, because the micromorphology of the species is very similar. In addition of the structure and branching of the conidiophores, the shape, ornamentation and color of conidia, colony characters on different media could also be helpful in identification, in addition to extrolite production. Therefore *P. expansum* (35) isolates obtained from rotting apples in this study were cultured and examined on CYA (Corn yeast



extract agar), PDA and CZA (Fig 1 a,b,c). On CYA medium the colony appeared Fasciculate, isolates grown on this medium differed in their growth rate (Table 1) they showed average colony diameters between (2.9-5.6) cm. Whereas, on PDA medium (Fig 1b). The average colony diameters were between (3.7-7.3) cm (Table 2). On CZA medium the colonies occasionally form synnematus growth especially in the marginal area (Fig 1c). Micromorphology showed conidiophore heads (Penicilli) typically two staged branched (terverticillate). The stipes were mostly smooth walled. Conidia mainly ellipsoidal, smooth walled (Fig 2). Colonies grew well at (25° C and cannot grow at (37° C.

Extrolite production which is considered to be a very efficient help in identification of *Penicillium* species is also used. The simplest test is Ehrlich test which is used to indicate production of indole alkaloid. *P. expansum* isolates gave positive reaction to this test (Fig 3 a,b). Patulin production is also a useful extrolite test for the identification of *P. expansum*.

#### - Patulin production:

The ability of thirty three isolates of *P. expansum* isolated in this study to produce patulin in synthetic medium (PDB) was tested. Results showed that all isolates were able to produce patulin (Table 3, Fig 4 a,b) the amount of patulin produced varied with isolates.

The highest producer was isolates (no.12) which produced (12254.85) ppm, whereas the lowest producers were isolates number (7,18,19,28) which produce toxin between (2.074-3.286) ppm.

In this respect, several reports suggested that differences in patulin production depends on the culture conditions, medium composition, temperature, period of incubation and isolates tested.

The results of amounts of patulin produced by different isolates in this study agreed with (14), who showed substantial differences among *P. expansum* strains in terms of growth kinetics and patulin production. (14) also found that the highest patulin levels were those from isolated strains displaying aggressive growth and profuse mycelial development. The results are also consistent with (13) who showed maximum production of patulin using same medium (PDB supplemented with manganese) and different isolates of *P. expansum* within (65.72-338.21) µg/ml, and they noted that PDB supplemented with manganese was found to be the best medium supporting maximum patulin production by *P. expansum*. Furthermore, (3) observed while testing (14) isolates of *P. expansum*, production of (100-345.6) µg/ml on YES medium.

It is worth to note that several countries have established the maximum limit of (50) µg/ kg for patulin in products for human consumption. However, other countries have recommending the limits of (20-30) µg/kg for baby and infant foods respectively (15).

**Table-1: Colony diameters of *P. expansum* isolates grown on CYA after 8 days incubation at 25 °C.**

Isolate No.	Colony diameter (cm)	Isolates No.	Colony diameter(cm)
1	3.25	19	3.3
2	4.5	20	3.5
3	4.2	21	2.9
4	4.2	22	-
5	4.5	23	3.3
6	4.5	24	3.9
7	4.5	25	3.7
8	4.4	26	3
9	2.9	27	3.2
10	4.6	28	3.2
11	5	29	5.2
12	4.5	30	3.8
13	5.6	31	3.2
14	4	32	3.7
15	4.5	33	3.3
16	-	34	3.1
17	-	35	3
18	3.2		

**Table-2: Colony diameters of *P. expansum* isolates grown on PDA after 7 days incubation at 25 °C.**

Isolate No.	Colony diameter (cm)	Isolates No.	Colony diameter(cm)
1	4	19	3.7
2	4	20	3.8
3	5.8	21	4
4	3.8	22	6.3
5	2.8	23	5
6	5.8	24	4.5
7	4.4	25	4.8
8	4.8	26	6
9	4.5	27	5.5
10	4.9	28	4.7
11	5.9	29	4
12	4	30	5
13	4.8	31	3.8

14	4	32	6
15	5.8	33	3.7
16	4.8	34	4.6
17	7.3	35	5.8
18	4.5		

**Table-3: Patulin production by *P. expansum* isolates compared with standard Patulin assayed by HPLC.**

Isolate No.	Area space of isolate (Retention time)	Area space of standard (Retention time)	Toxin concentration ppm
P1	254520 (6.961)	177209 (6.866)	74.686
P2	329822 (6.874)	= =	96.783
P3	516009 (6.943)	= =	151.41707
P4	494025 (6.967)	= =	144.96611
P5	273559 (6.994)	= =	80.273
P6	192868 (6.860)	177209 (6.866)	56.595
P7	13860 (7.597)	219293 (7.709)	3.286
P8	17640365 (7.597)	219293 (7.709)	4182.983
P9	120449.7 (6.946)	177209 (6.866)	35.345
P10	7419639 (7.908)	219293 (7.709)	1759.387
P11	50911 (7.568)	219293 (7.709)	12.072
P12	41762.882 (6.948)	177209 (6.866)	12254.85
P13	162144 (7.616)	219293 (7.709)	38.449
P14	24920 (6.866)	177209 (7.709)	7.312
P15	1927261	219293	457.003

	(7.829)	(7.709)	
P16	18476 (7.880)	219293 (7.709)	4.381
P17	206744 (6.869)	177209 (6.866)	60.667
P18	9498 (7.900)	219293 (7.709)	2.252
P19	12147 (7.881)	219293 (7.709)	2.880
P20	3938565 (6.866)	177209 (6.866)	1155.727
P21	28701 (7.880)	219293 (7.709)	6.806
P22	-	-	-
P23	58136 (6.876)	177209 (6.866)	17.059
P24	637182.8 (6.844)	177209 (6.866)	186.974
P25	22402633 (7.692)	219293 (7.709)	5312.239
P26	4019110 (7.374)	219293 (7.709)	953.034
P27	3030716 (6.879)	177209 (6.866)	889.329
P28	8747 (7.574)	219293 (7.709)	2.074
P29	2154204 (6.907)	177209 (6.866)	632.127
P30	93988 (6.890)	177209 (6.866)	27.579
P31	385617 (6.898)	177209 (6.866)	113.155
P32	83414.6 (6.968)	177209 (6.866)	24.477
P33	-	-	-
P34	93787 (6.888)	177209 (6.866)	27.521
P35	458875 (7.428)	219293 (7.709)	108.811



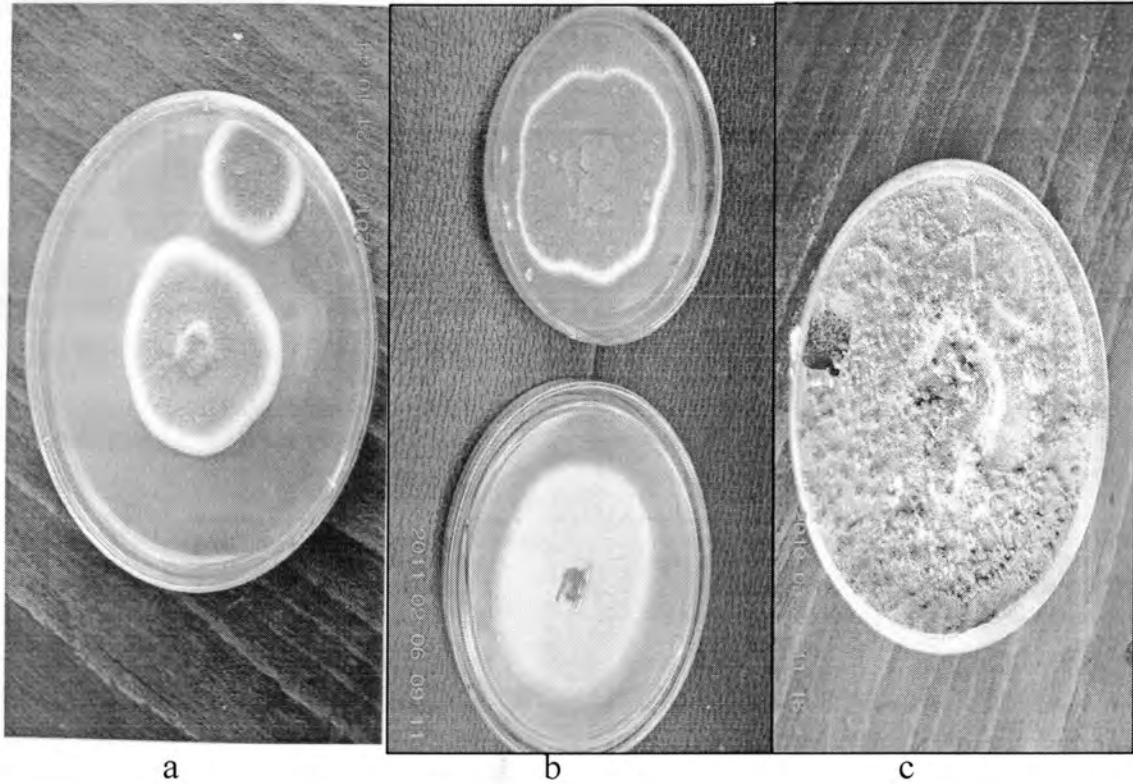
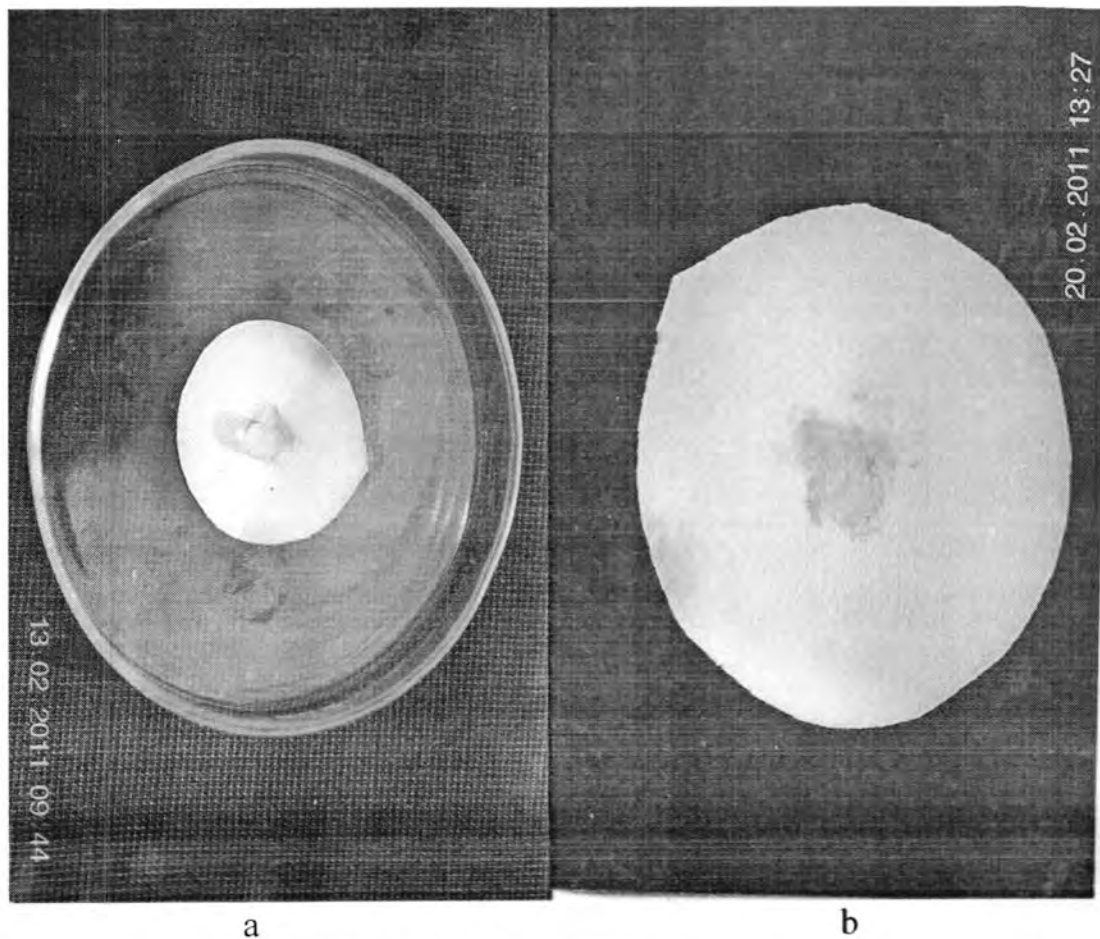


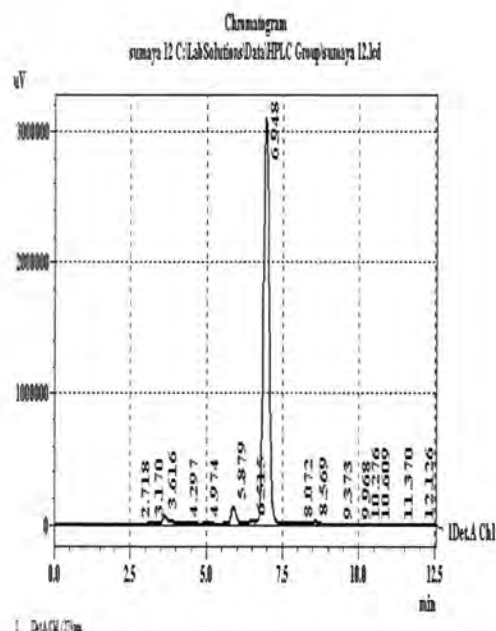
Fig -1: Type of growth of *P. expansum* isolates grown for (7) days of (25)°C on:  
a- CYA      b- PDA      c- CZA



Fig -2: Conidiophore head (terverticillate) of *P. expansum* grown on PDA.



**Fig -3 a,b: Reaction of *P. expansum* with Ehrlich reagent.**



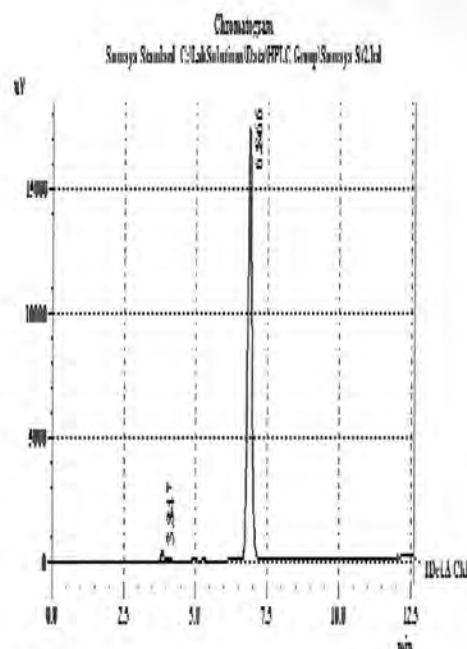
1 Det:CU 27nm

PeakTable

Detector: CU 27nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.718	3979	319	0.009	0.009
2	3.170	188151	13518	0.400	0.400
3	3.616	1228063	66599	2.640	1.970
4	4.207	221889	11355	0.482	0.336
5	4.574	161147	9207	0.350	0.272
6	5.879	1740113	116888	3.770	4.024
7	6.515	426949	21607	0.926	0.639
8	6.940	41762882	3896997	90.627	91.623
9	8.072	59461	3224	0.129	0.095
10	8.569	240994	17806	0.521	0.527
11	9.173	38275	2832	0.066	0.060
12	9.968	4253	383	0.009	0.009
13	10.276	6719	366	0.013	0.011
14	10.609	7357	776	0.016	0.011
15	11.370	3686	197	0.008	0.006
16	12.126	4065	232	0.009	0.007
Total		46082023	3388147	100.000	100.000

a



1 Det:CU 27nm

PeakTable

Detector: CU 27nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.047	1209	302	1.779	2.140
2	6.866	171209	17423	98.221	97.852
Total		180418	17705	100.000	100.000

b

**Fig -4: Chromatogram of Patulin analyzed by HPLC.**  
**a- Patulin produced by *P. expansum* isolate no.(12).**  
**b- Standard patulin.**

## REFERENCES

- 1- Lai, C.L.; Y.M. Fuh and D.Y.C. Shih. Detection of mycotoxin Patulin in apple juice. J. Food and drug analysis. 8:85-96. (2000)
- 2- Laggott, N.L.; H.F. Vismer; E.W. Sydenham; G.S. Shephard; T.P. Rheeder and W.F.O. Marasas. Occurrence of patulin in the commercial processing of apple juice. South African J. of Sci.,96:241-243. (2000)

- 3- Larous, L.; N. Hendel; J.K. Abood and M. Ghoul. The growth and production of patulin mycotoxin by *Penicillium expansum* on Apple fruits and its control by the use of propionic acid and Sodium benzoate. *Arab. J. Pl. Prot.*, 25(1): 123-128.(2007)
- 4- Moake, M.M.; O.I. Padilla-Zakour and R.W. Worobo. Comprehensive review of Patulin control methods in Foods. *Comp. Rev. food Sci. food Safety*, 1:8-21. (2005)
- 5- Majerus, P. and K. Kapp. Assessment of dietary intake of Patulin by the population of EU member states. Reports on tasks for scientific cooperation. Tasks 3.2.8. scoop report, Brussels, Belgium. (2002)
- 6- Piemontese, L.; M. Solfrizzo and A. Visconti. Occurrence of patulin in conventional and organic fruit products in Italy and subsequent exposure assessment. *Food Addit. Cotam.*, 22: 437-442. (2005)
- 7- Burda, K. Incidence of patulin in apple, pear and mixed fruit products marketed in New South Wales. *J. Food Product*, 55:796-798. (1992)
- 8- Northolt, M.D.; H.P. Van Egmond and W.E. Paulsch. Patulin production by some fungal species in relation to water activity and temperature. *J. Food Prot.*, 41:885-890. (1979)
- 9- Draughon, F.A. and J.C. Ayres. Insecticide inhibition of growth and patulin production in *Penicillium expansum*, *Penicillium urticae*, *Aspergillus cavatus*, *Aspergillus terreus* and *Byssoschlamis nivea*. *J. Agaric. Food Chem.*, 28:115-117. (1980)
- 10- Frisvad, J.C. and U. Thrane. Mycotoxin production by Food- borne fungi. P. 251-260. In R. A. Samson; E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad and O. Filtenborg (ed.). *Interoduction to Food-borne fungi*, 5<sup>th</sup> ed. Centraalbureall Voor Schimmelculture. Baarn, The Netherlands. (1996)
- 11- Andersen, B. J. Smedsgaaed and J.C. Frisvad. *Penicillium expansum*: Consistent production of patulin, chaetoglobusin, and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 2421-2428. (2004)
- 12- Frisvad, J.C. and R.A. Samson. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* Sub genus *Penicillium*: Aguide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins, studies In *Mycology*, 49:1-52. (2004)



- 13- Dombrink- Kurtzman, M.A. and J.A. Blackburn. Evaluation of several culture media for production of patulin by *Penicillium* species. Int. J. Food Microbiol. 98: 241-248. (2005)
- 14- Mc Callum, J.L.; Tsao, R. and T. Zhou. Factors affecting patulin production by *Penicillium expansum*. J. Food Prot. 65: 1937-1942. (2002)
- 15- FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations. Worldwide regulations for mycotoxins 1995. In. FAO and Agriculture Organization Food and Nutrition paper.64. FAO. Rome. P. 7-28. (1997)

## Effect of Melatonin as Antimicrobial Agent Against Some Pathogenic Bacteria

Suhad F. Hatem\* , Nuha J. Kandela and Rawaa A.Salman\*\*

\* Pharmacy Collage / Al-Mustansiriya University

College of Science / Biotechnology Dep. / Baghdad University

Medical City Hospital

Submitted : 17/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

هدفت الدراسة الى تقييم الفعالية المضادة للنشاط المايكروبي لمادة الميلاتونين melatonin ضد عدد من الممرضات البكتيرية المعزولة من عينات دم وادراروقشع وجروح جمعت من مرضى مصابين بحالات سريرية مختلفة شملت على : (*Staphylococcus aureus* (4 isolates) , *Acinetobacter baumannii*(4 isolates) , *Pseudomonas aeruginosa* (2 isolates) , *Enterococcus faecalis*(2 isolates) , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC29123) اختبرت حساسية العزلات تجاه عدد من المضادات الحيوية وظهرت النتائج امتلاك العزلات لنمط المقاومة المتعددة لاغلب المضادات الحيوية تمثلت اهمها بمقاومة بكتريا *Acinetobacter* و *Pseudomonas* لمضاد مجموعة *Carbapenem* وبكتريا *Staphylococcus* لمضاد *Methacillin* و *Enterococcus* لمضاد *Vancomycin* . شملت الدراسة تحديد التركيز المثبط الادنى والقاتل الادنى لمادة الميلاتونين تجاه جميع عزلات بكتريا الاختبار وظهرت النتائج ان مادة الميلاتونين تمتلك فعالية تثبيطية ضد الممرضات البكتيرية , اذ بلغ التركيز المثبط الادنى (64, 64, 193, 193, 384, 384) مايكروغرام/مل تجاه العزلات البكتيرية (*ATCC29123, P.aeruginosa* ATCC27835) (*S.aureus* , *E.faecalis* , *A.baumannii* , *P.aeruginosa* , *S.aureus* ) على التوالي , اما التركيز القاتل الادنى لمادة الميلاتونين كان (384, 384, 512, 512, 128, 128) مايكروغرام / مل تجاه العزلات البكتيرية ( *P.aeruginosa* , *A.baumannii* , *S.aureus* , *E.faecalis* , *P.aeruginosa* ATCC27853 , *S.aureus* ATCC29123 ) على التوالي .

## ABSTRACT

The widespread distribution of antibiotic resistant bacteria in hospitals specially the types of nosocomial infections caused major public problem which leads to many dead cases .therefore ,our study aimed to evaluate the *invitro* antimicrobial activity of melatonin against some pathogenic bacteria that isolated from blood, urine,sputum and wounds collected from patient suffered from different clinical cases as follows :

(*Staphylococcus aureus* 4 isolates, *Acinetobacter baumannii* 4 isolates, *Pseudomonas aeruginosa* 2 isolates , *Enterococcus faecalis* 2 isolates , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC)

Sensitivity of isolates was tested against some antibiotics, result revealed that isolates showed multi resistant to antibiotics, considered the most important resistant groups was carbapenem resistant *P.aeruginosa* and *A.baumannii* ,methacillin resistant *S.aureus* and vancomycin resistant *E.faecalis* .

Minimum inhibitory concentration and Minimum bacteriocidal concentration were determined and the results showed that melatonin had antibacterial effects against some pathogenic bacteria , the results obtained that MIC of the melatonin was (64,64,193 ,193,384,384) µg \ml against (*P.aeruginosa* ATCC27853, *S.aureus* ATCC, *A.baumannii* , *P.aeruginosa* ,*E.faecalis* ,*S.aureus* )respectively , and MBC of melatonin against (*P.aeruginosa* ,*A.baumannii*, *S.aureus*, *E.faecalis*, *P.aeruginosa* ATCC 27835, *S.aureus* ATCC29123)was (384,384,512,512,128,128) µg\ml respectively.

## INTRODUCTION

Resistance of microorganisms to many classes of antibiotics is a major public health concern. Even prior to the first clinical use of antibiotics more than 60 years ago, resistant organisms had been identified [1].

The noticeably increasing numbers of multi-drug-resistant microbial infections have become a serious health care problem. In particular, the appearance of multi-drug resistant strains of gram positive and gram negative bacterial pathogens such as *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant( MRSA), MRSA strains have emerged worldwide as important nosocomial pathogens, and the prevalence of these strains in the community is now increasing rapidly , and *Enterococcus* vancomycin-resistant , which causing serious problems in health care [2] . *Acinetobacter baumannii* also has emerged as a primary nosocomial pathogen in hospital outbreaks, and is ranked second after *Pseudomonas aeruginosa* among nosocomial aerobic, bacillar pathogens [3]. Based on published data, the prevalence of carbapenem resistant *A. baumannii* strains is on the increase [4]. During

recent decades, antibiotic resistance has become common, and the need for developing new efficacious antibiotics is currently a major goal of the pharmaceutical industry [5].

Recent studies have shown the important role of anti inflammatory and antioxidant agents, including melatonin [1].

Melatonin (5-methoxy-N-acetyltryptamine), a derivative of the essential amino acid tryptophan, is an indolamine hormone with its blood levels varied throughout the day. Melatonin is an agent that produced at night by the pineal gland. melatonin can also be found in cells of the bone marrow and gastrointestinal tract and plays a fundamental role in the neuroimmuno-endocrine system. In most of the published studies, an antioxidative effect, improved microcirculation and a stimulation of intestinal epithelium may also apply in the beneficial effects of melatonin on the symptoms of colitis induced in rats [6].

Although melatonin has been extensively investigated, only a few of them relate to its *invitro* antimicrobial activities on to its effects in infectious diseases. New *invitro* antimicrobial studies using melatonin suggested that it has limited antimicrobial properties, while one study found that melatonin inhibited *Candida albicans* at a concentration of 300 µg/ml [7]. In contrast to the *invitro* studies, virtually all *invivo* studies performed with melatonin in infectious disease models documented it as a successful therapy [1].

Melatonin prevents the uptake of the Linoleic acid (LA), an essential omega-6 polyunsaturated fatty acid is a growth factor for a number of tumor types,by cancer cells which reduces the activation of genes that promote cell proliferation [8]. Similar actions of melatonin on the bacterial wall thus may restrict the survivability of bacteria. Additionally, melatonin has a high metal binding capacity. Melatonin binds iron , copper and zinc thereby reducing their cytoplasm availability. Bacteria are strongly dependent on free metals; in particular, free iron for growth .melatonin reduces bacterial translocation in TNBS-induced colitis. The anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of melatonin can reduce the extent of mucosal damage [7]. Melatonin is effective in controlling parasite and Chlamydia replication and suggests that melatonin might serve as an effective therapeutic agent in the treatment of American trypanosomiasis [9][10].

Here in current study, we tested whether melatonin may have antibacterial activity by examined the *invitro* effect using antibiotic-resistant bacterial that cause nosocomial infections isolates from different cases.



## MATERIALS AND METHODS

### Bacterial isolates

All bacterial used in this study were isolated from (blood, urine, sputum and wounds) samples collected from patient suffered from different clinical cases. These samples collected from patients attending Teaching Labs in Baghdad City . *S.aureus* ATCC and *P.aeruginosa* ATCC 27835 were used as control . Isolates were maintained as subcultures were grown on Brain Heart Infusion agar (Biolife) incubated at 37 °C for 24 hrs.

### Preparation of melatonin Solution

As melatonin (drug) is weakly soluble in water, dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma / Germany), ethanol and polyethylene glycol were examined to dissolve melatonin. Two milligrams per milliliter solution from each solvent was prepared as stock.

### McFarland tube standard (0.5)

A barium sulfate turbidity standard solution equivalent to a 0.5 McFarland standard was prepared as described by [11].

### Antibiotic Susceptibility Test

Thirteen various available and commonly used antibiotics discs were used in the antibiotic sensitivity test. The susceptibility of different types of isolates to different antimicrobials was determined by Kirby-Bauer disk diffusion method on Mueller Hinton media [12]. The sensitivity and resistant were determined by measuring the diameter of inhibition zones around the antibiotic disc [11]. the antibiotics disc (BioAnalyse \Turkey) were used in this study's : Amikacin 30 µg / disc, Ampicillin 10 µg / disc, Cefepime 30 µg / disc, Chloramphenicol 30 µg / disc, Ciprofloxacin µg / disc, Erythromycin 30 µg / disc, Methacillin 30 µg / disc, Gentamicin 10 µg / disc, Imipenem 10 µg / disc, Penicillin 10 U, Piperacillin 100 µg / disc, Tetracycline 30 µg / disc, Vancomycin 30 µg / disc.

### Determination of MICs and MBCs

The minimum inhibitory concentration (MIC) for melatonin was performed by the tube dilution method [13][14], against all bacterial isolates were used in this study. Serial twofold dilutions of melatonin were prepared in tubes with concentrations ranging between (8,16,32,64,128,256,512,1024) µg/ml by using Mueller Hinton Broth . Bacterial suspensions were adjusted to the 0.5 McFarland standards approximately ( $1 \times 10^8$ ) CFU/ml. Final inoculums were adjusted to the  $10^5$  CFU/spot. An isolate was added to each tube. they were incubated at 37°C for 24 – 48 hr. After incubation, bacterial growth was assayed by

absorbance measurement at 620 nm. Bacterial growth was also indicated by the presence of turbidity. Because DMSO itself could have antimicrobial activity, DMSO solution by itself was always used as a control.

The MIC was defined as the lowest concentration of melatonin that completely suppressed colony growth (no visible growth compared with the growth of control).

The MBC was determined and defined as the lowest concentration of melatonin that completely no colony growth was visible onto plate culture [13][14].

## RESULTS AND DISCUSSION

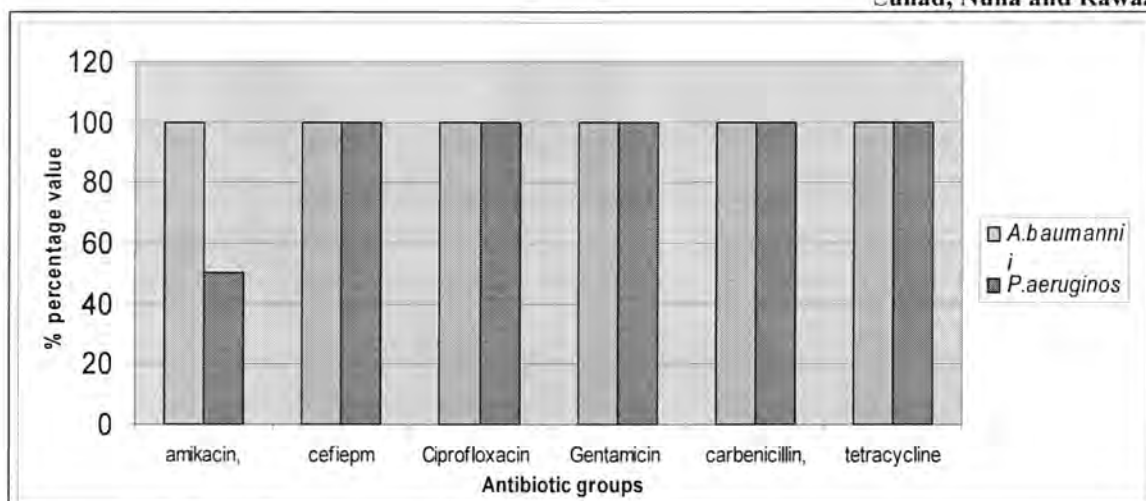
### Bacterial isolates

All isolates were subjected to the cultural, microscopically, biochemical examinations for identification to the species. The results showed four different species isolates of bacteria including *A. baumannii* (n = 4) isolated from blood culture samples from bacteremia patients and sputum samples for patients suffered from Respiratory Tract Infections, *P. aeruginosa* (n = 2) isolated from blood and sputum samples, and *S. aureus* (n = 4), isolated from wounds, blood and urine samples, while *E. faecalis* isolated from blood and urine samples from Urinary Tract Infections patients. These types of bacteria were identified by conventional methods [15, 16, 17]. And further by the API 20 E system (bioMerieux, France) and API Staph system (bioMerieux). *S. aureus* ATCC 29123, *P. aeruginosa* ATCC 27853 were used as control strains.

### Detection of Antibiotic Susceptibility test

All four types of bacterial isolates (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *E. faecalis*) were tested for their susceptibility towards thirteen antibiotic discs by using disk diffusion method. The results in figure (1) showed the isolates of *A. baumannii* (n=4) were completely resistant to antibiotic groups included Amikacin, Cefepime, Imipenem, Ciprofloxacin, Centamicin, Carbenicillin, and Tetracycline. It was also clear from Figure (1) that 50 % of *P. aeruginosa* isolates (n=2) were resistant to Amikacin while others showed 100% resistant to Cefepim, Ciprofloxacin, Gentamicin, Carbenicillin, Imipenem and Tetracycline.

Results of figure (2) showed that *E. faecalis* isolates (n=2) were highly resistance to all antibiotics groups such as Vancomycin, Methacillin, Tetracycline, Ciprofloxacin, Erythromycin, Penicillin, and Amikacin (100%). while *S. aureus* isolates (n=4) showed moderately resistant 50 % to Amikacin and 25% to Vancomycin and Ciprofloxacin, but highly resistant 100% to Methacillin, Erythromycin, Penicillin and Tetracycline.



**Fig. -1 : The Susceptibility of *A. baumannii* and *P. aeruginosa* to Antibiotic**

In majority, our results indicates the isolates *P. aeruginosa* and *A. baumannii* was found to be resistant to all antibiotic especially to carbapenem group( imipenem) ,others *S. aureus* and *E. faecalis* resistant at least to five antibiotic included methicillin and vancomycin, hence were considered to be multi drug resistant isolates (MDR). The resistances of *P. aeruginosa* as mentioned previously are due to intrinsic, acquired and genetic resistance [18] furthermore, the differences in the level of susceptibility to certain antimicrobials and the mechanism of resistance to antibiotics could be attributed to target modification, multidrug efflux systems ([19]. In addition, resistance of *P. aeruginosa* to antibiotics is very definitely associated with overuse of broad-spectrum antibiotics in hospitals [20]. Al- Khafaji, [21] refers to The susceptibility of 19 isolates of *Acinetobacter baumannii* to imipeneme (100%) and resistant 100% to (Co-trimoxazol , Nitrofurantoin , Carbenicillin, Tetracycline , Aztreonam , Ciprofloxacin , Cephalothin ). One of the most poignant instances is the widespread prevalence of MDR *A. baumannii* among personnel returning from military operations in Iraq and Afghanistan [22]. Especially feared are epidemic hospital infections caused by multi resistant strains particularly that produce ESBLs . ESBLs are usually plasmid mediated. Since these plasmids are easily transmitted among different members of the Enterobacteriaceae, and others bacteria (gram positive) accumulation of resistance genes results in strains that contain multi-resistant plasmids [23].

Conjugal transfer of genes and genetic elements between different strains and between environmental and clinical strains in both directions under natural conditions are probable issue, [24].

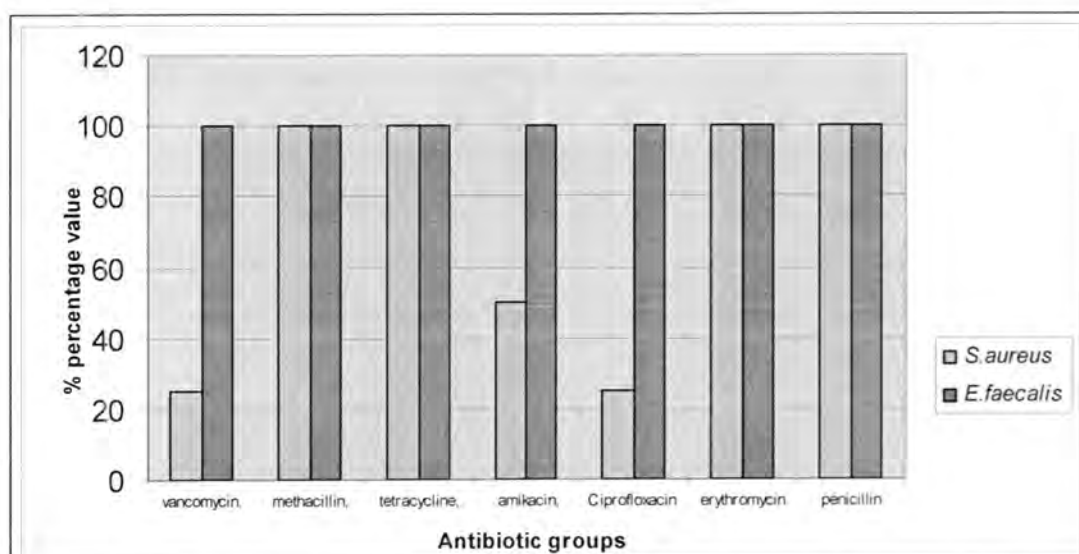


Fig. -2 : The Susceptibility of *E. faecalis* and *S. aureus* to Antibiotic

#### Determination of MIC and MBC

The MIC and MBC value of melatonin was determined against all bacterial isolates. Melatonin was found to exhibit antibacterial activity against the four clinical and standard strains of bacteria but in different concentration (Table 1), and this depends on the anti bacterial effect of melatonin upon the different pathogenic bacteria and mode of action .

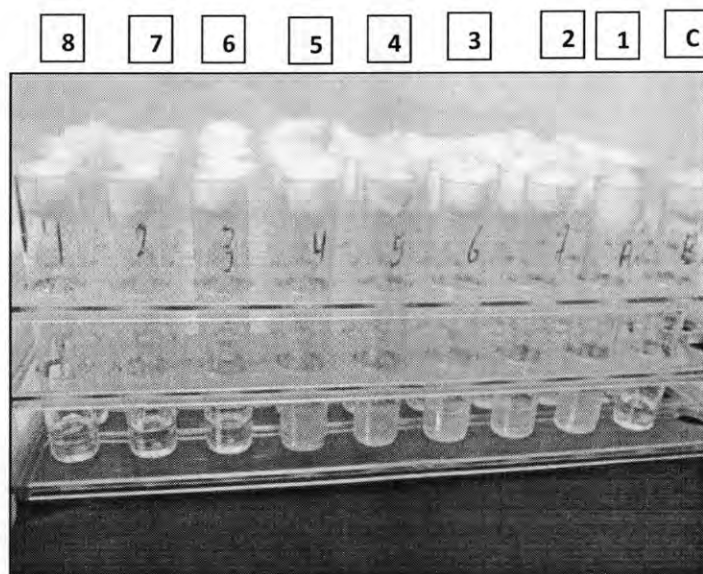
The MIC concentrations for melatonin was 384  $\mu\text{g/ml}$  for gram-positive bacteria, 193  $\mu\text{g/ml}$  for the gram-negative microorganisms and 64  $\mu\text{g/ml}$  for the standard strains as a control.(figure-3). Dimethyl sulfoxide was used alone as the negative control and did not cause a visible inhibition of growth of the bacteria while neglected other solvent because they give positive result (visible inhibition of growth of the bacteria).

The result of MBC showed bacteriocidal effect of melatonin against all pathogenic bacteria and control bacteria at high concentration .(figure-4) , except standard strains *P. aeruginosae* ATCC and *S. aureus* ATCC in concentration 128  $\mu\text{g/ml}$ .

Table -1 : The (MICs) and MBC of melatonin against pathogenic bacterial isolates.

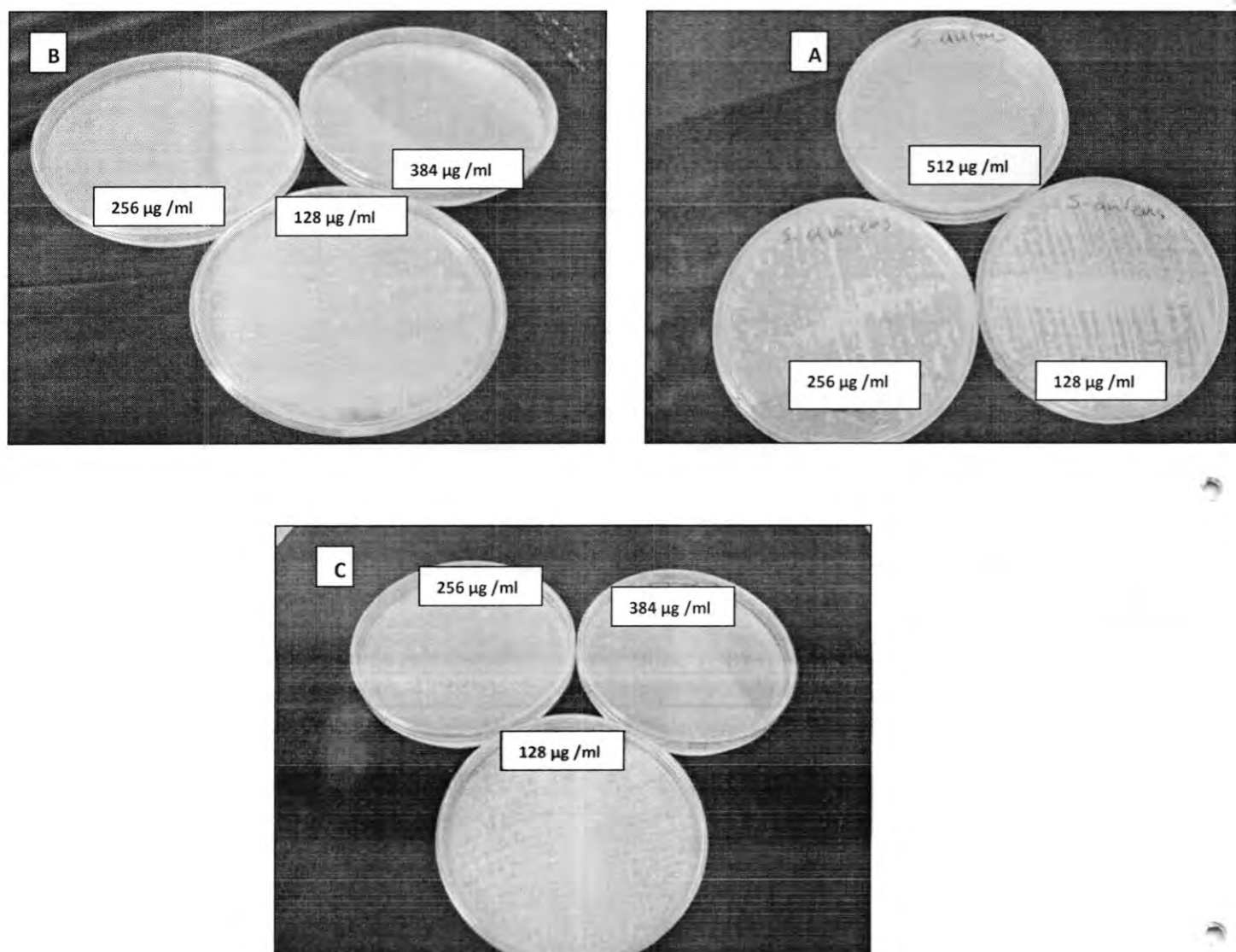
Bacteria Isolates	(MIC) $\mu\text{g/ml}$	(MBC) $\mu\text{g/ml}$
<i>A.baumannii</i>	193	384
<i>P. aeruginosae</i>	193	384
<i>E.faecalis</i>	384	512
<i>S.aureus</i>	384	512
<i>P. aeruginosae</i> ATCC	64	128
<i>S.aureus</i> ATCC	64	128





**Fig. -3 : The MICs of melatonin against *P.aeruginosa* ATCC**  
**C: control**

No. of tubes (1.2.3.4.5.6.7.8.) Refer to different  
concentration of melatonin



**Fig.-4 : The MBCs of melatonin against pathogenic bacterial isolates**

**A : *S. aureus***

**B : *P. aeruginosa***

**C : *A. baumannii***

As melatonin is weakly soluble in water, here we use ethanol, polyethylene glycol and DMSO to dissolve the indolamine. Ethanol and polyethylene glycol gave negative results because in our experience that at higher concentrations of melatonin in an alcohol:water mixture precipitates sometimes form. Thus, DMSO rather than ethanol was used to dissolve melatonin. Although the density of DMSO (1:0.1 g/ml) is different than water, they are miscible and they form a uniform mixture in a 50:50 concentration (volume: volume).

However, The results indicate that melatonin has in vitro antimicrobial activity against the isolates of imipenem resistant *A.baumannii* (the blood isolate) and imipenem resistant *P.aeruginosa* (the blood isolate) reflects similar resistant to antibiotics as well as, similar sensitivity to melatonin solution ,so as the results of the isolates of methacillin resistant *S.aureus* (the blood isolate) and vancomycin resistant *E.faecalis* (the blood isolate) ,this goes in agreement with Tekbas *et al* [1] who found that *P. aeruginosa* and *A.baumannii* clinical isolates from blood and sputum resistance to carbapenem , methacillin resistant *S.aureus* showed similar sensitivity in-vitro and MIC were (125 , 125 ,250) $\mu\text{g}\backslash\text{ml}$  respectively.

Melatonin was tested against both gram-positive and gram-negative bacteria; the results showed that melatonin is more effective in inhibiting gram-negative microorganisms compare with standard strains. In gram-negative bacteria, the cell envelope is composed largely of protein glycopeptide, lipopolysaccharide, and also, substantial amounts of lipid. The inner membrane of gram-positive bacteria and both inner and outer membrane of gram-negative bacteria are rich in phospholipids [25, 26]. Konar *et al.* [27] reported that melatonin, at the concentration of 1000  $\mu\text{g}\backslash\text{ml}$ , significantly reduced the lipid level of *Saccharomyces cerevisiae*. Furthermore in the same study, melatonin, at concentration of 300  $\mu\text{g}\backslash\text{ml}$ , was shown to be one of the most effective agents in reducing lipid levels of *Candida albicans*.. Jasim *et al* [28] also referred that melatonin showed antibacterial effect against multi drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*. in vitro by reducing viable count of bacteria to ( $10^7$ - $10^3$ )CFU/ml in concentration (50-400)  $\mu\text{g}\backslash\text{ml}$  respectively.

Melatonin considered an agent reduces the absorption of substrates through the wall or binds some of the intracellular substrates (e.g. Fe+3), it could also prolong the lag phase of the bacteria and block/inhibit the exponential phase[1].

Melatonin reportedly has a high metal binding capacity including iron. Gulcin *et al.* [29] also noted that melatonin is an effective metal chelating agent. This feature of melatonin has been typically thought to be related to the antioxidant properties of the indole by making transition metals unavailable for the Fenton reaction. However, in case of bacterial growth, an agent which binds free iron in the cytoplasm has great importance. As melatonin easily passes all biological barriers including bacterial cell wall, it may bind free iron in the cytoplasm and restrict bacterial growth via this mechanism[1].

The bacteria used in this study are considered highly problematic bacteria because they cause antibiotic-resistant nosocomial infections .So melatonin was chosen as a new antibacterial agent for the treatment of bacterial infections in-vitro .Identifying the mode of action could be of great help in developing and researching new anti-bacterial drugs.

## REFERENCES

- 1- Omer, F. ;Tekbas, R. O.; Ahmet, K.; Abdullah ,K .and Russel J.R. Melatonin as an antibiotic: new insights into the actions of this ubiquitous molecule. *Journal of Pineal Research* .44(2):222-226. (2007).
- 2- Gokce, G.; Nurten ,A. and Sibel, S. Investigation of Antimicrobial Activities of Indole-3-Aldehyde Hydrazide/Hydrazone Derivatives A Chemotherapy. 55:15–19. (2009 ).
- 3- Jeong SH, Bae IK, Park KO et al. Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *J Microbiol* . 44:423–431. (2006).
- 4- Chastre J. and Trouillet ,J.L. Problem pathogens (*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*). *Semin Respir Infect* .15:287–298. (2000).
- 5- Wright, GD. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat Rev Microbiol*; 5:175–186. .( 2007).
- 6- Alper Akcan, Can Kucuk, Erdogan Sozuer, Duygu Esel, Hızir Akyıldız, Hulya Akgun, Sabahattin, M., and Yucel ,A. and World, J G.. Melatonin reduces bacterial translocation and apoptosis in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis of rats. *J. Pineal Res.*; 44:222–226 .(2008).
- 7- Konar VV, Yilmaz O, Ozturk .AI Antimicrobial and biological effects of bomphos and phomphos on bacterial and yeast cells. *Bio-Organic Chemistry*; 28:214–225. .( 2000).
- 8-Blask DE, Dauchy RT, and Sauer LA. Putting cancer to sleep at night: the neuroendocrine/circadian melatonin signal. *Endocrine* . 27:179–188. (2005).
- 9- Fabricia .H. S. ; Eduardo ,O.F. ; Carla ,D. S. ; Míriam ,P. A. ; Laura ,M. K. , Sérgio, Z .and José Clóvis, P Melatonin treatment reduces the severity of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Journal of Pineal Research* . 42 ( 4 ) : 359 – 363. .(2007).
- 10- Mohd. A. R. Yoshinao ,A.; Hajime ,F.; Tomoyuki , M.; Kazurou ,S.; Hideto ,F.; Koshiro ,M.; Harumi ,S. and Mutsunori ,S. Serotonin and



melatonin, neurohormones for homeostasis, as novel inhibitors of infections by the intracellular parasite Chlamydia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* .10.1093-1101 . .(2005).

- 11-National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS). Performance standards for disk susceptibility tests, 8th ed. Approved standard M2- A8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.. (2003).
- 12-Bauer,A.W.; Kirby,W.M.M.; Sherries,J.C. and Turk,M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disc Method. *Am.J. Clin. Pathol*, 45: 493 – 496.. (1966).
- 13-National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 6th ed. M7-A6. (2003b).
- 14- Miles , R.S. and Amyes S.G.B. Laboratory control of antimicrobial therapy. In : Collee, J.G. Fraser, A.G., Marmiom, B.P., and Simmon, A. (eds.) Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology. 4th ed. Churchill Livingstone Inc., USA.( 1996.).
- 15- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H., .Manual of Clinical Microbiology, vol. 6th ed. ASM, Washington, DC. (1995).
- 16-Macfaddin,J.F .Biochemical tests for identification of medical bacteria.3ed Lippincott Williams and Wilkins. .( 2000).
- 17- Holt, J.G., Krieg,N.R., Sneath, H.A. Staley,J.T. and Williams,S.T. Berge's Manual of Determinative Bacteriology. 9<sup>th</sup> (ed) Williams and Wilkins. U.S.A. (1994).
- 18-Hancock, R. E. and Spreet, D. P. Antibiotic resistance in *P. aeruginosa*: Mechanisms and impact on treatment. *Drug resistance updates*. 3: 247-255. (2000).
- 19-Todar, K. *Pseudomonas aeruginosa* .University of Wisconsin-Madison,Department of Bacteriology. Todar's online text book of bacteriology. (2004).
- 20-Bonfiglio, G. and Machetti, F. In vitro activity of ceftazidime, cefepime and imipenem on 1,005 *P. aeruginosa* clinical isolates either

- susceptible or resistant to Beta-lactams . J. Antimicrob. Chemotherapy. 46: 229-234. (2000).
- 21- Al- Khafaji, Sinaa Mehdi Shakir. .Study on capsule of *Acinetobacter baumannii* and its effect on Immune Response. M.Sc. thesis, college of Science, Al-Mustansiriya University. (2006).
- 22 -Scott P, Deye G, Srinivasan A, Murray C, Moran K, Hulten E, Fishbain J, Craft D, Riddell S, Lindler L, Mancuso J, Milstrey E, Bautista CT, Patel J, Ewell A, Hamilton T, Gaddy C, Tenney M, Christopher G, Petersen K, Endy T, Petrucci B: An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex infection in the US military health care system associated with military operations in Iraq. Clin Infect Dis, 44:1577-1584.( 2007).
- 23- Bradford, P. A. Extended -spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin. Microbiol. Rev., 14: 933-951.( 2001.).
- 24-Al-Yasseen, A.K.N. Bacteriological and genetical study to evaluate the relationship between hospital effluent and distribution of multiple antibiotic resistant bacteria. Ph.D. thesis. College of Science. Babylon University.( 2004.).
- 25-Hebeler BH, Chatterjee AN, Young FE. Regulation of the bacterial cell wall: effect of antibiotics on lipid biosynthesis. Antimicrob Agents Chemother.; 4:346–353.( 1973).
26. Rothfield L, Horecker BL. The role of cell-wall lipid in the biosynthesis of bacterial lipopolysaccharide. Natl .Acad .Sci : 52:939–946.( 1964.).
- 27- Konar VV, Yilmaz O, Ozturk AI et al. Antimicrobial and biological effects of bomphos and phomphos on bacterial and yeast cells. Bio-Organic Chemistry . 28:214–225.( 2000).
- 28-Jasim,T.M.;Alabbassi,M.G.;Hatam,S.F.andKamal,J.K.Antibacterial properties of Melatonin against Mycobacterium tuberculosis in vitro.A.J.PS.( acceptant letter for publication ). (2010).
- 29-. Gulcin I, Buyukokuroglu ME, Kufrevioglu OI. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. J. Pineal. Res:34:278–281.( 2003).

## Evaluation of Serum levels of INF- $\gamma$ and IL-12 in patients with chronic hepatitis B

Muhammed A. Al-Dabagh, Eman G. Khalil and Kasim Sh. Al-Mayah  
Medical Research Unit /College of Medicine –Al-Nahrain University

Submitted : 10/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

تلعب الاستجابة المناعية الخلوية المتخصصة دورا أساسيا في التخرر الكبدي الذي يحدث عند الخمج بالتهاب الكبد الفايروسي ب المزمن فضلا عن بقاء او زوال الخمج الفايروسي. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الاستجابة المناعية الخلوية في مرضى التهاب الكبد الفايروسي المزمن عن طريق تخمين المستويات المصلية لكل من انترفيرون كاما وبين ابيضا 12. جمعت عينات الدم الوريدي من 45 مريضا بـ الخمج التهاب الكبد الفايروسي ب المزمن و عشرون عينة دم جمعت من أشخاص أصحاء كمجموعة سيطرة. استخدمت تقنية الاليزا لتخمين المستويات المصلية من انترفيرون كاما وبين ابيضا 12. أظهرت النتائج حدوث انخفاض غير معنوي في المستويات المصلية لكل من انترفيرون كاما وبين ابيضا 12 في مجموعة مرضى التهاب الكبد الفايروسي ب المزمن بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

### ABSTRACT

The specific cellular immune response play a main role in the hepatic necrosis that occur with hepatitis B virus (HBV) infection and in the persistence or lack of viral infection.

The aim of this study was to evaluate the cellular immune response in patients with chronic hepatitis B virus (CHBV) infection, via estimation of serum levels of interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) and interleukin-12 (IL-12),.

Venus blood samples were collected from 45 patients with CHBV infection. Other 20 blood samples were collected from healthy individuals as control group. Enzyme linked immune sorbent assay (ELISA) was used to estimate the serum levels of (IFN- $\gamma$ ) and (IL-12).

The results showed insignificant drooping in serum levels of IFN- $\gamma$  and IL-12 respectively in CHBV patients group as compared with healthy control group.

## INTRODUCTION

Hepatitis B virus (HBV) is a member of the Hepadnaviridae family, is a small DNA virus with unusual features similar to Retrovirus through an RNA intermediate and can integrate in host genome (1,2). Hepatitis B virus is a major cause of acute and chronic hepatitis in human. As HBV itself is currently viewed as non-cytopathic virus, the liver pathology associated with hepatitis B is mainly thought to be due to immune response directed against HBV antigens (3,4,15). In approximately 95% of adults exposure to HBV lead to acute infection that is rapidly resolved without long-term consequences, whereas the remaining 5% fail to control viral infection, leading to chronicity (5,6). The clearance of virus was clearly associated with an efficient adaptive immune response (7).

Substantial evidence exist to indicate that host innate and adaptive immune responses play a crucial role in controlling HBV replication *in vivo* (8). Infection with HBV in adults usually results in self-limiting acute hepatitis, which confers protective immunity and causes no farther disease. Patients with a chronic HBV infection lack a vigorous poly clonal and multispecific T-cell response and instead exhibit a weak, infective or un-detectable virus-specific T-cell response.

The host protective immune response against HBV infection is mainly mediated by CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-cells, which secrete IFN- $\gamma$  and activate cytotoxic T lymphocytes, which directly eliminate infected cells (9,10). In addition, type 2 cytokines, such as IL-4 and IL-5, may also be involved in the clearance of circulating virus by promoting the production neutralizing antibodies against the HBV surface and core antigens (11). In chronic hepatitis B (CHB), the T-cell response and circulating cytokines profile are associated with viral replication and liver function (9). Low dose of virus may trigger Th<sub>1</sub> and cytotoxic T-lymphocytes responses, whereas high dose of virus induce a Th<sub>2</sub> mediated, non-protective humoral response (12). The T-cell response is relatively mild infective in chronically infected patients compared to acute incidence (13), both Th<sub>1</sub> and Th<sub>2</sub> immunity are functionally impaired in chronic HBV patients (14). Because HBV is non-cytopathic, liver damage is thought to be immune mediated. Immune liver damage in HBV patients has conventionally been attributed to cytotoxic killing of infected hepatocytes by virus specific CD8 T-cells (15,16).

The distinguishing feature between patients with or without HBV-related chronic liver disease was the presence of large, non-antigen-specific lymphocytic infiltrate in the livers of the former group (17). Liver inflammation initiated by virus-specific CD8 is amplified by other lymphocytes (18). One of the largest constituent of lymphocytic infiltrate in HBV infection is NK cells (19-23). The CD56 subset of NK cells is known a potent source of cytokines such as



IFN- $\gamma$  (20). NK expressed tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) may play a role in non antigen-specific mediation of liver damage in CHBV infection. NK cells can directly activated to promoting cytotoxicity(24),and TRAIL expression(25),and IL-12 favoring IFN- $\gamma$  production(24,26). CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T-cells (Tregs) are immunosuppressive T-cells that play an essential role in controlling immune response and autoimmunity(27). Tregs may also play a role in regulating immune responses to HBV infection(28). High levels of Tregs have been detected in CHB and are thought to be responsible for chronicity of hepatitis(29).

## MATERIAL AND METHODS

Forty five (15-65 years old, mean 39.5 years, 25 males and 20 females) patients with CHBV infection in Kadhmiya teaching hospital, during period from October 2008 to march 2010 were used for this study. the cause of chronic liver disease was determined using standard diagnostic criteria. chronic hepatitis B was diagnosed by positive serological tests for serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) for at least 6 months. Twenty (18-55 years old, mean 33.4 years, 10 males and 10 females ) healthy individuals were used as control group.

Five ml of venous blood were collected from each individual in plain tube. Serum were separated , put in eppendorf tubes and stored at (deep freezing -20 C<sup>0</sup>).

### Immunological assays:

Enzyme-linked immune-sorbent assay (ELISA), (e Bioscience, England) and Biosource, Belgium) was used to estimate serum levels of IFN- $\gamma$  and IL-12.

## STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analysis has been performed using (SPSS, version 11.0) for windows. Continuous variables were expressed as mean  $\pm$  standard error (SE). data were analysed using independent sample student's *t* test. Significance was assigned for *p* values (<0.05) with 95% confident interval.

## RESULTS AND DISCUSTION

**Interferon-gamma :** serum levels of IFN- $\gamma$  showed insignificant dropping in CHB patients group ( $532.77 \pm 79.73$  pg/ml) as compared with healthy control group ( $665.00 \pm 100.97$  pg/mi)

Fig.1

**Interleukin-12** : serum levels of IL-12 showed insignificant dropping in CHB patients group ( $23.43 \pm 4.60$  pg/ml) as compared with healthy control group ( $32.67 \pm 13.08$  pg/ml ).Fig.2

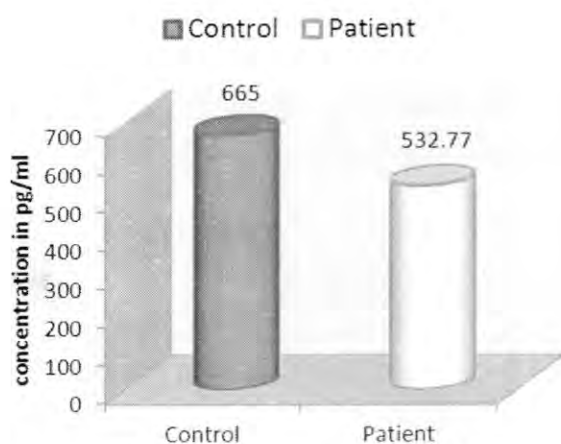


Fig.1 Serum concentration of IFN- $\gamma$

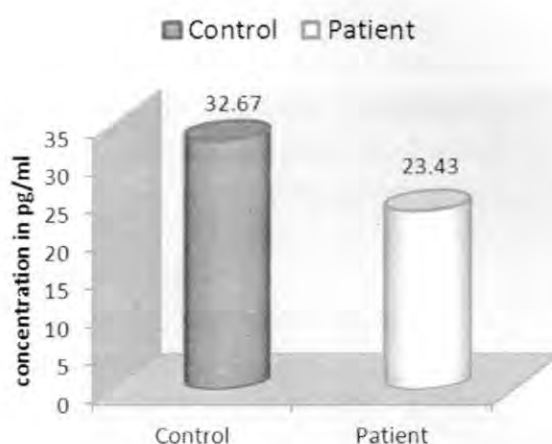


Fig.2 Serum concentration IL-12

HBV-specific T-cells responses in the chronic stage of HBV infection are functionally impaired and much weaker than those detectable in acute self-limited infection (30-33). The response associated with particular cytokines IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-2 and TNF- $\beta$ . These cytokines profile promotes delayed-Type hypersensitivity response, cytotoxic cell response and macrophages activation or cellular inflammatory reaction (34). Primarily Th<sub>1</sub> response characterized by IL-2, IL-12 and IFN- $\gamma$  (34-36). The Th<sub>1</sub> cytokines are effective to eliminate cancer cells whereas the Th<sub>2</sub> cytokines are inhibitory on Th<sub>1</sub> mediated anticancer effects (37,38). Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> cytokines producing T-cells were significant lower in CHBV patients compared to normal individual (14)

The current study results shows dropping of serum levels of IFN- $\gamma$  in CHB patients these data agree with Francisca et al (39), which revealed that concentration of IFN- $\gamma$  in hepatitis B patients were significantly decreased. The decrease or not affect of serum levels of IFN- $\gamma$  in CHB patients (3,13,14), refer to impairment of Th<sub>1</sub> immunity which revealed by a weak infective or un detectable virus-specific T-cell response (8). The decrease in serum levels of IFN- $\gamma$  coincides with the increase in the levels of IL-10 which inhibits IFN- $\gamma$  synthesis (40) which may lead to suppression of cytotoxic killing of infected hepatocytes by virus-specific CD8<sup>+</sup> T-cells. Gorelik *etal* (37) showed that the normal level of IFN- $\gamma$  in the serum of acute HBV infection this results explained by fact ,DNA viruses are poor inducer of IFN- $\gamma$ . Hence, the immunotherapeutic strategies have proved to be useful in hepatitis B infection(4,41).

Matured dendritic cells (DC<sub>S</sub>) activate naive helper cells efficiently through stimulation with HLA class II, co-stimulatory molecules (CD80 and CD86), and cytokines such as IL-12.

The stimulated cells in turn activate DC<sub>S</sub> by expression CD40 ligand and secreting TNF.

IL-12 produced by myeloid DC<sub>S</sub> stimulate the cells to differentiate towards Th<sub>1</sub> cells (42). Furthermore IL-12 which produced by DC<sub>S</sub> and Th<sub>1</sub> cells promoting the activation of NK cells and CTL cells (42-46). Macrophages stimulated by Th<sub>1</sub> cell produce TNF which accelerates local inflammation (42). Rossol *et al* (47) showed that HBV patients undergoing therapy demonstrating increases in serum IL-12. IL-12 and IL-18 released by macrophages was shown to contribute to non-cytopathic antiviral effect by inducing IFN- $\gamma$  in other immune cells (48,49).

Significant dropping of serum level of GM-CSF which produced by macrophages, macrophages suppression will lead to decrease its ability to produce IL-12 and inhibits of IFN- $\gamma$  production by other cells consisted of Th<sub>1</sub> (50,51)

## REFERENCES

- [1] Linag, T. J. "Hepatitis B : The virus and disease" *Hematology* .49: 513-521. (2009).
- [2] Lok, A. S. and McMahon, B. J. "Chronic hepatitis B" *Hepatology*. 34:1225-1241. (2001)
- [3] Malka A., Julie L., Fabien Z. and *et al.*" Innate antiviral immune responses to Hepatitis B virus".*Viruses*.2:1394-1410.(2010).
- [4] Yanfang J., Wanyu L., Lei Y. and *et al.*" Enhancing the antihepatitis B virus immune response by adefovir dipivoxil and entecavir therapies". *Cellular & Molecular Immunology*. 8: 75-82.(2011).
- [5] Dienstag J. "Hepatitis B virus infection". *N.Engl.J.Med*.359:1486-1500, (2008).
- [6] Lavanchy D. "Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention". *J.Clin.Virol*. 34:S1-3, (2005).
- [7] Wieland S. and Chisari F. Stealth and cunning: Hepatitis B and hepatitis C viruses. *J.Virol* 5:9369-9380, (2005).
- [8] WHO."Hepatitis B "Geneva:WHO.(2008).

- [9] Huang C., Lin S., Ho Y. and *etal.* "The immune response induced by hepatitis B virus principal antigens". *Cell Mol. Immunol.* 3:97-106, (2006).
- [10] Billerbeck E., Bottler T. and Thimme R. "Regulatory T cells in viral hepatitis". *World J. Gastroenterol.* 13:4858-4864, (2007).
- [11] Milich D., Schodel F., Hughes J. and *etal.* "The hepatitis B virus core and e antigens elicit different Th cell subsets: antigen structure can affect Th cell phenotype". *J.Virol.* 71:2192-2201, (1997).
- [12] Ridge, J. P. ,Fuchs, E. J . and Matzinger, P. "Neonatal tolerance revisited : turning on newborn T cells with dendritic cells" *Science.* 271: 1723-1726.(1996).
- [13] Chisari, F. V. "Cytotoxic Tcells and viral hepatitis" *J. Clin. Invest.* 99:1472-1477.(1997).
- [14] Yanfang J, Zhenhua M., Guijie X. and *etal.* "Th1 and TH2 immune response in chronic hepatitis B patients during a long –term treatment with adefovir dipivoxil" *Mediators of Inflammation.* ID 143026, 10p.(2010).
- [15] Claire D., Maurizia B., Gary R. and *etal.* "Cytokines induced during chronic hepatitis B virus infection promote a pathway for NK cell-mediated liver damage". *J.Exp. MED.* 204(3):667-680.(2007).
- [16] Judy J. and Sharon R. "Immuno-pathogenesis of hepatitis B virus infection immune-pathogenesis of HBV infection". *Immunology and Cell Biology.* 85:16-23 (2007).
- [17] Maini, M. K. ,Boni, C., LEE, C. K. and *etal* "The role of virus-specific CD8<sup>+</sup> cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection" *J. Exp.Med.* 191:1269-1280.(2000).
- [18] Ando,K. ,Moriyama,T. ,Guidotte,L.G. and *etal* "Mechanisms of class I restricted immunopathology. A transgenic mouse model of fulminant hepatitis" *J. Exp. Med.* 178:1541-1554.(1993).



- [19] Kakimi,K.,Lane,T. E.Wieland, S. and *etal* "Blocking chemokine expression to  $\gamma$ -2 /interferon (IFN)- $\gamma$  inducible protein and monokine induced by IFN- $\gamma$  activity in vivo reduces the pathogenetic but not the antiviral potential of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes .*J.Exp.Med.* 194:1755-1766.(2001).
- [20] Sitia, G.,Isogawa,M.,Iannacone,M. and *etal* "MMP<sub>s</sub> are required for recruitment of antigen-nonspecific mononuclear cells into the liver by CTL<sub>s</sub>. *J. Clin. Invest.* 113:1158-1167.(2004).
- [21] Norris,S.,Collins,C.,Doherty,D.G. and *etal* "Resident human hepatic lymphocytes are phenotypically different from circulating lymphocytes" *J.Hepatol.* 28:267-275.(1998).
- [22] Tay ,C.H. and Welsh, R. M. "Distinct organ-depended mechanisms for the control of murine cytomegalovirus infection by natural killer cells" *J. Virol.* 71:267-275.(1997).
- [23] Kafroui,M. I. ,Brown,G.R. and Thiele,D.L."Virally infected hepatocytes are resistant to perforin-dependent CTL effector mechanisms" *J. Immunol.* 167:1566-1574.(2001).
- [24] Nguyen,K.B.,Salazar,T.B. ,Dalod,Y.M. and *etal* "coordinated and distinct roles of IFN-alpha beta ,IL-12 and IL-15 regulation of NK cell responses to viral infection" *J. Immunol.* 169:4279-4287.(2002).
- [25] Sato,K. ,Hida,S., Takayagi and *etal* "antiviral responses by natural killer cells through TRAIL gene induction by IFN-alpha/beta"*Eur.J.Immunol.* 31:3138-3146.(2001).
- [26] Ren,F.Y.,Jin,h.,Piao,X.X.and Piao F.S."Ribavirin and IFN-alpha combination therapy induces CD4<sup>+</sup> T-cell proliferation and Th<sub>1</sub> cytokine secretion in patients with chronic hepatitis B"*World J. Gastroenterol.*13:5440-5445.(2007).
- [27] Antonio B. and Adam J. G. "The immune response during hepatitis B virus infection." *J. Gen. Virol.* 87: 1439-1449. (2006).
- [28] Stoop J., Van der Molen R., Kuipers E. and *etal*. "Inhibition of viral replication reduces regulatory T cells and enhances the antiviral immune response in chronic hepatitis B". *Virology*, 361:141-148, (2007).

- [29] Bertoletti A, Gehring A. "The immune response during hepatitis B virus infection. *J. Gen. Virol.* 87: 1439-1449: (2006).
- [30] Bertoletti, A., Ferrari, F., Fiaccadri, A. and *etal* "cytotoxic T lymphocyte response to wild type hepatitis B virus epitope in patients chronically infected by variant viruses charring substitution within the epitope" *J. Exp. Med.* 180 :933-943.(1994)
- [31] Jung, M.C. ,Hartmann, B. ,Gerlach, J. T. and *etal* virus specific lymphkine production differ quantitatively but not quantitatively in and chronic hepatitis B infection .*Virology.* 261:165-172.(1999).
- [32] Penna, A. Chiari, F.V., Bertoletti, A. and *etal* "cytotoxic T lymphocytes recognize an HLA-2-restricted epitope within the hepatitis B virus nucleocapsid antigen" *J. Exp. Med.* 174:1565-1570.(1991).
- [33] Saboa, Y., Tomiyama, H., Sugi, K. and *etal* "The role of hepatitis B virus-specific memory CD8 T cells in the control of viral replication" *J. Hpatol.* 26:105-115.(2002).
- [34] Bevers R., Kurth K., and Schanhart D. "Role of urothelial cells in BCG immunotherapy for superficial baldder cancer". *Brit. J. of Cancer.* 91:607-612 (2004).
- [35] Cooksley, H., Chokashi, S., Maayan, Y. and *etal* "hepatitis B virus e antigen loss during adefovir depivoxiltherapy is associated with enhanced virus-specific CD4<sup>+</sup> T-cell reactivity" *Antimicrob Agents Chemother.* 52:312-320.(2008).
- [36] Katia, F., Claudio, U., Marghrita, D. and *etal* "Cytikine patterns correlate with liver damage in patients with chronic hepatitis B and C" *Annals of Clinical and Laboratory Science.* 26:144-150.(2006).
- [37] Gorelik, L., Prokhorova, A., Mokyr, M. B. "Low-dose fhift in the production of Th<sub>2</sub>-type cytokine to Th<sub>1</sub>-type cytokine in mice bearing a large MOPC-315 tumor" 39:117-126.(1994).
- [38] Takeuchi, T., Ueki, T., Sasaki, y. and *etal* "Th<sub>2</sub>-like response and antitumor effect of antin-interleukin-4 mAb in mice bearing renal cell carcinoma" *Cancer Immunol. Immunother.* 43:375-381.(1997).

- [39] Francisa M., Tania A., Jesus E. and *etal.* "Concentrations of cytokines, soluble interleukine-2 receptor and soluble CD30 in sera of patients with hepatitis B virus infection during acute and convalescent phase". *Clinical and diagnostic laboratory Immunology*, 9(6):1372-1375 (2002)
- [40] Raynor B. "Cytokines". *Adv. Obset. Gynecol.* 3:27-46 (1996).
- [41] Denton, C.B., Merkel, P.A., Furest, D.E. and *etal.* "Recombinant human anti-transforming growth factor beta 1 antibody therapy in systemic sclerosis' a multicenter, randomized, placebo-controlled phase" *Arthritis Rheum.* 56:323-333. (2007).
- [42] Kazumasa H., Junichi E., Shigeake I. and *etal.* "Immune response of cytotoxic T lymphocytes and possibility of vaccine development for hepatitis C virus infection". *J. of Biomed. and Biotech.* 2010:1155-1165. (2010)
- [43] Kagi, D., Vignaux, F., Ledermann, B. and *etal.* "Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity" *Immunity*. 1(5) : 357-364. (1994).
- [44] Kojima, H., Shinohara, N., Hanaoka, S. and *etal.* "Two distinct pathways of specific killing revealed by perforin mutant cytotoxic T lymphocytes" *Science*. 265(5171):528-530.
- [45] Marrack P., Kappler J. and Mitchell. "Type I interferons keep activated T cells alive". *J. Exp. Med.* 189:521-530 (1999).
- [46] Dondi E., Rogge G., Lutfalla G. and *etal.* "Down-modulation of responses to type I IFN upon T cell activation". *J. Immunol.* 170:749-756. (2007)
- [47] Rossol, S., Marinos, G., Carucci, P. and *etal.* "Interleukin-12 induction of Th<sub>1</sub> cytokines is important for virus clearance in chronic hepatitis B" *J. Clin. Invest.* 99:3025-3033. (1997).
- [48] Kimura, K., Kakimi, K., Wieland, S. and *etal.* "Interleukin-18 inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice" *J. Virol.* 76:10702-10707. (2002)

- [49] Cavanaugh,V.G., Guidotti,L.G. and Chesari,F.V. "Interleukin-12 inhibits hepatitis B virus replicaton in transgenic mice" *J.Virol* .71:3236-3243.(1997).
- [50] Popisilova D., Borovikova J., Polouckova and *etal.* Generation of functional dendritic cells for treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Immunol.*2002; 51(2): 72-78.
- [51] Jasper M., Tremellen K., and Robertson S. "Primary unexplained infertility is associated with reduced expression of the T-regulatory cell transcription factor Foxp3 in endometrial tissue". *Mol.Hum.Repord.* (2006).



## Determination of Optimum Conditions for Plantaricin VGW8 Production by *Lactobacillus plantarum* VGW8

Wala'a Shawkat Ali\* and Rashid M. Musleh\*\*

\* Department of Biology/ College of Science /Al-Mustansiriya University.

\*\* Department of Biology/ College of Science / University of Baghdad.

Submitted : 31/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

تم تحديد الظروف المثلى لإنتاج البلانتريسين VGW8 من بكتريا *Lactobacillus plantarum* VGW8 وأظهرت النتائج أن الوسط الامثل للانتاج كان الوسط المحضر في هذه الدراسة والذي أطلق عليه وسط الانتاج السائل ورمز له (PLM) المتكون من 2% كلوكوز و 2% بيتون و 1.5% مستخلص الخميرة و 1.5% مستخلص اللحم و 0.25% ملح  $K_2HPO_4$  و 0.5% من مادة tween 80، برقم هيدروجيني (pH) 5 وبدرجة حرارة 30 °م وبحجم لقاح 2% من المزروع البكتيري الذي يحتوي على  $1 \times 10^9$  خلية /مل ولفترة حضانة 12 ساعة في ظروف لاهوائية.

### ABSTRACT

The optimum conditions for production of plantaricin VGW8, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* VGW8 were determined. The results showed that the best production medium was named production liquid medium (PLM) which composed of 2% glucose, 2% peptone, 1.5% yeast extract, 1.5% beef extract, 0.25%  $K_2HPO_4$  and 0.5% tween 80, adjusted at pH 5 and incubated at 30°C for 12 hours (under anaerobic conditions) and with inoculum size of 2% of cells number  $1 \times 10^9$  cell/ml.

### INTRODUCTION

Bacteriocins are ribosomally synthesized, biologically active proteins or protein complexes that display antimicrobial action towards usually closely related species(1). Bacteriocin production is an unstable phenotype, it is not only depended on the bacterial growth phase but also on the environmental conditions, such as, growth medium, pH, temperature and general microbial growth conditions (2). One of the studies showed that nutrient-rich media such as MRS should be used to mimic food fermentation processes, in particular with respect to bacteriocin production (3). Studies on complex media and on wastes have demonstrated that bacteriocin production depends on the medium composition. This dependence is due to

both the qualitative and quantitative nature of the nutrient sources mainly those of carbon and nitrogen sources (4).

By supplementing the medium with growth limiting factors, like carbohydrate, vitamins and potassium phosphate or by choosing the best-adapted culture medium, levels of bacteriocin production is often increased (5,6). A part from the studies conducted on the effect of carbon and nitrogen sources on the production of plantaricins (7,8,9). However, in view of practical applications, it seems to be of crucial importance that the bacteriocin-producing strain is perfectly adapted to the nutrient environment(10). In this study, the optimum conditions for production of plantaricin VGW8 from *Lactobacillus plantarum* VGW8 were determined.

## MATERIALS AND METHODS

### Bacterial isolates

The bacterial isolate used for plantaricin VGW8 production was *Lactobacillus plantarum* VGW8 (that isolated previously from fermented vegetables). Other bacterial isolates i.e. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Bacillus* spp., *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella* spp. and *Staphylococcus epidermidis* were used as indicator bacteria (11).

### Culture media

Man Rogosa Sharpe broth (MRSB), brain heart infusion broth (BHIB), trypton soya broth(TSB)( Hi-Media / India), nutrient broth (NB)( Difco/USA),acetate medium of Rogosa(SL) (12), M17 (13) and whey medium (14).

### Plantaricin activity assay

Measurement of plantaricin VGW8 activity was carried out by serial two-fold dilutions of cell-free supernatant (crude plantaricin)(15). These dilutions were used to detect the antibacterial activity of plantaricin VGW8 against indicator bacteria by agar well diffusion assay (16).The arbitrary unit (AU) was defined as the reciprocal of the highest dilution producing a clear zone of growth inhibition of the test isolate.AU was calculated as:  $(1000 / 100) \times D$ , where 1000:constant,100:volume of supernatant in a well( $\mu$ l) and D : the dilution factor(15).

### **Plantaricin concentration**

It was determined according to (17) . The concentration and antibacterial activity of plantaricin VGW8 were determined in all experiments of this study.

### **Plantaricin production in different media**

To determine the best medium for plantaricin VGW8 production, an 18-hours old culture of *Lb. plantarum* VGW8 was inoculated into different culture media: MRSB, SL broth, M17 broth, BHIB, NB, TSB and whey medium. Cultures were incubated anaerobically at 35°C for 24 hours.

### **Effect of medium composition**

1% of an 18-hours old culture of *Lb. plantarum* VGW8 was used to inoculate the following media:

(a) MRSB without glucose supplemented with 2% of glucose, lactose, maltose, mannitol, sucrose, fructose and mannose, respectively . MRSB without glucose supplemented with 2,4,6,8 and 10 % of the best carbon source (glucose), respectively to determine the optimal concentration of it.

(b) MRSB without organic nitrogen sources supplemented with 0.5 ,1 , 1.5,2 and 2.5% of peptone, beef extract and yeast extract, respectively, 2% peptone +1.5% beef extract, 2% peptone + 1.5% yeast extract, 1.5% beef extract + 1.5% yeast extract, 2% peptone +1.5% beef extract +1.5% yeast extract, respectively.

(c) MRSB without potassium phosphate supplemented with 0.1, 0.2, 0.25 and 0.5 % of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , respectively.

(d) MRSB without tween 80 supplemented with 0.1, 0.2, 0.25, 0.5, 0.75 and 1 % of tween 80, respectively.

All media were incubated anaerobically at 35°C for 24 hours. The medium composed of 2% glucose + 2% peptone + 1.5% yeast extract + 1.5% beef extract + 0.25%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  + 0.5% tween 80, that prepared in this study referred to as production liquid medium (PLM) was used in all subsequent experiments in this study.

### **Effect of inoculum size**

PLM was inoculated with 2% of  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  and  $10^{10}$  cell/ml of *Lb. plantarum* VGW8 respectively ,and incubated anaerobically at 35°C for 24 hours .

### **Effect of medium pH**

PLM was adjusted to pH 3,3.5,4,4.5,5,5.5,6,6.5 and 7 respectively, and inoculated with 2% of an 18-hours old culture of *Lb. plantarum* VGW8 and incubated anaerobically at 35°C for 24 hours.

### **Effect of incubation temperature**

PLM was inoculated with 2% of an 18-hours old culture of *Lb. plantarum* VGW8 and incubated anaerobically at 25, 30, 33, 35, and 37 °C for 24 hours.

### **Effect of incubation periods**

PLM was inoculated with 2% of an 18-hours old culture of *Lb. plantarum* VGW8 and incubated anaerobically at 30°C for 6,8,12,24 and 48 hours .

### **Effect of incubation conditions**

PLM was inoculated with 2% of an 18-hours old culture of *Lb. plantarum* VGW8 and incubated aerobically and anaerobically at 30°C for 12 hours.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Optimal medium for plantaricin VGW8 production**

As shown in table 1, MRS and SL broths were the best media for plantaricin VGW8 production. This might be due to the presence of tween 80 and potassium phosphate, tween 80 is known to enhance production of bacteriocins, it is a surface-active agent that lowers the interfacial tension around bacteria suspended in the medium. This permits more rapid entry of desired compounds into the bacterial cell. As a result, there may be more rapid growth or other activity between the bacteria and the reactive compounds in the medium (18).

Low plantaricin VGW8 production was observed in TSB. No growth of bacteria was observed in BHIB, NB, M17 or whey medium. This might be due to the presence of inhibitors in culture medium that suppressed the growth of *Lb.plantarum* or due to the deficiency in the medium components, as a result, no production of plantaricin VGW8 was occurred. However, MRS medium is a better one for cell growth and bacteriocin production from lactic acid bacteria (LAB) than other media (4). Similar results were reported for other plantaricins produced by different strains of *Lb.plantarum* (19,20,21).



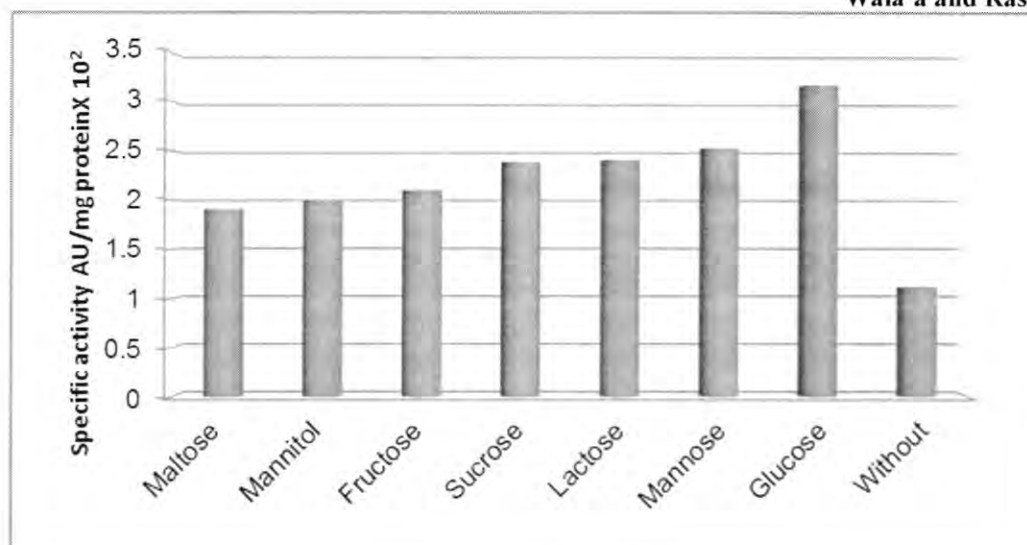
**Table -1: Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* VGW8 against indicator bacteria in different culture media**

Cultural medium	Antibacterial activity against indicator bacteria (diameters of inhibition zones, mm)											
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>Lb. acidophilus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>S. epidermidis</i>	<i>Bacillus</i> spp.
MRS broth	17	13	11.5	9	13.5	12.5	18.5	15	13	-	13	-
SL broth	15	12	10	8	13	12	18	13.5	12	-	12	-
BHIB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSB	11	-	8.5	8	10	10	11.5	8.5	10	-	10	-
NB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Whey medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

MRS: Man Rogosa Sharp, SL: Acetate medium of Rogosa, BHIB: Brain Heart Infusion Broth, TSB: Trypton Soya Broth, NB: Nutrient Broth.

#### Optimal carbon source

The highest specific activity was  $3.17 \times 10^2$  AU/mg protein at 2% glucose concentration whereas maltose had the minimum effectual with specific activity  $1.91 \times 10^2$  AU/mg protein (figure 1), suggesting that the 2% of glucose is favored for production. The specific activity of plantaricin VGW8 was lowered to  $2.27 \times 10^2$  and  $2.24 \times 10^2$  AU/mg protein when 8 and 10% concentrations of glucose were added, respectively. Similar results were recorded for other plantaricins (21,22). These results indicate that production of bacteriocin from producer cells was affected by type of carbon source. Glucose is considered the main carbon source by all microorganisms due to its molecular weight, rapid uptake, utilization and cellular energy conversion (4).

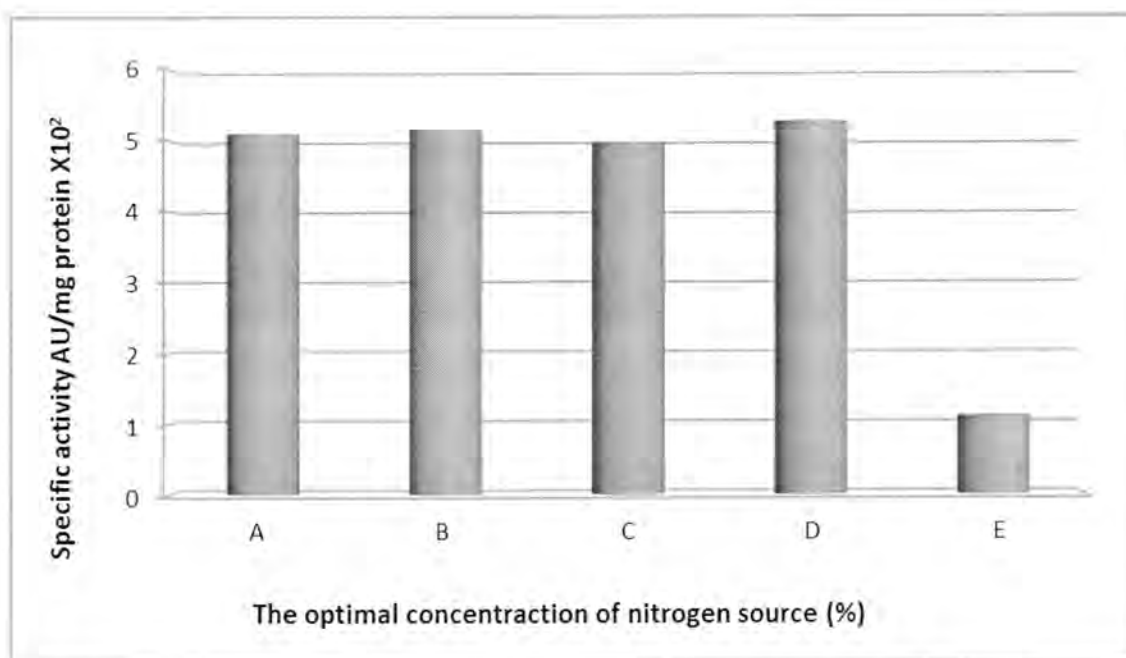


**Fig. -1: Influence of different carbon sources on production of plantaricin VGW8 by *Lactobacillus plantarum* VGW8.**

#### Optimal concentration of organic nitrogen source

Of all organic nitrogen sources assayed, 2% peptone yielded high specific activity of plantaricin VGW8 ( $5.19 \times 10^2$  AU/mg protein) while at the presence of 1.5% of beef extract or yeast extract yielded plantaricin VGW8 with specific activity of  $3.27 \times 10^2$  or  $4.47 \times 10^2$  AU/mg protein, respectively. As shown in figure 2, a combination of peptone, yeast extract and beef extract 2:1.5:1.5 % yielded plantaricin VGW8 with the highest specific activity  $5.27 \times 10^2$  AU/mg protein. This indicated that plantaricin production was affected by type and concentration of nitrogen source. Depending on the results above, a combination of 2% peptone, 1.5% yeast extract and 1.5% beef extract was added to the medium to improve plantaricin VGW8 production. Beef extract is known to contain variable amounts of fermentable carbohydrates as well as amino acids(23), peptone has a high concentration of molecular weight peptones and amino acids(24), yeast extract also contain different amino acids that important in biosynthesis of plantaricin and thus increasing its production.

One of the studies reported that MRS medium containing 2% peptone concentration yielded an increase in production of bacteriocin from *Lb.plantarum* (25). Other studies showed that supplementation the medium with 1 or 1.5% yeast extract yielded in increasing plantaricins production (14,26). Using more than one nitrogen source for improvement of bacteriocin production was also reported(20) .



**Fig.- 2: Determination the optimal organic nitrogen source for production of plantaricin VGW8 by *Lactobacillus plantarum* VGW8**

A : MRS broth without organic nitrogen source + 2% peptone and 1.5% beef extract.

B : MRS broth without organic nitrogen source + 2% peptone and 1.5% yeast extract.

C : MRS broth without organic nitrogen source + 1.5% beef extract and 1.5% yeast extract.

D : MRS broth without organic nitrogen source + 2% peptone, 1.5% beef extract and 1.5% yeast extract.

E : MRS broth without organic nitrogen source .

### **Effect of potassium phosphate**

Plantaricin VGW8 production was differed according to the presence of different concentrations of  $K_2HPO_4$  or  $KH_2PO_4$ . The optimal plantaricin VGW8 production was recorded in the presence 0.25%  $K_2HPO_4$ . Higher concentrations of  $K_2HPO_4$  or replacing  $K_2HPO_4$  with  $KH_2PO_4$  showed the similar effect on plantaricin VGW8 production. Increasing of bacteriocin can be due to pH changes caused by higher potassium levels. The mineral salts were known to increase bacteriocin production by LAB,  $K_2HPO_4$  contains phosphorus source which is very important for cell growth and thus bacteriocin production. Similar results have been recorded for some plantaricins (9,20).

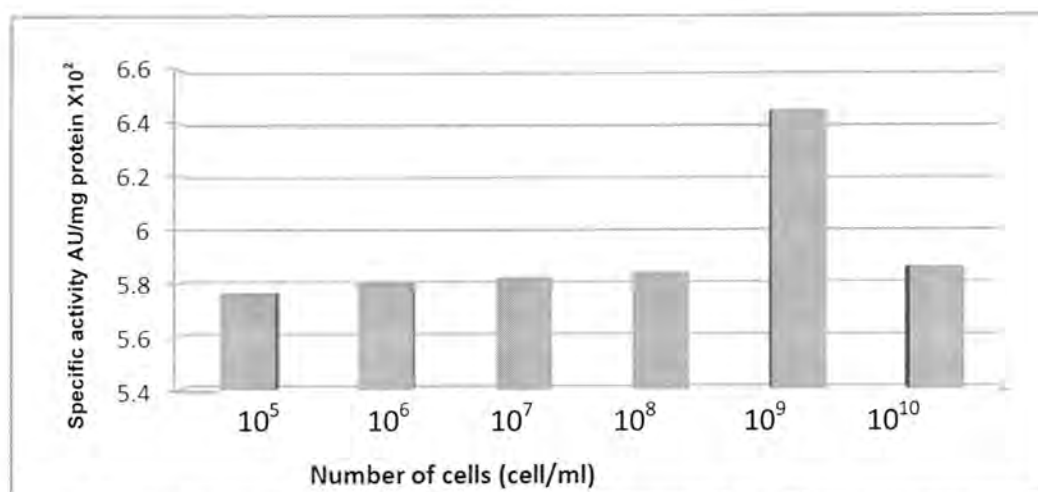
### Effect of tween 80

0.5 to 1% tween 80 concentrations yielded plantaricin VGW8 with specific activity  $6.46 \times 10^2$  AU/mg protein while 0.1% tween 80 concentration yielded plantaricin VGW8 with specific activity  $5.26 \times 10^2$  AU/mg protein. When tween 80 was omitted from the broth medium, the specific activity significantly reduced to  $3.10 \times 10^2$  AU/mg protein. Tween 80 is an essential medium component for bacteriocin production and detection (27). However, the reason for increased bacteriocin production by tween 80 is not clear. It may form micelles with the proteins in the medium and this may result in the stabilization of bacteriocin activity (28). It may affects the solubility and activity of hydrophobic molecules like those antimicrobials, due to its emulsifying properties (29), it may stimulates protein secretion by affecting membrane fluidity (30), or it facilitate the discharging of the bacteriocin from the cell surface of the producing cells (19).

### Optimal inoculum size for plantaricin VGW8 production

As shown in figure 3, plantaricin VGW8 recorded high productivity with specific activity  $6.45 \times 10^2$  AU/mg protein when the number of the bacterial cells was  $1 \times 10^9$  cell/ml followed by reduction in plantaricin VGW8 productivity when the of number of the bacterial cells was  $1 \times 10^{10}$  cell/ml. Similarly, the low number of the bacterial cells recorded reduction in plantaricin VGW8 production. These results indicated that the low numbers of the bacterial cells is not enough to high production of bacteriocin, this might be due to the insufficiency of nutrients in the medium for the bacteriocin production as a result of consumption of nutrients by cells for growth and division, whereas increasing inoculum number within optimum levels makes cells in competition state and began to produce bacteriocin to maintain bacterial life against cultural changes (31). Generally, maximum production corresponds to maximum cell number. Therefore, increased cell number in a high cell density reactor is expected to increase bacteriocin production (4).

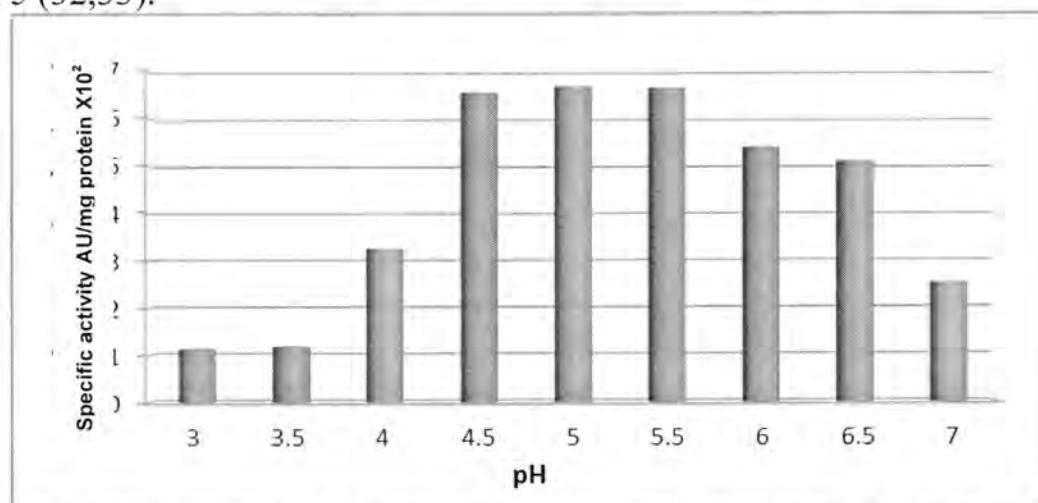




**Fig.- 3: Effect of different number of cells ( $10^5$ - $10^{10}$ ) cell/ml on production of plantaricin VGW8 by *Lactobacillus plantarum* VGW8**

#### Optimal pH for plantaricin production

As shown in figure 4, pH 5 was the best value for plantaricin VGW8 production. Significant reduction in plantaricin VGW8 activity was observed at pH values lower or higher than pH 5. This reduction might be due to the effect of these values on metabolism activities of bacterial cells and thus their effect on biosynthesis and production of this plantaricin. The pH seems to be a factor that affects bacteriocin production by LAB, possibly indicating that it has a regulatory effect driven by the ionic conditions of the medium or that it may exert a general effect on the cell envelope (32). Other previous studies revealed that the maximum production of plantaricins was at pH 5 (32,33).



**Fig.- 4: Influence of different pH values on plantaricin VGW8 production by *Lactobacillus plantarum* VGW8**

#### Optimal temperature for plantaricin VGW8 production

Results showed that maximum specific activity ( $7.24 \times 10^2$  AU/mg protein) was recorded for this plantaricin at 30°C, this might be due to

different rate-limiting reactions dependent upon temperature, resulting in better utilization of carbon and/or energy and increased availability of essential metabolites for plantaricin synthesis, while at higher temperatures, another explanation was suggested to be increased degradation or inactivation of the plantaricin VGW8. Maximum production of most bacteriocins produced by *Lb. plantarum* was reported at 30°C (9, 14,21).

### **Optimal incubation period for production**

The production of plantaricin VGW8 was observed after 6 hours of incubation and the maximum production of it was observed after 12 hours of incubation. Gradual decreasing of specific activity was recorded after 24 and 48 hours of incubation, the bioactivity dropped to 76% after 24 hours and to 58% after 48 hours incubation.

Maximum bacteriocin yield in a culture may occur at different phases of growth cycle, depending on the type of bacteria. The results revealed that *Lb. plantarum* VGW8 excreted the plantaricin to the culture medium during the exponential to early stationary phase of growth, a characteristic common to most bacteriocins produced by LAB which believed to display primary metabolic kinetics (34,35). Decreasing of activity after prolonged incubation of the producer strain has been reported to occur as a result of extracellular proteases, protein aggregation or readsorption to the producer cell surface (35). Conditions favoring bacterial growth and high cell densities are frequently beneficial to bacteriocin production as well (4).

### **Effect of incubation conditions**

The specific activity of plantaricin VGW8 recoded  $8.13 \times 10^2$  and  $7.91 \times 10^2$  AU/mg protein when the bacterial isolate was incubated under anaerobic and aerobic conditions, respectively. These results indicated that anaerobic conditions are favored for plantaricin production than aerobic conditions. The aeration significantly reduced bacteriocin production, perhaps because of chemical degradation (36) and effects on gene expression (37).

However, it is generally accepted that environmental conditions, such as growth medium, pH, temperature, etc, not only affect the amount of cells produced but also determine the bacteriocin production (38). Thus, based on results above, the use of medium composed of 2% glucose, 2% peptone, 1.5% yeast extract, 1.5% beef extract, 0.25% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and 0.5% tween 80, referred to as production liquid medium (PLM) that prepared in this study, with initial pH 5, at 30°C incubation temperature for 12 hours under anaerobic conditions and inoculum size of 2% of cells number  $1 \times 10^9$  cell/ml fostered the best production of plantaricin VGW8 by *Lb. plantarum* VGW8.

## REFERENCES

- 1) Sánchez, J., Borrero, J., Gómez – Sala, B., Basanta, A., Herranz, C., Cintas, L.M. and Hernández, P.E. "Cloning and heterologous production of hiracin JM79, a sec – dependent bacteriocin produced by *Enterococcus hirae* DCH5, in lactic acid bacteria and *Pichia pastoris*". Appl. Environ. Microbiol., 74(8) : 2471 – 2479 (2008).
- 2) Maldonado, A., Jiménez – Diaz, R. and Ruiz – Barba, J.L. "Induction of plantaricin production in *Lactobacillus plantarum* NC8 after coculture with specific Gram – positive bacteria is mediated by an autoinduction mechanism". J. bacteriol., 186(5): 1556 – 1564(2004).
- 3) Verluyten, J., Leroy, F. and De Vuyst, L. "Influence of complex nutrient source on growth and curvacin A production by sausage isolate *Lactobacillus curvatus* LTH 1174". Appl. Environ. Microbiol., 70(9): 5081-5088(2004).
- 4) Al-Zahrani, S.H. and Al-Zahrani, F.S. "Production of bacteriocin(s) by four lactic acid bacteria isolated from raw milk on organic waste". World Appl. Sci. J., 1(2) :135 – 143(2006).
- 5) Ogunbanwo, S.T., Sanni, A.I. and Onilude, A.A. "Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OGI". Afr.J.Biotechnol., 2(7):179-184(2003).
- 6) Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. "*Lactobacillus plantarum* isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram-negative bacteria". Enzyme & Microbial Technol., 36:318-326(2005).
- 7) Van Reenen, C.A., Dicks, L.M.T. and Chikindas, M.L. "Isolation, purification and partial characterization of plantaricin 423, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*". J. Appl. Microbiol., 84: 1131 – 1137(1998).
- 8) Todorov, S.D. ,Van Reenen, C.A. and Dicks, L.M.T. "Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST13BR, a strain isolated from barley beer". J. Gen. Appl. Microbiol., 50: 149 – 157(2004).
- 9) Powell, J. E., Witthuhn, R.C., Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. "Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF". Int. Dairy J., 17:190 – 198(2007).

- 10) Leroy, F. and De Vuyst, L. "Growth of the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* strain CTC 494 in MRS broth is strongly reduced due to nutrient exhaustion: a nutrient depletion model for the growth of lactic acid bacteria". Appl. Environ. Microbiol., 67(10):4407-4413(2001).
- 11) Ali, W.Sh. " Production, purification and characterization of plantaricin from local strains of *Lactobacillus plantarum*" Ph.D thesis ,University of Baghdad, College of Science (2010).
- 12) Kandler, O. and Weiss, N. "Genus *Lactobacillus*. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Vol. 2. ( edited by Sneath, P.H. A.; Mair, N.S. and Hold, J.G. ), William and Wilkins Co., Baltimore, USA(1986).
- 13) Terzaghi, B.E. and Sandine, W.E. "Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages". Appl. Microbiol., 29(6):807-813(1975).
- 14) Enan, G and Al-Amri, A. "Novel plantaricin UG1 production by *Lactobacillus plantarum* UG1 in enriched whey permeate in batch fermentation processes". J. Food Agriculture & Environment, 4(2):85-88(2006).
- 15) Pilasombut, K., Sakpuaram, T., Wajjwalku, W., Nitisinprasert, S., Swetwiwathana, A., Zendo, T., Fujita, K., Nakayama, J. and Sonomoto, K. "Purification and amino acid sequence of a bacteriocins produced by *Lactobacillus salivarius* K7 isolated from chicken intestine". Songklanakarin J. Sci. Technol., 28(1):121-131(2005).
- 16) Lewus, C.B. and Montville, T.J. "Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria". J. Microbiol. Methods, 13:145-150(1991).
- 17) Bradford, M.M. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". Anal. Biochem., 72:248-254(1976).
- 18) Harley, J.P. and Prescott, L.M. "Laboratory Exercises in Microbiology". 3<sup>rd</sup> ed. WCB/McGraw-Hill company, Boston, USA(1996).



- 19) Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T."Effect of growth medium on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* strains ST194BZ, a strain isolated from boza". Food Technol. Biotechnol., 43(2):1-9(2005).
- 20) Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T."Effect of medium components on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* strains ST23LD and ST341LD, isolated from spoiled olive brine". Microbiol. Res., 161:102-108(2006).
- 21) Todorov, S.D. "Bacteriocin production by a *Lactobacillus plantarum* AMA – K isolated from amasi, a Zimbabwean fermented milk product and study of the adsorption of bacteriocin AMA – K to *Listeria* spp". Braz. J. Microbiol., 39: 178 – 187(2008).
- 22) Todorov, S., Gotcheva, B., Dousset, X., Onno, B. and Ivanova, I."Influence of growth medium on bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum* ST 31".Biotechnol. Biotechnol. Eq., 14:50-55(2000).
- 23) De Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E. "A medium for the cultivation of lactobacilli". J. Appl. Bacteriol., 23(1): 130 – 135(1960).
- 24) Atlas, R.M., Parks, L.C. and Brown, A.E."Laboratory Manual of Experimental Microbiology". Mosby-Year Book, Inc.USA(1995).
- 25) Lade, H.S., Chitanand, M.P., Gyananath, G. and Kadam, T.A."Studies on some properties of bacteriocins produced by *Lactobacillus* species isolated from agro-based waste". Internet J. Microbiol., 2(1):1-7(2006).
- 26) Suma, K. , Misra, M.C. and Varadaraj, M.C. "Plantaricin LP84, a broad spectrum heat – stable bacteriocin by *Lactobacillus plantarum* NCIM 2084 produced in a simple glucose broth medium". Int. J. Food Microbiol., 40; 17 – 25(1998).
- 27) Rose, N.L., Sporns, P. and McMullen, L.M."Detection of bacteriocins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry". Appl. Environ. Microbiol., 65(5): 2238-2242(1999).

- 28) Carolissen – Mackay, V., Arendse, G. and Hastings, J.W. "Purification of bacteriocins of lactic acid bacteria: problems and pointers". Int. J. Food Microbiol., 34: 1–16(1997).
- 29) Messens, W. and De Vuyst, L. "Inhibitory substances produced by lactobacilli isolated from sourdoughs – a review". Int. J. Food. Microbiol., 72: 31 – 43(2002).
- 30) Keren, T., Yarmus, M., Halevy, G. and Shapira, R. "Immunodetection of the bacteriocin lacticin RM : analysis of the influence of temperature and tween 80 on its expression and activity". Appl. Environ. Microbiol., 70 (4) : 2098 – 2104(2004).
- 31) Kandela, N.J.N. "Production, purification and characterization of enterocin from *Enterococcus faecalis* local isolates from different clinical sources". Ph.D thesis, Al- Mustansiriya University, College of Science(2006).
- 32) Bárcena, J.M.B., Siñeriz, F., De Liano, D.G., Rodriguez, A. and Suárez, J.E. "Chemostate production of plantaricin C by *Lactobacillus plantarum* LL441". Appl. Environ. Microbiol., 64(9): 3512 – 3514(1998).
- 33) Karthikeyan, V. and Santosh, S.W. "Isolation and partial characterization of bacteriocin produced from *Lactobacillus plantarum*". Afr. J. Microbiol. Res., 3(5): 233 – 239(2009).
- 34) Navarro, L., Zarazaga, M., Sáenz, J., Ruiz – Larrea, F. and Torres, C. "Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines". J. Appl. Microbiol., 88 : 44 – 51(2000).
- 35) Hernández, D., Cardell, E. and Zárate, V. "Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin – like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF 711". J. Appl. Microbiol., 99: 77– 84(2005).
- 36) Mørtvedt-Abildgaard, C., Nissen - Meyer, J., Jelle, B., Grenov, B., Skaugen, M. and Nes, I. "Production and pH-dependent bactericidal activity of lactocin S, a lantibiotic from *Lactobacillus sake* L45". Appl. Environ. Microbiol., 61(1):175-179(1995).

- 37) Parente, E. and Ricciardi, A. "Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria". Appl. Microbiol. Biotechnol., 52: 628 – 638(1999).
- 38) Georgalaki, M.D., Berghe, E.V.D., Kritikos, D., Devreese, B., Beeumen, J.V., Kalantzopoulos, G., De Vuyst, L. and Tsakalidou, E. "Macedocin, a food – grade lantibiotic produced by *Streptococcus macedonicus* ACA – DC 198". Appl. Environ. Microbiol., 68(12) : 5891 –5903(2002).

## Detection of Cytotoxic Activity of Clinical Isolates of *Aeromonas hydrophila* on RD and L20B Cells

Bahaa Abdullah Laftaah AL-Rubai\*, Rabab Qassim AL-Segar\*\* and Salma Nasrullah Malik\*\*\*

\*Biology department / College of Science /Baghdad University

\*\*Central Public Heath Laboratory- Baghdad/ Quality Control Unit.

\*\*\*Foundation of Technical Education /Institute of Medical Technology- Baghdad / Departement of Community Health.

Submitted : 03/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لتقدير التأثير السمي للعزلات السريرية التابعة لجنس *Aeromonas hydrophila* التي عزلت من عينات الاسهال لبعض المرضى والتي بعثت لمختبر الصحة العامة المركزي لاعادة تشخيصها. اظهرت العزلات الثلاثة قدرة على تحليل كريات الدم بشكل كاملا على وسط اغار الدم بينها عزلة واحدة فقط اظهرت قدرة على انتاج انزيم البروتيز وكانت هذه العزلة اكثر تحساسا لمضاد ceftriaxone ثم بدرجة اقل المضادات ceftazidime و ciprofloxacin و co-trimoxazole ، بينما كانت مقاومة للمضادات amoxicillin-clavulanic acid و imipenem و aztreonam . ان فعالية تحليل الدم والتحليل البروتيني لهذه العزلة اظهرت تأثيرا واضحا على خلايا لبائن مختلفة ، ان انكماش الخلايا والانفصال و التدوير وموت معظم تلك الخلايا المعاملة بالراشح البكتيري المسخن (بدرجة 100 م لمدة 60 دقيقة) والغير مسخن يعد تسمما خلويا. لم يلاحظ ترابط بين فعالية التحليل البروتيني والفعالية التسممية بصرف النظر عن فعالية تحليل الدم لهذه العزلة قيد الدراسة. اظهرت نتائج هذه الدراسة الميزة الامراضية للفعالية التسممية لعزلة *A. hydrophila*.

### ABSTRACT

The present study was conducted to determine the cytotoxic activity of *Aeromonas hydrophila* clinical isolates which collected from patients of diarrheic stool samples were sending to central public health laboratory to Re-confirmation. All of the three isolates of *A. hydrophila* were demonstrated  $\beta$ -haemolysis pattern on blood agar, and one of them was protease production and has different susceptibility to antibiotics; It was more sensitive against ceftazidime and then ceftriaxone, ciprofloxacin, and co-trimoxazole; while resistant to amoxicillin-clavulanic acid, aztreonam and imipenem ; the proteolytic and haemolytic activity the of this isolate



was shown effect on different mammalian cells (RD and L20B), Cell shrinkage, detachment, rounding cells and death most treated cells with heated (at 100°C for 60 min) and non-heated supernatant were recorded as cytotoxic changes. No correlation observed between proteolytic activity and cytotoxicity irrespective of haemolytic activity of this strain. These results demonstrated the pathogenically characterized, cytotoxic of *A. hydrophila* isolate.

## INTRODUCTION

*Aeromonas hydrophila* is among the six species belonging to the genus *Aeromonas* include *A. caviae*, *A. sobia*, *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. veroni* and *A. hydrophila*; It is gram-negative bacterium with straight rod-shaped, non-spore forming, oxidase-positive, glucose-fermenting, facultative anaerobic, and has optimal growth at 28°C but can also grow at the limits from 4°C to 37°C (1) this bacterium can be isolated from food, drinking water, and aquatic environments (2). Some strains of *Aeromonas hydrophila* are capable of causing disease in fish and in humans through open wounds or by ingestion of an adequate number of the organisms in water or food (3). It has been increasingly recognized as an enteric pathogen and associated other human infections such as septicemia, gastroenteritis, peritonitis, cholangitis, soft tissue infections, septic arthritis, osteomyelitis, ocular infections, myositis, pneumonia, meningitis, hemolytic uremic syndrome, wound infections, and occasionally others including urinary tract infection; A greater risk of infection is reported in young children, elderly people, and immunocompromised patients (4, 5).

*A. hydrophila* is capable of expressing a number of virulence factors which promote their own pathogenicity such as haemolysin, aerolysin, cytotoxin, enterotoxin, cytotoxic enterotoxin, endotoxin lipopolysaccharide, outer membrane proteins and enzymes such as proteases, lipases, DNases, elastase and gelatinase (6, 7) another important attribute of pathogenic *Aeromonas* strains could be the production of adhesins (8).

The enteropathogenicity of *Aeromonas spp.* has been ascribed to the production of exotoxins; Clinical and environmental strains of *A. hydrophila* have been reported to produce a heat-labile cytotoxin and a heat-stable cytotoxin that have enterotoxic activities (4).

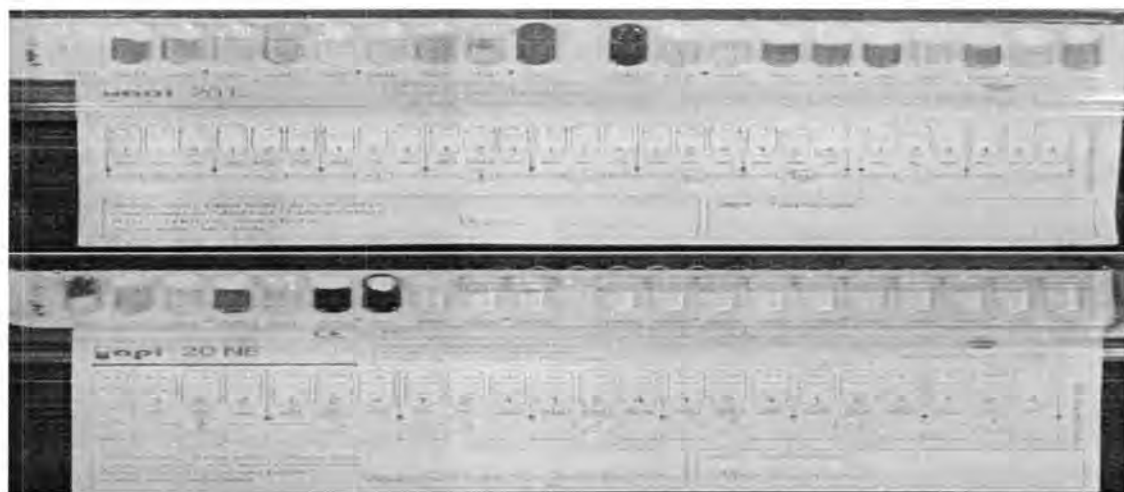
Recently, a cytotoxic enterotoxin (Act), a heat-unstable cytotoxic enterotoxin (Alt), and a heat-stable cytotoxic enterotoxin (Ast) has been characterized from a diarrheal isolate of *A. hydrophila*; The Act is a single-chain polypeptide that is one of the primary genes to make this species pathogenic; Act is aerolysin related and has hemolytic, cytotoxic, and enterotoxic activities; Alt and Ast also have genes that contribute to its toxicity, but are not related to cholera toxin; *A. hydrophila* is an opportunistic pathogenic bacterium, meaning they only infect hosts with

morphology of RD and L20B cells may be caused by cell free filtrate and compared with control (16).

## RESULTS AND DISCUSSION

Re-confirmation of the three *A. hydrophila* clinical isolates which collected from patients suffering sever diarrheic stool by API 20 E and API 20 NE systems (Fig.1). All of the isolates were produced  $\beta$ -haemolysis pattern (Fig 2), and only one of isolates was able to protease production (Table1). The isolate number three was selected to complete this study to investigate their antibiotic susceptibility and cytotoxic activity.

The results of antibiotic susceptibility were appearing in (Table 2) and the diameter of inhibition zones measurement were showed in (Fig.3). It was sensitive against ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, and co-trimoxazole respectively; while resistant to imipenem, aztreonam and amoxicillin-clavulanic acid respectively comparatively with *E. coli* ATCC 25922.



**Fig.-1: API 20 E and API 20 NE systems for identification of *A. hydrophila***

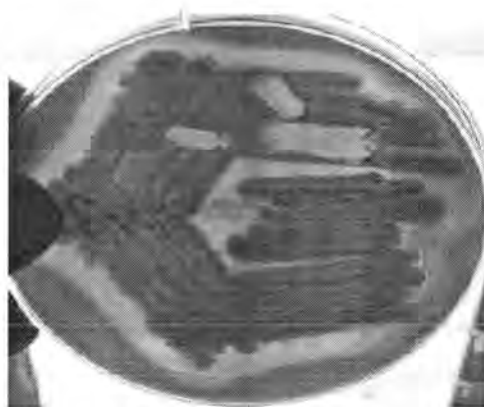


Fig. -2:  $\beta$ -haemolysis pattern of *A. hydrophila* on blood agar plate

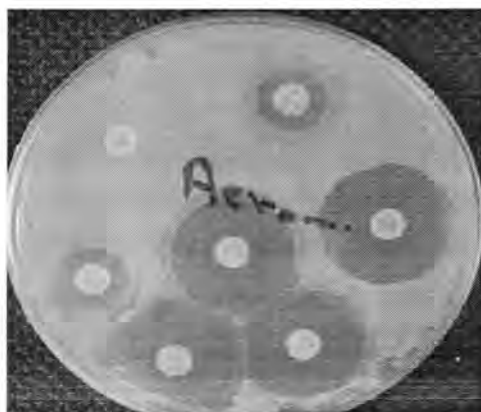


Fig -3: Inhibitory zones of *A. hydrophila*.

Table -1: Haemolysis pattern and protease production of *A. hydrophila*

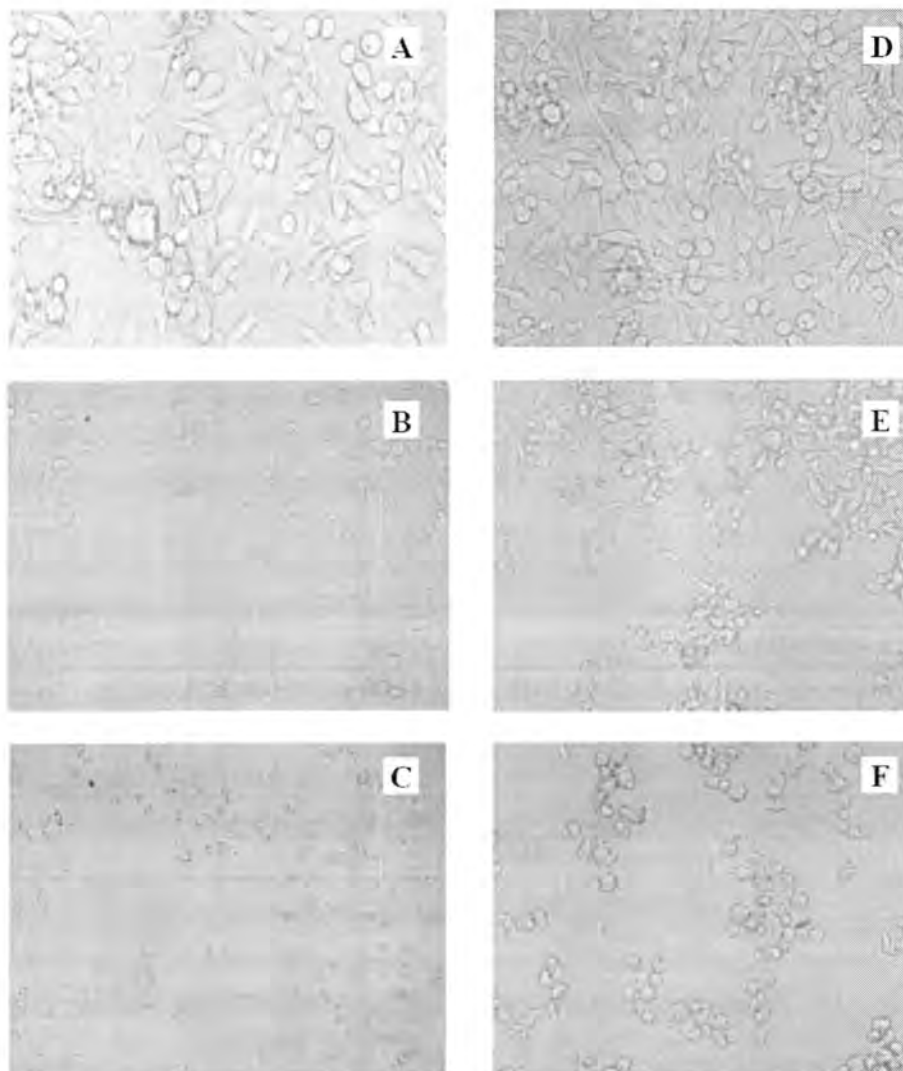
# isolates	Haemolysis pattern on blood agar plates	Protease Production on skim milk agar
1	$\beta$ -haemolysis	-
2	$\beta$ -haemolysis	-
3	$\beta$ -haemolysis	Weak less then 5 mm

Table -2: The antibiotics susceptibility for *A. hydrophila* comparative with *E. coli* ATCC 25922.

Antibiotics (symbol)	Disk content ( $\mu$ g)	Resistant mm or less	Intermediate mm	Sensitive mm or more	Sensitivity of <i>A. hydrophila</i>	Results
Imipenem (IPM)	10	13	14-15	16	13	R
Ceftriaxone (CTR)	30	13	14-20	21	25	S
Ciprofloxacin (CIP)	5	15	16-20	21	23	S
Aztreonam (AT)	30	15	16-21	22	12	R
Co-trimoxazole (COT)	25	10	11-15	16	22	S
Amoxicillin-clavulanic (AMC)	30	13	14-17	18	zero	R
Ceftazidime (CAZ)	30	14	15-17	18	24	S

*A. hydrophila* isolates was subjected to cytotoxicity analysis on both RD and L20B cells. Vacillating effects on these cells started within 18 hr for

heated and non- heated of bacterial supernatant addition ;Cell changes including: shrinkage, detachment, rounding were observed as cytotoxicity and complete cell death was observed within 120 hr with total detachment and destruction of the monolayer comparative with control (non- treated cells).



**Fig -4: The cytotoxicity effect of *A. hyRDophil* supernatant on different Cell lines**

**A:** untreated L20B cell      **B:** L20B cells after treatment with non-heated supernatant for 18 hr cells shrinking, detaching and rounded      **C:** degradation, lyses and death most treated cells with heated supernatant at 100°C after 96 hr.

**D:** untreated RD cell      **E:** RD cells after 18 hr of non-heated supernatant, cells shrinking, detaching , accumulation and rounded      **F:** death most treated RD cells with heated supernatant at 100°C after 96 hr.

The three clinical isolates of *Aeromonas hydrophila* were obtained from the Central Public Health Laboratory in Baghdad which isolated previously from many patients suffering from sever diarrheic stool in



different hospitals in Iraq, these isolates were sending to this center in order to Re-confirmation, diagnostic and differentiation the *A. hydrophila* than other bacteria such as *Vibrio* spp. by API 20 E and API 20 NE systems (Fig 1).

This result is compatible with AL-Naddawi observation that refer to *A. hydrophila* were isolates with *Vibrio* spp from different region of Iraq during outbreaks 2007-2009 (18) and in agreement with other results were obtained by Al-Kafaji (19) because the *A. caviae*, *A. sobia*, *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. veroni* and *A. hydrophila* are belong to bacteria of *Vibrionaceae* family (20). The diarrheic stool that caused by *A. hydrophila* may attributed to ability of this pathogen to adhere on the intestinal surface and induce diarrhea with pain and the mortality is low (8, 21) or may caused by enterotoxins of *A. hydrophila* (22).

*A. hyRDophia* isolates in this study were able to haemolysis Red blood cells on blood agar plate, completely clear zone surrounding the colonies ( $\beta$ -haemolysis pattern) was observed indicating haemolysin production (Table 1 and Fig 2). It can be concluded from this result that total lysis of RBC by haemolytic factor on blood agar plate lead to consider the haemolysin among virulence factors because it lyse red blood corpuscles using calcium ions by forming the transmembrane pores in the lipid bilayers of erythrocytes (23).

There are several studies reported that the *A. hydrophila* strains which isolated from different sites shown their ability to haemolysis different RBC sources with various haemolysis pattern due to the occurrences of haemolytic factors in aeromonads are widespread such as the results were shown by Illanchezian, S. et al. appeared among 52 of *A. hydrophila* isolates from fish appear about 46.1, 40.3 and 13.4 % total of them exhibited  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\square$  - haemolytic pattern respectively, while among 21 of *A. hydrophila* isolates from shrimp shown 33.3, 52.3 and 14.2 %  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\square$  - haemolytic pattern respectively (13). In other study that done by Palumbo et al. who reported in (1989) that all strains of *A. hydrophila* isolated from retail foods of animal origin were  $\beta$  - haemolytic (24) while Nacescu et al. in (1992) postulated a correlation between the pathogenic potential and the hemolytic activity of *Aeromonas* species (25).

In spite of the proteases are thought to contribute to virulence of many pathogenic bacteria and aeromonads which isolated from fish or other hosts (26) but In our study, the ability of *A. hydrophila* to protease production was weak and small clear zone around the colonies and their supernatant on skim milk agar was appeared and there is no relation between protease production and hemolysin production (table 1), this results were incompatible with studies that reported ability of *A. hydrophila* to production the protease enzyme, such as *A. hydrophila* which isolated from fish and shrimp samples by Illanchezian, and his co-workers has ability to

produced protease after 24 hr of culturing depending on the strains and species diversity (13); while other reports were refer to there is no relation between haemolysin and protease production such as report of Gonzalez-Serrano and his-coworkers who documented that there is no relation between proteolytic and haemolytic activities (26) while in other previous reports refer to that both the proteolytic and haemolytic activity are interrelated (27). The weakness of protease production in our study may attributed to different reasons deal with isolates or growth conditions such as strain variation, origin, incubation temperature or media(28).

Antibiotics susceptibility testing for isolate No.3 of our study were performed to see the reaction of *A. hydrophila* to several antibiotics which give a clear idea that *A. hydrophila* had variable reaction toward different antibiotics, the results were appeared it is sensitive to four antibiotics include: ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, and co-trimoxazole respectively; while resistant to three other antibiotics include: imipenem, aztreonam and amoxicillin-clavulanic acid (table 2) and the diameter of inhibition zones for theses antibiotics were shown in (fig3 ) there results performed as recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (17).

Results of many previous studies for antibiotic susceptibility testing were different; some of antibiotics were combatable and other incompatible with our result. Till now, we do not have a decent explanation for these variation results. The resistance of the clinical isolates of *A. hydrophila* which done by Vally appeared it's resistant to amoxicillin, meropenem, oral cephalosporins (cefaclor and cephalixin), cephalothin, and colistin and were susceptible to norfloxacin, ciprofloxacin, gentamicin, tobramycin, amikacin, trimethoprim, ceftriaxone, ceftazidime, amoxicillin-clavulanate potassium, ticarcillin disodium-clavulanate potassium, aztreonam, cefepime, and nitrofurantoin (29) while *A. hydrophila* MB443 which isolated from acirrhotic patient's fecal sample in a Budapest hospital was resistant to ceftazidime, cefepime, piperacillin- tazobactam, and imipenem, it remained susceptible to aztreonam. (30) Also the *A. hydrophila* isolates which collected from retail shops in Mhow city- India- were resistance to ampicillin and colistin antibiotics, while sensitive to ciprofloxacin, cefuroxime, ceftriaxone, cephotaxime, chloramphenicol, gentamycin, kanamycin, nitrofurantoin, nalidixic acid, ofloxacin, Co-trimoxazole and oxytetracycline respectively (31). In many previous results appeared the treatment of *A. hydrophila* infections is complicated due to their ability resistant to penicillin, ampicillin, polymixin and colistin antibiotics due to presence of chromosomal B-lactamase (32).

From all above variation in susceptibility, the antimicrobial agents are of great value for devising curative measures against bacterial infections. But, progressively increasing resistance to these agents is a serious cause of concern and periodic monitoring of RDug resistance of these organisms should be carried out in different geographical areas so that appropriate agent can be chosen for empiric therapy.

Aeromonads produce a wide range of extracellular toxins and enzymes; the multiplicity of extracellular products has led to difficulty in characterizing these factors and to disagreement in the enteropathogenicity. Generally, cytotoxins damage the cell and may produce severe illness in humans. In our study we used two type cell lines include human RD (Rhabdomyosarcoma cells) and mouse L20B (fibroblast cells) cells in order to investigate the ability of *A. hydrophila* to dismantle and destruction mammalian cells ; The results showed detaching and changing in morphology from spindle shaped of normal RD and L20B cells to round and shrived cells observed when it was treated with heated to 100°C and non- heated bacterial supernatant after 18 hr of addition on these cells; also monitored till 120 hr of incubation time; these changes were followed by gradual destruction , cytotoxic activity on monolayer of RD and L20B cells and complete damaged after 120 hr causing the death of the cell culture (Fig 4). These morphological changes can defined as cytopathic effects (CPE) and can be useful to classify cytotoxin .

There is no available studies refer to ability of *A. hydrophila* lead to cytotoxic effect on RD or L20B cell lines, but available many studies refer to cytotoxic effect of clinical isolates of *A. hydrophila* on Vero cells such as Sridharan and his co-workers whose documented that the *A. hydrophila* has cytotoxic activity on Vero cells (33) and the cell free filtrate of *A. hydrophila* had an impact on the integrity the monolayers of Vero cells and Caco-2 cell lines that might facilitate a more rapid translocation of bacteria through the cells *in vivo* (13, 34).

The cytotoxic effect in our study on RD and L20B cells may attribute to share more than virulence factors were produced by *A. hydrophila* include  $\beta$  –haemolysin production, protease production and heat- stable enterotoxin, this explanation agreement with other suggestion of the following reports:

- Suggesting a possible relationship between  $\beta$  –haemolysin production due to present haemolysin gene and the degree of cytotoxicity produced by *A. hydrophila* (35).
- In spite of in our study the ability of *A. hydrophila* to protease production was weak but may attributed to extracellular temperature – stable serine protease production to degrade extracellular matrix components including collagens, fibronectin,



laminin and elastin and lead to tissue damage after 120 hr causing the death of the cell culture (Fig 4) (7, 36).

- Or may attributed to produced two type toxins include a heat-unstable cytotoxic enterotoxin (Alt) and a heat-stable cytotoxic enterotoxin (Ast) (9).

The above explanation was also agreement with Illanchezian and his co-workers were proved the *A. hydrophila* isolates were has haemolytic activity ( $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ ) and protease activity lead to caused cytotoxic effect on Vero cell and this isolate may be regarded as pathogenic, while the isolate which not has haemolytic and protease activity was showed no cytotoxic effects on Vero cells and this isolate may non-pathogenic (13).

The haemolytic pattern and Proteolytic activity of the *A. hydrophila* might play an important role in the pathogenesis of the organism *in vivo* due to cytotoxic activity. Even though the results showed some relationship between proteolysis and cytotoxic effects, there are other extracellular virulence factors that must be studied in relation to pathogenicity of *A. hydrophila*. These extracellular factors might have different expression or subject to the same genetic control. It is not unlikely that different virulence factors are important under different conditions. Thus we must not only characterize the different protein toxins, but also address the genetic regulation of transcription.

These results demonstrated the presence of wide spread, pathogenically characterized, multiple antibiotic resistant, cytotoxic *A. hydrophila*. The relation found between the haemolysis; proteolysis and cytotoxic activities must be further evaluated in relation to genetic control of other extracellular virulence factors, molecular mechanisms and network of these virulence factors in exhibiting the pathogenesis of *A. hydrophila*.

## REFERENCES

- 1- Hazen, T.C., Flierman, C.B., Hirsch, R.P. and Esch, G.W., "Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States" Appl. Environ. Microbiol, 36:731-738. (1978).
- 2- Nawaz, M., Sung, K., Khan, S.A., Khan, A.A. and Steele, R. "Biochemical and molecular characterization of tetracycline-resistant *Aeromonas veronii* isolates from catfish". Appl. Environ. Microbiol., 72: 6461-6462. (2006).
- 3- Mathewson, J.J. and Dupont, H.L., "Aeromonas species: role as human pathogens", in: Remington, J.S., Swartz, M.N. (eds.), "Current Clinical Topics in Infectious Diseases" Vol12e. Cambridge: Blackwell Scientific. pp 26-36. (1992).



- 4- Janda, J. M., "Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*", Clin. Microbiol. Rev. 4:397-410. (1991).
- 5- Kelly KA, Koehler JM, and Ashdown LR., "Spectrum of extra-intestinal disease due to *Aeromonas* species in the tropical Queensland, Australia". Clin Infect Dis., 16: 574-579. (1993).
- 6- Castro-Escarpulli G.; Figueras, M.J, and Aguilera-Arreola, G.; Soler, L.; Fernandez- Rendon, E.; Aparicio, G.O.; Guarro, J.; Chacon, M.R., "Characterization of *Aeromonas* species isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico". Int J Food Microbiol. 84 (1): 41-49. (2003).
- 7- Sesharathnam, R., Joseph, S. W., Chopra, A. K., Jonathan Shaw, J. S., Graf, J., Haft, D., Wu, M., Ren, Q., Rosovitz, M. J., Madupu, R., Tallon, L., Kim, M., Jin, S., Vuong, O.H., Stine, C., Ali, A., Horneman, J.A. and Heidelberg, F.J. "Genome Sequence of *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966T: Jack of All Trades", J Bacteriol. December, (2006).
- 8- Burke, V., M. J. Cooper, J. Robinson, M. Gracey, M. Lesmana, P. Echeverria, and J. M. Janda.. "Hemagglutination patterns of *Aeromonas* spp. In relation to biotype and source", J. Clin. Microbiol. 19:39-43. (1984).
- 9- Albert, J. M. "Prevalence of Enterotoxin Genes in *Aeromonas* spp. Isolated from Children with Diarrhea, Healthy Controls, and the Environment." J. Clin. Microbiol., 38 (10):3785-3790, (2000).
- 10- Chopra, A.K., X.-J. Xu, D. Ribardo, M. Gonzalez, K. Kuhl, J. W. Peterson, and C. W. Houston. "The Cytotoxic Enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* Induces Proinflammatory Cytokine Production and Activates Arachidonic Acid Metabolism in Macrophages." Infect. Immun., 68(5): 2808-2818, (2000).
- 11- Kasper D.L, Barlam T.F. "Infections due to hACEC group and miscellaneous gram negative bacteria". In: Kasper D.L, and Fauci AS, B. E., eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. 862-870. McGraw-Hill; New York ( 2005).
- 12- Jones B.L., and Wilcox, M.H. "*Aeromonas* infections and their treatment". J Antimicrob. Chemother.; 35:453-461. (1995).

- 13- Illanchezian, S., Jayaraman, S., Manoharan, S. M. and Valsalam, S." Virulence and cytotoxicity of sea food borne *Aeromonas hydrophila*". Brazil. J. Microbiol., 41: 978-983.(2010)
- 14- Cruickshank, R., Duguid, J.P., Marmmion, B.P. and Swain, R.H.A. "Medical microbiology" (12th ed.) Vol. 2. Churchill Livingstone. London. (1975).
- 15- Breneder, R.; Janda, J.M. "Detection, quantification and stability of the B - haemolysin of *Aeromonas* spp" . J. Med. Microbiol., 24: 247-251. (1987).
- 16- Al-Rubai, B.A.L. "Role of *Proteus mirabilis* Metalloprotease in degradation of different animal proteins and cloning of responsible gene in *E.coli* BL21". pH.D thesis. Biology Department. Collage of Science .Baghdad University.IRAQ (2009).
- 17- Clinical and Laboratory Standards Institute. "Procedure for performing the disk diffusion test", p. 9–11. In Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, (8th ed). M02-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. (2003).
- 18- Al-Naddawi, T.H.S. "Molecular Epidemiology of *Vibrio cholera* in Iraq during outbreak 2007 to 2009". pH.D thesis. Biology Department. Collage of Science .Baghdad University.IRAQ (2010).
- 19- Al-Kafaji, K.A. "Identification of some virulence factors in toxigenic clinical and environmental isolates of *Vibrio cholera*" pH.D thesis. Genetic engineering and Biotechnology Institute .Baghdad University.IRAQ (2007).
- 20- Austin, B., and D. A. Austin. "Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish". Halsted Press, New York, N.Y. (1987).
- 21- Carnahan, A.M., and Altwegg, M.. "The genus *Aeromonas*", P.1-38. in Austin, B., Altwegg, M., Gosling, P.J., and Joseph , S. (eds), Taxonomy , John Wiley and Sons, New York.(1996).
- 22- Houston, C.W., Chopra, A.K., Rose, J.M., Kurosky, A. "Review of *Aeromonas* enterotoxins. *Experientia*". 47:424–6. (1991).

- 23- Beutin, L., Alexksic, S., Zimmerman, S. and Gleier, K.: Med. Microbiol. Immunol., 183: 13-21 (1994).
- 24- Palumbo, S.A.; Bencivengo, M.M.; Corral, F.D.; Williams, A.G.; Buchanan, R.L. "Characterization of the *Aeromonas hydrophila* group isolated from retail foods of animal origin". *J Clin Microbiol.* 27, 854-859, (1989).
- 25- Nacescu, N., A. Israil, C. CeRDu, and D. Caplan. "Hemolytic properties of some *Aeromonas* strains". Roum. Arch. Microbiol. Immunol. 51:147-156. (1992).
- 26- Gonzalez-Serrano, C.J.; Santos, J.A.; Garcia-Lopez, M.L.; Otero, A. "Virulence markers in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* biovar sobria isolates obtained from fresh water fish and from a diarrhea case". *J. Appl. Microbiol.* , 93 (3):414-419. (2002).
- 27- Howard, S.P.; Buckley, J.T. "Protein export by a gram-negative bacterium: production of aerolysin by *Aeromonas hydrophila*". *J. Bacteriol.*, 161: 1118-1124. (1985).
- 28- Mateos, D.; Anguita, J.; Naharro, G.; Panlagua, C. "Influence of growth temperature on the production of extracellular virulence factors and pathogenicity of environmental and human strains of *Aeromonas hydrophila*". *J. Appl. Bacteriol.*, 74: 111-118. (1993).
- 29- Vally, H., Whittle, A., Cameron, S., Dowse, K.G. and Watson, T. "Outbreak of *Aeromonas hydrophila* Wound Infections Associated with Mud Football". *CID.* 38:1084-1089. (2004).
- 30- Libisch, B., Giske, G.C., Kova'cs, B., To'th, G.T., and Fu'zil, M. "Identification of the First VIM Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing Multiresistant *Aeromonas hydrophila* Strain". *J. Clin. Microbiol.*, 1878-1880. (2008).
- 31- Kaskhedikar, M. and Chhabra, D. "Multiple RDug resistance in *Aeromonas hydrophila* isolates of fish". *Veterinary World*, 3 (2): 76-77. (2010).
- 32- Jones, B.L, Wilcox, M.H. "*Aeromonas* infections and their treatment". *J. Antimicrob. Chemother.*, 35:453-61. (1995).

- 33- Sridharan, G.; Balaji, V.; Jesudason, M.V. "Cytotoxin testing of environmental *Aeromonas* spp. in Vero cell culture". Ind. J. Med. Res., 119, 1-3. (2004).
- 34- Snowden, L.; Wernbacher, L.; Stenzel, D.; Tucker, J.; McKay, D.; O'Brien, M.; Katouli, M. "Prevalence of environmental *Aeromonas* in South East Queensland, Australia: a study of their interactions with human monolayer Caco-2 cells". J. Appl. Microbiol., 101 (4):964–975. (2006).
- 35- Wang, G., Clark, G. C., Liu, C., Pucknell, C., Munro, K. C., Kruk, M. A. C T., Caldeira, R., Woodward, L.D., and Rodgers, G.F. "Detection and Characterization of the Hemolysin Genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* by Multiplex PCR". J. Clin. Microbiol., p.1048–1054. (2003).
- 36- Cho, J. S., Park, J.H., Park, Jo.S., Lim, S. J., Kim, H.E., Cho, J.Y., and Shin, S.K., Purification and Characterization of Extracellular Temperature-Stable Serine Protease from *Aeromonas hydrophila*. J. Microbiol., p.207 -211. (2003).



## Effect of Hot Aqueous Extract of the Fungus *Agaricus bisporus* on Cancer and Normal Cell Lines *In vitro*.

\*Israa H. Hamzaa, \* Abd Al-Amer N. AL-Rikabi and \*\* Saad M. Nada

\*Department of Biology - College of Science- Al-Mustansiriyah University.

\*\*Biotechnology Research Center - Al-Nahrin University.

Submitted : 27/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

اجريت هذه الدراسة للتحري عن التأثير التثبيطي للمستخلص المائي الحار لفطر العرھون (عش الغراب) *Agaricus bisporus* في الخطوط الخلوية السرطانية والخلايا الطبيعية خارج الجسم الحي.

تم استخدام نوعين من الخطوط الخلوية السرطانية المزروعة في الزجاج (*in vitro*) وهي خط خلايا سرطان الثدي الفاري (AMN3) وخط خلايا سرطان الحوض البشري (RD) وبالمقارنة مع خط الخلايا الطبيعي المتحول المولدة لللايف لجنين الجرذ (Ref) وذلك باستخدام تقنية الزرع النسيجي في الزجاج وقد تم تحضير عشرة تراكيز مختلفة ثنائية التخفيف من المستخلص الخام الحار لعش الغراب ابتداءً من التركيز 87.5 ميلغرام أمليتر وإنهاءً بالتركيز 0.17 ميلغرام أمليتر تم اختبارها لكل من خطوط الخلايا بمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز.

تم معاملة الخطوط الخلوية خلال 24 ساعة، 48 ساعة و 72 ساعة وبظروف التعقيم الثامة في أطباق المعايير الخاصة بالزراعة النسيجية.

توصلت دراسة فحص التأثير التثبيطي للمستخلص في المزارع النسيجية إلى أن المستخلص المائي الخام الحار يمتلك تأثير تثبيطي يعتمد على نوع الخلايا ومقدار الجرعة ووقت التعريض وإن أعلى تأثير لوحظ عند التراكيز العالية للمستخلصين بعد مرور 48 و 72 ساعة من التعريض لكل من خطي الخلايا السرطانية المستخدمة.

أظهر المستخلص المائي الحار تأثيراً تثبيطياً في نمو خلايا خط سرطان الغدة اللبنية الفاري في جميع التراكيز عند فترة التعريض 48 و 72 ساعة وعند التراكيز العالية بالنسبة للفترة 24 ساعة وأظهر تأثيراً تثبيطياً في خط سرطان الحوض البشري عند التراكيز العالية فقط ولم يكن له أي تأثير تثبيطي في خط الخلايا الليفية لجنين الفأر وذلك يعني أنه لا يحدث أي تأثيرات سلبية على الخلايا الطبيعية بالرغم من إمتلكه تأثيراً تثبيطياً ضد الخلايا السرطانية.

## ABSTRACT

This study was designed to investigate the inhibition effect of the hot aqueous extract of *Agaricus bisporus* on cancer cell lines and normal cells *in vitro*.

The examination included using two types of cancer cell lines cultured *in vitro* which were (murine mammary adenocarcinoma AMN-3 cell line, human rhabdomyosarcoma RD cell line) and comparing them with the transformed normal cell line from the Rat embryo fibroblasts Ref cell line by using tissue culture technology *in vitro*.

Ten different concentrations starting from 87.5 to 0.17 mg/ml of two fold dilution for extract were prepared and tested on each cell line, with three replicates for each concentration.

Periods of exposure of cell lines were measured at 24, 48 and 72-hours intervals in a microtitration plate under complete sterile conditions.

The study of inhibition test in tissue culture showed that hot crude aqueous extract had inhibition effect depending on the type of the cells, amount of the dose and the time of exposure, the highest effect was noticed at the high concentrations of extract after 48 and 72 hours of exposure for each of the two cancer cell lines.

The hot aqueous extract showed an inhibitory effect on the growth of AMN3 in all concentrations at the exposure period of 48 and 72 hours and in high concentrations at the period of 24 hours, also it showed an inhibition effect in the RD cancer cell line at high concentrations only, it did not have any inhibitory effect in the REF cell line, that means it does not cause any negative effect in the normal cells despite having an inhibitory effect against cancer cells.

## INTRODUCTION

Cancer is one of the most dangerous diseases which affect both of humans and animals. It can affect people at all ages, even fetuses, although it is most common in people over 50 years(1) Today, it is considered the second cause of death after cardiovascular diseases in the world (2).

The classical therapeutic processes are surgery, radiation, chemotherapy, hormonal therapy and biological therapy but conventional treatments do not always satisfactorily relieve severe symptoms or cure them, in some cases the side effects of these treatments may not be tolerable (3). Therefore treatments can often provide temporary relief of symptoms and the tumor cells may develop resistance against them (4). Recent researches have been directed toward natural products for cancer therapy such as plants and fungi (5). Because natural products play a dominant role in cancer chemotherapy with more than 70% of anticancer

compounds being either natural products or derived from natural products(6).

Among many types of fungi, higher Basidiomycetes are considered as unlimited sources of therapeutically useful and biologically active agents, since there are approximately 700 species of higher Basidiomycetes that have been found to possess significant pharmacological activities especially mushrooms (7) which possess significant medicinal properties such as antifungal, anti-inflammatory, antioxidant, antiviral, antibacterial, hepatoprotective, antidiabetic, hypolipemic, antithrombotic and antitumor activities (8). In light of these observations knowledge and because the mushroom has been consumed commonly by most people in Iraq, this study was carried out and aims to:-

- ❖ Study the effect of hot aqueous extract of *Agaricus bisporus* on the cell lines of rhabdomyosarcoma(RD), mammary adenocarcinoma (AMN3) and rat embryonic fibroblast (REF3) cell lines (*in vitro*).

## MATERIALS AND METHODS

*Agaricus bisporus* mushroom was obtained from Ministry of Agriculture, and the species was classified at their departments as *Agaricus bisporus*. This method of extraction was carried out as described by (Liu *et al.*,2008) (9). After mushroom was collected fruit bodies of mushroom (100g each) were collected, washed and dried using hot air at 60 °C or lower, after that the fruit body of mushroom were ground using a domestic coffee mill, suspended in normal saline to get a stock solution with (0.1g/ml) concentration, then it was extracted in an autoclave (120°C., 20 min) the extract was filtrated by Whatman-1-Filterpaper The extract was divided in small and clean tube (stock) then kept in frozen at -20°C until use.

*In vitro* method was used to investigate the effect of the hot aqueous extract of *Agaricus bisporus* on three types of cell lines (AMN3, RD and Ref). In order to perform this test, the following prerequisites should be ready, according to standard method (10) :-

### Cell line preparation for inhibition study

Following the protocol described by Freshny (1994)(10), cell lines used in this study were sub-cultured when monolayer of each cell line was confluent. The growth medium was decanted off and the cell sheet washed twice with sterile PBS. Two to three ml of trypsin-versene solution was added to the side of the falcon opposite to the cells and the falcon rocked gently and turned over to cover the monolayer completely. Incubated for (2-3) minutes at 37°C until they had detached from the falcon. Growth medium (15) ml was added and dispersed cell by pippetting with growth medium. Approximately half of this growth medium containing cell suspension was poured off to other falcon and re-incubated at 37°C.

After trypsinization, twenty ml of growth medium was added and dispensed cells by pipetting in growth medium. Afterwards, the cell suspension (200µl) was seeded in each well of flat button 96 well micro titer plates that every well contain  $1 \times 10^4$  cells/well. The plate was covered by its coverlid, sealed by parafilm, and incubated at 37°C for 24 hours. All steps were carried out under sterile conditions and at sterile place.

### Preparation of aqueous extract concentrations

The hot aqueous extract stocks was prepared as described above and by using sterile serum free medium, different concentrations (dilutions) were prepared in a two-fold manner to get the concentrations of 87.5mg/ml to 0.17mg/ml which they calculated from the following equation:

$$[\text{Concentration 1 (C1)} \times \text{Volume 1 (V1)} = \text{Concentration 2 (C2)} \times \text{Volume 2 (V2)}].$$

### Inhibition assay

Cell cultures in microtiteration plate (96wells) were exposed to range of extract concentrations during the log phase of growth, the effect was determined after recovery time. The following protocol was performed on aqueous extract of *Agaricus bisporus* (10):

- a) When the cells of micro- titer plates are in log phase, the medium was removed, and the cells were exposed to a range of aqueous extract concentrations.
- b) By using maintenance medium, two-fold serial dilution were prepared starting from (87.50-0.17 mg/ml) for hot aqueous extract.
- c) Cells were exposed to different extract dilutions. Only 200µl of each concentration were pipette into each well. (Four replicate for each tested concentration). 200 µl of maintenance medium added to each well of control group (The two last columns were used as control (treated with Serum free media "SFM" only)). The plate was covered by its coverlid, sealed well by using parafilm.
- d) Afterwards, the plates were incubated at 37°C for the selected exposure times (24, 48 or 72) hours.
- e) After exposure to the extract of test, the medium was decanted off and cells in the well were gently washed by adding and removing 0.1 ml sterile PBS tow times.
- f) At the end, 100 ml of 0.01% neutral red dye were added to the well, the plates were incubated in a CO<sub>2</sub>-incubator for (2-3) hrs at 37°C.
- g) After incubation, excess dye was removed by washing the well three times with PBS and then 100ml of (PBS and absolute ethanol (1:1 V/V)) were added to each well to extract the dye from the viable cells.



Neutral red dye was used to count the number of viable cells the optical density was measured under the wavelength 492 nm. The stain referred to the numbers of viable cells while the negative effect depends upon the inhibition growth rate (I.R) as compared with the control in which the growth rate consider as 100%.

The optical density of each well was read by using a micro-ELISA reader at a transmitting wavelength on 492 nm (10) (11). The proliferation rate was measured according to the following formula (12):-

$$PR\% = \frac{B}{A} \times 100$$

PR=proliferation rate, A= the optical density of control, B= the optical density of test While the inhibitor rate measured according to the following formula :

$$IR\% = \frac{B-A}{A} \times 100$$

IR=inhibitor rate, A= the optical density of control, B= the optical density of test.

- The -ve results referred to the inhibition rate %
- While the +ve results referred to proliferation rate %

#### Statistical analysis.

To analyze the data in cell lines statistically, the Complete Random Design (C.R.D.) was used in a factorial experiment in which 2 factors were used; those factors are the time, the concentration, by using the following statistical model:

$$Y_{ijl} = \mu + C_i + T_j + C_iT_j + (TC)_{ij} + e_{ijl}$$

Where

$\mu$ : The median

$C_i$ : The concentration effect , where  $i = (1-10)$

$T_j$  : The time effect, where  $j = (24, 48, 72)$

$E_k$ : The extract effect , K: The extract type

$e_{ijl}$ : The Random error

## RESULTS AND DISCUSSION

The results in table (1) revealed that the effect of this extract on mammary adenocarcinoma was depended on time and dose. The highest concentrations (87.5, 43.75, 21.87, 10.93 and 5.46 mg/ml) showed significant inhibition effects at ( $p < 0.05$ ) at 24 hours and the percentages of inhibition were 64.7, 35.5, 16.51, 18.3 and 4.84 %, respectively, however, this effect increased obviously with significant difference ( $p < 0.05$ ) at 48, 72 hours and showed inhibition of growth at all the concentrations used, the highest

percentage inhibition was 72.6 and 75.4% at concentration 87.5 mg/ml after 48 and 72hrs from exposure time while being low gradually with low concentrations. The negative results in tables referred to the percentage of inhibition rate, while the non negative results referred to the percentage of proliferation rate or cell growth stimulation.

From the results above, it is noticed that the hot aqueous extract of *Agaricus bisporuse* had a significant inhibition effect ( $P < 0.05$ ) on the AMN3 cell line, at different concentrations and times of exposures.

The inhibitory effect may be due to the presence of large numbers of active compounds in aqueous extract which affect the activity that stimulates the programmed cell death and activate the immune system, where its combined role increase in its effect on cancer cells, since it is possible that there is more than one compound which has an inhibiting capability against cancer cells such as the polysaccharide called beta glucan (13). The beta-D-glucan and other polysaccharides are effective with many types of cancer (at least early and mid-stage cancer), including lung cancer and particularly stomach and colon cancer. It specifically activate the immune system's cells (such as macrophages, interferon, T cells, and natural killer cells) in order to prevent the multiplication, metastasis (spreading) and recurrence of cancer cells, and that is by affecting certain receptors on the surfaces of those cells, and through these receptors the cells become responsive to the effect of many materials that stimulate the programmed cell death (13, 14)

It is also possible that the decrease of cell numbers can be attributed as a result to the inhibition of the Cycline Enzymes (CDK) leading to stopping the life cycle of the cell and urging it to enter the mechanism of programmed cell death(15, 16).

Moreover the unsaturated fatty acids found in mushroom such as linoleic acid, linolenic acid, and conjugated linoleic acid have anti tumor activity against breast cancer or mammary gland adenocarcinoma *in vivo* and *in vitro*, where it was found (17) that linoleic acid which is isolated from eatable mushroom has an antitumor activity *in vitro* systems and in the animals. It has an anti estrogen activity, where breast cancer cells (MCF-7) were used and they were estrogen receptor positive (ER+). And it has been shown that its action is due to its inhibition to the breast cancer cells proliferation, and that is by its direct effect on the estrogen receptors (ER+) since it reduces their genetic expression and prevents estrogen combination with them i.e. it inhibits the action of the aromatase enzyme which is responsible for the syntheses of this hormone, and thus it stops the cell's life cycle causing to prevent its proliferation. While in animals the aqueous extracts of the mushroom inhibits the growth of the mammary gland cancer

cells which is induced by estrogen, and this is by its effect on the expression of the programmed cell death genes like bcl-2 gene.

Also the results in the table(2) revealed that high concentrations of hot extract gave significant inhibition rates on cells viability of Rhabdomyosarcoma (RD) cell line at 24, 48, and 72hrs ( $P < 0.05$ ) which disappeared with low concentrations where the effect of inhibition started (from 87.5 to 5.47 mg/ml) concentration at three exposure time. The other concentrations had non-significant ( $P > 0.05$ ) effects on growth inhibition and caused low proliferations stimulation for the same cell line at three time. The results showed that the effect of this extract on RD cells depended on concentration.

The cause of the different effect between this cancer line and the other line (AMN3) may be due to the fact that each cancer cell line has a different metabolic behavior from the other, in addition to the difference of the receptors present on the cells' surfaces from one type to another which also leads to a difference in terms of the response to the external effects (the crude extract)(18).

And showed that cancer cell line RD was found that it is the least sensitive to the crude extract of *Agaricus bisporus*, and the cause for this may be attributed to the over expression of some of the genes responsible for the resistance of compounds and foreign materials which enter the cancer cell or bind with it, and then it prevents or reduce the effect of these compounds present in the crude extract of this type of cancer cells, and this characteristic is called ( Multi-Drug Resistance) (MDR) (19). And one of the most important among those genes is the *mdr-1* gene which controls the expression of the (Glycoprotein), *p-gp* gene responsible for presenting the resistance, and it is worth mentioning that the MDR mechanism is considered one of the constraints that prevents the effect of treatments or drugs on cancer cells in general, so it can be prevented by treating the cells with Multi-Drug Resistance Modulators (MDR Modulator) during giving or experimenting some compounds (19).

Also the results in the table (3) showed that the hot extract had no inhibition effect on REF cell at all concentrations during the three periods of exposure, but it had a significant stimulation effect for cells' proliferation in most concentrations used in this study.

This means that the Rat Embryo Fibroblasts (REF) normal cell line was not sensitive to all concentrations of the extract of *Agaricus bisporus* so, it was used for a comparison with tumor cell lines. That means it has no negative effects on the normal cell in the presence of its growth inhibitory effects against the cancer cells.

We can conclude from this that the selectivity might be as such because of some of the metabolic characteristics that the cancer cells have , and not present in the normal cells, such as the metabolic characteristic to produce new blood vessels, also the shape and nature of the receptors present on the cancer cells' surface and the possibility of their binding with different compounds (20). In addition to that the two strands of DNA are in a relaxant form , and the molecule as a whole is unstable because of spacing the hydrogen bonds (H bonds) that bind the DNA strips , this will make it easy for the internal or external compounds' binding to the two DNA strips , while the DNA of normal cells is tightly adherent and the hydrogen bonds are not spaced , and this will impede the binding of different compounds and affecting them (21).

Besides there are other metabolic characteristics which are related to the cancer cells but they are not present in the normal cells, including opportunism and the excess in the need for nutrition, as well as the ability of invasion and spread, so that there are some factors or genes or proteins that are present differently from what is present in the normal cells and by that it can become a target to the secondary metabolism compounds in affecting cancer cells (22).

**Table -1: Effect of different concentrations of hot aqueous extract on growth of cell line AMN3 at different exposure time (24, 48 and 72 hrs)**

Concentrations mg/ml	The percentage of the changes in the cells growth (Mean±SE)		
	24 hrs	48hrs	72hrs
87.5	-64.7±2.2 <sup>a</sup> B	-72.6±2.3 <sup>a</sup> A	-75.4±2.8 <sup>a</sup> A
43.75	-35.5±2.4 <sup>b</sup> C	-58.6±2.1 <sup>b</sup> B	-64.1±2.0 <sup>b</sup> A
21.87	-16.51±1.1 <sup>c</sup> C	-58.4±2.3 <sup>b</sup> B	-63.6±2.45 <sup>b</sup> A
10.93	-18.3±1.2 <sup>c</sup> C	-49.7±1.5 <sup>c</sup> B	-62.5±1.9 <sup>b</sup> A
5.46	-4.84±0.2 <sup>d</sup> C	-44.7±1.22 <sup>d</sup> B	-56.6±1.96 <sup>c</sup> A
2.73	24.11±1.35 <sup>f</sup> C	-44.7±2.24 <sup>d</sup> B	-53.0±2.61 <sup>c</sup> A
1.36	31.5±1.5 <sup>e</sup> C	-45.4±2.2 <sup>d</sup> B	-54.4±2.6 <sup>c</sup> A
0.68	29.4±1.13 <sup>e</sup> C	-34.78±1.2 <sup>e</sup> B	-36.9±1.25 <sup>d</sup> A
0.34	18.87±0.9 <sup>g</sup> C	-23.9±0.11 <sup>f</sup> B	-30.6±1.16 <sup>c</sup> A
0.17	11.27±1.1 <sup>h</sup> C	-4.1±0.4 <sup>g</sup> B	-15.0±1.12 <sup>f</sup> A



(SE) mean significant error. (-) mean inhibition.  
 Different small letters mean there are significant differences among concentrations at the same period exposure at level  $P \leq 0.05$   
 Different capital letters mean there are significant differences among times (24, 48, and 72hrs) at the same extract at level  $P \leq 0.05$

**Table -2: Effect of different concentrations of hot aqueous extract on growth of cell line RD at different exposure time (24,48 and 72 hrs)**

Concentration (mg/ml)	the percentage for the changes in the cells growth (Mean±SE)		
	24 hrs	48 hrs	72 hrs
87.5	-26.1±1.08 <sup>a</sup> C	-44.0±2.8 <sup>a</sup> B	-60.1±2.7 <sup>a</sup> A
43.75	-20.4±0.6 <sup>b</sup> C	-26.64±1.2 <sup>b</sup> B	-33.8±1.14 <sup>b</sup> A
21.88	-17.9±1.0 <sup>b</sup> AB	-15.6±0.52 <sup>c</sup> B	-19.14±0.41 <sup>c</sup> A
10.94	-11.4±1.16 <sup>c</sup> B	-18.3±1.17 <sup>c</sup> A	-19.30±1.4 <sup>c</sup> A
5.47	-8.0±0.24 <sup>c</sup> B	-6.0±0.13 <sup>d</sup> B	-13.51±0.1 <sup>d</sup> A
2.73	52.8±2.16 <sup>c</sup> A	14.0±0.9 <sup>h</sup> B	14.67±1.19 <sup>f</sup> B
1.36	17.1±1.2 <sup>h</sup> A	21.8±1.11 <sup>g</sup> A	5.79±0.21 <sup>g</sup> B
0.68	43.8±1.18 <sup>f</sup> A	47.3±1.4 <sup>f</sup> A	8.49±0.25 <sup>g</sup> B
0.34	62.3±2.3 <sup>d</sup> B	72.1±2.29 <sup>e</sup> A	15.44±1.6 <sup>f</sup> C
0.17	23.8±1.33 <sup>g</sup> A	16.7±0.86 <sup>h</sup> B	20.07±1.11 <sup>e</sup> A

(SE) mean significant error. (-) mean inhibition.  
 Different small letters mean there are significant differences among concentration at the same period exposure at level  $P \leq 0.05$   
 Different capital letters mean there are significant differences among times (24,48, and 72hrs) at the same extract at level  $P \leq 0.05$

**Table -3: Effect of different concentrations of hot aqueous extract on growth of cell line REF at different times (24, 48 and 72 hrs).**

Concentration (mg/ml)	The percentage of the changes in the cells growth (Mean $\pm$ SE)		
	24 hrs	48 hrs	72 hrs
87.5	44.1 $\pm$ 1.2 <sup>f</sup> B	94.4 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup> A	6.7 $\pm$ 0.34 <sup>c</sup> C
43.75	140.5 $\pm$ 4.6 <sup>b</sup> A	38.1 $\pm$ 1.6 <sup>c</sup> B	4.66 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup> C
21.88	124.1 $\pm$ 3.41 <sup>c</sup> A	129.2 $\pm$ 3.30 <sup>a</sup> A	95.6 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup> B
10.94	133.4 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup> A	96.1 $\pm$ 2.2 <sup>b</sup> B	84.8 $\pm$ 2.16 <sup>a</sup> B
5.47	133.4 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup> A	54.1 $\pm$ 1.13 <sup>d</sup> B	22.4 $\pm$ 1.02 <sup>c</sup> C
2.73	106.3 $\pm$ 3.5 <sup>c</sup> A	70.1 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup> B	31.7 $\pm$ 1.16 <sup>b</sup> C
1.36	193.1 $\pm$ 4.1 <sup>a</sup> A	138.1 $\pm$ 4.3 <sup>a</sup> B	16.3 $\pm$ 1.2 <sup>d</sup> C
0.68	93.9 $\pm$ 2.16 <sup>d</sup> A	99.4 $\pm$ 2.2 <sup>b</sup> A	32.0 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup> B
0.34	64.9 $\pm$ 2.3 <sup>c</sup> A	12.7 $\pm$ 0.42 <sup>f</sup> B	12.8 $\pm$ 0.43 <sup>d</sup> B
0.17	45.2 $\pm$ 1.15 <sup>f</sup> B	61.8 $\pm$ 1.3 <sup>c</sup> A	8.4 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup> C

(SE) mean significant error.

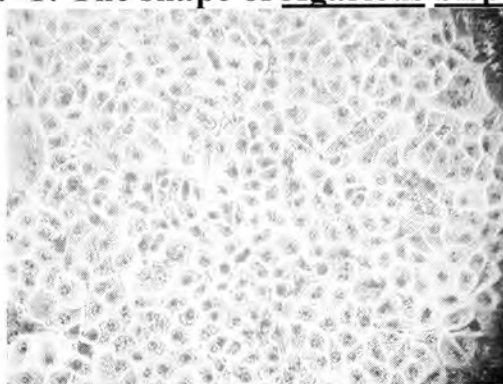
(-) mean inhibition

Different small letters mean there are significant differences among concentrations at the same period exposure at level  $P \leq 0.05$

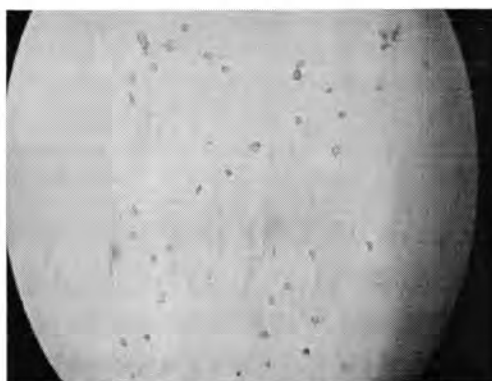
Different capital letters mean there are significant differences among times (24, 48, and 72hrs) at the same extract at level  $P \leq 0.05$



**Fig. -1: The shape of Agaricus bisporus**



**Fig. -2: Show negative control AMN3 cell line confluent monolaye (200 X)**



**Fig. -3: AMN3 cell line after their exposure to 87.5 mg/ml for 72hr. of hot extract of *Agaricus bisporus* (200X).**

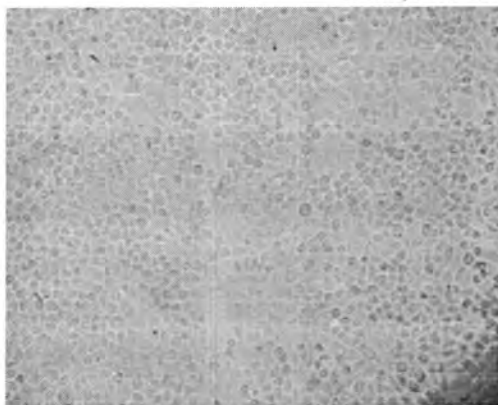


Fig. -4: Show negative control RD cell line confluent monolayer (200 X)



Fig. -5: RD cell line after their exposure to 87.5 mg/ml for 72hr.of hot extract of *Agaricus bisporus* extract (200X)



Fig. -6: Show negative control REF Cell line confluent monolayer (200 X)





**Fig. -7: REF cell line after their exposure to 1.36 mg/ml for 72hr. of hot extract of *Agaricus bisporus* extract (200X).**

### REFERENCES

1. Kumar, V.; Cotran, R.S. and Robbins, S.L. Robbins Basic Pathology (7<sup>th</sup> ed). Saunders, Pennsylvania, U.S.A. Pp: 165-210 (2003).
2. American Cancer Society (ACS). Cancer Facts and figures 2010. AtlantaUSPP: 1(2005).
3. Kirn, D.H. Replication-Selective microbiological agents: Fighting cancer with targeted germ warfare. J. clinical Investigation. 105(7):837-839 (2000).
4. Gilman, A.G.; Goodman, L.S.; Ralls, T.W. and Murad, F. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Macmillan Publishing Company New York (1990).
5. Blanchard, C.M.; Courneya, K.S. and Stein, K. Cancer survivors adherence to lifestyle behavior recommendation and associations with health related quality of life: results from the American Cancer Society's SCS-II. J. Clin. Oncol. 26(13):2198-204 (2008).
6. Lippi, D.; Bausi, L.; Nobili, S.; Mini, E. and Capaccioli, S. Natural Compounds for Cancer Treatment and Prevention. University of Florence. Florence. Italy. IJMS. Pp 22-19 (2008).
7. Wasser, S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulatory polysaccharides. *Microbiol. Biotechnol.* 60:258-274 (2002).

8. Largeteau, M.L. and Savoie, J.M. Microbially induced diseases of *Agaricus bisporus* :Biochemical mechanisms and impact on commercial mushroom production.J. *Microbiol. Biotechnol.* 86(1): 63-73 (2010).
9. Liu, Y.; Fukuwatari, Y.; Okumura, K.; Takeda, K.; Furukawa,M. and Mototi, M. Immunomodulating activity of *Agaricus bisporus* in mice and in human volunteers. J. Evidence-based complementary and alternative medicine. 5(2):205-219 (2008).
10. Freshney, R.I. Culture of animal cells: A manual for basic technique. (3<sup>rd</sup>ed.). Wiley-liss, A John Wiley & Sons Inc. Publication, New York (1994).
11. Mahoney, D.E.; Gilliat, E.; Dawson, S.; Stockdale, E. and Lee, S. H. Vero Cell Assay for Rapid Detection of *Clostridium perfringens* Enterotoxine. *Applied and Enviromental Microbiology*.pp:2141-2143 (1989).
12. Chumchalova, J. and Smarda, J. Human Tumor Cells are Selectively Inhibited by Colicins. *Folia Microbiol.*, 48: 111-5. Corbett *et al.*, 1984. (2003).
13. Jeffery,E.H. Compound interactions for efficacy of functional food. J. Nutr. 135:1223-5 (2005).
14. Adams, K.C.; Lindshield, L.; Wang, S.; Jeffery,H.E. Combination of Tomato and Broccoli enhance anti tumor activity in Dunning R3327-H prostate adenocarcinomas. *Cancer Research*, 67:836-843 (2007).
15. Kawamura, Y.; Manabe, M. and Kitla, K. Antitumor protein (AP) from a mushroom induced apoptosis to transformed human keratinocyte by controlling the status of PRb, C-Myc. Cyclin E-cdk2, and P21 waf-1 in the G1/S transition-Bio. *Factors*, 12: 157-160 (2000).
16. Kobori, M.; Yoshida, M.; Ohnishi, M.; Takei, T. and Shinmoto, H. 5 $\alpha$  8 $\alpha$  Epidioxy – 22E – ergosta – 6,9 (11), 22-trien-3A-01 from an Edible Mushroom suppresses growth of HL60 Leukemia and HT29 colon Adenocarcinoma cells.J. Biol. Pharm. Bull., 29(4): 755-759 (2006).

17. Chen, S.; Oh, S.; Phung, S.; Hur, G.; Kwok, S. L.; Shrode, G. E.; Belury, M.; Adams, L. S. and Williams, D. Anti-Aromatase Activity of Phytochemicals in White Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*). J. Cancer Res., 66(24): 12026-34 (2006).
18. Li, Y. M.; Ohmo, Y.; Minatoguchi, S.; Fukuda, K. and Fujiwara, H. Extracts from the roots of *Lindera strychnifolia* induces apoptosis in lung cancer cells and prolongs survival of tumor. Wearing mice. Am. J. Clin. Med. 31: 857 – 869 (2003).
19. Kim, S. E. ; Kim, Y.H. and lee, J.J. A new sesquiterpene ester from *Celastrus orbiculatus* reversing multi-drug resistance in cancer cells. J. Nat. Prod., 61:108-111 (1998).
20. Moteki, H.; Hibasmai, H.; Yamada, Y.; Katsuzaki, H.; Imai, K. and Komiya, T. Specific induction of apoptosis 1,8 – cineole in two human leukemia cell line, but not in a human stomach cancer cell lines. Oncology Reports, 9:757-760 (2002).
21. Belijanski, M. The anticancer agent PB-100 selectivity active malignant cell inhibits multiplication of sixteen malignant cell lines, even multidrug resistant. Genet. Mol. Biol., 23:224-235 (2000).
22. Cho, E.J.; Ykozawa, T.; Rhyu, D.Y.; Kim, H.Y. and Shibahara, N. The inhibitory effects of 12 medicinal plants and their component compounds on lipid peroxidation. Am. J. Chin. Med., 31:907-917 (2003).

## A Study on Relationship of Small Plasmid with Multidrug-Resistance Pattern in Pathogenic *E.coli* Local Isolates.

Zainab M. Naji, Haider Y. Ahmed And Hayder J. Mohamed

Department of Biology-College of Science-Al-Mustansiriyah University

Submitted : 29/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

عزلت ثمانون عزلة سريرية لبكتريا اشرشيا القولون من مرضى مصابين بالتهاب المسالك البولية من مستشفى مدينة الطب في بغداد , حيث تمت دراستها للتحقق من مقاومتها ضد تسعة مضادات ميكروبية وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالاقراص. غالبية العزلات المدروسة أظهرت مقاومة مختلفة للمضادات الحيوية المختبرة, فمقاومة الكلوكساسيلين و الترايمثبريم كانت 100% والأموكسيسيلين 90%. أما الجنتاميسين والسبروفلوكسين فكانت 60%.

تم اختيار ثلاث عزلات هي المرقم 2, 4, 7 لعزل البلازميدات باستخدام طريقة محورة عن طريقة العزل بالقاعدة دون استعمال انزيم الايسوزايم اوالفينول كلوروفورم. وقد وجد ان العزلات تحمل بلازميدات صغيرة يتراوح وزنها الجزيئي حوالي (2-4) كيلو قاعدي. تحيد البلازميدات في العزلات الثلاثة باستخدام صبغة الاكردين البرتقالي اظهر ان العزلات الطافرة خسرت محتواها البلازميدي بالاضافة الى مقاومتها للمضادات الحيوية بنسبة 80% الى كل من مضادات الجنتاميسين , أموكسيسيلين، كلوكساسيلين، و سيفتاكسيم في عزلة رقم 2 ونسبة 50 % لمضاد الاموكسيسيلين والجنتاميسين في العزلتين رقم 4 و 7.

### ABSTRACT

Eighty clinical isolates of *Escherichia coli* isolated from UTI patient at Medical City Hospital were studied to investigate antimicrobial resistance to nine antimicrobial agents. The majority of multiple drug resistance isolates showed different antibiotics resistance by using disc diffusion method. The current isolates were resistance to Cloxacillin and Trimethprim 100%, Amoxicillin 90% while the Gentamycin and Ciprofloxacin 60%. Afterwards, three isolates no.2, no.4, no.7, were subjected to plasmid isolation using modifying alkaline methods without Lysozyme and phenol chlorophorm. Isolates were carrying small plasmid estimated about (2-4) kb cured with Acridin orange , the mutated isolates loss their plasmid and antibiotic resistance about 80% to Amoxicillin Gentamycin, Cloxacillin,



and Cephtaxim in isolate no.2 and about 50% to Gentamycine and amoxicillin in isolates no.4 and no.7.

---

## INTRODUCTION

*Escherichia coli* has been established as etiological agents of human gastroenteritis, urinary tract infection (UTI) and diarrhea disease of human [1] ) this pathogenic bacteria resistant as a result of genetic mutations or acquisition of pre- existing genes that confer resistance [2] which occur either in the deoxyribonucleic acid (DNA) of bacteria chromosome or in the extra chromosomal transferable DNA called plasmid [3] .Phages and transposons are also able to transfer antibiotic resistance genes [4].

Intergenic and intragenic conjugal transfer of multiple antibiotic resistance genes was determined among bacteria [5] as well as transformation up take of extra cellular DNA [6].

The antibiotic resistant mutation arise spontaneously are generally resistant to only one antibiotic, however *E. coli* shown resistance to a number of older antimicrobial agents (Ampicillin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, and streptomycin) , kanamycin, gentamycin and nalidixic acid was also observed [7] as well as dramatic increase in resistance to the B-lactum with specific reference to the more recent cephalosporins to aminoglycosides [8],[9]

In this study we report the multi drug resistance (MRD) phenotype for the local resistance strain isolates from medical city hospital and plasmid related their resistancy by using alkaline procedure with out Lysozyme for extraction of plasmid.

## MATERIAL AND METHOD

**Bacterial strains:** - All 80 isolates used in the study were isolated from 80 UTI patient of medical city hospital in Baghdad.

**Susceptibility testing:-** Antimicrobial susceptibility testing bacteria isolates was done using the disc diffusion method as described by the National Committee for clinical Laboratory Standards [10] the antimicrobial agents used were Cloxacillin **Cx** (30µg) , Nalidix acid **Nal** (30 µg), Cefatoxime **Ce** (30µg), Ceftriaxone **Cro** (30 µg) , Trimethprin **Tr** (5 µg) Gentamycine **G** (10 µg) Ciprofloxacin **Cp** ( 5 µg ), Imipenem **IMP** (10 µg) and Amoxicillin **Amp** . ( 10 µg) .

Resistance was evaluated according to the reference zone diameter interpretation standards of NCCLS [11]

**Plasmid curing:**-Acridine orange for plasmid curing was used in this experiment, by incubating *E.coli* isolates overnight at 37C in lousy broth (LB) with different concentration of acridine orange ranging from 100 to 500  $\mu\text{g} \setminus \text{ml}$  [12] discrete single colonies were marked and sub cultured for antibiotics resistance the colonies that failed to show it resistances were selected as cured strain and screened for plasmid [13] .

**Plasmid isolation:** the alkaline plasmid method without Lysozyme was used for plasmid DNA isolation [13] and modified alkaline lysis procedure of plasmid without using phenol or chlorophorm [14] .

**Electrophoresis of plasmid DNA:** - 1% agarose in TBE buffer was used as described Maniatis [15]

## RESULT AND DISCCUSION

Increase in drag resistance trend has been reported earlier [16] [17]. *E.coli* clinical isolates have often been used as an indicator of the dissemination of acquired resistance genes [1].

In this study all 80 UTI isolates were screened for their resistance profiles show different class of resistance of multiple drug resistance (MRD) mutants against 9 antimicrobial agents. (Cloxacillin, Nalidix acid, Cephtaxime, Ceftriaxone, Trimethprin, Gentamycine, Ciproflaxin, Amoxicillin and Imipenem).

The 9 antimicrobial agent tested showed various degrees of resistance against Cloxacillin and Trimethprin 100%. Amoxicillin 90%, while Gentamycine and ciprofloxine was 60%

All isolates were sensitive to Imipenem 10  $\mu\text{g}$  .

In order to study the relationship of multi druge-resistant in *E.coli* isolates and their indigenous plasmid, three isolates were chosen No (2, 4, 7) for plasmid profile and curing experiment, depend on their MDR to antimicrobial agents

(Cx, Nal ,Amp ,Cro. Tr, Ce, G and Cp)

Plasmid profile results were obtained using the modified alkaline lysis procedure of plasmid without using phenol or chlorophorm [15].

Plasmid molecular weight in this experiment ranged from ( 2-3Kb) for the isolates no.( 4 and 7) which harbor one plasmid fig. No. 1 E,F and (2-4.5) kb this agree with previous studies reported that a bacterial isolates carrying low molecular weight plasmids Ranging in size from 2.3- 30Kb, [18] ,[19] , [1] thus the inability of these isolates to harbor plasmid with

large molecular weight does not affect its ability to confer resistance to the various antibiotics [1] the result also show that isolate no. 2 harbor two plasmid [1] fig.No.1 A

Plasmid curing experiment with acridine orange in liquid culture showed elimination of plasmid corroborated by lost of resistancy for antimicrobial agents, 80% of the treated cells isolate (no.2) lost its resistancy to Gentamycine, Cloxacillin, Cephtaxim, and Amoxicillin. 50% of the curing Isolates (4 and 7) lost its resistance to Gentamycine and amoxicillin. Plasmid extraction for curd cells showed lost of plasmid for the three selected isolates (2, 4, and 7) fig. No.1, B, C, D The result show the successes of liquid method in plasmid curing [20]

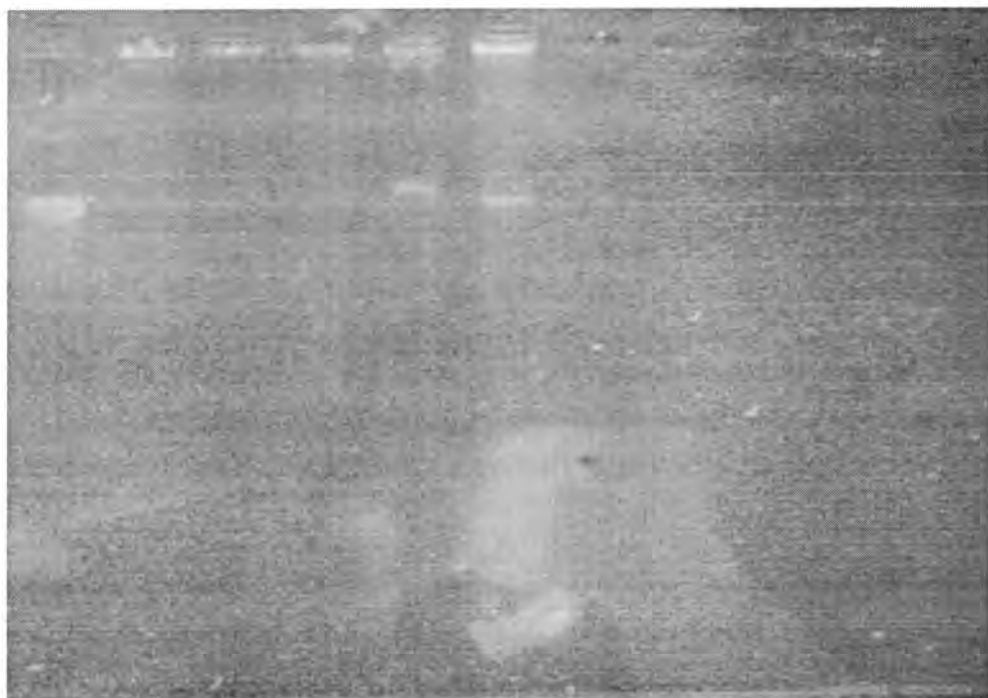
The results in our study of *E.coli* UTI isolates may led to the suggestion that there may be the presence of multiple plasmid in the mutants or a plasmid carrying multiple resistance determinants [21] and these kinds of plasmid may be related to R- plasmid or R factor

which exhibited widely within the Enterobacteriaceae *E.coli*, *Kelbsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* and *Salmonella* [2],[19],[20] [23] .

The evolution of multi-resistance antibiotic among Gram – negative bacteria has been widely reported as antimicrobial resistance change over time and some pathogens that were once considered routine to treat are developing resistance to almost all antibacterial agents. The continued mismanaged selective antimicrobials agents contributed towards the emergence of multiple drug resistant bacteria, and that has been regarded as an inevitable genetic response to antimicrobial therapy [24], [25]

Our suggestion that we need for periodic antibiotic resistance survey to help local physicians on the best treatment strategies to the current antimicrobial resistance patterns of UTI pathogens in our communities.

A B C D E F



**Fig.1 Agarose gel electrophoresis 1% of purified plasmid DNA for original and cured *E.coli* MDR local isolates,**

(A) – isolates no.2, (E) – isolates no.4 and (F) – isolates no.7.  
 (B), (C) and (D) represent the cured isolates for no.2, 4, and 7

### REFERENCES

- [1]-Uchechi N .Ekwenye and Erinmakaz." Investigating of plasmid DNA and antibiotic resistance in some pathogenic organisms". Afri J. of Biotech. vol.6 (7), 877-880. (2007).
- [2]-Brown JC, Shanahon PMA, Jesudason MV, Thomas CJ and Amyes.SG," Mutation responsible for reducing susceptibility to 4-quinolones in clinical isolate of multi-resistant *Salmonella Typhi* in India". J. Anti chemo. 37: 891-900. (1996).
- [3]-Summers .DK. "The biology of plasmids". Cambridge: Mass Blackwell Science Ltd. (1996).
- [4]-Kokjohn TA "Transduction mechanism and potential for gene transfer in the environment".73-97. (1988).



- [5]-Hasan M. Zahid , Zinat Mahal and Mamun R.Chowdhury." Intergenic and intragenic conjugal transfer of multiple antibiotic resistance determinants among bacteria in the aquatic environment of Bangladesh" .Afri J of Biotech. vol.8(2): 155-160 . (2009).
- [6]- Stewart, G. J. The mechanism of natural transformation, 139–164. In S. B. Levy and R. V. Miller (ed.), Gene transfer in the environment. McGraw-Hill Publishing, New York, N.Y (1989).
- [7]- Alessandro B., Lucia P., Marta B., Connie F., Yolanda V., Elisa G., Ana Liz V., Antonia M., Chiara L., Filippo B., Marianne S., Angela B., Herlan G., Hugo R., Torkel F., Göran K., Eduardo G., Franco P. and Gian Maria R."Multi- resistant commensal *Escherichia coli* in children, Peru and Bolivia" .Emerging infec.dis. Vol.12(6): 907 – 913. (2006)
- [8]-Jacoby,G.A."Genetics of extended-spectrum beta-lactamase". Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.,23(suppl.1):2-11. (1994)
- [9]- Stratchounski L., Abrarova E., Edelshtein I., Suvorov M., Reshedko G., Krechikova O.,Iljina V., Gugutsidze E., Furlotova N. and Petrochenkova N. , " Antimicrobial resistance pattern of gram negative urinary tract pathogens isolated from outpatients in Russia" In: proceedings of the 9<sup>th</sup> European Congress .Berlin. March 21-34, (Poster#PO344) (www.antibiotic.ru). (1999)
- [10]- National Committee for Clinical Laboratory Standards,."Methods for dilution antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that grow Aerobically" .4<sup>th</sup> Edn, Approved standard M7-A4. National committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne,Pa(1997).
- [11]- National Committee for Clinical Laboratory Standards," Performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing Ninth Information Supplements" NCCLS Document M100-S9. National committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne,Pa. (1999).
- [12]- Fujii T, Takeo M, Maeda Y., "Plasmid- encoded genes specifying aniline oxidation from *Acinetobacter* sp.starin ". Microbiology 143: 93-99. (1997).
- [13]-Biarmbaim HC,Doly J " A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant DNA" .Nucleic Acid Res.7:1513-1523 .(1979).

- [14]-He,M.,Wield,A.and Kaderbhai,M.A". A simple single – step procedure for small scale preparation of *Escherichia Coli* plasmid". Nucleic Acids Res.18, 1660. (1990).
- [15]- Maniates, T., E.F.Fritsch and J.Samborck,"Molecular cloning, A laboratory manual.", Cold Spring Harbor ,New York. (1982).
- [16]- -Rasool , SA., Ahmed B. and Iqbal. A. " Multiple drug resistance among indigenous clinical *Staphylococci* In vivo manipulation and characterization of the R-plasmids." Proc.Pak.Congr.Zool., 13:439-447.(1993).
- [17]-Ghazala,S.S." Plasmids of indigenous *Pseudomonads* : Characterization and gene manipulation." Ph D thesis University of Karachi .pp1-190. (2000).
- [18]- Ogunledun,A., Daini O.A. and Sule- Odu A.O, Amballi A.A. ,Fakoya A.O.,Iwalokun b.A."Antibiotic resistance and R- Plasmids of *K.Pneumoniae* in asymptomatic bacteriuria." Afr.J.Med.Pharm.Sci. 1:27-34. (2000).
- [19] Franiczek R., DolnaL,Kryzanowska B.,Szufnarowski K.,Kowalska-Krochmal B. and Zielinska M.."Conjugation transfer frequency of resistance gene from ESBL- produces Enterobacteriaceae strains isolated from patients hospitalized in pediatric words."( in Polish). Medycyna doswiadczalna i Mikrobiologiai.58 (1): 41-51. (2006).
- [20]-Abdel–Salalm,M.S., Abdel–Salam,A.Z., Ibrahim,S.A., Abosereh,N.A and Sa'eb,A.T.M." Resistance plasmid of indigenous *Pseudomonas* in Egypt." .J. Applied Science Research, 3(9):873-878. (2007).
- [21]- Martínez-Martínez, L., Hernández-Allés, S., Albertí, S., Tomás, J. M., Benedí, V. J. and Jacoby, G. A. ". In vivo selection of porin – deficient mutant of *Klebsiella pneumonia* with increased resistance to cefoxitin and expanded spectrum cephalosporins." *Antimicrob Agents Chemother* ., 40:342-348.(1996).
- [22]-Okeke IN, Lamikanra A. and Edelman R.Socio- "economic and behavioral factors leading to acquired bacterial resistance to antimicrobial agents in developing countries." *Emerg. Infect Dis.*, 5:18-27. (1999).

- [23]- Deniyi B.A.A, Amajoyi C.C and Smith S.I ."Plasmid profile of multidrug resistant local uropathogenic *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. and *Pseudomonas* spp.Isolates .J Bio.Sci. 6(3): 527-531.(2006).
- [24]-Sahm, D.F., Thormsberry C., Mayfield D.C., Jones M.E., and Karlowsky J.A.".Multidrug resistant urinary tract isolation of *E.coli* .Prevalence and patients demo- graphics in the united State in 2000" . Antimicrobs. Agent. Chemother., 45:1402-1406. (2001).
- [25]-Iroha I.R , Oji A.E. and Esimone C.O." Antimicrobial resistance pattern of plasmid –mediated extended –spectrum B- Lactamase producing strain of *Escherichia coli*". Sen.Res and Assay.,vol 3 (6) : 215-218.(2008).

## Synthesis of New Schiff bases Derivatives from 1, 3, 4-Thiadiazole and it's Resins

\*Redha I. AL-Bayati, \*\*Mahmood Abdul Jabar Issa and \*\* Eman M.M.Hassan

\*Department of Chemistry-College of Sciences-Al-Mustansiriyah University

\*\*Department of Chemistry-College of Sciences Women-University

Submitted : 14/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

ابتداءً من المركب الأساس (2-أمينو-5-مركبتو-1، 3، 4-ثياديازول) (1) ثم تحضير قاعدة شيف له (2) يتفاعل المركب الأساس مع بارافينيل ديهايد بوجود الإيثانول. قاعدة شيف تفاعلت مع الهيدرازين لتعطي المركب رقم (3) الذي تحول الى المركب رقم (4) بعد تفاعله مع مثيل ثايوازوسيايث الذي تفاعل مع الفورمالديهايد ليعطي الراتنج المثلولي رقم (5) الذي يتفاعل بدوره مع الكحولات ليعطي الراتنجات الإثيرية المقابلة حيث يتفاعل مع الميثانول أو البيوتانول وأعطت المركبات (6 و 7) التي تفاعلت مع الإيبوكسي كلورو هيدرين يوجد هيدروكسيد الصوديوم فكتوت الراتنج الإيبوكسي (8 و 9).

وأخيراً فإن الراتنج الإيبوكسي (9) تفاعل مع المورفلين بوجود الميثانول البارد فأعطى الراتنج المفتوح الحلقة (15).

### ABSTRACT

Starting from 2-amino-5mercapto-1, 3, 4-thiadiazole (1) which prepared from thiosemicarbazide and CS<sub>2</sub> in the presence of anhydrous Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, the Schiff base (2) prepared from corresponding (1) with p-hydroxy benzaldehyde. Compound (3) was obtained from the reaction of compound (2) with hydrazine hydrate and then converted into compound (4) by refluxing with phenylthioisocyanate in boiling ethanol about 7h. Treatment compound (4) with formaldehyde in the presence of NaOH afforded the corresponding methylolic phenolic resin (5) which upon treating with methanol or butanol in the presence of conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gave etheric resins (6,7) respectively.

The epoxy resins (8,9) were prepared from the corresponding etheric resins with epichlorohydrine in the presence of NaOH.

Finally reaction of appropriate epoxy resin (9) with morpholine leads to ring open giving resin with unstitched ring (10).



## INTRODUCTION

The thiadiazole have occupied an important place in drug industry[1], 1,3,4-thiadiazole heterocyclic entities that are very interesting components in terms of their biological activities, such as antifungal[2], antibacterial, herbicida[3] and plant growth regulator activities have been reported[4], 2-amino-5-mercapto-1, 3, 4-thiadiazole which merits special attention due to its properties in forming well-known azo dyes[5]. Also these heterocyclic compound will be used to evaluated their potential for coating metal surfaces in processes of corrosion inhibition[6].

Schiff bases have also been widely reported to be biologically versatile compounds having antifungal, herbicided, plant growth regulating properties[7] and used as rubber accelerators and photo stabilizer in poly alkenes[8].

## MATERIALS AND METHODS

Melting point were determined in (Gallen Kamp) apparatus and are uncorrected, the FT-IR spectra of the compounds were recorded on (SHIMADZU) FT-IR, 8300 (4000-666)  $\text{cm}^{-1}$  spectrometer as KBr-disc. UV spectra were performed on (Cory/VARIAN) spectrophotometer in (190-900)nm using absolute ethanol as solvent. Elemental analysis (C.H.N) were performed in (SYRIAN ARAB REPUBLIC/ATOMIC ENERGE) commission (AECS), Thermal Gravimetric analysis TGA was performed in center of consultation / University of Jordan.

### Preparation of 2-aminc-5-mercapto-1, 3, 4-thiadiazole (1):

This compound was prepared according to the method in the literature m.p 232-234 (lit.m.p, 230-232°C).

### Preparation of 2-[N(4-hydroxy benzylidene)]-5-mercapto-1, 3, 4-thiadiazole (2)

A mixture of compound (1) (0.007mole) and p-hydroxy benzaldehyde (0.007mole) in absolute ethanol was refluxed for 5h. The solid formed was recrystallized from ethanol (table 1 & 2).

### Preparation of [4-[(5-hydrazino-[1, 3, 4-thiadiazole-2-YL imino)-methyl]- phenol (3) (9).

A mixture of compound (2) (0.01mol) and hydrazine hydrate (0.01mol) in absolute ethanol (15ml) was refluxed until the evolution of  $\text{H}_2\text{S}$  ceased (6h). The solid was filtered off and recrystallized from ethanol (table 1&2).

**Preparation of 2-{5-[(4-hydroxy benzylidene) amino] 1, 3, 4-thiadiazole -2-YL}-N- phenyl hydrazine carbothioamide (4) (10)**

A mixture of compound (3) (0.001 mol) and phenyl isothiocyanate (0.001 mol) in absolute ethanol (20ml) was refluxed for 7h. This solid was filtered and recrystallized from ethanol (table 1 & 2).

**Preparation (2-(5-{4-hydroxy - 3, 5-bis-(hydroxyl methyl) benzylidene] amino}-1, 3, 4-thiadiazole-2-YL)-N- phenyl hydrazine carbiothio amide (4) (10)**

A mixture of compound (3) (0.001 mol) and phenyl isothiocyanate (0.001 mol) in absolute ethanol (20ml) was refluxed for 7h. The solid was filtered off and recrystallized from ethanol (table 1&2).

**Preparation of methylolicphenolic Resin (5) <sup>(10)</sup>**

To a mixture of an appropriate Schiff base (0.003 mol) and formaldehyde solution (37-41%) (0.004 mol) in tetrahydrofuran (50 ml), ethanolic sodium hydroxide solution 10% was added portion wise to keep the pH of the reaction mixture (9-10), then heated the mixture in oil bath (50-60°C) for 3h.

The reaction mixture was cooled (5-10°C) and neutralized with alcoholic phosphoric acid (10%), then filtered and dried.

The excess solvents were distilled off and the residue recrystallized from appropriate (table 1 & 2).

**Preparation of Etheric Resins (6,7).(10)**

To a mixed an appropriate alcohol (CH<sub>3</sub>OH or C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH) (0.08 mol) with conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1ml) at 5°C, an methylolic phenolic resin (0.4mol) was added gently about 1h, then increased the temperature gradually to the boiling alcohol for 24h, then neutralized the cooled mixture using solid sodium hydroxide, the resin formed was extracted using CHCl<sub>3</sub>, then dried and evaporated under vacuum. The residue was recrystallized from CHCl<sub>3</sub> (table 1 & 2).

**Preparation of Epoxy Resins (8, 9).(10)**

A mixture of an appropriate methylolic phenolic (0.01mol) or etheric resin (0.12 mol) and eipychlorohydrin to 5°C for 15 min.

Added gently sodium hydroxide (0.14 mol) in two portions to keep the temperature below 65°C. the stirring was continued for 2h after first addition. The aqueous layer was separated from the organic layer, then the second portion of NaOH added and stirred further for 1h, and left the mixture at the same temperature for 30 min., and also the aqueous was separated. The organic layers were dried and excess of eipychloro hydride and solvents distilled off under reduced pressure. The formed resins were

purification by dissolving it in THF then filterasation and evaporazation of excess solvent at 50°C (table 1&2).

### Preparation of Resins with Unstitched Ring (10).(12)

A mixture of an appropriate epoxy resin (0.07mol) in cold methanol (30 ml) and morpholine (0.015 mol) was heated in oil bath (100-125°C) for 72h, after cooling, the solvent was evapourated and the residue recrystallized from methanol.

**Table -1: Depacited Physical Properties of Compounds (1-10)**

Compound No.	Moleculer Formula	Yield %	Colour	Purification Solvent	M.P °C
1	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N <sub>3</sub> S	58	Yellow	Ethanol	230-232
2	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S <sub>2</sub> O	80	Yellow	Ethanol	88-90
3	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>5</sub> SO	72	Orange	Ethanol	90-92
4	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>6</sub> S <sub>2</sub> O	72	Orange	Ethanol	97-99
5	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>6</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	66	Red	THF	Oily
6	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>6</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	45	Red	THF	Oily
7	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	50	Brown	CHCl <sub>3</sub>	Oily
8	C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> N <sub>6</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	40	Brown	THF	Oily
9	C <sub>29</sub> H <sub>37</sub> N <sub>6</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	40	Brown	THF	Oily
10	C <sub>33</sub> H <sub>47</sub> N <sub>7</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	36	Brown	Methanol	Oily

## RESULTS AND DISCUSSION

The synthesis start from 2-amino-5-mercapto - 1, 3, 4-thiadiazole (1) the amino group of compound (1) was readily converted into Schiff base derivative (2) by heating under refluxing with abs.ethanol. The FT-IR spectrum showed the azomethine group (C=N) at (1643, 1597) cm<sup>-1</sup> and stretching bands of (OH) at (3400-3140) cm and aromatic (C=C) at (1564, 1512) cm<sup>-1</sup> and phenolic (C-O) absorption at (1265) cm<sup>-1</sup> combined with disappearance of (NH<sub>2</sub>) at (3390-3275) cm<sup>-1</sup> -UV spectrum showed maximum absorptions at (395)um, (345)nm clearly due to n→π\* and π→π\* transition respectively.(13)

Reaction of the compound (2) reacted with hydrazine hydrate in boiling ethanol gave compound (3) indicated in FT-IR spectrum showed of (NH<sub>2</sub>) and (NH) stretching bands at (3259-3150) cm<sup>-1</sup> and (3136)cm<sup>-1</sup> combined with disappearance of (SH) absorption in (2619)cm<sup>-1</sup>. Also UV spectrum electronic transition at (395) nm, (310) nm for n→π\*, π→π\* transition respectively. (13)

Further derivatives (4) was afforded by reaction between compound (3) with phenyl thioisocyanate the structure of (4) obtained in FT-IR spectrum the presence of stretching bands of (NH) at (3259-3136) cm<sup>-1</sup> combined with appearance of absorption bands for (C=S) out of plane at (1520) cm<sup>-1</sup>. UV

spectrum showed strong bands at (335) nm, (295) nm for  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  transition respectively. Another hand elemental analysis (C.H.N) (found) [%H 3.78 (3.89), %C (51.89 (51.99), %N 22.70 (22.78)] table (1-3).

Compound (4) reacts with formaldehyde in presence of NaOH afforded methylolic resin (5) which indicated in FT-IR spectrum showed abroading stretching bands of (OH) in (3420-3220)  $\text{cm}^{-1}$  and strongbands of aliphatic ( $\text{CH}_2$ ) at (2935) nm. UV spectrum a maximum absorptions at (311)nm, (294)nm due to  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  transition respectively. Thermal stability of resin (5) showed in fig. (1) (table 4). (9)

Compound (5) reacts with (methonl or butanol) gave etheric resins (6, 7) which medicated in FT-IR spectrum at strong bending absorptions of (C-O-C) at (1157-1126)  $\text{cm}^{-1}$ . Also UV spectrum gave transition at (284) nm, (218) due to  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  respectively.

Further derivatives (8, 9) gave by reaction between resins (6,7) with eipychlorohydrin which indicated in FT-IR spectrum showed oxirane absorption at (932-917)  $\text{cm}^{-1}$  combined with decreasing of absorption value of methylolic at (3310-3228)  $\text{cm}^{-1}$ . Also UV spectrum gave a strong absorption at (285) nm, (230) nm due to  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  respectively.

Finally epoxy resin (a) reacts with morpholine in cooled methanol gave epoxy with unstitched ring (10) which indicated in FT-IR showed increasing in stretching band of (OH) group at (3406-3109)  $\text{cm}^{-1}$  stronge absorption for bending vibration for (C-O-C) at (1060-1002)  $\text{cm}^{-1}$ . UV spectrum gave transition at (268, 261) nm, (218)nm due to  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  respectively, another hand elemental analysis (C.H.N) (found) [%H 6.88 (6.99), %C 57.81(57.98), %N 14.31 (14.90)] table (3).

**Table -2 : (FTIR-UV) Spectral Data of Compound (1-10)**

Comp. No.	UV (EtoH)	Characteristic bands of (FT-IR) spectra $\text{cm}^{-1}$ (KBr.Disc.)					
	$\lambda_{\text{max}}$ nm	$\sum_{\text{max}} \times 10^{-3}$ $\text{L.mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{NH}_2, \text{OH}}$	$\nu_{\text{CH}_2}$	$\nu_{\text{C}=\text{N}}$	$\nu_{\text{C}=\text{C}}$	Others
1	310 290	1.90 2.00	3390 3275	-	1597 1606	-	$\nu_{\text{SH}}$ (2619) $\nu_{\text{C}=\text{S}}$ out of plane (1535, 1496)
2	395 345	0.45 1.25	3400 3236 3140	-	1643 1597	1564 1512	$\nu_{\text{CH}}$ out of plane (820-650) $\nu_{\text{SH}}$ (2692) $\nu_{\text{CH ARO}}$ (3062) $\nu_{\text{C-O}}$ (1265)
3	395 310	1.25 2.100	3379 3267 3182 3132	-	1620	1570 1565	$\nu_{\text{CH ARO}}$ (3109)



**Synthesis of New Schiff bases Derivatives from 1, 3, 4-Thiadiazole and it's Resins**  
**Redha, Mahmood and Eman**

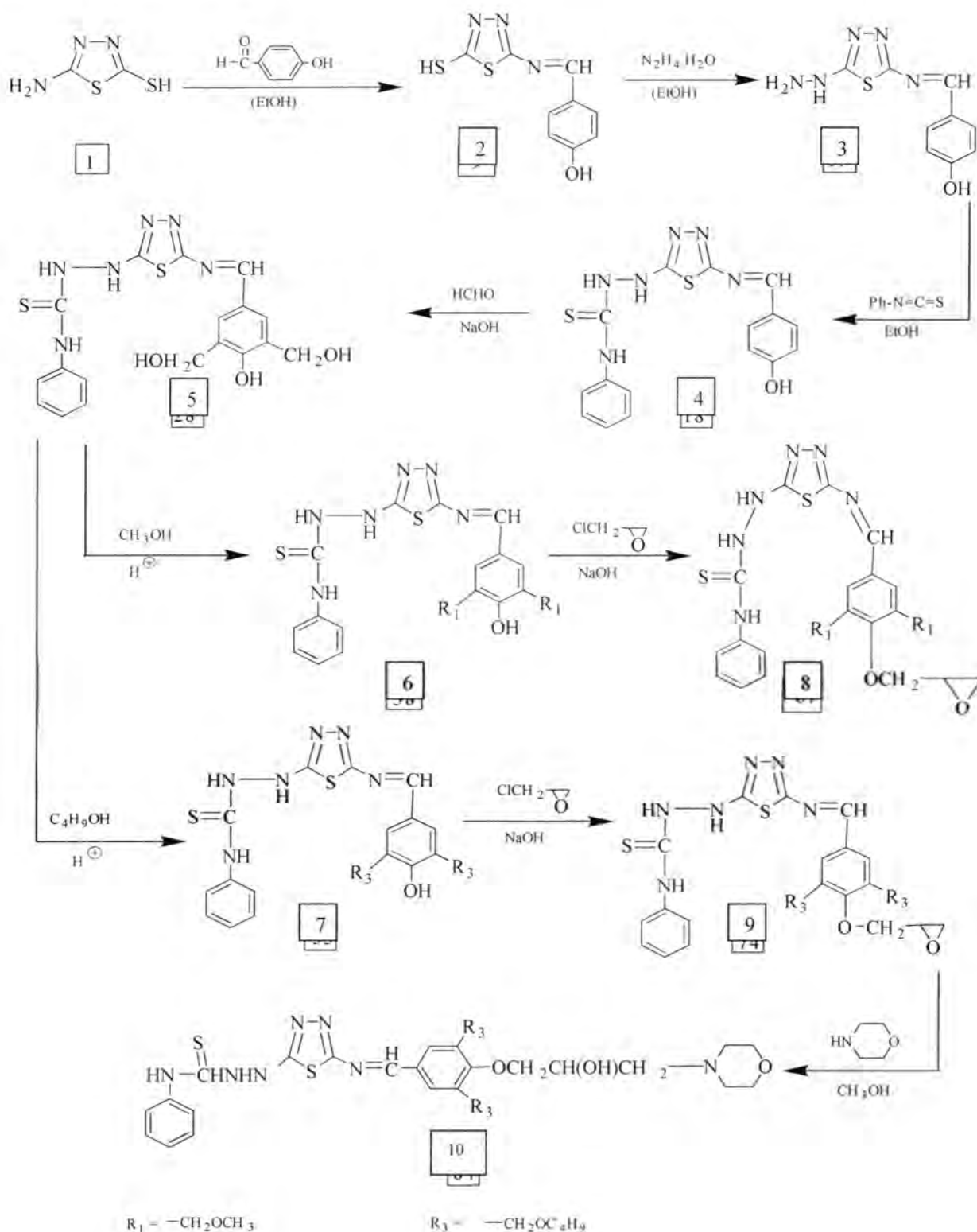
4	335 295	0.8 1.65	3259 3150 3136	-	1606 1597	-	$\nu_{C=S}$ out of plane (1520) $\nu_{C-O}$ (1250)
5	311 294	1.132 1.431	3420 3220	2935	1620	1550	$\nu_{C=S}$ out of plane (1522)
6	284 218	0.984 1.433	3221 3105	2945	1627 1603	1554	$\nu_{C-O-C}$ (1157, 1126)
7	286 282	1.921 1.971	3342 3120	2988	1602	1560	$\nu_{C-O-C}$ (1033) $\nu_{C-O}$ (1203)
8	285 230	0.191 1.201	3310 3228	2920	1622 1609	1525	$\nu_{C_7C}$ (932,917) O
9	282 209	1.342 1.991	3471 3136	2977 2924	1645	1530	$\nu_{C_7C}$ (979, 922) O
10	268 261 218	0.853 1.015 1.307	3406 3278 3109	2958 2938	1624	1545	$\nu_{C-O-C}$ (1060, 1002)

**Table -3: Depatied Elemental Analysis (C.H.N) of som Compounds**

Comp. No.	C.H.N Analysis % Calculated (Found)		
	% H	% C	% N
4	3.78 (3.89)	51.89 (51.99)	22.70 (22.78)
9	6.88 (6.99)	57.81 (57.98)	14.31 (14.90)

**Table -4: The Curing Temperature (thermal stability) for Resin(4)**

Resins	Primary disiossation	Finally disiossation	%50 disiossation weight	Average disiossation	%char. contant
4	297	360	347	325	97.48



Scheme Explain Preparation of Schiff Bases and Its Resin (Methyolic, Etheric and Epoxy) for Compound (2)

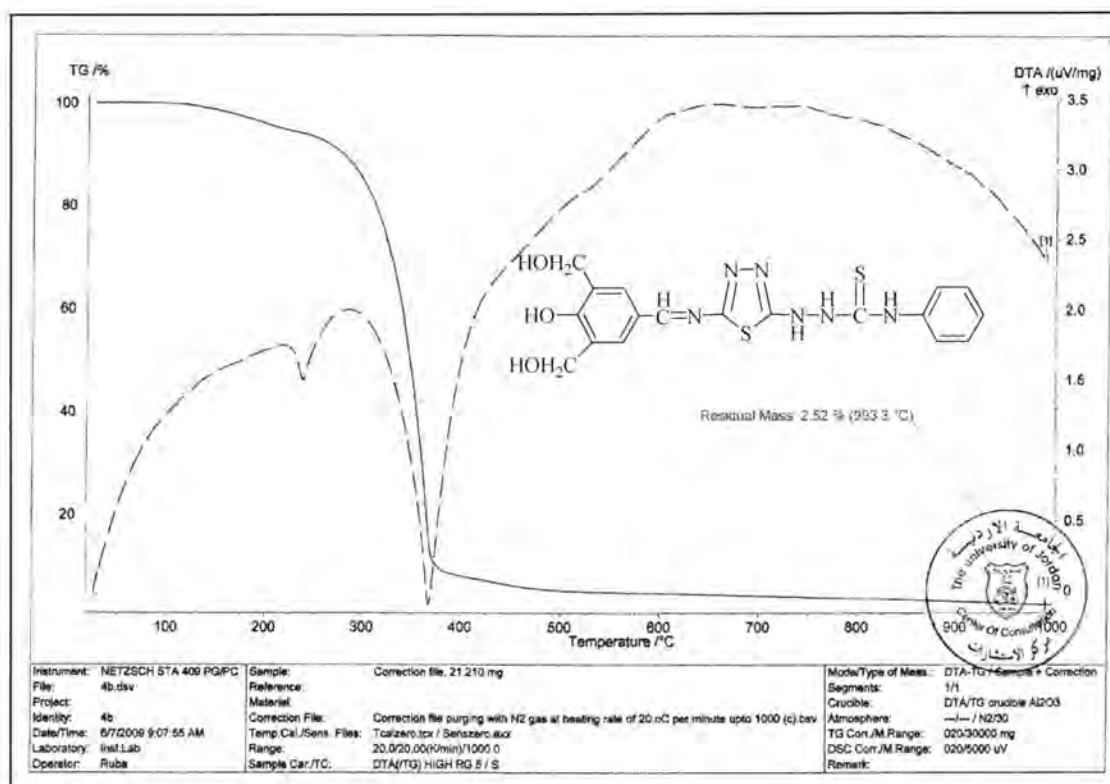


Fig.-1: Depiated Thermal Stability in TGA for Resin (4)

## REFERENCES

- 1- Y.A.AL-Soud, N.A.AL-Masoudi A New class of dihaloquinolones bearing N-aldehydoglycosycarbohydrazides , mercapto-1,2,4-triazole , oxadiazoline and amino acid ester precursors: synthesis and antimicrobial activity" . Brazilian Chem. Soc; Vol (14), 790-796 (2003).
- 2- Z. Seferoglu, T.Hokelek; J. "Bio Organic & Medici Chemistry", Vol. (letter 14), 5781-5786 (2004).
- 3- K. Liska, M. John; "Drugs and Human Body", 6<sup>th</sup> ed., Chapter 12, New Jersey, (1996).
- 4- C. Hansong, Li. Zhengming and H.Yufena" Synthesis and Fungicidal Activity against Rhizoctonia Solani of 2-Alkyl (Alkylthio)-5-Pyrazolyl-1,3,4-Oxadiazoles (Thiadiazoles) J.Agric.Food.Chem; 48, 5312-5315 (2000).
- 5- S.S. AL-Shihry; J. "Basic and Applied Science", King Faisal Univ., Vol. (6), No (2), 1426H, (2005).

- 6- J.Sanstrom; "Cyclizations of Thiocarbohydrazide and its Mono-hydrazones "Acta. Chem. Scand, 15, p 1300, (1961).
- 7- د.ذنون محمد عزيز " كيمياء اللواصق والأصبغ والأطلية البوليمرية " ، كلية العلوم / جامعة بغداد (77-78)، (1990).
- 8- T.E.Bell. H.D.Herman; "Encyclopedia of polymer Science and Technology", Vol. (2), 310-312 (2005).
- 9- H.Singh, L.D.S.Yadav and B.K.Bhathacharya; J.Indi.Chem.Soc, Vol (LV1), 1013-1016, (1979)
- 10- G.A.Adam, Iraqi, patent, 1846, (1986).
- 11- T.S.Najim Amel. M.Nagi and Salah A.A.AL-Naimi; J. Iraqi. "Polymers", Vol. (11), No.(1), 11-20, (2007).
- 12- H.M.Kang, N.I.Kim and T.H.Yoon; J. "Adhesion", Sci, Tech, 16, P1809, (2002).
- 13- R.M.Silverstein; "Spectrometric Identification of Organic Compound", 4th Ed., part 2, (1981).



## Theoretical Studies and Biological Activities of New Mannich Bases Triazole Derivative with VO(IV),Co(II),Cu(II),Pd(II),Rh(III),Pt(IV),Zn(II)and Cd(II)Ions

Rehab A.M. Al-Hasani

Al-Mustansiriyah University-College of Science-Department of Chemistry

Submitted : 13/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة:

يتضمن هذا البحث معالجة تكوين المعقدات نظرياً في طور الغازي لقواعد مانخ:-

[N {2(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)methyl} dipropyl amine] [L1]

[N {2(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)methyl} dibutyl amine] [L2]

[N {2(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)methyl} diisobutyl amine] [L3]

باستخدام برنامج (6-Hyperchem) وتطبيق الميكانيك الجزيئي والشبه التجريبي في الحساب وباستخدام الدوال (PM3 و ZINDO و AMBER) لحساب حرارة تكوين ( $\Delta H_f^\circ$ ) وطاقة التآصر ( $\Delta E_b$ ) وبدرجة حرارة 298 كلفن للمركب (4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole) وليكاندات [L3,L2,L1] و معقداتها المحضرة , كذلك تم حساب الجهد الكهروستاتيكي لليكاندات [L3,L2,L1] لبيان المواقع الفعالة ضمن الجزيئة .جرى كذلك حساب التردد الاهتزازي نظريا و باستخدام الدالة PM3 لليكاندات [L3,L2,L1] ومقارنتها مع القيم المقاسة عمليا باستخدام (4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole) كمركب قياسي ووجد بأن هنالك توافقا كبيرا بين القيم العملية والمحسوبة نظريا مع إمكانية تشخيص الحزم بشكل أدق.

تمّ تقويم الفعالية المضادة للبكتريا للمركب [4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole] وليكاندات [L3,L2,L1] ومعقداتها (R24-R1) وأختير نوعان من البكتريا (*Escherichia coil*) سالبة الصبغة و (*Staphylococcus aureus*) موجبة الصبغة لهذا الغرض ودراسة أقل تركيز يحدث عنده التثبيط (MIC). تمت مقارنة فعالية المركبات المحضرة مع المضادات الحيوية (Amoxcillin) و (Ampicillin). كما تم إجراء التقويم الحيوي للمركب [4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole] و لليكاندات [L3,L2,L1] ومعقداته ضد نوعين من الفطريات (*Penicillium* و *Aspergillus flavus*) وقد أظهرت نتائج التقويم زيادة كبيرة في فعالية المعقدات المحضرة منها.تم تفسير الفعالية المضادة للبكتريا و الفطريات

إلى التأثير المتداوب للفعالية بين الفلز و الليكاند فضلاً عن الاختلاف في تراكيب المركبات  
المحضرة .

## ABSTRACT

This work include a theoretical treatment of the formed complexes of the Mannich bases in the gas phase

[N {2(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)methyl} dipropyl amine]

[L1] [N {2(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)methyl}dibutyl  
amine] [L2]

[N {2(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)methyl} diisobutyl amine]  
[L3]

By using the (Hyperchem-6) program for the Molecular mechanics and Semi-empirical calculations. The heat of formation( $\Delta H_f^\circ$ ) and binding energy ( $\Delta E_B$ ) for (4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole) and [L1,L2 and L3] ligands and their metal complexes were calculated by ( PM3 , ZINDO and AMBER ) methods at 298 K°. Furthermore the electrostatic potential of the free ligands [L1,L2 and L3] were calculated to investigate the reactive sites of the molecules.

PM3 were used to evaluate the vibrational spectra of the free ligands [L1,L2 and L3] then compare the theoretically calculated wave numbers with the experimental values by using the (4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)as authentic compounds .The theoretically obtained frequencies agreed with those found experimentally, in addition the calculation helped to assign unambiguously the most diagnostic bands.

The antibacterial activity for (4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole) and free ligands [L1,L2 and L3]and their metal complexes(R1-R24) were studied against two selected micro - organisms [(*Escherichia coil*) as gram negative] and[(*Staphylococcus aureus*) as gram positive]. The minimal inhibitory concentrations (MIC) have been also studied to determine the low concentration for inhibition. The antibiotics (Amoxcillin and Ampicillin) have been chosen to compare their activity with those of the new compounds. Further more the antifungal activity against two micro-organism (*Penicillum.*) and (*Aspergillus flavus*) were studied for all compounds. The results showed great enhancement of activity of the complexes relative to that of their respective (4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole) and free ligands [L1,L2 and L3].This was attributed to the synergetic effect between the metal ion and the ligand, in addition to the differences in the structural varieties.

## INTRODUCTION

Mannich reaction is a three – component, condensation reaction consisting of active hydrogen containing compound, formaldehyde and a secondary amine(1-4). In our previous work(5-7) the three mannich bases (L1, L2 and L3) and their metal complexes(R1-R24) have been prepared and investigated using different chemical techniques, as well as molar ratio method measurement in solution gave comparable results with those obtained from solid state studies. Continuing the studies on free ligands (L1, L2 and L3) and their metal complexes (R1-R24), this paper reports here the theoretical studies in the gas phase was done by using semi-empirical method in order to show the most stable conformation. The study aims to calculating the heat of formation and binding energy for all the probable geometries and to find the most active sites of the mannich bases (L1, L2 and L3) by using the electro static potential calculations. Calculation of the vibrational frequencies of the(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)(TRZ) and free ligands [L1, L2 and L3] have also been carried out in order to compare the results with the experimental vibrational frequencies to make a certain assignment of the most diagnostic bands.

As well as biological activities for free ligands (L1, L2 and L3) and their metal complexes (R1-R24) were employed in the present study to show the effect of introducing the amino methyl group in the triazole ring and to investigate the coordination behavior of the(L1, L2 and L3) toward some transition metal ions and to compare the biological activity of the ligands and their complexes with the main ring structure.

## MATERIALS AND METHODDS

### (A)-Theoretical treatment:-

Hyperchem is a sophisticated molecular modeler, editor and powerful computational package, that is known for its' quality, flexibility and ease of use(8,9). It can plot orbital wave functions resulting from semi-empirical quantum mechanical calculations, as well as the electrostatic potential, the total charge density or the total spin density can also be determined during semi-empirical calculation, this information is useful in determining reactivity and correlating calculation results with experimental data.

### *Computational methods:*

- a) Semi -empirical quantum mechanical
- b) Molecular mechanics
- c) Mopac 2000

### **Types of calculations:**

The types(10,11) of prediction possible of Molecules are:

- a) Geometry optimization calculations employ energy minimization algorithms to locate stable structures.
- b) Bond distances
- c) Molecular dynamics witch provide the thermodymemic calculations and dynamic behavior of molecules
- d) Plot the electrostatic potential field (HOMO and LUMO).
- e) Vibrational spectrum (I.R and Raman spectra).

### **(B)-Biological activities:-**

The *in vitro* biological screening effects of the investigated compounds were tested against selected types of bacteria which include (*Escherichia coil*) as gram negative and (*Staphylococcus aureus*) as gram positive and the fungus, (*Penicillum Spp.*) and (*Aspergillus niger*) by the Well Diffusion Method(12,13) using agar nutrient as the medium. Stock solutions ( $10^{-3}$ M) were prepared by dissolving the compounds in DMSO solution. In a typical procedure, a well was made on the agar medium inoculated with microorganisms. The well was filled with the test solution using a micropipette and the plat was incubated at 35°C for 72 hours. During this period, the test solution diffused and the growth of the inoculated microorganisms was affected. The second technique was to get the sensitivity of each microorganism toward the new compounds by determining the minimal inhibitory concentration (MIC) which was a achieved by using Tube Dilution Method (12,13) . The (MIC) of the new compounds for each micro-organism was measured at the lowest concentration of the compound required to inhibit the growth of this micro-organism, these tubes containing different concentrations of the new compounds were incubated at 37 °C for 45 hours and the antibiotic (Amoxcillin and Ampicillin) have been chosen to compare their activity with those of the new compounds.

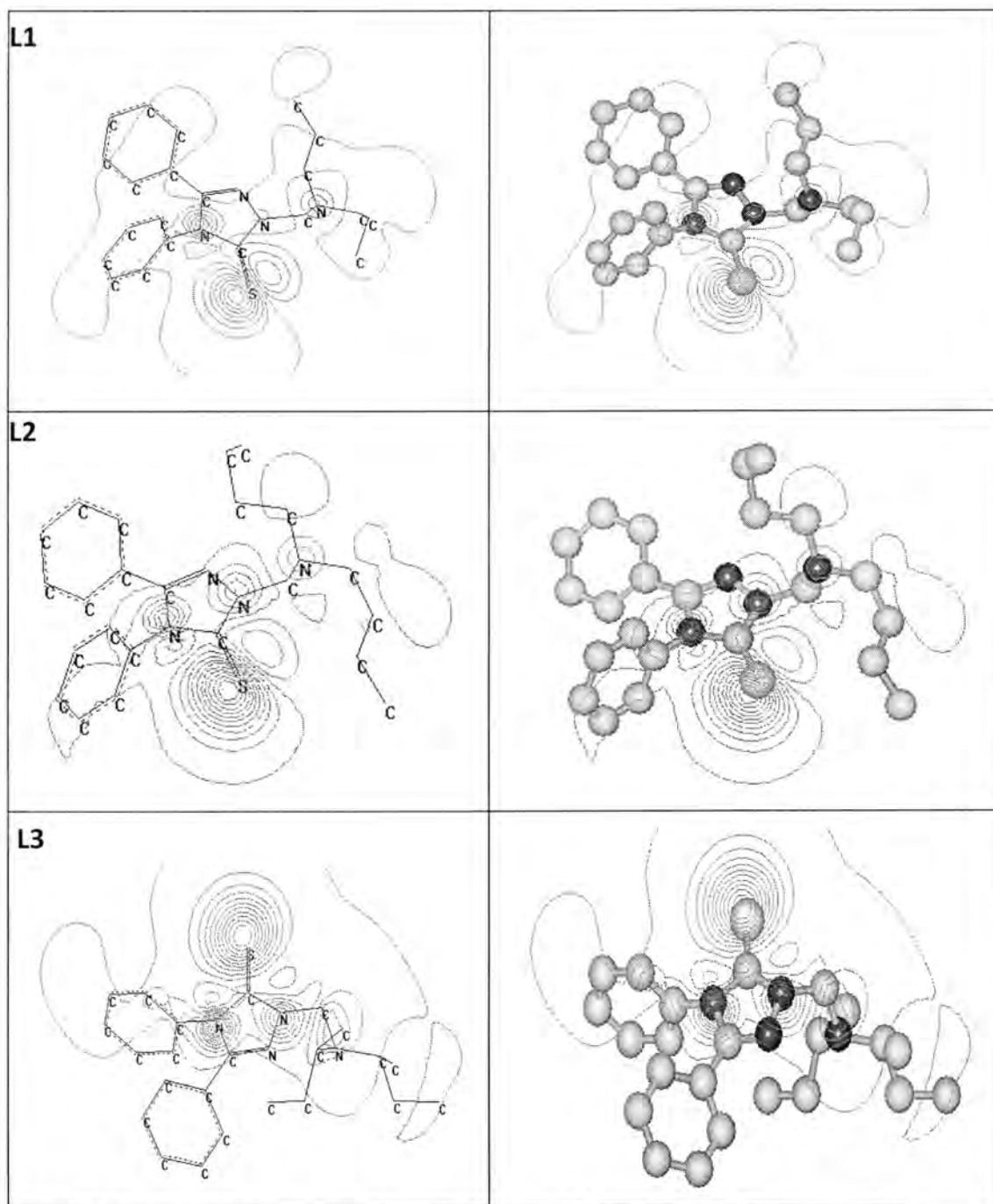
## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **A) Electrostatic Potentials:**

Electron distribution governs the electrostatic potential of the molecules. The electrostatic potential (E.P) describes the interaction of energy of the molecular system with a positive point charge. (E.P) is useful for finding sites of reaction in a molecule; positively charged species tend to attack a molecule where the electro static potential is strongly negative (electrophonic attack) (8). The (E.P) of the free ligands [L1,L2 and L3]were calculated and plotted as 2D contour to investigate the reactive sites of the molecules, Fig (1). Also one can interpret the stereochemistry and rates of many reactions involving “soft” electrophiles and nucleophiles in terms of



the properties of frontier orbital (HOMO, highest occupied molecular orbital) and (LUMO, lowest unoccupied molecules). The results of calculations show that the LUMO of transition metal ions prefer to react with the HOMO of sulfur and nitrogen atoms of Mannich bases free ligands [L1,L2 and L3].



**Fig. -1: Electrostatic potential (HOMO and LUMO) as 2D contours for mannich bases( L1, L2 and L3 )**

### B) Optimized energies:

The program Hyperchem-6 was used for the semi-empirical and molecular mechanics calculations. The heat of formation ( $\Delta H_f^\circ$ ) and binding energy ( $\Delta E_b$ ) for all free ligands(L1,L2 and L3) and their metal complexes(R1-R24) were calculated , Table (1).

The results of PM3 method of calculation in gas phase for the binding energies( $\Delta E_b$ ) and heat of formation( $\Delta H_f^\circ$ ) of ligands (L1, L2 and L3) shows that the [L1, R=dipropyl] was more stable than [L2, R=dibutyl] while, [L3, R=diisobutyl] was less stable than those of (L1 and L2), this difference in stability sequences of ligands might be related to the difference in alkyl group of amino methyl derivatives. Furthermore PM3 method was used to calculate the binding energies( $\Delta E_b$ ) and heat of formation( $\Delta H_f^\circ$ ) of [Co(II), Cu(II), Pd(II), Rh(III), Zn(II), Cd(II)], while ZINDO method was used to calculate the ( $\Delta H_f^\circ$ ) and ( $\Delta E_b$ ) of [VO(IV)] complex, while AMBER method was used to calculate the binding energies which is equal to heat formation of [Pt(IV)] complex with three mannich bases and are described in Table (1).

**Table -1:Conformation energetic (in KJ. mol<sup>-1</sup>) for Mannich bases and their metal complexes**

Conformation	PM3		ZINDO		AMBER
	$\Delta H_f^\circ$	$\Delta E_b$	$\Delta H_f^\circ$	$\Delta E_b$	$\Delta H_f^\circ = \Delta E_b$
L1	91.1463	-5920.7836	-	-	-
[R <sub>1</sub> ]	34.2614	-5566.1605	-	-	-
[R <sub>2</sub> ]	-260.6454	-6537.1549	-	-	-
[R <sub>3</sub> ]	153.2585	-12061.5815	-	-	-
[R <sub>4</sub> ]	-	-	-11183.8506	-17132.6876	-
[R <sub>5</sub> ]	-	-	-	-	151.9965
[R <sub>6</sub> ]	-40.1222	-6119.7877	-	-	-
[R <sub>7</sub> ]	-96.9995	-7429.6165	-	-	-
[R <sub>8</sub> ]	-28.7025	-6215.3709	-	-	-
L2	96.0453	-5911.5685	-	-	-
[R <sub>9</sub> ]	-231.2855	-6403.5955	-	-	-
[R <sub>10</sub> ]	-216.1383	-12387.9783	-	-	-
[R <sub>11</sub> ]	-	-	-	-	241.94
[R <sub>12</sub> ]	632.6133	-11524.2466	-	-	-
[R <sub>13</sub> ]	-	-	-12831.4879	-19817.6079	-

[R <sub>14</sub> ]	-84.6007	-6373.8906	-	-	-
[R <sub>15</sub> ]	-81.4348	-7008.8848	-	-	-
[R <sub>16</sub> ]	-15.0809	-6071.2908	-	-	-
L3	103.0139	-5358.7281	-	-	-
[R <sub>17</sub> ]	-20.1222	-5611.7348	-	-	-
[R <sub>18</sub> ]	-16.0809	-6305.3709	-	-	-
[R <sub>19</sub> ]	-	-	-12423.3638	-19410.1044	-
[R <sub>20</sub> ]	633.8504	-10392.6335	-	-	-
[R <sub>21</sub> ]	-228.5682	-5850.6902	-	-	-
[R <sub>22</sub> ]	-	-	-	-	581.7095
[R <sub>23</sub> ]	-9.7879	-5532.1894	-	-	-
[R <sub>24</sub> ]	-43.6686	-6766.5386	-	-	-

### C) Optimized vibrational spectra for ligands [L1,L2 and L3]:

The vibrational spectra of the free ligands [L1,L2 and L3] have been calculated, Table (2), Fig's [ (3),(4) and (5)]. The theoretically calculated wave numbers for these ligands showed that some deviations from the experimental values, these deviations are generally acceptable in theoretical calculations(9). The most diagnostic calculated vibrational frequencies were chosen for the assignment of ligands which are included in Table (2) and their respective experimental vibrational modes are shown in the same Table(2).

The results obtained from the theoretical calculated wave numbers for the ligands were compared successfully with the calculated frequencies of [(4,5-diphenyl-3-thion-1,2,4-triazole)] (TRZ), as authentic sample to predict the deviation or error caused from the difference between the experimental measurements and theoretically calculated results of the vibrational spectra, Table (2), Fig's (2),(3),(4) and (5). The results obtained for the theoretical calculations of the frequencies of  $\nu(\text{N-H})$ ,  $(\delta\text{N-H})$ ,  $\nu\text{C=N} + \nu\text{C=C}$ ,  $(\nu\text{C=N}+\nu\text{C=S})$ ,  $\nu(\text{C=S})$ ,  $\nu(\text{N-N})$  and  $\nu(\text{N-C-S})$  in (TRZ) agreed well with those obtained for the experimental values, table (2).

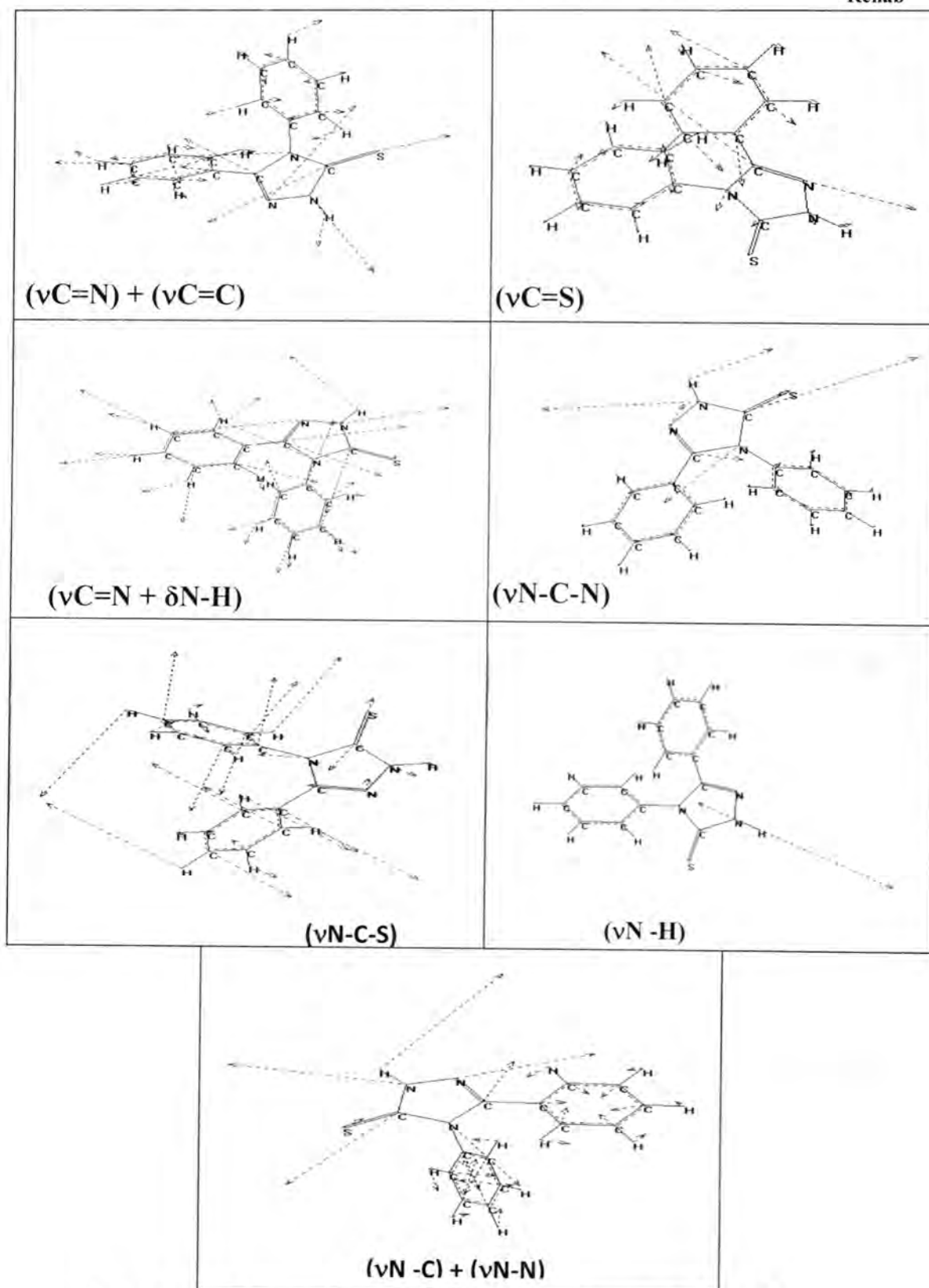


Fig. -2: The Calculated vibrational frequencies of (TRZ)



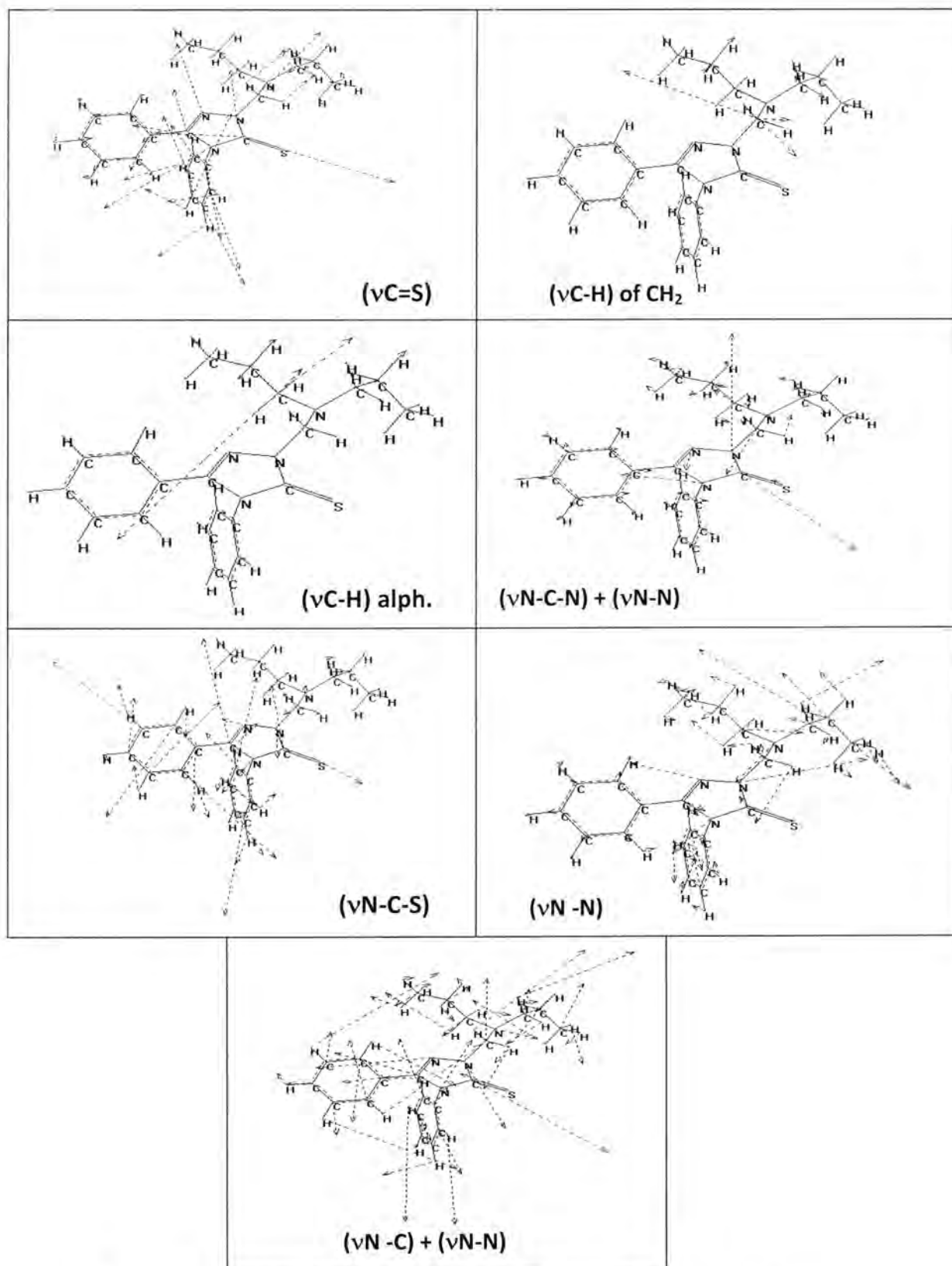


Fig. -3: The Calculated vibrational frequencies of (L1)

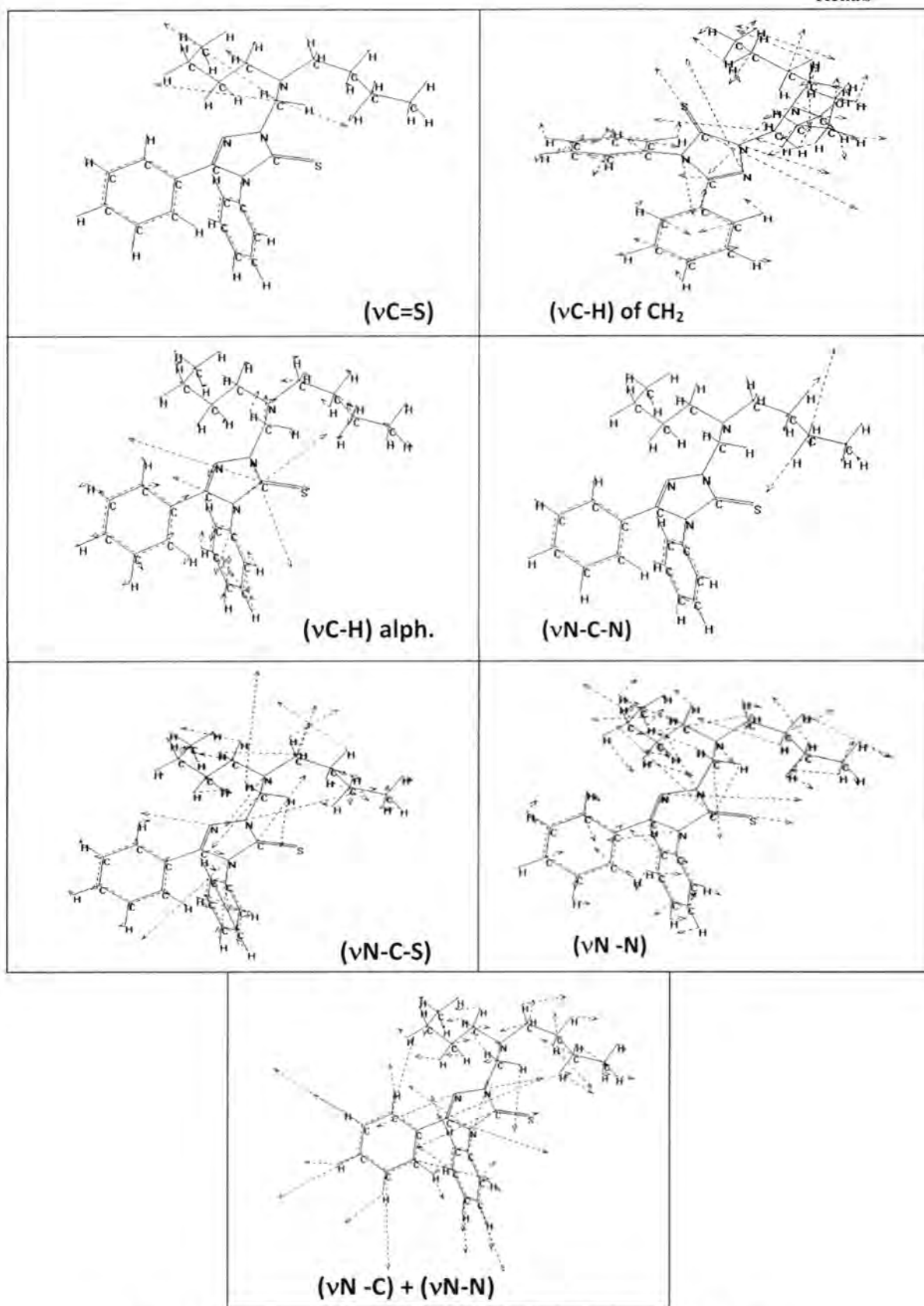


Fig. -4: The Calculated vibrational frequencies of (L2)

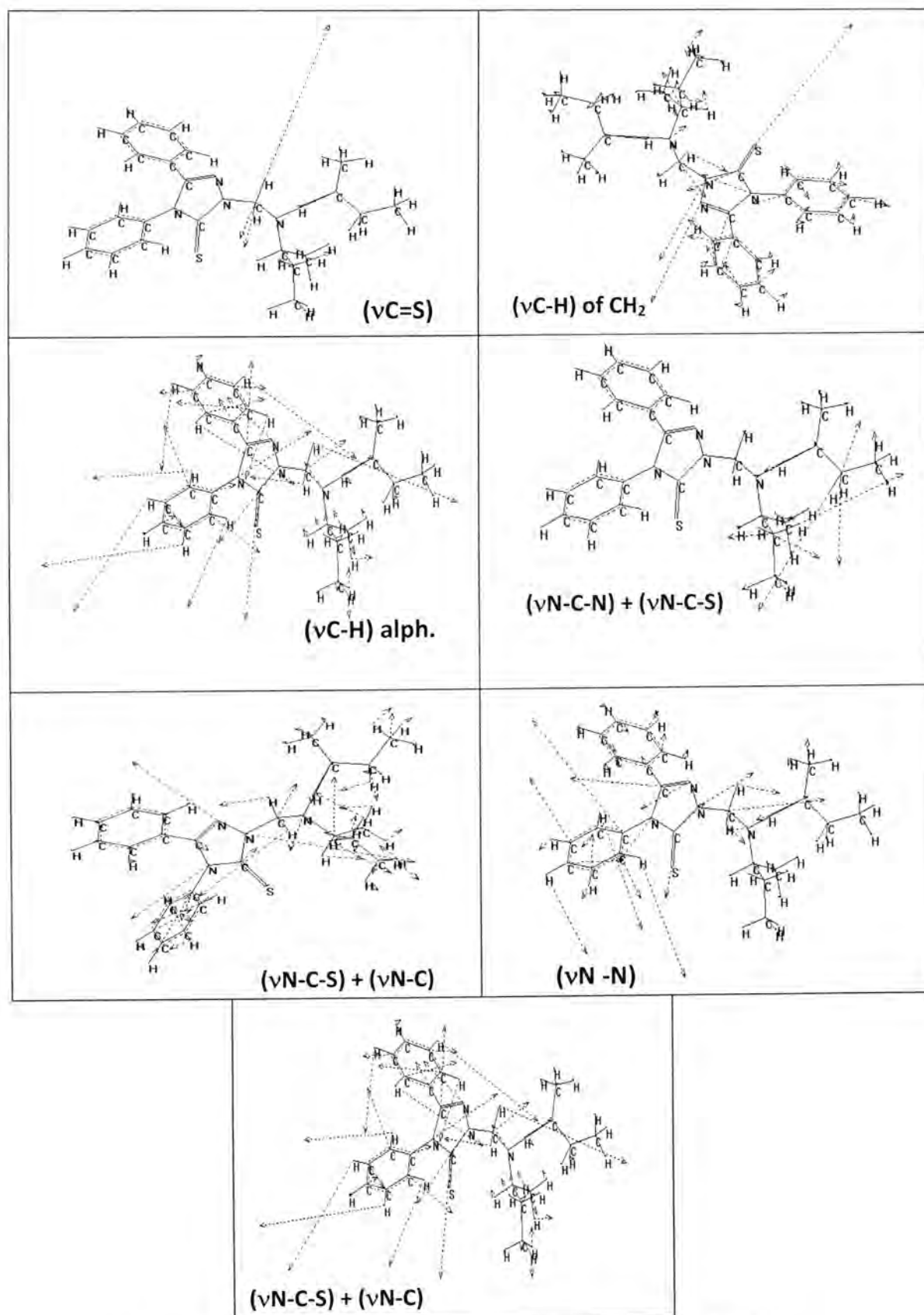


Fig. -5: The Calculated vibrational frequencies of (L3)

**Table -2: Comparison between the experimental and theoretical vibrational frequencies ( $\text{cm}^{-1}$ ) for [TRZ] and free ligands (L1,L2 and L3)**

Comp.	$\nu_{N-H}$	$\delta_{N-H} + \nu_{C=N} + \nu_{C=C}$	$\nu_{C=N} + \nu_{C=S}$	$\nu_{N-C-S}$	$\nu_{N-N}$	$\nu_{C=S}$	$\nu_{C-H \text{ alph.}}$
TRZ	(3410)* (3100)** [-10.0]***	(1802)*, (1748)* (1591)** [-13.26, -9.87]***	(1431)* (1546)** [7.43]***	(1017)* (972)** [-4.63]***	(1262)* (1448)** [12.38]***	(1208)* (1242)** [2.74]***	-
L <sub>I</sub>	-	-	-	(1062)* (1068,1093)** [0.56,2.84]***	(1369)* (1450)** [5.59]***	(1127)* (1197)** [5.85]***	(2985, 2880)* (2960, 2869)** [-0.84, -0.36]***
L <sub>II</sub>	-	-	-	(1050, 1078)* (1068,1089)** [1.68,1.01]***	(1267)* (1452)** [12.74]***	(1159)* (1186)** [2.28]***	(2972, 2876)* (2952, 2864)** [-0.68, -0.42]***
L <sub>III</sub>	-	-	-	(1060, 1078)* (1056,1093)** [0.39,1.37]***	(1319)* (1450)** [9.03]***	(1186)* (1199)** [1.08]***	(2960, 2888)* (2956, 2868)** [-0.14, -0.69]***

Where:-

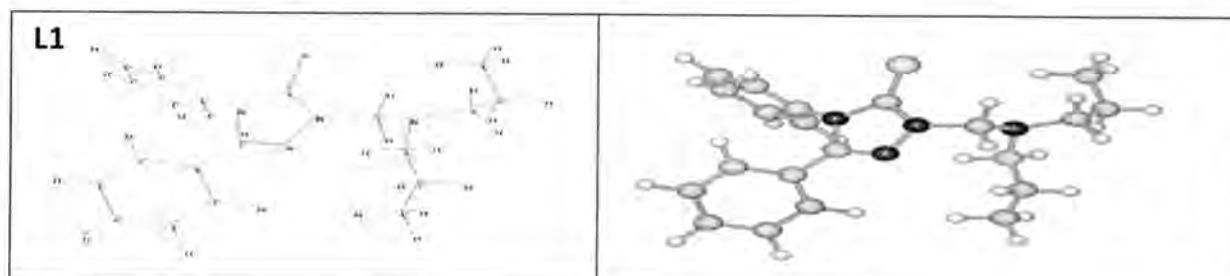
\*Theoretical frequency.

\*\*Experimental frequency.

\*\*\*Error% due to main difference in the experimental measurements and theoretical treatment of vibration spectrum

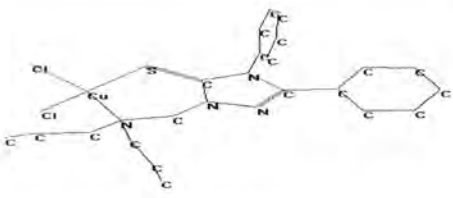

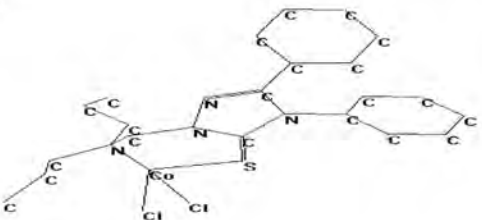

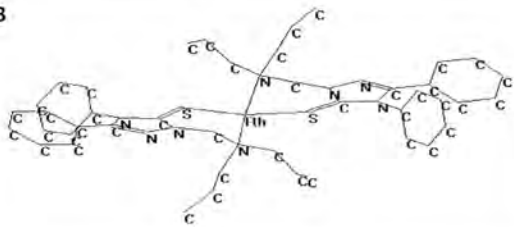

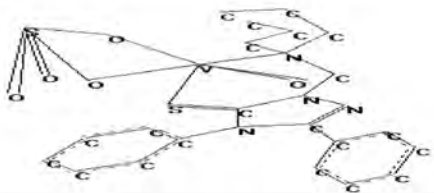
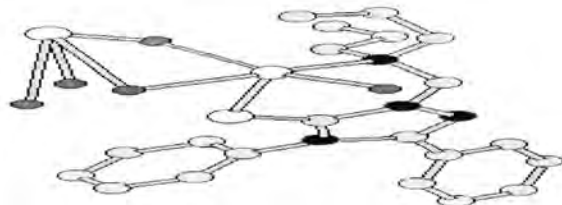
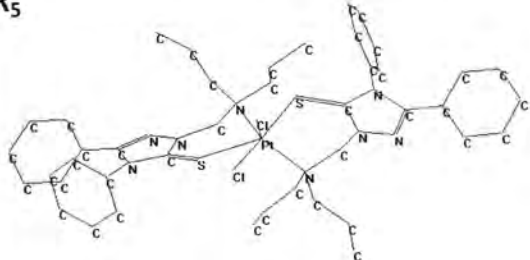

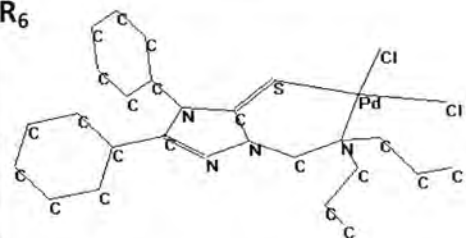
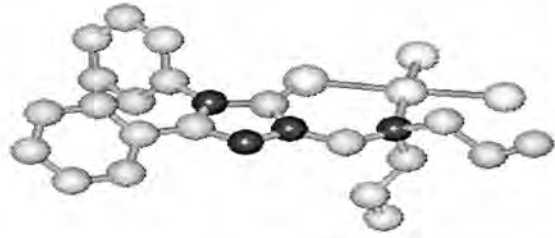
#### D) Optimized geometries of (L1,L2 and L3) and their metal complexes (R1-R24):

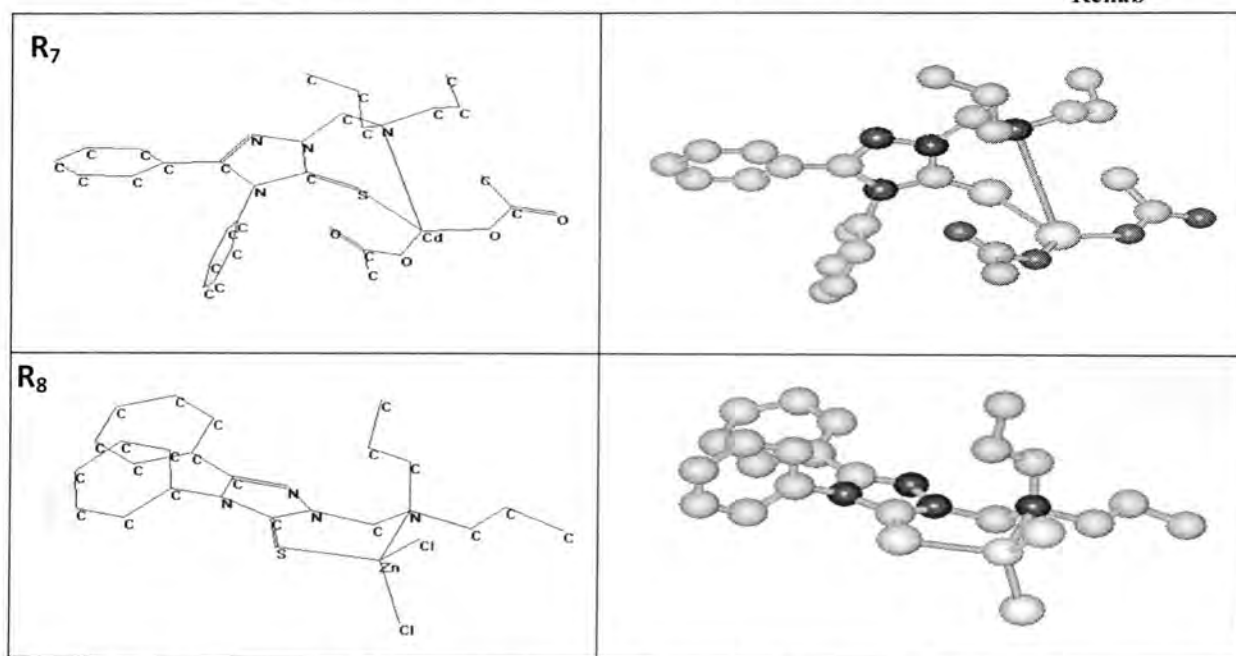
All theoretically probable structures of (L1,L2 and L3) Mannich base and their metal complexes have been calculated by (PM3),(ZINDO) and (AMBER) methods in gas phase to search for the most probable model building stable structure , Fig's(6),(7) and (8).



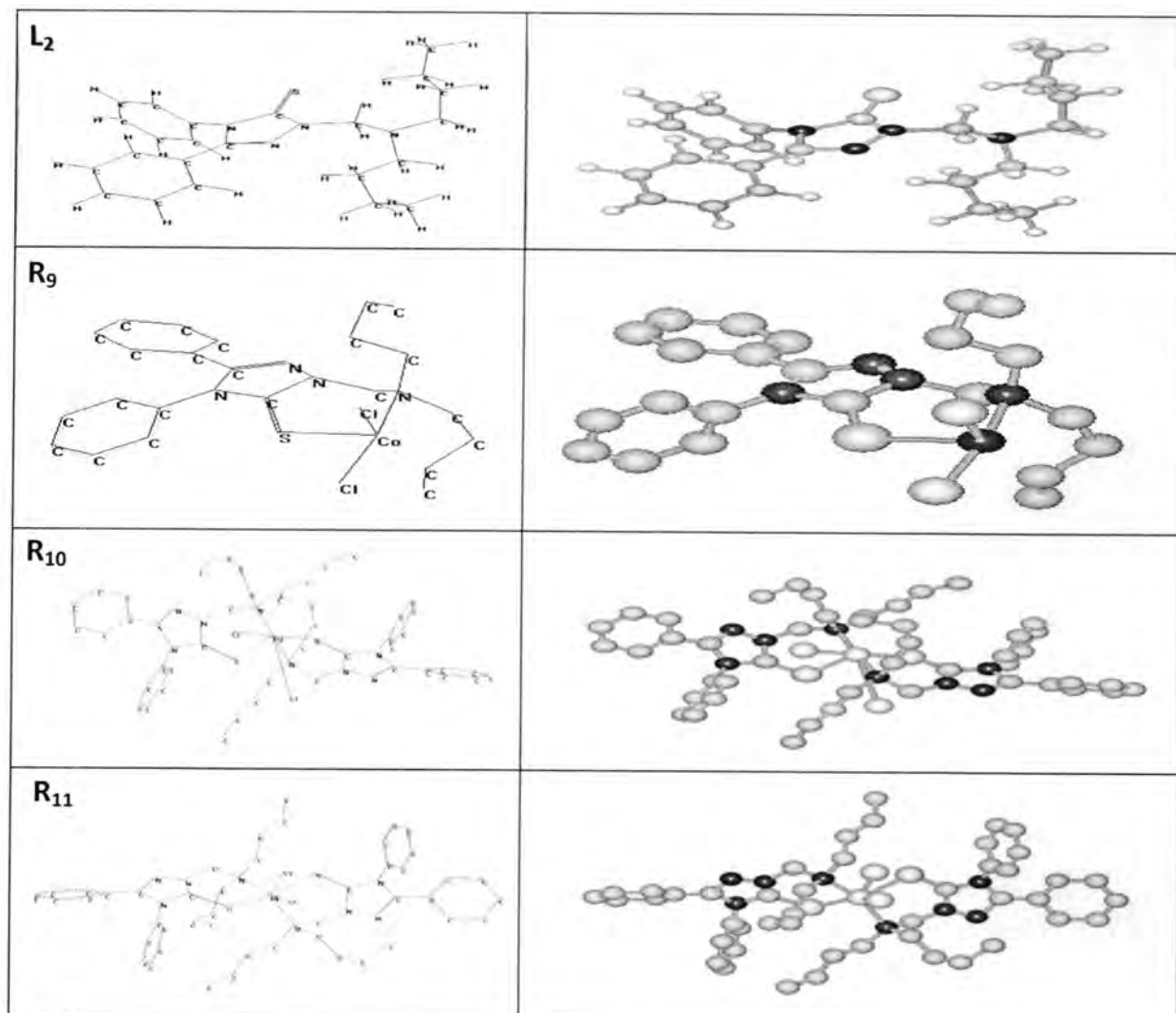
R<sub>1</sub>

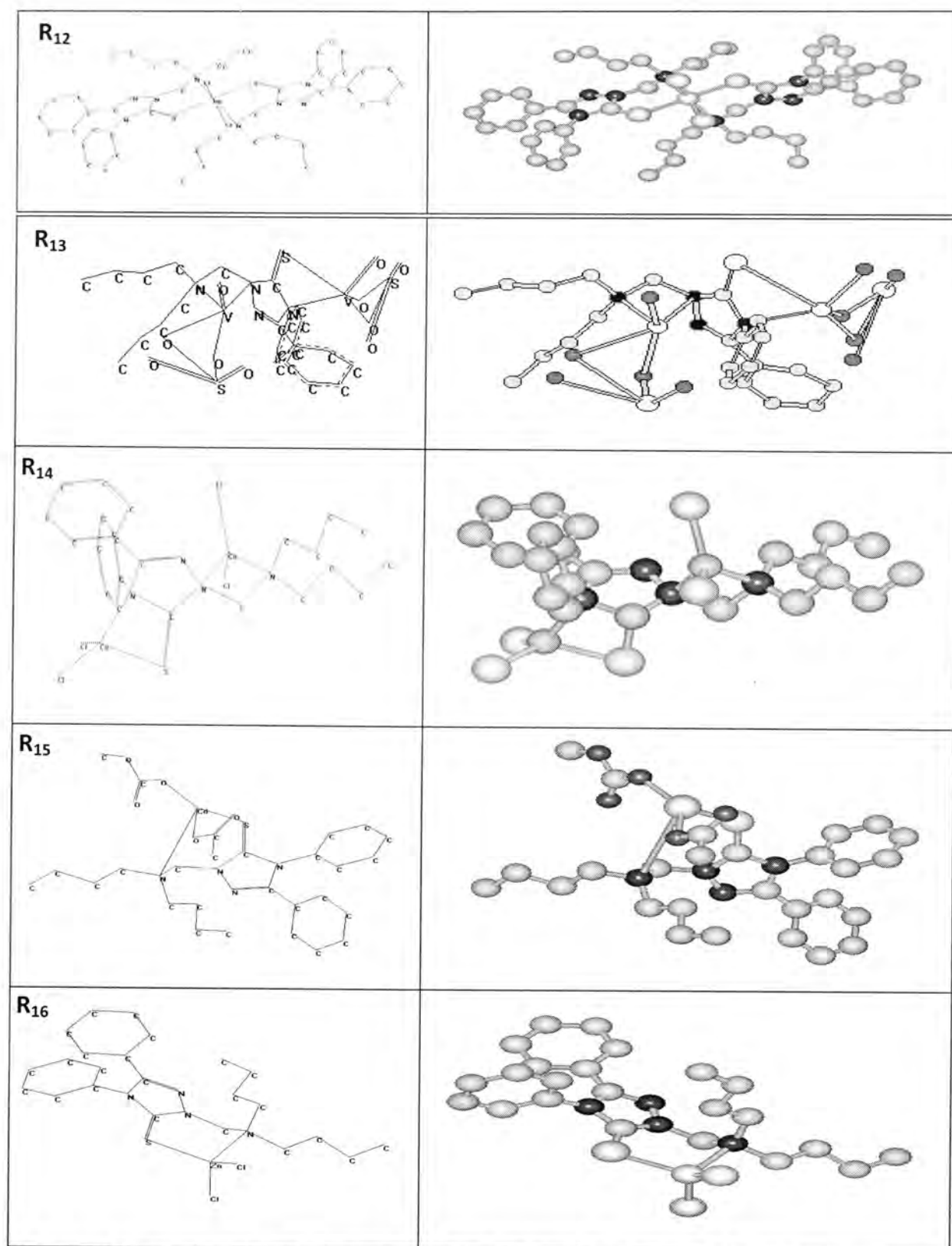


	
<p><b>R<sub>2</sub></b></p> 	
<p><b>R<sub>3</sub></b></p> 	
<p><b>R<sub>4</sub></b></p> 	
<p><b>R<sub>5</sub></b></p> 	
<p><b>R<sub>6</sub></b></p> 	

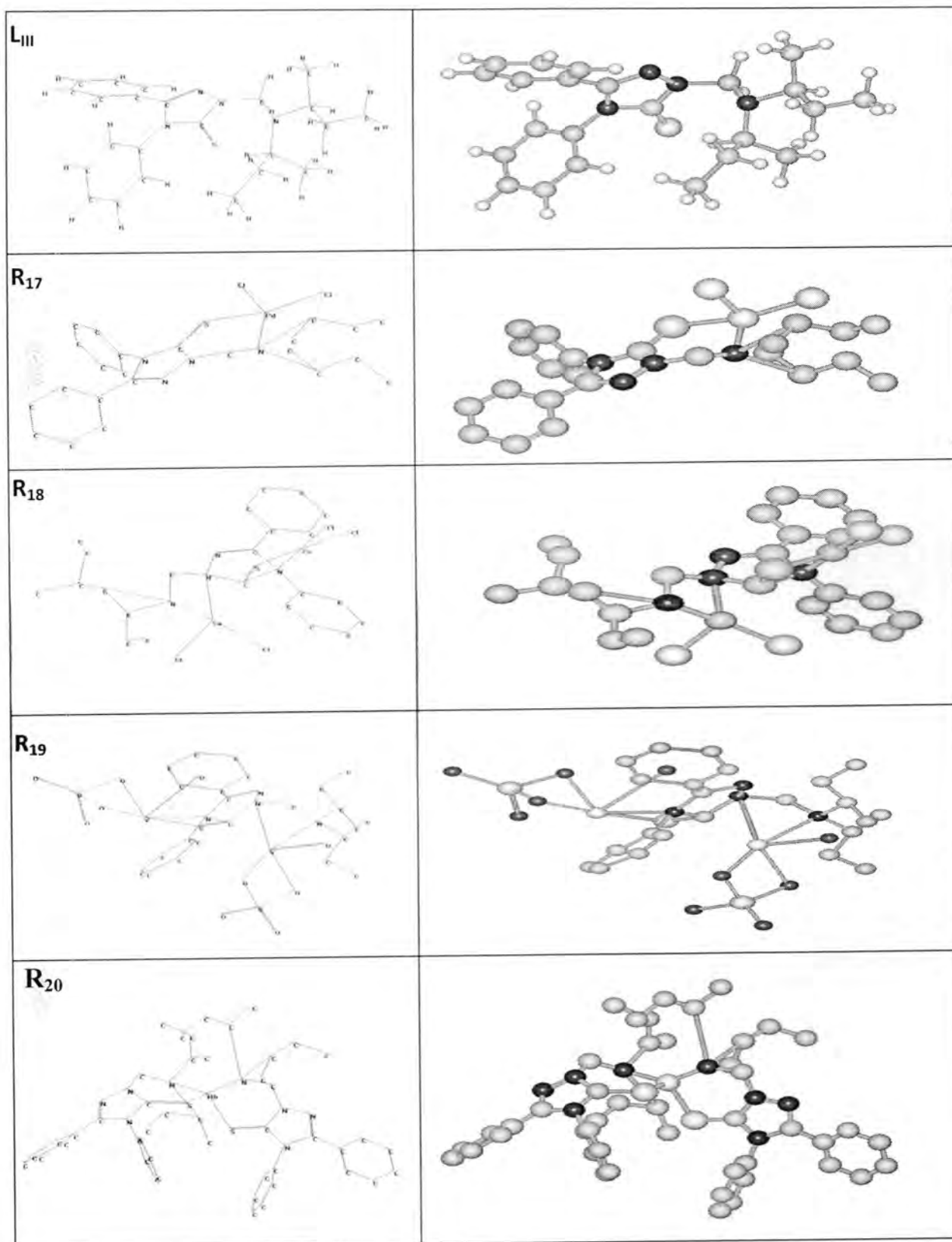


**Fig. -6: Conformational Structure of ( L<sub>1</sub>) and their metal Complexes (R<sub>1</sub>-R<sub>8</sub>)**

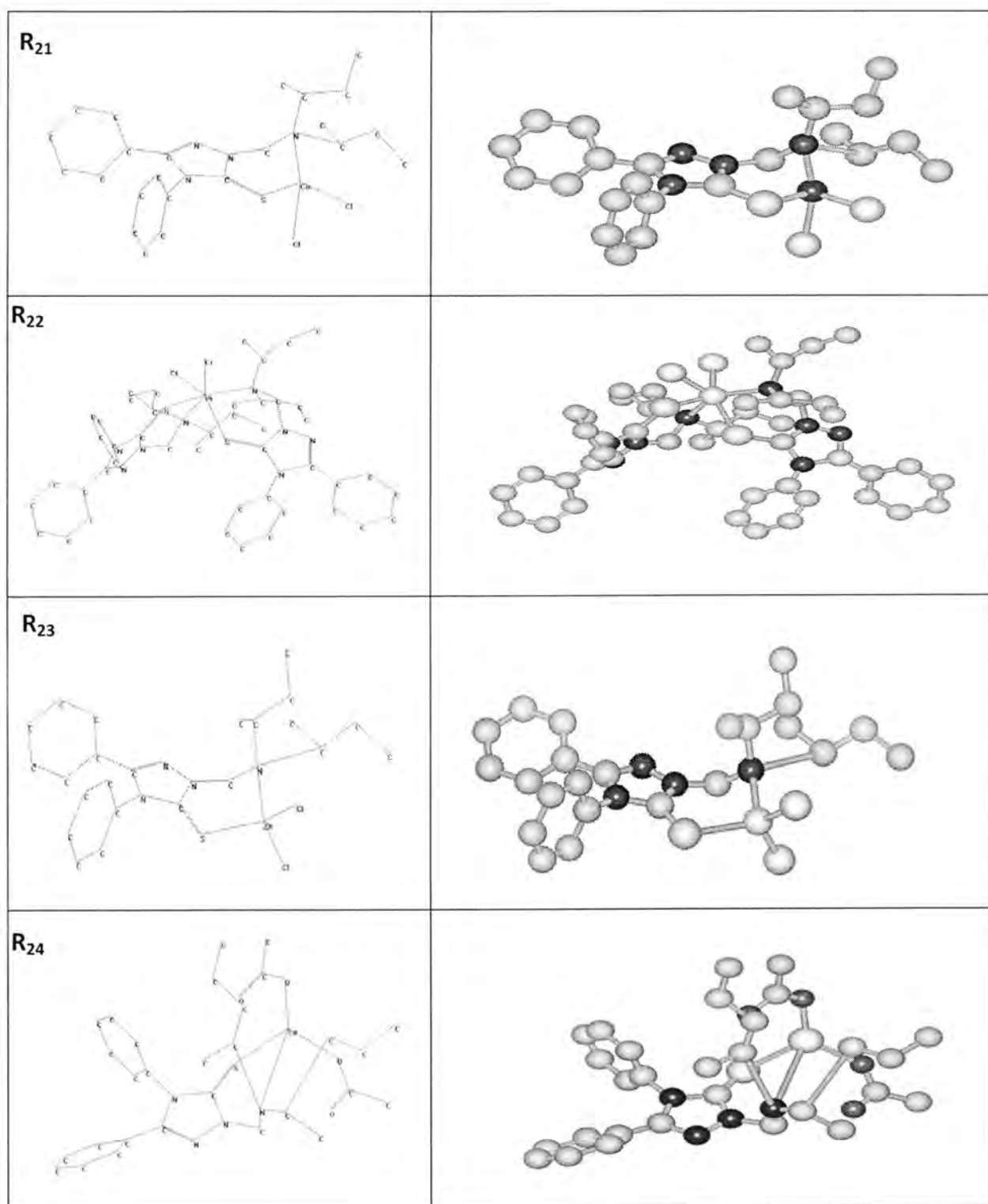




**Fig. -7: Conformational Structure of( L2) and their metal Complexes (R9-R16)**







**Fig. -8: Conformational Structure of( L3) and their metal Complexes (R17-R24)**

### **Biological Studies:-**

The free ligands (L1,L2 and L3) and their metal complexes (R1-R24) were screened *in vitro* for their ability to inhibit the growth of representative [(*E.coli*) as gram negative] and [(*Staph. aureus*) as gram positive]. Furthermore the (MIC) study for the ligands (L1,L2 and L3) and their metal complexes (R1-R24) are shown in table (4). Also the study was done against (*Candida albicans* and *Aspergillus flavus*) fungus, in DMSO as a solvent, table(3).

As a result from the above mentioned studies, the following points were concluded:-

- a). L2 and L3 were highly active against *Staph. aureus* compared with L1, while L3 was moderately active against *E.coli* for which L1 and L2 were in actives.
- b). The platinum and cadmium complexes of all ligands(L1,L2 andL3) showed a wider spectrum of activity against both type of bacteria compared with their ligands.
- c). The results reflect the different effects of introducing the metal ion on the ligand structure, where some metal ions enhanced activity, while others retired it, this phenomena is known as Synergistic effect(14). The difference in synergistic effect between the metal ion and the ligand molecule may be attributed to many factors, of these are V(IV), Co(II), Cu(II) and Zn(II) are considered to be a hard metal ions making their complexes to be less lipophilic, this will relatively retard their permeation through the lipid part of the cell membrane. On the other hand the Pd(II), Rh(III), Pt(IV) and Cd(II) are all considered to be soft metal ions, which render their complexes to be more lipophilic, this will facilitate the penetration through the cell wall and affect the constituents of the cell.
- d). The results of the (MIC) study for the ligands and their metal complexes are shown in Table (4). These results indicate that some of the new compounds exhibited antibacterial activity against the studied bacteria at lower concentration, while they don't show such activity at higher concentration. As well as( L1,R7,L2,R10,R5,R23 and R24) showed high activity at 0.05  $\mu\text{gm.ml}^{-1}$  against *E. coli* bacteria, while L2 and R10, were active against *Staph. aureus* at 0.05  $\mu\text{gm.ml}^{-1}$ , R20 and R22 were active at 0.025  $\mu\text{gm.ml}^{-1}$  in addition to 0.05  $\mu\text{gm.ml}^{-1}$ . On comparison of these values with those of the two antibiotics, it was shown that the new compounds were more active.

e). Study of the antibacterial and antifungal activities revealed that the mannich bases (L1,L2 and L3) derived from (3-thione- 4,5-diphenyl-1,2,4-triazole) (**TRZ**) and their metal complexes, exhibited a greater activity against all the studied micro-organisms compared to that of (**TRZ**) itself (15). This indicate that introductions of the amino methyl group on the triazole derivative ring were raise the killing zone.

f). Results of the antifungal activity of the new compounds, Table (3) showed that the metal ion chelates were more toxic compared with their parent ligands(L1,L2 and L3) toward the same micro-organism and under the identical experimental conditions. The increase in the antifungal activity of metal chelates may be due to the effect of the metal ion on the normal cell process. These activities may be explained by Tweedy's Chelation theory(16), according to which chelation reduces the polarity of the metal atom mainly, because of the partial sharing of its positive charge with the donor groups of the ligand, which favours permeation of the complexes through the lipid layer of cell membrane(17).

**Table -3: Antibacterial and antifungal activities for Mannich bases and their metal ( $10^{-3}$  mgm.ml<sup>-1</sup>) complexes**

<i>Compound</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Asp.flavus</i>	<i>Penci. Spp.</i>
<b>Control (DMSO)</b>	-	-	-	-
<b>L<sub>1</sub></b>	-	10	28	36
<b>[R<sub>1</sub>]</b>	8	-	20	29
<b>[R<sub>2</sub>]</b>	-	10	22	30
<b>[R<sub>3</sub>]</b>	-	15	20	21
<b>[R<sub>4</sub>]</b>	-	6	18	17
<b>[R<sub>5</sub>]</b>	10	20	17	19
<b>[R<sub>6</sub>]</b>	10	-	15	16
<b>[R<sub>7</sub>]</b>	15	15	10	20
<b>[R<sub>8</sub>]</b>	-	-	20	25
<b>L<sub>11</sub></b>	-	15	24	33
<b>[R<sub>9</sub>]</b>	10	8	20	14
<b>[R<sub>10</sub>]</b>	10	10	21	17
<b>[R<sub>11</sub>]</b>	15	25	14	24
<b>[R<sub>12</sub>]</b>	10	15	22	21
<b>[R<sub>13</sub>]</b>	15	10	21	26
<b>[R<sub>14</sub>]</b>	8	10	23	10

[R <sub>15</sub> ]	10	25	19	26
[R <sub>16</sub> ]	-	8	21	20
L <sub>III</sub>	10	15	22	30
[R <sub>17</sub> ]	-	6	15	15
[R <sub>18</sub> ]	-	10	17	27
[R <sub>19</sub> ]	-	15	14	21
[R <sub>20</sub> ]	10	20	20	23
[R <sub>21</sub> ]	-	-	20	21
[R <sub>22</sub> ]	15	35	10	22
[R <sub>23</sub> ]	15	-	18	27
[R <sub>24</sub> ]	20	25	15	11

Where:  
6-8:(+)  
8-10: (++)  
> 10: (+++)

Where:  
30-40: (+++)  
20-30 :(++++)  
10-20: (+++++)

**Table -4: Minimal inhibitory concentration (MIC) for Mannich bases and their metal complexes ( $\mu\text{gm. ml}^{-1}$ )**

Compound	<i>Escherichia coil</i>								<i>Staphylococcus aureus</i>							
	0.025	0.05	0.1	0.25	0.5	1	2.5	5	0.025	0.05	0.1	0.25	0.5	1	2.5	5
L <sub>I</sub>	+	MIC	-	-	-	-	-	-	+	+	+	MIC	-	-	-	-
[R <sub>1</sub> ]	+	+	+	+	+	MIC	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>2</sub> ]	+	+	+	+	MIC	-	-	-	+	+	+	+	+	+	MIC	-
[R <sub>3</sub> ]	+	+	+	MIC	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>4</sub> ]	+	+	+	MIC	-	-	-	-	+	+	+	+	MIC	-	-	-
[R <sub>5</sub> ]	+	+	+	+	+	MIC	-	-	+	+	+	MIC	-	-	-	-
[R <sub>6</sub> ]	+	+	+	MIC	-	-	-	-	+	+	+	+	MIC	-	-	-
[R <sub>7</sub> ]	+	MIC	-	-	-	-	-	-	+	+	+	MIC	-	-	-	-
[R <sub>8</sub> ]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L <sub>II</sub>	MIC	-	-	-	-	-	-	-	+	MIC	-	-	-	-	-	-
[R <sub>9</sub> ]	+	+	MIC	-	-	-	-	-	+	+	+	+	MIC	-	-	-
[R <sub>10</sub> ]	+	MIC	-	-	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>11</sub> ]	+	+	+	MIC	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>12</sub> ]	+	+	MIC	-	-	-	-	-	+	+	+	MIC	-	-	-	-
[R <sub>13</sub> ]	+	+	MIC	-	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>14</sub> ]	+	+	MIC	-	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-



[R <sub>15</sub> ]	+	MI C	-	-	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>16</sub> ]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	MIC	-	-
L <sub>III</sub>	+	+	+	+	MIC	-	-	-	+	+	+	MIC	-	-	-	-
[R <sub>17</sub> ]	+	+	+	MIC	-	-	-	-	+	+	+	+	MIC	-	-	-
[R <sub>18</sub> ]	+	+	MIC	-	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>19</sub> ]	+	+	MIC	-	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
[R <sub>20</sub> ]	+	+	+	MIC	-	-	-	-	MIC	-	-	-	-	-	-	-
[R <sub>21</sub> ]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
[R <sub>22</sub> ]	+	+	MIC	-	-	-	-	-	MIC	-	-	-	-	-	-	-
[R <sub>23</sub> ]	+	MI C	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	MIC	-
[R <sub>24</sub> ]	+	MI C	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	MIC	-	-	-
Ampicillin	+	+	MIC	-	-	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-
Amoxicillin	+	+	+	+	MIC	-	-	-	+	+	MIC	-	-	-	-	-

Where:

(+): Growth

(MIC): 99%

(-): No growth

## REFERENCES

- 1) Acheson, R.M., *"Introduction of Chemistry of Heterocyclic Compounds"*, John-Wiely and Sons, Inc., New York, London, 3<sup>rd</sup> Ed., (1976).
- 2) Geissman, T., *"Principles of Organic Chemistry"*, H.W. Freeman and Company Sanfransisco, 4<sup>th</sup> Ed., (1976).
- 3) Potts, K., *"Comprehensive Heterocyclic Chemistry"*, A.R., Katritzky, Ch. Ress (eds.), Vol.; 6, Pergamon Press, (1984).

- 4) Peter,R.,and Murray,S., "***Principles of Organic Chemistry***",Amodren and Comprehensive text for School and Colleges, 2<sup>nd</sup> Ed., Heinman Educational Book Ltd.,Londdon,(1974).
- 5) Al-Hasani,R.M.,Jassim,A.H. and Al-Abaich,M.Q., "***Metal complexes of 4,5-diphenyl-2-dibutyl aminomethyl-1,2,4-triazole-3-thione***",National J.Chem.,9:115-125,(2003).
- 6) Al-Hasani,R.M.,Jassim,A.H. and Al-Abaich,M.Q., "***Mannich base derived from 1,2,4-triazole as chelating ligand for transition metal complexes***",National J.Chem.,12:598-609,(2003).
- 7) Al-Hasani,R.M.,Jassim,A.H. and Al-Abaich,M.Q., "***Preparation and study of some transition metal complexes with mannich base derivative of triazole ring***",J.Edu.,Sci., 16(1):40-51,(2004).
- 8) Stewart,J.J,"***Reviews in Computational Chemistry***", K.B.Lipkowitz,D.B.Boyd(eds.),VCH publishers, New York, (1),9:72-80,( 1996).
- 9) Cook,D.B., "***Hand book of Computational Quantum Chemistry***", New York, Oxford univ.Press,149,(1998).
- 10) Choinacki,H.,and Pruchnik,F., "***Quantum Chemical studies on molecular and Electronic structure of complexes adducts***", Int.J.Mol.Sci.,2(44):11-17,(2001).
- 11) Al-Nahari,T.T., "***Synthesis ,Ab initio and PM3 studies of the 2-(5-mercapto-4H-1,2,4-triazol-3-yl)phenol and some of their transition metal complexes***",Isesco Sci.and Technology Vision,3(3):32-40,(2007).
- 12) Atlas,M. R. , Alfres, E. ,Alfres, B., and Lawrence, C.P., "***Laboratory manual Experimental Microbiology***", Mosby- year Book, Inc. ,(1995).
- 13) Hogg,S.,"***Essential microbiology***", 4<sup>th</sup> Ed., John- Wiely and Sons, New York , England, (2005).
- 14) Cotton, S.A., "***Chemistry of Precious metals***" ,Blackie A and P ,Johan-Wiley, New York,1<sup>st</sup>Ed., (1998).
- 15) Hughes,M.N., "***The Inorganic Chemistry of biological processes***", Johan-Wiley, New York,2<sup>nd</sup>Ed., (1988).

- 16) Collins, C.H. and Lyne, P.M., "*Microbiological methods*", Butterworth and Co. Ltd., 3<sup>rd</sup> Ed., (1970).
- 17) Huheey, J.E., "*Inorganic Chemistry, Principles of Structure and Reactivity*", Harper International Edition Harper and Row, Publishers, New York, 1<sup>st</sup> Ed., (1972).

## Flow-Injection Analysis (FIA) for the Spectrophotometric Determination of Bromhexine Hydrochloride in Pharmaceutical Preparations

Mouyed Q. Al-Abachi and Hind S. Al-Ward\*

Department of Chemistry-College of Science-University of Baghdad

Submitted : 31/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

يتضمن البحث تطوير طريقة طيفية جديدة للتقدير المايكروبي السريع والبسيط والحساس لدواء هيدروكلوريد البرومهكسين بصورته النقية وفي المستحضرات الصيدلانية باستخدام تقنية الحقن الجرياني، تعتمد الطريقة على تفاعل الازوتة لهيدروكلوريد البرومهكسين مع كمية مكافئة من نترات الصوديوم في وسط حامض الهيدروكلوريك لتكوين ملح الديازونيوم الذي يزدوج مع كاشف حامض الكروماتروبيك لتكوين صبغة الازو الحمراء اللون التي اعطت اعلى امتصاص عند الطول الموجي الاعظم 507 نانوميتر. تم دراسة الظروف المثلى للتفاعل وجميع المتغيرات الكيميائية والفيزيائية بدقة لتقنية الحقن الجرياني وكان معدل النمذجة 70 نموذج في الساعة، مدى الخطية الذي يطبق قانون بير ضمن مدى التراكيز من 30-700 مايكروغرام. مل<sup>-1</sup> وكانت قيمة الامتصاصية المولارية مساوية ل(1.16 x 10<sup>4</sup>) لتر.مول<sup>-1</sup>. سم<sup>-1</sup> و قيمة حساسية ساندل 0.0357 مايكروغرام. سم<sup>-2</sup> والانحراف القياسي النسبي اقل من 0.95 % اعتمادا على مستوى التركيز المراد تحديده. تم دراسة الظروف المثلى للتفاعل، وطبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية الحاوية على البرومهكسين هيدروكلوريد.

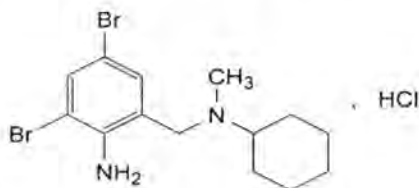
### ABSTRACT

Bromhexine Hydrochloride was determined by anew simple and sensitive spectrophotometric method in pure form and pharmaceutical preparations using Flow-Injection analysis. The method is based on the diazotization reaction of Bromhexine Hydrochloride with sodium nitrite in hydrochloric acid medium to form diazonium salt, which was coupled with chromotropic acid to form a red water-soluble azo dye, that has a maximum absorption at  $\lambda_{\max}=507$  nm. All different chemical and physical experimental parameters affecting on the development and stability of the colored product were carefully studied. The FIA procedure sample throughput was 70 h<sup>-1</sup>, Beer's law was obeyed over the concentration range (30-700  $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ ) with RSD% less than 0.95 % and molar absorptivity of  $1.16 \times 10^4 \text{ l}.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  and Sandell sensitivity of 0.0357  $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ . The method was applied successfully for the determination of Bromhexine Hydrochloride in pharmaceutical preparations.



## INTRODUCTION

Bromhexine Hydrochloride, *N*-(2-Amino-3,5-dibromobenzyl)-*N*-methyl cyclohexanamine hydrochloride is a white crystalline powder. Its chemical structure (1):



### (Bromhexine Hydrochloride)

-It is a expectorant drug, while it works through decreasing the amount of respiratory tract fluid and reduces its viscosity by activating enzymes that hydrolyze mucopolysaccharides (2). Several methods have been reported in the literature for the analytical determination of this substance, including spectrophotometry (2-5), HPLC (6), Colorimetry (7-10), TLC (11), membrane-Selective Electrode (12), Hybrid Linear Analysis (13), Absorption Spectrophotometry and Electrophoresis (14), Capillary Isotachopheresis (15), Reverse phase liquid chromatography (16,17), HPLC-ICP-MS compared with Radiochemical Detection (18) and Flow Injection analysis using conventional and coated wire ion-selective electrodes (19). The presence of an aromatic primary amino group in Bromhexine HCl enables the compound to undergo a diazotization-coupling reaction. According to the classic Bratton-Marshall method, Bromhexine Hydrochloride was diazotized with sodium nitrite in dilute hydrochloric acid and the excess of nitrite was destroyed with sulfamic acid. A soluble pink color dye was noticed by adding of *N*-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NED) and the color intensity was measured spectrophotometrically (20,21).

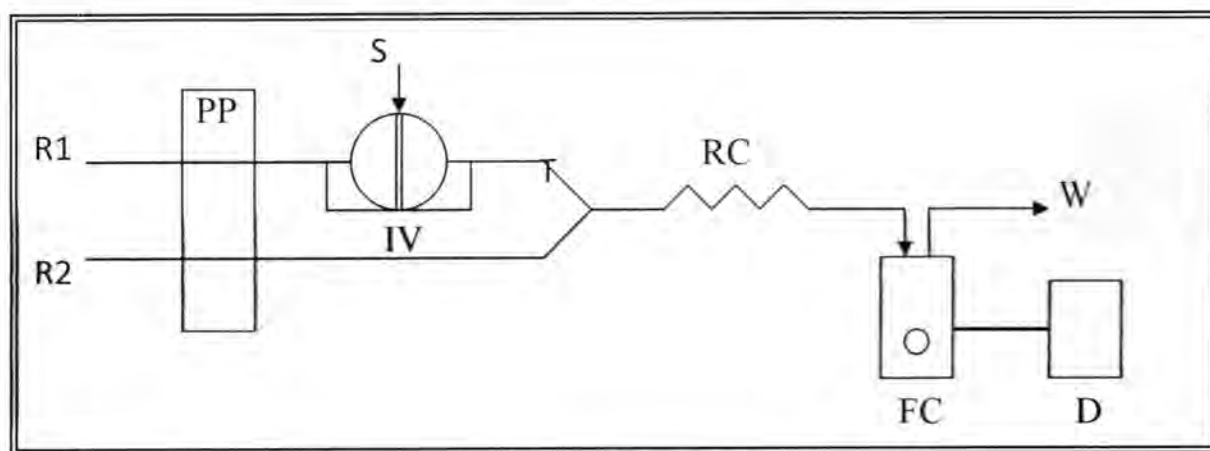
In this paper, FI method using spectrophotometric detection at 507 nm is described for the determination of Bromhexine Hydrochloride in pure and pharmaceutical preparations. The method is based on the diazotization reaction of Bromhexine Hydrochloride with sodium nitrite in hydrochloric acid medium, the formed diazonium salt is then coupled with chromotropic acid to form a red water soluble azo dye. The proposed method has been applied successfully to the determination of Bromhexine Hydrochloride in pharmaceutical preparations.

## MATERIALS AND METHOD

### Apparatus:

All spectral and absorbance measurements were carried out on a Shimadzu UV-Visble-260 digital double-beam recording spectrophotometer (Tokyo-Japan).

The FI system comprised a peristaltic pump (Ismatec, Labortechnik-Analytic, CH-8152, Glatbrugg- Zurich, Switzerland, six channels) was used to transport the reagents solutions, Injection valve (Rheodyne, Altex 210, Supelco-USA) was employed to provide appropriate injection volumes of standard solutions and samples. Flexible vinyl tubing of 0.5 mm internal diameter was used for the peristaltic pump. Reaction coil (RC) was of Teflon with internal diameter of 0.5 mm and a 50  $\mu\text{l}$  quartz flow cell. In (Figure 1) hydrochloric acid (R1) stream was combined with injected sample (Bromhexine HCl with sodium nitrate) and they merged with chromotropic acid (R2) stream at T-link then mixed in reaction coil (RC) with length of 50 cm, injection loop of (150  $\mu\text{l}$ ), total flow rate 1.2 ml/min, the absorbance was measured at 507 nm. at room temperature (25°C) and an injection sample of 100  $\mu\text{g ml}^{-1}$  was used for optimization of conditions.



**Fig.-1: Schematic diagram of FIA manifold. Where: R1 and R2, solutions of hydrochloric acid and chromotropic acid respectively; PP =peristaltic pump; S= injection sample; IV= injection valve; T= T-link; RC= reaction coil; FC= flow cell; D= detector; W= waste.**

#### Reagents:

All chemicals used were of analytical reagent grade. Bromahexine Hydrochloride standard material was provided from the state company for drug industries and medical appliances (SDI) Sammara-Iraq.

- 1- Bromhexine HCl, stock standard solution ( $1000 \mu\text{g.ml}^{-1} = 2.422 \times 10^{-3}\text{M}$ )**, prepared by dissolving 0.1000 gm of pure Bromhexine HCl in 5 ml of ethanol and amount of distilled water, a 0.0167gm amount of sodium nitrite was then added and made up to 100 ml with the distilled water. The working solution of the drug with sodium nitrite was prepared by transfer 10 ml of the stock solution to a 100 ml volumetric flask and made up to the mark with distilled water to obtained 100  $\mu\text{g.ml}^{-1} = 2.422 \times 10^{-4}\text{M}$  for both Bromhexine HCl and  $\text{NaNO}_2$ .

- 2- **Hydrochloric acid 0.8M**, prepared by diluting 34.4 ml of 11.64M of concentrated hydrochloric acid (BDH) with distilled water in a 500 ml volumetric flask.
- 3- **Chromotropic acid (0.05% w/v =  $1.561 \times 10^{-3}M$ )**, prepared by dissolving 0.05 gm of chromotropic acid (BDH) in distilled water and diluting to the mark with the same solvent in 100 ml volumetric flask..

#### **Pharmaceutical preparation of Bromahexine HCl.**

Solvoden –syrup (Sammara-Iraq), each 5 ml of syrup containing 4 mg of Bromhexine HCl.

#### **Procedures for pharmaceutical preparations:**

A 25 ml of the syrup into a 50 ml volumetric flask and dilute it to the mark with distilled water to obtain ( $400 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ ). More dilute solutions were prepared by simple dilution with distilled water.

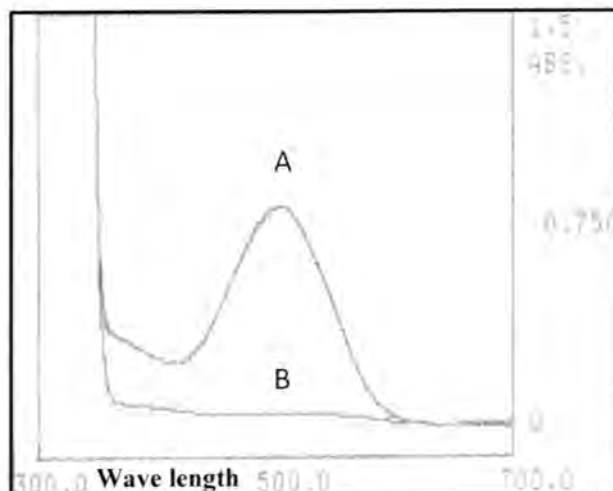
#### **Recommended procedure for calibration FIA**

The Working solution of Bromhexine HCl with  $\text{NaNO}_2$  in the range of  $30\text{--}700 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$  were prepared from stock ( $1000 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ ). A  $150 \mu\text{l}$  portion of the drug was injected into the stream of hydrochloric acid (0.8M) to obtained the diazonium salt then the mixture combine with (0.05% ) Chromotropic acid at T-link with a total flow rate of  $1.2 \text{ ml min}^{-1}$  of the two channels (figure 1), the resulting absorbance of the red product was measured at 507 nm and a calibration graph was constructed in (table 1). Optimization conditions were carried out on  $100 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$  of Bromhexine HCl.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

#### **Preliminary studies**

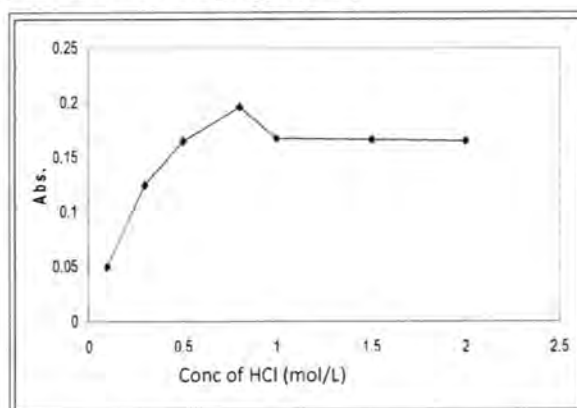
Preliminary experiments were carried out to test the manifold configuration and the approximate ranges of the tested parameters. The design of the manifold selected is shown in (figure 1) using two channels of total flow rate of  $1.2 \text{ ml min}^{-1}$ . This design of the manifold gave the maximum absorbance. Therefore, a two channel FI assembly was adopted, in which the sample ( $150 \mu\text{l}$ ) was injected into the carrier stream of hydrochloric acid (R1) then the diazonium salt formed mixed with the coupling reagent Chromotropic acid (R2) at T-link. The reaction was carried out by passing the solution throw a reaction coil (50 cm) and the absorbance of the resulting red color product was measured at 507 nm. (Figure 2) showed the absorbance spectrum of the red azo dye formed measured against a reagent blank prepared in the same way but containing no Bromhexine HCl.



**Fig.-2: Absorbance spectra of the azo dye against reagent blank (A) and blank against distilled water (B) using a batch method.**

### Optimization of the experimental conditions

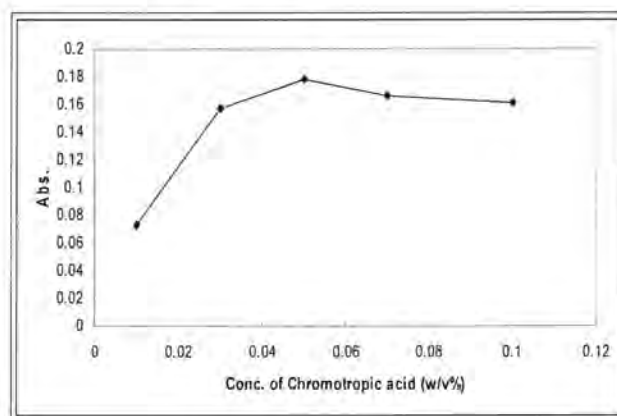
The effect of various parameters on the color development was studied to establish the optimum conditions for the determination of Bromahexine HCl by FI method. In practice, the addition of acid to the diazonium reaction was necessary for the formation of diazonium salt between the amine group (the drug) and sodium nitrite, which couples with phenolic reagent to give an azo dye therefore, various acids were studied (acetic acid, hydrochloric acid, nitric acid, phosphoric acid and sulfuric acid), hydrochloric acid seems to be the most suitable acid through the high absorbance under the reaction condition. Various concentrations of Hydrochloric acid (0.1-3M) were streamed to the mixture of drug and  $\text{NaNO}_2$ . A concentration of 0.8M gave the highest absorbance and was chosen for further use, as shown in (Figure 3).



**Fig.-3: Effect of the concentration of hydrochloric acid**



-The effect of the concentration chromotropic acid was studied in the rang of 0.01%-0.1% with a fixed concentration of the mixture of drug and  $\text{NaNO}_2$  ( $100 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ ) and 0.8M of hydrochloric acid, a 0.05% (w/v) seems to be the most suitable concentration to develop the color of the reaction to its full intensity as shown in (Figure 4).

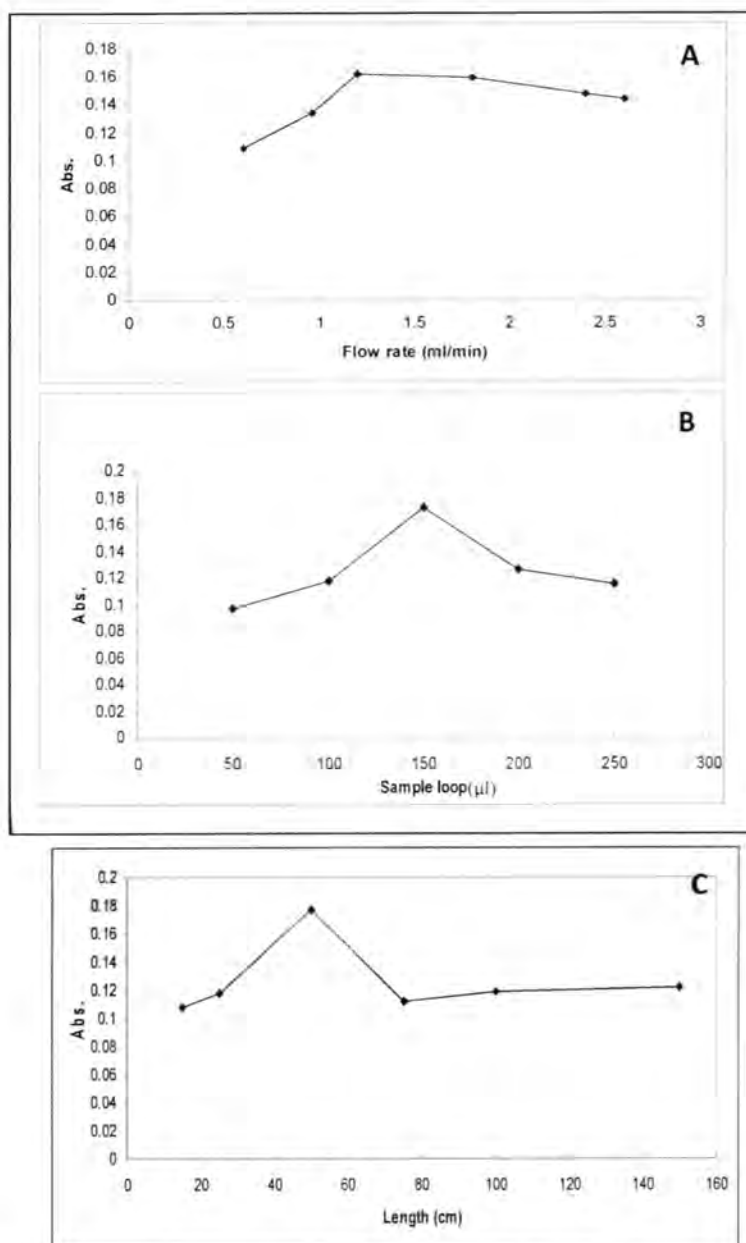


**Fig.-4: Effect of concentration of Chromotropic acid in (w/v%)**

-The use of FI as an alternative to existing methods for Bromhexine HCl determination is dependent on optimization of the system to achieve maximum absorbance. As a consequence, several experiments were conducted in order to establish the best experimental conditions for operating the FI manifold, (Figure 5) show the effects of flow rate, reactor length and sample injection volume on the absorbance. The effect of flow rate on the absorbance was studied over the range  $0.6\text{-}2.6 \text{ ml min}^{-1}$ , (Figure 5) shows that, with increasing flow rate, maximum sensitivity was obtained at  $1.2 \text{ ml min}^{-1}$ , which was selected, as a compromise between reproducibility and sampling rate. Above this value, the absorbance decreased slightly owing to dispersion effects.

-The effect of reactor length was studied in the range of 15-150 cm using the same experimental conditions selected above, maximum absorbance value was obtained on using 50 cm reactor length and was selected for further use. The volume of sample injected was varied in the range of 50-250  $\mu\text{l}$  by changing the length of the sample loop in the injection valve, while the other variables were held constant. The absorbance increased with increasing volume of sample injected (Figure 5). Best sensitivity was obtained by using 150  $\mu\text{l}$  sample loop and was selected as optimum. The flow system selected provided a sampling rate of 70 samples  $\text{h}^{-1}$  and the dispersion of the colored product studied under the optimum conditions and using the FIA manifold in (Figure 1) and found to be 3.16 (21).





**Fig.-5: physical conditions of FI procedure for determination of Bromhexine HCl.**

**A: Effect of flow rate (ml/min), B: Effect of sample loop (μl), C: Effect of reactor length (cm).**

#### **Analytical characteristics of FI spectrophotometric method**

-For FI method, the calibration graph for Bromhexine HCl was obtained using the procedure described previously in which a series of standard solutions were analyzed in triplicates to test the linearity. The slope (a), the intercept (b), the correlation coefficient (r) and the correlation of determination ( $r^2$ ) were evaluated by a least-squares regression analysis and are included in (Table 1). The obtained r value is highly significant also the molar absorptivity of  $1.155 \times 10^4 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  and Sandell sensitivity of  $0.0357 \mu\text{g.cm}^{-2}$ .

Statistical evaluations (23) of the regression line give the values of standard deviations for residuals ( $S_{y/x}$ ), standard deviations for the intercept ( $S_a$ ), standard deviations for the slope ( $S_b$ ) at 95% confidence and limit of detection (LOD) which shown in the table point out to the high precision of the proposed method.

**Table -1: Data for the calibration graph for Bromhexine HCl using the proposed method.**

Parameter	Values
Linearity range, $\mu\text{g ml}^{-1}$	30-700
r	0.9995
$R^2$	0.9992
intercept (a)	0.0733
Slop (b), $\text{ml } \mu\text{g}^{-1}$	0.0028
$S_{y/x}$	$2.1 \times 10^{-2}$
$S_a$	$1.29 \times 10^{-2}$
$S_b$	$2.86 \times 10^{-5}$
Molar absorptivity $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$	$1.155 \times 10^4$
Sandell sensitivity $\mu\text{g.cm}^{-2}$	0.0357
LOD, $\mu\text{g ml}^{-1}$	22.5

#### Accuracy and precision of FI spectrophotometric method

The accuracy and precision of the proposed method was tested by analyzing of three different concentrations of Bromhexine HCl for five replicate. The values of the percentage errors (E%) and percentage relative standard deviation (RSD%) are summarized in (Table 2). These value indicate a high accuracy and precision of the proposed method.

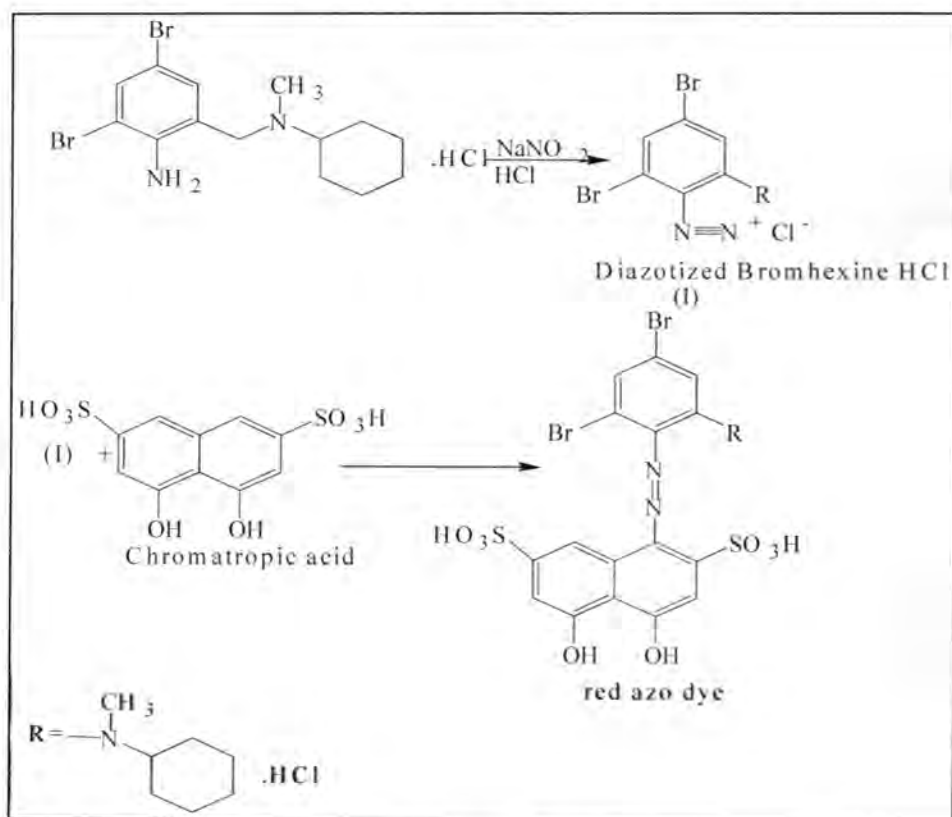
**Table -2: Accuracy and precision of the proposed method**

Concentration of Bromhexine HCl. $\mu\text{g.ml}^{-1}$		Error %	Recovery %	Relative standard deviation (R.S.D) %
Present	Found*			
50.00	49.75	- 0.50	99.5	1.016
100.00	100.46	0.46	100.46	0.551
500.00	503.32	0.66	100.66	0.261

\* for five determinations.

### Structure of the dye

A reaction subsequent based on the above results is shown in Scheme (1).



**Scheme (1): reaction sequence**

### Pharmaceutical applications

In order to demonstrate the applicability of the proposed method for the determination of Bromhexine HCl, the method was successfully applied to the analysis of Bromhexine HCl in syrup. The results are summarized in (Table 3). When pharmaceutical syrup of Bromhexine HCl were analyzed by the proposed method, interference from the sample matrix caused no problem. For pharmaceutical syrup of Bromhexine HCl examined, the assay results of proposed method were a good agreements with the declared constants.

**Table -3: Application of the proposed method of Bromhexine HCl. In pharmaceutical preparations**

Drug sample	Concentration of Bromhexine HCl (ppm)		Error%	Recovery%	R.S.D%
	Present	Found*			
Solvodien syrup 20mg/100 ml	50.00	49.64	-0.714	99.28	0.918
	100.00	98.25	+1.75	101.75	0.954

\*for five determinations

### Evaluation of the proposed method

For evaluation the competence and the success of the proposed method, the results obtained were compared with those from popular Bratton Marshall's method (21) for both pure Bromhexine HCl and Solvodien syrup. The results obtained were statistically compared, using the Student t-test and variance ratio F-test at 95% confidence level (23), the calculated t- and F-values did no exceed the theoretical values, which indicate that there is no significant difference between the methods in the determination of Bromahexine HCl in pharmaceutical preparations (Table 4).

**Table -4: The comparison of the proposed method with standard method using t- and F-statistical tests**

The pharmaceutical preparations	The proposed method		The standard method	
	Rec.%	Variation%	Rec.%	Variation%
Pure Bromhexine HCl	100.4	1.232	98.00	4.41
Solvodien syrup	98.25	1.210	100.8	0.49
	$(\bar{X}_1) = 99.35$	$\sum(X_i - \bar{X}_1)^2 = 2.442$	$(\bar{X}_2) = 100.1$	$\sum(X_i - \bar{X}_2)^2 = 6.68$

$$F_{\text{calculated}} = S_1^2 / S_2^2 = 0.365$$

$$F_{\text{theoretical}} = 161.4 \quad F_{\text{theoretical}} > F_{\text{calculated}}$$

at 95% confidence level,

$$T_{\text{calculated}} = 0.351, T_{\text{theoretical}} = 4.303$$

$T_{\text{theoretical}} > T_{\text{calculated}}$  ; at 95% confidence level.

A FI spectrophotometric method was proposed for the determination of Bromhexine HCl in pure and pharmaceutical preparation. The method has the advantage of simplicity, speed, accuracy and the use of inexpensive equipment.

The speed of the proposed method and its precision make it suitable for the quality control of formulations containing this drug.

The wide linear rang of the proposed method that obeyed Beer' law gave a good application for the pharmaceutical preparation, and can be used as a reliable and advantageous alternative to the other previously explorted methods for routine analysis of Bromhexine HCl in pharmiceutical samples. There is no significant differences between the proposed method and reference method with respect to precision and accuracy.



## REFERENCES

- 1- The Stationery Office on behalf of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA), "British Pharmacopoeia", London. 5<sup>th</sup> ed. (2007).
- 2- Ribone, M. E; Pagani, A. P. and Olivier, A. C., "Determination of the minor component bromhexine in cotrimoxazole-containing tablets by absorption spectrophotometry and partial least-squares (PLS-1) multivariate calibration", J. Pharm. Biomed. Anal., 23: 591-595, (2000).
- 3- Murali Mohan Rao, S. V; Nageswara Rao. I; Rama Subba Reddy ,T. and Sastry, C. S. P, "Assay of bromhexine hydrochloride in pharmaceutical formulations by extraction spectrophotometry", Indian Journal of Chemical Technology, 12: 170-174, (2005).
- 4- Dave, N.H; Mashru, R.C. and Thakkar, A.R., "Simultaneous determination of salbutamol sulphate, bromhexine hydrochloride and etofylline in pharmaceutical formulations with the use of four rapid derivative spectrophotometric methods", Anal Chim Acta., 1: 113-120, (2007).
- 5- Dias, A. C. B; Santos, J. L. M; Lima, J. L. F.C. and Zagatto, E. A. G., "Multi-pumping flow system for spectrophotometric determination of bromhexine", Anal.Chim.Acta., 499 : 107-113, (2003).
- 6 - Packert Jensen, B; Gammelgaard, B; Honore Hansen, S. and Vanggaard Andersen, J., "HPLC-ICP-MS compared with radiochemical detection for metabolite profiling of 3H-bromohexine in rat urine and faeces", J. Anal. At. Spectrom., 20 : 204-209, (2005).
- 7- Chu K. O. and Tin K.C., "Analysis of Antihistamines in Cough Syrup", Anal. Lett., 31: 1879-1890, (1998).
- 8- Vijaya Raja G; Venu gopal, G; Mounik, V; Satyavathi, S and Lavanya, Ch., "Simple colorimetric assay for microgram determination of Bromhexine Hydrochloride with MBTH and 2, 2' Bipyridyl", International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR), 1: 90-94, (2010).
- 9- Sanghavi, N. M; Samart, M. h; Singh, R and Matharu, P.S., "Colorimetric Analysis of Bromhexine", Indian Drugs, 27: 486-488, (1990).

- 10- Perez-Ruiz, T; Martinez-Lozano, C; Sanz, A and Mondejar, S., "Flow-injection extraction-spectrophotometric determination of bromhexine with orange IV", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 13: 1101-1106, (1995).
- 11- Sumarlik, E and Indrayanto, G., "TLC Densitometric Determination of Bromhexine Hydrochloride in Pharmaceuticals, and Its Validation". *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 27: 2047-2056, (2009).
- 12- Khalil, S and Elrabiehi, M., "Bromhexine-Selective PVC Membrane Electrode Based on Bromhexinium Tetraphenylborate". *Microchem. J.*, 62: 237-243, (1999).
- 13- Goicoechea, H. C and Olivieri, A. C., "Determination of bromhexine in cough- cold syrups by absorption spectrophotometry and multivariate calibration using partial least-squares and hybrid linear analyses. Application of a novel method of wavelength selection", *Talanta*, 49: 793-800, (1999).
- 14- Pospisilova, M; Polasek, M and Jokl, V., "Determination of ambroxol or bromhexine in pharmaceuticals by capillary isotachopheresis", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 24: 421-428, (2001).
- 15- Rodriguez, V.G; Lucangioli, S.E; Otero, G. C. F and Carducci, C. N., "Purity testing of drugs by capillary electrophoresis", *J. High Resol. Chromatogr.*, 19: 703-705, (1996).
- 16- Pai, P.N.S; Rao, G. K; Murthy, M. S; Agarwal, A and Puranik, S. , "Simultaneous determination of salbutamol sulphate and bromhexine hydrochloride in tablets by reverse phase liquid chromatography", *Ind. J. pharma. sci.*, 71: 53-55, (2009).
- 17- Shaikh, K. A; Patil, S. D and Devkhile, A. B., "Development and validation of a reversed-phase HPLC method for simultaneous estimation of ambroxol hydrochloride and azithromycin in tablet dosage form", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 48: 1481-1484, (2008).
- 18- Packert Jensen, B; Gammelgaard, B; Honore Hansen, S and Vanggaard Andersen, J., "HPLC-ICP-MS compared with radiochemical detection for metabolite profiling of 3H-bromohexine in rat urine and faeces". *J. Anal. At. Spectrom.*, 20: 204-209, (2005).

- 19- Abdel-Ghani, N.T; Issa, M. Y. and Ahmed, M. H. "Potentiometric flow injection analysis of bromohexine hydrochloride and its pharmaceutical preparation using conventional and coated wire ion-selective electrodes", *Scientia Pharmaceutica*, 74: 121-135, (2006).
- 20- Lima, J.F.C; Oliveira, S.M; Sahate, J.M; Zaggato, E.A.G;, "Multi pumping for spectrophotometric determination of Bromhexine", *Journal of pharmaceutical and Biomedical analysis*, 32, 1011-1017, (2003) .
- 21- Santoro, M.I; dos Santos, M.M and Maqalhaes, J.F,. Spectrophotometric determination of bromhexine hydrochloride in pharmaceutical preparations. *J Assoc Off Anal Chem.*, 67 :532-540, (1984).
- 22- Ružička J, Hansen EH, "Flow Injection Analysis", 3<sup>rd</sup> ed., John Wiley and Sons, Inc., New York, (2005).
- 23- Miller J.N and Miller J.C., "Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry". 116, 117, 121, 47, 52, 4<sup>th</sup> ed., pearson Education Limited, London (2001).

## Construction of Indium (III) Selective Electrodes Based on Promethazine Hydrochlorid in A PVC Matrix Membrane

Khaleda Hamid Al-Saidi and Zainab Watheg Ahmed

Department of Chemistry-College of Science-Al-Nahrain University

Submitted : 29/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

الاقطاب الانتقائية للاندسيوم الثلاثي التي تعتمد على البروميثازين هيدروكلورايد (PMH) وكذلك رباعي فنييل بورات (sodium tetraphenylborate) المادة مضافة مساعدة وبأستخدام الملدنات التالية : داي بيوتيل فتاليت (DBPH) , داي اوكتيل فتاليت (DOP) , تري بيوتيل فوسفيت (TBP) و اورثو نيترو فنييل ايثر (ONPOE) في غشاء البولي كلورايد فانينيل (PVC) . الدراسة شملت خواص الاقطاب كالميل في معادلة نيرنست , حد التحسس , مدى الخطية , عمر القطب , تأثير الدالة الحامضية ومعامل الانتقائية. فكان لها الميل (37.25, 12.53, 16.87, 19.85, 26.92) ملي فولت/حقبة. ومدى التراكيز الخطي للاقطاب هو:

$(1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1})$  مولاري.

وكان حد التحسس للقطب المستعمل المعتمد على (DOP) هو  $8 \times 10^{-7}$  مولاري. كذلك تم تعيين معامل الانتقائية ( $K_{A,B}^{pot}$ ) للاقطاب الانتقائية للمتداخلات ( $Na^+, K^+, Mn^{+2}, Cu^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+3}$ , ودرس معقد الانديوم والبروميثازين هيدروكلورايد طبقا لاثبات عمل القطب المحضر من ناحية تأثير الدالة الحامضية وتركيب المعقد. ونسبة الانديوم الى البروميثازين (3:1).

### ABSTRACT

Indium selective electrodes were constructed based on based on using promethazine hydrochloride (PMH) and sodium tetraphenylborate (NaTPB) as additive with using these plasticizers: Di-butyl phthalate (DBPH); Di-octyl phthalate (DOP); Di-butyl phosphate (DBP); Tri-butyl phosphate (TBP); ortho-nitro phenyl octyl ether (ONPOE) in PVC matrix respectively. The study include slope in Nernst equation, detection limit, liner range, lifetime, pH effect and selectivity coefficient. These electrodes give slopes (26.92, 19.85, 16.78, 12.53 and 37.25 mV/decade) and give linear ranges from  $(1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1} M, 1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-1} M, 1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1} M, 1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1} M$  and  $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1} M)$ . The detection limit for the electrode based on DOP was  $8 \times 10^{-7} M$ . The measurement interferences in the presence of ( $Na^+, K^+, Mn^{+2}, Cu^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+3}, Al^{+3}$ ) were



studied for determination selectivity coefficient ( $K^{pot}_{A,B}$ ). The complex of Indium (III) and promethazine hydrochloride was studied by UV-spectrophotometric method to improve the electrode working from the pH rang effect and complex formation. The ratio of Indium to promethazine hydrochloride (1:3).

---

## INTRODUCTION

Indium is a soft, silver-white metallic element. Its atomic number is 49 and its chemical symbol is (In) atomic weight 114.43. Indium was discovered in 1863 by the German chemists Ferdinand Reich and Heironymous Richter. It is very stable in both air and water. Indium compounds damage the heart, kidney and liver [1]. Pure Indium in metal form is considered non-toxic by most sources. In the welding and semiconductor industries, where Indium exposure is relatively high, there have been no reports of any toxic side-effects.

Different methods have been reported for the determination of Indium in products and biological samples such as high performance liquid chromatography[2], the UV spectrophotometry[3], Potentiometric study [4,5], spectrofluorimetric[6].

One unusual property of Indium is that its most common isotope is slightly radioactive; it very slowly decays by beta emission to tin. This radioactivity has a half-life of  $4.41 \times 10^{14}$  years, four orders of magnitude larger than the age of the universe and nearly 50,000 times longer than that of natural thorium. The first large scale application for Indium was high performance aircraft engines during World War II. Afterward, production gradually increased as new uses were found in fusible alloys and electronics. In the 1950, tiny beads of it were used for the emitters and collectors of PNP alloy junction transistors. In the middle and late 1980, the development of Indium phosphide (InP) semiconductors and Indium tin oxide thin films for liquid crystal displays (LCD) aroused much interest[7].

## MATERIALS AND METHODS

### Equipment

An expandable ion analyzer (Orion model EA-940, USA), a pH meter (WTW model pH 522, Germany), Double beam UV-Vis spectrophotometer model (UV-1650 PC) SHIMADZ (Japan) and a Silver-silver chloride electrode were used as a reference electrode in this work.

### Chemicals and Reagents

High molecular weight poly (vinyl chloride) (PVC), tetrahydrofuran (THF) was purchased from Lancaster, Promethazine hydrochloride standard was a gift from the State Company of Drug Industries and Medical Appliances (Samara IRAQ-SDI) and sodium tetraphenylborate (NaTPB).



Di-butyl phthalate (DBPH); Di-octyl phthalate (DOP); Di-butyl phosphate (DBP); Tri-butyl phosphate (TBP); ortho-nitro phenyl octyl ether (ONPOE) were obtained from Fluka AG, Switzerland.

Stock solutions of 0.1 M for each of NaOH, KCl, NaCl, CaSO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub>, MnSO<sub>4</sub>, Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O and AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O were prepared by dissolving 0.2922, 0.3729, 0.680, 0.7980, 0.7550, 2.5301, 1.2075 and 1.7115g in 50 mL of distilled water.

A solution of 0.1 M Indium (III) was prepared by dissolving 1.3882 g of Indium Oxide (In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in concentrated hydrochloric acid with heating until drying then washed it by distilled water and completing the solution up to 50 mL. The other Indium standard solutions were prepared by subsequent dilution of the stock solution ranged (10<sup>-7</sup>–10<sup>-1</sup>M).

### Assembly of ion-selective electrodes

The construction of the electrode body and the immobilization were done as described by Mahajan et al [8]. The glass tube was 3/4 filled with 0.01 M Indium (III) solution as an internal filling solution. The membrane was conditioned by immersing in a standard solution of 0.1 M Indium (III) solution for at least 2 hour before measurements. The pH of 10<sup>-2</sup> and 10<sup>-3</sup> M Indium (III) solution was adjusted with dilute solutions of sodium hydroxide and hydrochloric acid.

### Selectivity measurements

A separate solution method [9] was used for the selectivity coefficient measurement, and was calculated according to the equation:

$$\log K_{A,B}^{pot} = (E_B - E_A)/S + (1 - z_A/z_B) \log a_A \quad (1)$$

E<sub>A</sub>, E<sub>B</sub>; z<sub>A</sub>, z<sub>B</sub>; and a<sub>A</sub>, are the potentials, charge numbers, and activities for the primary A ion, respectively, at a<sub>A</sub> = a<sub>B</sub>.

The selectivity coefficients were also measured by the mixed method (Fixed interference method) [10,11] according to the equation:

$$K_{A,B}^{pot} = a_A / (a_B)^{z_A/z_B} \quad (2)$$

## RESULTS AND DISCUSSION

Five electrodes of Indium (III) based on Promethazine hydrochloride and sodium tetraphenylborate (NaTPB) as additive soluble in organic solvents such as tetrahydrofuran with the following plasticizers: Di-butyl phthalate (DBPH) membrane 1; Di-octyl phthalate (DOP) membrane 2; Di-butyl phosphate (DBP) membrane 3; Tri-butyl phosphate (TBP) membrane 4; and ortho-nitro phenyl octyl ether (ONPOE) membrane 5. The theoretical value for the slope is 59.16 for mono-valent ions and 29.58 for di-valent ions [12, 13] (that mean the best value of slope when tri-valent ions is 59.16/3=19.72±2 mV). The slopes values were obtained for electrodes based on DBPH, TBP and ONPOE (membranes 1,

4 and 5) are 26.92, 12.53 and 37.25 mV/decade with correlation coefficients of 0.9998, 0.9997 and 0.9998 respectively. The linear range for these electrodes  $1 \times 10^{-1}$ – $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-1}$ – $1 \times 10^{-5}$  and  $1 \times 10^{-1}$ – $1 \times 10^{-5}$  M with detection limits of  $8 \times 10^{-6}$  M,  $5 \times 10^{-6}$  M and  $8 \times 10^{-6}$  M respectively. The parameters of Indium (III) electrodes are listed in Table 1. The Indium (III) electrodes based on membranes using DBPH as a plasticizer, give this slope 26.92mV/decade, this may be the viscosity of DBPH make steric in the ion exchange between the Promethazine hydrochloride ions and Indium ions in the external solution. But the electrode based on TBP as a plasticizer gave this slope 12.53mV/decade. This could be due to the low viscosity of TPB (3.114 cST) which causes rapid leaching of the membrane components to the external solution. Also the low viscosity of ONPOE (11.44 cST) that mean homogenous membrane is form between plasticizer and PVC this make the ion exchange between the ions in the membrane and the external solution. Then the electrode based on DBP (82.98 cST) as plasticizer give slope 16.78 mV/decade, that mean the ion exchange between the complex ion and external solution is difficult and this electrode not use. The response of Indium (III) selective electrode was examined at regular intervals to check the reproducibility and life time of the sensor. It was observed that during the long time period of 33 days. But after three months, the electrode characteristics significantly drifted away from the Nernst behavior. This may be attributed to the decrease in the quantity of ionophore that mean the promethazine and the plasticizer in the membrane due to migration of these components from the PVC membrane into the PVC tube. A typical plot for calibration curves of the best electrode based on DOP plasticizer is shown in Figure 1.

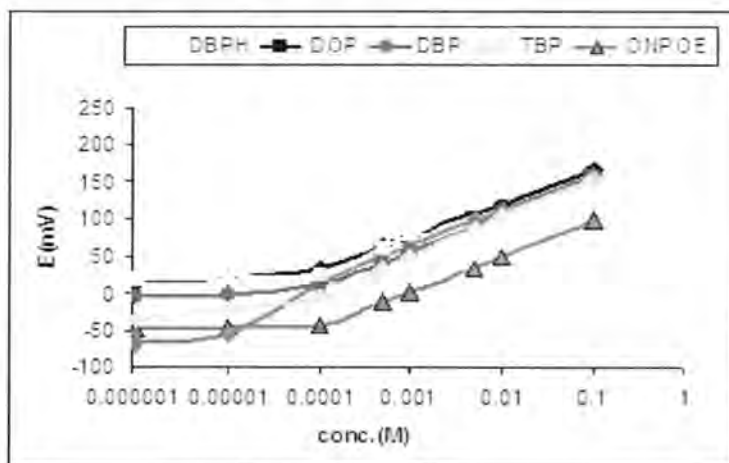


Fig.-1: Calibration curves of Indium (III) selective electrodes using DBP, DBPH, DOP, TBP and ONPOE plasticizers.

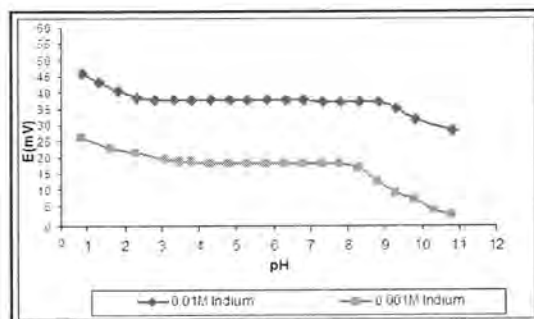
**Table -1: The parameters of five Indium (III) electrodes.**

Electrode	Parameters						
Number	Slope mV/decade	Slope $\pm$ (ts/ $\sqrt{N}$ )	Linearity range (M)	Detection Limit (M)	Correlation Coefficient	RSD* %	Life time (days)
1-PMH+NaTPB+DBPH	26.92	26.92 $\pm$ 0.261	1 $\times$ 10 <sup>-1</sup> – 1 $\times$ 10 <sup>-5</sup>	8 $\times$ 10 <sup>-6</sup>	0.9998	0.392	45
2-PMH+NaTPB+DOP	19.85	19.85 $\pm$ 0.212	1 $\times$ 10 <sup>-1</sup> – 1 $\times$ 10 <sup>-4</sup>	8 $\times$ 10 <sup>-5</sup>	0.9999	0.148	33
3-PMH+NaTPB+DBP	16.78	16.78 $\pm$ 0.103	1 $\times$ 10 <sup>-1</sup> – 1 $\times$ 10 <sup>-6</sup>	8 $\times$ 10 <sup>-7</sup>	0.9992	0.249	30
4-PMH+NaTPB+TBP	12.53	12.53 $\pm$ 0.163	1 $\times$ 10 <sup>-1</sup> – 1 $\times$ 10 <sup>-5</sup>	5 $\times$ 10 <sup>-6</sup>	0.9997	0.526	15
5-PMH+NaTPB+ONPOE	37.25	37.25 $\pm$ 0.174	1 $\times$ 10 <sup>-1</sup> – 1 $\times$ 10 <sup>-5</sup>	8 $\times$ 10 <sup>-6</sup>	0.9998	0.189	21

\* The result of three times repeated; t=4.3; N=3.

### Effect of pH

The potential remains constant over the pH range between 2.8-7.5, which may be taken as the working pH range of the sensor assembly. At pH lower than 2.8, the interference of H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> ions is more which is due to the high rate of diffusion of H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> ions from sample solution to membrane matrix (extract H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> ion) where they interact with carrier and its protonation takes place resulting in decreased selectivity of Indium (III) ions. In this case, the membrane sensor then responds to hydrogen ions. At pH higher than 7.5, the deviation in the electrode response is due to the formation of some hydroxyl complexes of Indium (III) ion in solution. The pH effect studied for the two different concentrations 10<sup>-3</sup> and 10<sup>-2</sup> M as shown in Figure 2.



**Fig.-2:- Effect of pH on the potential of Indium (III) selective electrode is using DOP plasticizer.**

**Table -2: Working pH ranges for electrode using DOP as plasticizer.**

Membrane	pH range	
	$10^{-2}$ M	$10^{-3}$ M
PMH+NaTPB+DOP	2.8-8.1	2.8-7.5

**Selectivity measurements**

The values of the selectivity coefficients for separate method are listed in table 3. The selectivity coefficients were very small; this means that there is no interference of these interfering ions with the response of Indium (III) electrodes.

**Table -3: Selectivity coefficient values according to separate method using Indium (III) selective electrode using DOP plasticizer.**

Interfering Ion	$a_B = 5 \times 10^{-2}$ M	
	$a_A$	$K^{pot}_{A,B}$
$K^+$	$7 \times 10^{-6}$	$0.560 \times 10^{-1}$
$Na^+$	$9 \times 10^{-6}$	$0.720 \times 10^{-1}$
$Cu^{+2}$	$5 \times 10^{-5}$	$0.447 \times 10^{-3}$
$Mn^{+2}$	$3 \times 10^{-5}$	$0.268 \times 10^{-2}$
$Ca^{+2}$	$3 \times 10^{-4}$	$0.600 \times 10^{-2}$
$Al^{+3}$	$3 \times 10^{-5}$	$0.600 \times 10^{-3}$
$Fe^{+3}$	$7 \times 10^{-6}$	$0.560 \times 10^{-1}$

In mixed method, The potential values obtained are plotted vs. the logarithm of the concentration of the Indium (III). The intersection of the extrapolated linear portions of this plot indicates the value of ( $a_A$ ) as shown in figure 3. The results of selectivity coefficients listed in table 4.

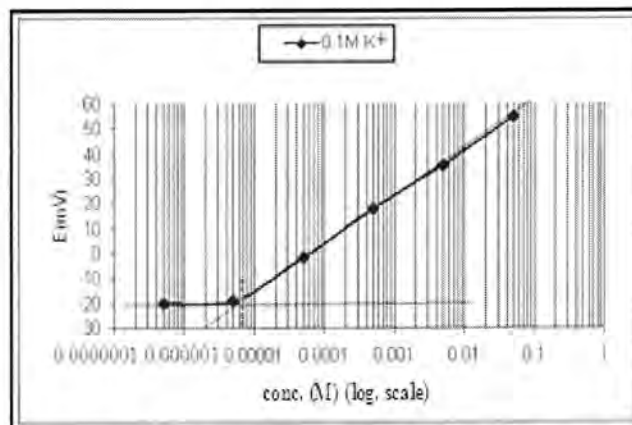


Fig.-3: calibration curve of fixed interfering method using Indium (III) selective electrode using DOP plasticizer.

Table -4: Selectivity coefficient values according to (FIM) using Indium (III) selective electrode using DOP plasticizer.

Interfering Ion	$E_B$ (mV)	$K_{A,B}$
$K^+$	79	$0.329 \times 10^{-3}$
$Na^+$	82	$0.467 \times 10^{-3}$
$Cu^{+2}$	71	$0.242 \times 10^{-3}$
$Mn^{+2}$	83	$0.603 \times 10^{-4}$
$Ca^{+2}$	35	0.498
$Al^{+3}$	31	0.793
$Fe^{+3}$	79	$0.329 \times 10^{-3}$

### Sample analysis

Potentiometric techniques were used for the determination of Indium (III); these included direct method, standard addition method (SAM), multi standard addition method (MSA) and titration method. In the multi standard addition method (MSA), the plot of anti logarithm ( $E/S$ ) versus the volume of the multiple addition of the standard solution was used to determine the concentration of Indium (III) solution. A typical plot is shown in Figure 4. For potentiometric titration a  $10^{-2}$  M of sodium hydroxide (NaOH) were used as a titrant. A typical titration plot shown in Figure 5. The results are listed in Table 5.



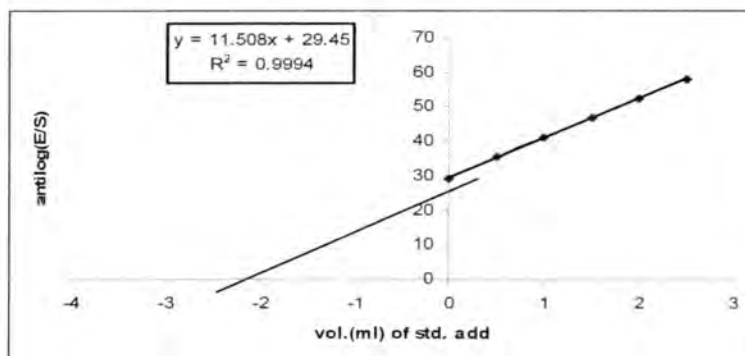


Fig.-4:- Plot of antilog (E/S) versus the volume of Indium (III) using promethazine hydrochloride selective electrode using DOP plasticizer.

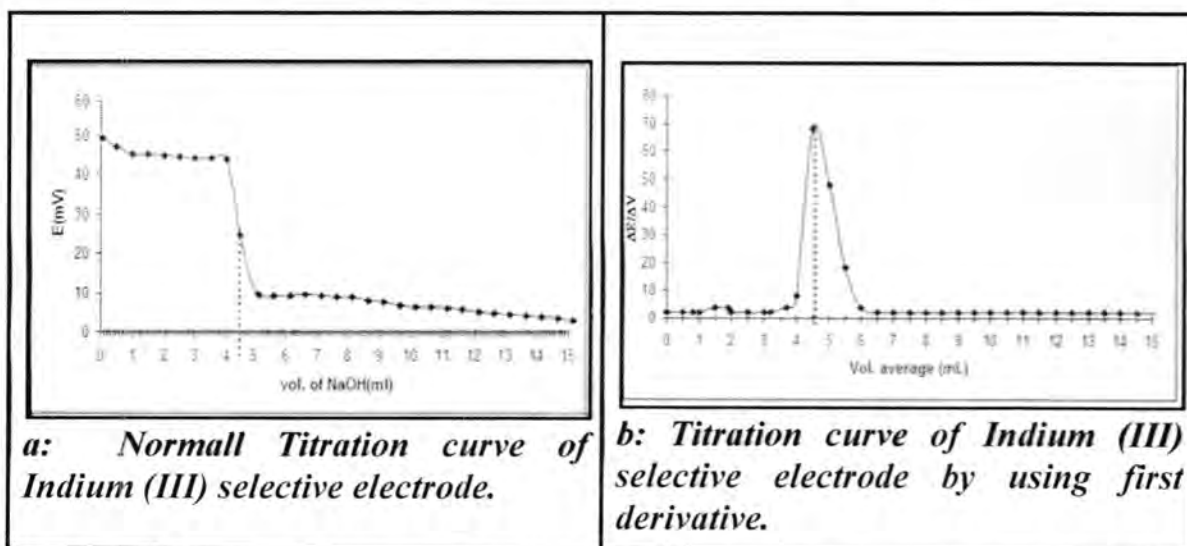


Fig.-5:- Titration curve of Indium (III) selective electrode using DOP plasticizer

Table 5: Analysis of Indium (III) solutions by potentiometric techniques.

Parameter	Direct method	SAM	MSA	Titration Method
Conc.(M)	$1.000 \times 10^{-4}$	$1.000 \times 10^{-3}$	$1.000 \times 10^{-3}$	$1.000 \times 10^{-2}$
Found(M)	$0.9994 \times 10^{-5}$	$0.9992 \times 10^{-3}$	$1.024 \times 10^{-3}$	$1.002 \times 10^{-2}$
RSD <sup>*</sup> %	0.513%	0.713%	-----	0.141%
Re <sup>o</sup> %	99.4%	99.2%	102.4%	100.2 %
relative error <sup>o</sup> %	-0.6%	-0.8%	2.4%	0.2 %

UV-Spectrophotometry:-

UV study use to improve the formation of complex at working pH range for Indium (III) selective electrode.

### The spectrum of Indium complex [PMH-In (III)]:-

Figure 6; show the absorption spectrum of purple drug complex of promethazine hydrochloride and Indium (III) shows two absorption wavelengths 353 nm and 258 nm. The complex solution containing of 30 mL of  $10^{-4}$  M of promethazine hydrochloride and 10 mL of  $10^{-4}$  M of Indium, complex formation in the acidic media at pH=3.

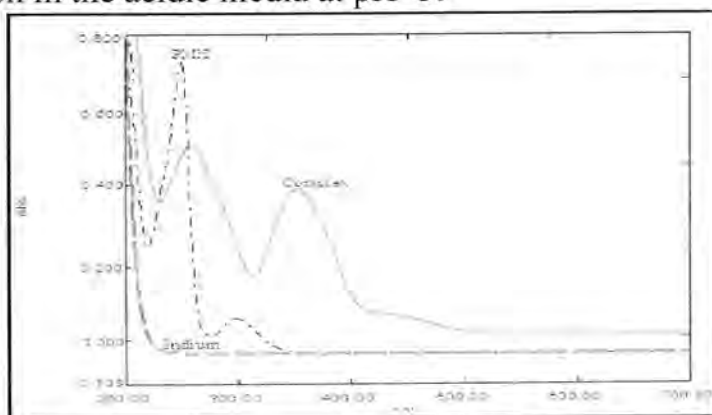


Fig.-6: Spectrum of complex solution in pH=3.

### The Effect of pH on [PMH-In (III)] complex Spectrum:-

The spectra for series of complex solutions with different pH ranged from 1 to 12 using HCl and NaOH. In the acidic addition, get the optimize pH in the pH=3 and the absorbance equal 0.447 for wavelength at 258 nm and 0.347 for 353 nm. The wavelengths and absorbance are listed in table 6. The spectrums of these additions are shown in figure 7. Figure 8; show the pH effect on the absorbance of complex at different pH for  $\lambda$  258 nm.

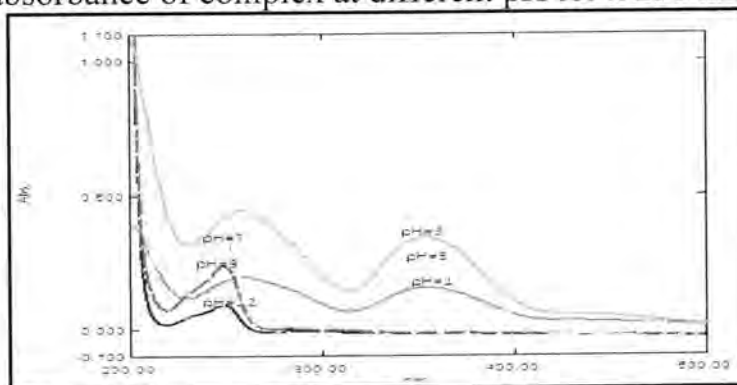


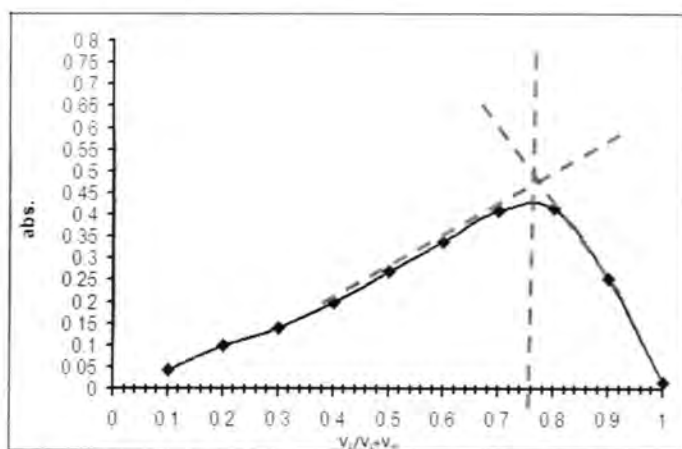
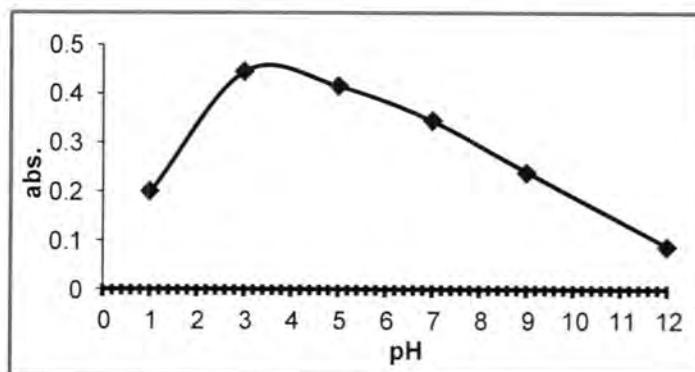
Fig.-7: spectrum of complex solution at different PH

**Table -6: The effect of pH for the absorbance and wavelength at different pH**

pH=1		pH=3		pH=5		pH=7		pH=9		pH=12	
$\lambda$ nm	abs.	$\lambda$ nm	abs.	$\lambda$ nm	abs.	$\lambda$ nm	abs.	$\lambda$ nm	abs.	$\lambda$ nm	abs.
258	0.200	258	0.447	258	0.416	249	0.345	249	0.241	249	0.09
353	0.155	353	0.347	353	0.252	.....	.....	.....	.....	.....	.....

**Determination of ligand to metal ratio in complex by continuous variation (Job method):-**

Figure 9, show the continuous variation between promethazine hydrochloride and Indium (III) ion, and the ratio M: L =1:3.

**Fig.-9:- continuous variation for complex [PMH-In (III)].****Fig.-8: Effect of pH on the absorbance for complex [PMH-In (III)].**

Indium (III) selective electrodes based on using promethazine hydrochloride (PMH) and Sodium tetraphenylborate (NaTPB) as additive with different plasticizers were constructed. The best Indium (III) electrode was based on DOP. The electrode based on DOP gave excellent electrode parameters and no interference with several interfering ions. The proposed analytical method is proved to be simple and rapid, with good accuracy. The complex of Promethazine hydrochloride and Indium (III) was studied by UV-spectrophotometric method and determination the promethazine hydrochloride to Indium (III) ratio (3:1) by using Job method.

### REFERENCES

- [1] Alfantazi, A. M., Moskalyk, R. R., "Processing of indium ", *Minerals Engineering*, **16** :687-694, (2003).
- [2] N. Memon, M. I. Bhanger," Micellar Liquid Chromatographic Determination of Aluminum as its complex with 8-Hydroxyquinoline-5-Sulfonic acid ", *Acta Chromatographic*, **14** : 123-127, (2004).
- [3] Justyna P., " A Sensitive Spectrophotometric Method for Determination of Trace Quantities of Indium in Soil", *J. Phy.*, **13** :7-13, (2007).
- [4] Saad S. Hassan, Wagiha H. M., Mohamed A. F. Elmosallamy, Mahra H. Almarzooqi," Novel Ibuprofen Potentiometric Membrane Sensors Based on tetraphenylporphyrinato indium(III) ", *Ana. Sci.*, **19** :675-679, (2003).
- [5] Najwa I. Abdulla, Abdul-Muhsin Al-Haideri, Moen I. Al-Joboury, Nabil S. Nassory," Construction and Characterization of Indium Liquid Ion Selective Electrodes Based on Crown Ethers in a PVC Matrix Membrane", *Turk. J. Chem.*, **29** :687- 696, (2005).
- [6] F. Capitán, A. Navalón, J. L. Vilchez, L. F. Capitán-Vallvey, "Spectrofluorimetric determination of traces of indium with 5-chlorosalicylidene-*o*-aminophenol ", *J. Microchimica Acta.*, **103** :5-6, (1991).
- [7] Akiyo T., Miyuki H., Minoru O., Naohide I., Takahiro U. K., " pulmonary toxicity of indium-tin oxide and indium phosphide after intratracheal instillations into the lung of hamsters", *J. of Occupational health*, **44** :299-102, (2002).

- [8] R. K. Mahajan, R. Kaur, I. Kaur, V. Sharma and M. Kumar," Novel Copper (II)-Selective Electrode Based on 2,2': 5',2''-Terthiophene in PVC Matrix", *Anal. Sci.*, **20** : 811, (2004).
- [9] Yoshio, U., Philippe, B., Kayoko, U., Koji, T., Shigern, A., "Selectivity Coefficients for Ion Selective Electrodes: Recommended methods for Reporting  $K_{A,B}$  values", *pure and Appl. Chem.*, **72** :1851-2082, (2000).
- [10] Umezawa, Y.; Umezawa, K., Sato, H., "Selectivity Coefficients for Ion Selective Electrodes", *Pure Appl. Chem.*, **74**(6) :923-994, (2002).
- [11] S. Sadeghi, M.T. Vardini, H. Naeimi, Annali Di Chim., "Selectivity Coefficients", *anal. Sci.*, **96** :61-65, (2006).
- [12] Richard P., Buck, Erno L., "recommendations for Nomenclature of Ion Selective Electrodes", *Pure Appl. Chem.*, **66** :2527-2536, (1994)



## Serum Levels of Copper, Zinc, Iron and Magnesium in Iraqi's Women with HCMV infection

Safaa I. Kader

College of Medicine, University of Al-Nahrain, Baghdad, Iraq

Submitted : 03/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

كان الهدف من الدراسة: تعيين التغيرات في تراكيز العناصر النادرة (النحاس، والزنك، والحديد، والمغنسيوم) في مصل المرضى النساء العراقيات المصابات بفيروس HCMV ومقارنتها بالأشخاص الأصحاء.

أجريت الدراسة في مركز البحوث بكلية الطب /جامعة النهرين للفترة ما بين 2010-2011، جمعت عينات الدم الوريدي من خمس وخمسون امرأة (35 امرأة مصابة بفيروس HCMV، و 20 امرأة من السليمات كمجموعة سيطرة). تم قياس مستويات عناصر الزنك، والنحاس، والحديد، والمغنسيوم في مصل الدم بواسطة تقنية مطيافية الامتصاص الذري، استخدمت تقنية الاليزا لتخمين الإصابة بفيروس HCMV.

كانت تراكيز النحاس، والزنك، والحديد، والمغنسيوم كالتالي:

(الزنك:  $0.048 \pm 1.124$ ، النحاس:  $0.192 \pm 1.052$ ، الحديد:  $0.006 \pm 0.031$ ، المغنسيوم:

$1.016 \pm 18.223$  ملجم/لتر على التوالي في المرضى

والزنك:  $0.059 \pm 1.119$ ، النحاس:  $0.238 \pm 1.096$ ، الحديد:  $0.013 \pm 0.035$ ، المغنسيوم:

$3.393 \pm 20.299$  ملجم/لتر في الأصحاء.

أظهر التحليل الإحصائي ان تراكيز الزنك والنحاس والحديد والمغنسيوم لا تظهر فروق

معنوية بين المرضى والأصحاء عند  $P > 0.05$  رغم التغير الحسابي الطفيف في تراكيزهم.

### ABSTRACT

The aim of this study was conducted to determine the alterations in serum trace elements, including zinc (Zn), copper (Cu), iron (Fe) and magnesium (Mg) in Iraqi's women with human CMV (HCMV) infection and compare them with the results of age matched healthy individuals.

The study was carried out in Medical Research Unit, College of Medicine, Al-Nahrain University from 2010-2011. Fifty five women, 35 patients with HCMV and 20 healthy individuals were included in this study. Those women were examined serum zinc (Zn), copper (Cu), iron (Fe), magnesium (Mg) by using atomic absorption spectrophotometer. The

HCMV infection was determined using standard diagnostics criteria by using ELISA assay.

Serum zinc, copper, iron and magnesium concentrations were (**Zn**:  $1.124 \pm 0.048$ , **Cu**:  $1.052 \pm 0.192$ , **Fe**:  $0.031 \pm 0.006$  and **Mg**:  $18.223 \pm 1.018$ ) mg/L, respectively in patients with HCMV infection and (**Zn**:  $1.119 \pm 0.059$ , **Cu**:  $1.096 \pm 0.238$ , **Fe**:  $0.035 \pm 0.013$  and **Mg**:  $20.299 \pm 3.393$ ) mg/L in healthy controls, respectively. Serum zinc, copper, iron and magnesium concentrations were not statistically significant in patients with HCMV infection compared with those of healthy individuals ( $p > 0.05$ ).

## INTRODUCTION

Human cytomegalovirus (HCMV) is a ubiquitous beta herpes virus that infects 88.93% of the general population and as much as 100% of people within some populations or in some geographic areas [1]. HCMV can infect a variety of cell types, including epithelial and glial cells, and generally replicates slowly in most cells [2]. It is well known that HCMV can be transmitted to 40-50 % of fetuses following infection through material fetal transmission; and approximately 10-15 % of infected babies had such abnormalities as microcephaly, seizures, sensorineural hearing loss (SNHL), cognitive, motor, and visual disorders [3]. Infection with cytomegalovirus (CMV) causes generation of intracellular reactive oxygen species, which activate NF-kappa B, a cellular transcription factor. NF-kappa B mediates expression of the CMV promoter and of genes involved in the immune and inflammatory responses [4]. Speir *et al.* reported that in the case of CMV, free radicals induce a viral promoter gene as well as turning on transcription of immediate-early and late proteins, and a number of virions [5]. Free oxygen radicals may protect against virus attack and can produce tissue damage during this protection by triggering inflammation [6]. Also, interact with neighbouring entities and can damage molecules, cells, tissues, DNA and finally the entire organs. The body has evolved mechanisms for neutralizing free radicals, including enzymes like superoxide dismutase (SOD: copper/zinc-SOD (Cu/Zn-SOD) and iron-SOD (Fe-SOD)), catalase and glutathione peroxidase [7,8]. The significance of the biochemical and nutritional roles of trace elements (i.e. zinc, copper) is widely recognized, since these elements are constituent components of many metalloproteins and metalloenzymes [9]. Many trace elements in these enzymes act as antioxidants or help such functions that not only regulate immune responses of the host, but also may alter the genome of the viruses [4]. Antioxidants inhibit intracellular reactive oxygen species, NFkappa B and CMV [5]. Zn is required, as a functional component, in more than 200 enzymes and transcription factors. It is also involved in the protection against vitamin E depletion, the stabilization of membrane structure and the maintenance of tissue concentrations of metallothioneins,

powerful free radical scavengers [10,11]. Copper is an essential element for the human organism, forming part of many copper-dependent enzymes which involved in oxide-reduction processes, such as superoxide dismutase, lysyl oxidase and ceruloplasmin, which have an important role in the protection of the organism against free radicals and, consequently, they are related to the oxidative stress[7,12-15]. Iron is another essential micronutrient required for a variety of biochemical processes, is essential for electron transfer reactions, gene regulation, binding and transport of oxygen, and regulation of cell differentiation and cell growth and also important for the immune system because it promotes immune cells and interferes with cell-mediated immune effector pathways and cytokine activities [16,17]. Magnesium is one of the most important micronutrients for both the innate and adaptive immune system. it participates in immune responses in various ways [18].

The present study were designed to explore the evaluation between serum zinc, copper, iron, and magnesium levels in women with HCMV infection and healthy women..

## **MATERIAL AND METHODS**

The current study was conducted in Medical Research Unit, College of Medicine, Al-Nahrain University from 11/2010-2/2011. The randomly selected study group comprised of 55 women aged from (18-55 yr). Included: 35women as the patients group and 20 healthy subjects served as controls group.

Blood samples were taken from all subjects in accordance with standard procedure; five to eight mL of blood was collected from the vein in evacuated tubes without adding any anticoagulant agent. Collected blood samples were allowed to clot. The blood samples were centrifuged at rpm g for 10 min, sera were transferred and stored in plastic vials at  $-4^{\circ}\text{C}$  until further analysis. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine serum HCMV.

### **Trace Elements Analysis**

Sera were diluted 10 folder with de-ionized water and analyzed by atomic absorption spectrophotometer AA 6200 Shimadzu (Kyoto, Japan) with computer.

### **Statistical Analysis**

Statistical analysis has been performed using Statistical package for the social sciences (SPSS, version 11.0) for windows. Continuous variables were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD). Data were analyzed

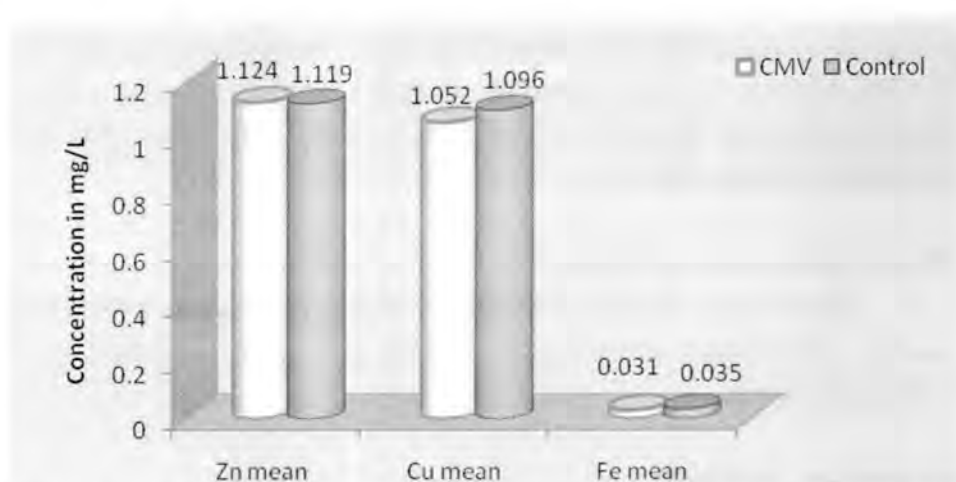
using independent sample Student's *t* test. Significance was assigned for *P* values ( $P < 0.05$ ) with 95% Confident Interval.

## RESULTS AND DISCUSSION

In **table.1**, the serum Cu, Fe and Mg concentrations were found to be (Cu:  $1.052 \pm 0.192$  mg/L), (Fe:  $0.031 \pm 0.006$  mg/L) and (Mg:  $18.223 \pm 1.018$  mg/L) in patients with HCMV, which was insignificantly lower than that of controls (Cu:  $1.096 \pm 0.238$  mg/L), (Fe:  $0.035 \pm 0.013$  mg/L) and (Mg:  $20.299 \pm 3.393$  mg/L). While serum Zn concentrations showed insignificant elevation (Zn:  $1.124 \pm 0.048$  mg/L) for patient compared with those of healthy individuals controls (Zn:  $1.119 \pm 0.048$  mg/L) at ( $p > 0.05$ ). The results of this study have been summarized in **Fig.1** and **2**.

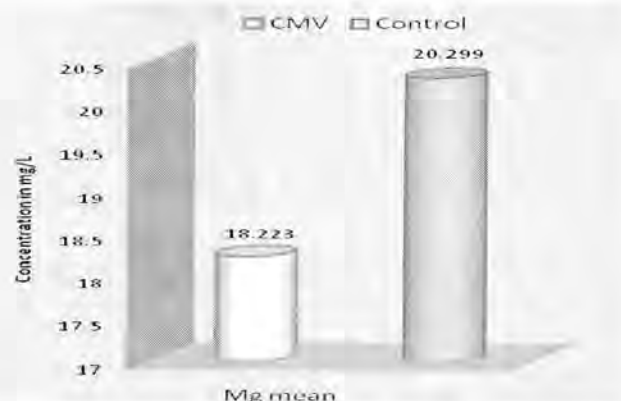
**Table-1: Serum trace elements (Zn, Cu, Fe and Mg) in HCMV and healthy subjects**

Trace element	Sample	Mean	Std. Deviation	<i>t</i>	<i>p</i>
Zn	CMV	1.124	0.048	0.21	0.83
	control	1.119	0.059		
Cu	CMV	1.052	0.192	-0.50	0.61
	control	1.096	0.238		
Fe	CMV	0.031	0.006	-0.91	0.36
	control	0.035	0.013		
Mg	CMV	18.223	1.018	-2.17	0.09
	control	20.299	3.393		



**Fig. -1 : Serum Zn, Cu and Fe Concentrations (mg/L) in the HCVM Patients (n=35) and the Control (n=20) Shown as Mean ( $p < 0.05$ )**





**Fig. -2 : Serum Mg Concentration (mg/L) in the HCMV Patients (n=55) and the Control (n=20) Shown as Mean ( $p < 0.05$ )**

There are two general classes of abnormality associated with trace elements: abnormality as a result of a specific deficiency from dietary inadequacies and imbalances, and abnormality secondary to other diseases. Furthermore, secondary changes occur as a result of diseases; these changes are not exactly understood. This is the first report indicating that the levels of some elements remained without significant variants in patients with HCMV; this may possibly affect some specific enzyme systems [7,19].

In the present study, we have demonstrated that serum Zn, Cu, Mg and Fe concentrations were not altered significantly in patients with HCMV infection. Although the level of Cu, Mg and Fe were decreased, and the slight elevation in Zn level in patients with HCMV. This means that infections with HCMV did not affect the Cu, Fe, or Zn-linked enzyme systems (such as alkaline phosphatase, superoxide dismutase, ferroxidase ceruloplasmin, ATPase...etc) [19].

Also, these changes are probably result from defence strategies of organism and were induced by the hormone-like substances, or could possibly be due to the response of viral damaged tissues leaking intracellular metals into the plasma [7,14].

We concluded that serum essential trace elements Zn, Cu, Mg and Fe concentrations were probably altered by the immune system as a defense strategy of organism during HCMV infection or because of the damage that occurred by virus. Further investigations will be needed to determine trace elements before and after treatment in order that the role of Cu, Zn, Fe and Mg levels in patients with HCMV can be established.



## REFERENCES

- [1] Mathieu S. Chevalier, Gwynn M. Daniels, and David C. Johnson. Binding of Human Cytomegalovirus US2 to Major Histocompatibility Complex Class I and II Proteins Is Not Sufficient for Their Degradation. *J Virol.* 76(16): 8265–8275 (2002).
- [2] Bahram Bodaghi, Marlea E. P. Slobbe–van Drunen , Andrzej Topilko , Emmanuelle Perret. Entry of Human Cytomegalovirus into Retinal Pigment Epithelial and Endothelial Cells by Endocytosis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40 (11) 2598-2607 (1999).
- [3] Li Dan, Wen L., Yuan Hui and Liu Nan. The correlation between prognosis of HCMV infection and zinc in mature women. *Journal of Huazhang University of Science and Technology.* 24(6), 628-629 (2004).
- [4] Speir, E., Cytomegalovirus gene regulation by reactive oxygen species. Agents in atherosclerosis. *Ann. NY Acad. Sci.* 899, 363–374 (2000).
- [5] Speir, E., Yu, Z. X., Takeda, K., Ferrans, V. J. and Cannon, R. O., Antioxidant effect of estrogen on cytomegalovirus-induced gene expression in coronary artery smooth muscle cells. *Circulation.* 10, 2990–2996 (2000).
- [6] Romero Alvira, D., Guerrero Navarro, L., Gotor Lazaro, M. A. and Roche Collado, E., Oxidative stress and infectious pathology. *Ann. Med. Int.*, 12, 139–149 (1995).
- [7] U. C. Chaturvedi, Richa Shrivastava and R. K. Upreti. Viral infections and trace elements: A complex interaction. *Current Science.*, 87 (11, 10) 1536-1550 (2004).
- [8] Satoshi Urushidate, Masashi Matsuzaka, Noriyuki Okubo, Hiroki Iwasaki, Tatsuya Hasebe, Association between concentration of trace elements in serum and bronchial asthma among Japanese general population. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* (2010) article in press.
- [9] Suzuki K, Oyama R, Hayashi E, Arakawa Y. Liver disease and essential trace elements. *Nippon Rinsho.* 54:85–92 (1996).
- [10] Di Silvestro, R.A. Zinc in relation to diabetes and oxidative disease. *J. Nutr.*, 130: 1509S–1511S (2000).

- [11] Sonia Sfar, Abdelhafidh Jawed, Hamadi Braham, Salah Amor, François Laporte, Abdelhamid Kerkeni. Zinc, copper and antioxidant enzyme activities in healthy elderly Tunisian subjects. *Experimental Gerontology*. 44:812–817(2009).
- [12] Gaetke, L. M. and Chow, C. K., Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, , 189, 147–163(2003).
- [13] Metin Kilinc, AyhanCoskun, FidanBilge, SecilSimsekImrek, YalcinAtli. Serum reference levels of selenium, zinc and copper in healthy pregnant women at a prenatal screening program in southeastern mediterranean region of Turkey. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 24:152–156 (2010).
- [14] Cadenas, E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*. 6, 391–397 (1997).
- [15] Ladipo OA. Nutrition in pregnancy: mineral and vitamin supplements 1–3. *Am J Clin Nutr* 72:280–90 (2000).
- [16] Seligman PA, Kovar J, Gelfand EW. Lymphocyte proliferation is controlled both by iron availability and regulation of iron uptake pathways. *Pathobiology*. 60: 19–26(1992).
- [17] [48] Weiss G, Wachter H, Fuchs D. Linkage of cellular immunity to iron metabolism. *Immunol Today*., 16:495–500 (1995).
- [18] Mak IT, Dickens BF, Komarov AM, Wagner TL, Phillips TM & Weckegli WB. Activation of the neutrophil and loss of plasma glutathione during Mg deficiency-modulation by nitric oxide synthase inhibition. *Mol. Cell. Biochem*. 176,35–39 (1997).
- [19] Suleyman Y., Eser K., and Recep S. Changes of Total Content of Magnesium and Zinc Status in Patients with Chronic Toxoplasmosis. *Biological Trace Element Research*92:11-15. (2003).

## Synthesis of New Pyrano Pyrazole Derivatives

Redha I. H. AL-Bayati, Foad M. Saed and Wassan B. Ali

Department of Chemistry-College of Sciences-AL-Mustansiriyah University

Submitted : 12/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

يتضمن هذا البحث تحضير مركب 3,4-داي مثيل بايرانو بايرزول -6-اون (1) ومشتقاته (2-11) عن طريق تسخين مشتقات الهيدرازين مع اثيل اسيتو اسيتيت لمدة ساعة في حمام زيتي بدرجة 160°م. تمت أسيلة المركب (1) عن طريق تفاعلة مع الاسيتايل كلورايد والاسيتك انهايدرايد للحصول على المركب (12) ثم حضرت الجالكونات (13-19) عن طريق تفاعل المركب الاخير مع الالديهيدات الاروماتية كما تم تفاعل المركب (1) مع كلوريد البروبايل بوجود تري اثيل امين ليعطي المركب (20). ثم تمت معاملة المركب (20) مع الأمينات الثانوية ليعطي قواعد مانخ (21-25). تم تشخيص المركبات المحضرة باستخدام بعض الطرائق الطيفية، الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، الأشعة تحت الحمراء، ومطيافية الرنين النووي المغناطيسي.

### ABSTRACT

In this work ,3,4-dimethyl pyrano pyrazole -6-one(1) and its derivatives(2-11) has been synthesized by heating hydrazine derivatives with ethyl acetoacetate in an oil bath 160° C .A cylation of compound (1) with acetyl chloride and acetic anhydride a compound (12).The chalcones (13-16) was prepared by reaction of compound (12) with aryl aldehydes . However the reaction of compound (1) with propargyl chloride in the presence of triethyl amine a compound (20).Further more treatment of the last compound with secondary amines a mannich base(21-25).The structure of the synthesized compounds were deduced by using some spectroscopic methods, UV –Visible, FT-IR and <sup>1</sup> H NMR.

### INTRODUCTION

Pyrano pyrazoles and its derivatives posses antimicrobial[1],anticancer [2] and vasodilator activities[3],which made that to be used as medicines and biodegradable agrochemicals.

Chalcones having an  $\alpha$ ,  $\beta$  unsaturated carbonyl group are one of the important biocides and versatile synthons for various chemical transformation. Most of chalcones are highly biologically active with a number the of pharmacological and medicinal applications[4].Chalcones have been used anti AIDS agent[5],cytotoxic agent with antiangiogenic

activity[6] anti malarial [7]and anti-inflammatory[8].The increasing popularity of the mannich reaction has been fueled by the ubiquitous nature of nitrogen in drugs and natural products as well as by the potential of this ulticomponents reaction to generate diversity of compounds[9].Therefore, the present work was directed towards synthesis of new derivatives of pyrano pyrazol -6- one, which expected to have possible biological activity.

## MATERIALS AND METHODS

Melting points were determined on GallenKamp (MFB-600) melting point apparatus and are uncorrected.The IR spectra of the compounds were recorded on ashimadzu FT-IR-3800 spectrometer as KBr disk. The UV spectra were performed on Cintra-5-Gbes scientific equipment . The  $^1\text{H}$ -NMR spectra (solvent DMSO- $d_6$ ) were recorded on Bruker 400 MHz spectrophotometer using TMS as internal standard.

### Synthesis of 3,4-dimethyl pyrano-[2,3-c]-pyrazol-6-one derivatives(1-11) [10]

A mixture of hydrazine derivative (0.1 mole) and redistilled ethyl acetoacetate(0.2 mole) was heated for 1 hour at  $160^\circ\text{C}$  in an oil bath. After cooling, ether (25 ml) was added; the formed precipitate was filtered and recrystallized from appropriate solvent. (Table 1)

### Synthesis of compound (12): [11]

A mixture of compound 1 (0.05 mole) with 25 ml of acetic anhydride and 25 ml of acetyl chloride was refluxed for 2 hour .After cooling 50 ml of cold water was added ,the formed solid was collected and recrystallized form chloroform . (Table 1)

### Synthesis of chalcones (13-19) : [12]

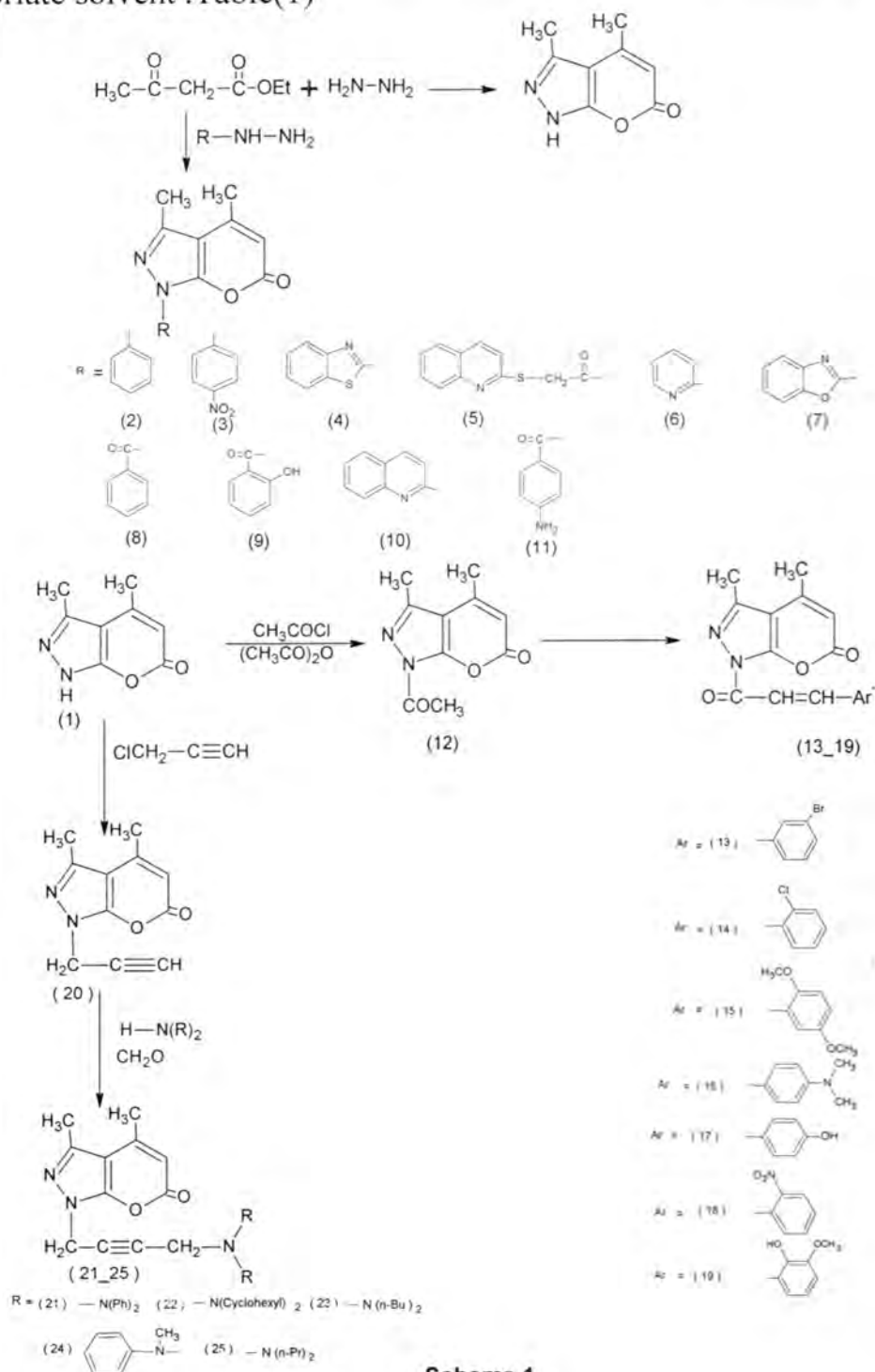
To the solution of compound 12 (0.01 mole) in absolute ethanol (50 ml ), aromatic aldehyde (0.01 mole ) was added in the presence of 2% NaOH (2 ml). The reaction mixture stirred for 10-12 hour at room temp. and then refluxed for 4-6 hour. After refluxing, the reaction mixture was concentrated to half of its volume and poured on to ice, the formed solid was collected and recrystallized form appropriate solvent. (Table 1)

### Synthesis of compound (20) :

A mixture of compound 1 (0.0075 mole) in (20 ml) of absolute ethanol and (1.1 ml) of triethyl amine was stirred for (10 min.), then propargyl chloride (0.56 g, 0.0075 mole.) was added drop wise within (15 min.), The mixture was refluxed for 3 hrs. After that, the reaction mixture was poured slowly into ice water (20 ml). The precipitate was filtered and recrystallized from ethanol .(Table 1)

### Synthesis of Mannich base (21-25) :

A mixture of compound 20 (0.005 mole) and paraformaldehyde (0.005 mole) in (10 ml) of dioxane and cuprous chloride (CuCl) (0.1 g.), were heated in a round bottom flask to (70°C). At this temperature (0.005 mole) suitable secondary amine was added dropwise to the above mixture, which is heated for 2 hrs at (70 °C). The mixture was cooled, and poured on ice water (20 ml). The precipitate was filtered and recrystallized from the appropriate solvent .Table(1)



Scheme 1



## RESULTS AND DISCUSSION

The 3,4 dimethyl -3a.7a- dihydropyran -( 2.3) pyrazol was prepared in this work by the reaction of ethyl acetoacetate (2mole) with hydrazine hydrate (1mole )at oil bath temperature  $160^{\circ}\text{C}$  For 1 hour in 90 % yield. The structure of compound (1) was confirmed by its spectral data. the IR spectra showed the N-H stretching absorption near  $3217\text{ cm}^{-1}$  and the C=O stretching at  $1701\text{ cm}^{-1}$  .in addition to the band at  $1606\text{ cm}^{-1}$  for the C=N stretching ( table 2).  $^1\text{HNMR}$ :12.9 (s,1H,NH ),5.8(s,1H,Ar-H),2.4(s,6H,CH<sub>3</sub>) .This compound(1) which was used as the starting material for further synthesis ( scheme 1). The compound (2-11) was prepared by the reaction of ethyl acetoacetate (2mole) with the appropriate substituted hydrazine derivative to obtain 3,4- dimethyl-1- substituted pyrano (2,3-C)pyrazol-6-ones. Their IR spectra showed absorption bonds at ( $1730 - 1755$ )  $\text{cm}^{-1}$  due to the carbonyl groups,( table 2) .The  $^1\text{HNMR}$  of compound (2) show:7.4-7.8(m,Ar-H),5.8(s,1H,Ar-H)2.4(s,6H,CH<sub>3</sub>). The  $^1\text{HNMR}$  of compound(4):7.3-7.4(m,Ar-H),6(s,1H,Ar-H),2.5(s,6H,CH<sub>3</sub>). The reaction of compound(1) with acetyl chloride and acetic anhydride for 2 hour resulted in the formation of compound (12) .IR spectra showed the disappearance of the absorption bands for NH while showed bands due to C=O of amide at  $1690\text{ cm}^{-1}$  (Table 3).

$^1\text{HNMR}$ :6.1(s,1H,Ar-H),2.8(s,3H,COCH<sub>3</sub>),2.5(s,6H,CH<sub>3</sub>). Chalcones was prepared by the reaction of compound 12 with aromatic aldehydes in boiling absolute ethanol in the presences of 2% NaoH .The IR of these compound showed  $\nu\text{ C=O}$  ( $1662\text{-}1685$ )  $\text{cm}^{-1}$  due to the conjugated with double bonds (Table 3). Compound(20) have been prepared by treatment of compound (1) with propargyl chloride in the presence of triethylamine. IR showed the bonds at  $2121\text{ cm}^{-1}$  due to the stretching vibration of ( $\text{-C}\equiv\text{C-}$ ) asymmetrical and  $3205\text{ cm}^{-1}$  for ( $\equiv\text{C-H}$ ) stretching vibration (Table 4).The last compound is key intermediate to the synthesis of many Mannich bases that are prepared in this work . Mannich bases have been obtained by treatment of compound(20) with corresponding secondary amines in the presence of paraformaldehyde and dioxane as asolvent with catalytic amount of cuprous chloride.The success of all Mannich reaction have been confirmed by the disappearance of the ( $\equiv\text{C-H}$ ) stretching vibration at  $3205\text{ cm}^{-1}$  .  $^1\text{HNMR}$  of compound( 21): 6.7-7.5 (s,10 H,Ar-H) 6(s,1H,Ar-H),3.8(s,2H,CH<sub>2</sub>),3.5(s,2H,CH<sub>2</sub>-N),2.5(s,6H,CH<sub>3</sub>). (Table 4).

**Table-1; physical properties of the synthesized compounds(1-25)**

Comp.No.	M.P $^{\circ}$ C	Yield %	Recryst.solvent
1	243-245	90	Ethanol

2	140-124	85	Ethanol
3	180-182	81	Ethanol
4	160-162	65	Ethanol
5	120-122	70	Ethanol
6	126-128	75	Ethanol
7	240 des	60	Ethanol
8	178-180	71	Ethanol
9	154-156	78	Ethanol water 1:1
10	242-244	82	Ethanol
11	171-173	77	Ethanol
12	188-190	76	Chloroform
13	170-172	53	Ethanol
14	150-152	60	Ethanol
15	161-163	55	Ethanol
16	110-112	56	Ethanol
17	198-200	62	Ethanol water 1:1
18	126-128	59	Ethanol
19	210-212	61	Ethanol water 1:1
20	200-202	70	Ethanol
21	Oily	65	Chloroform
22	Oily	75	Chloroform

23	Oily	66	Chloroform
24	Oily	60	Benzene
25	Oily	72	Ethanol

Table-2:UV and IR spectral data for compound (1-11)

Comp. No	UV Ethanol	Characteristic bands of FT-IR (cm <sup>-1</sup> ,KBr)					
	$\lambda$ max nm	C=O	C=C	C-Har	C-Hal	C=N	Others
1	221 300	1701	1454-1577	3088	2980	1606	N N-H 3215
2	246 306	1755	1491-1548	3070	2987	1608	-
3	255 300	1751	1442-1554	3068	2970	1624	v NO2 1334-1514
4	259 340	1735	1444-1545	3039	2983	1614	v C=S 1271-1375
5	233 335	1730	1438-1514	3080	2978	1616	v C=O amid 1695
6	265 342	1739	1448-1573	3045	2926	1608	v N-N 1060
7	225 299	1735	1462-1556	3060	2982	1610	-
8	243 340	1740	1445-1560	3071	2987	1615	v C=O amid 1670
9	225 300	1730	1445-1565	3064	2982	1606	v C=O amid 1665 (vOH) 3350
10	241 310	1743	1437-1550	3051	2980	1616	v N-N 1053

11	225 360	1718	1450-1555	3060	2975	1610	v C=O amid 1668( vNH <sub>2</sub> ) 3300-3400
----	------------	------	-----------	------	------	------	--

**Table-3:UV and IR spectral data for compound (12-19)**

Comp. No	UV Ethanol	Characteristic bands of FT-IR (cm <sup>-1</sup> ,KBr)					
	$\lambda$ max nm	C=O	C=C	C-Har	C-Hal	C=N	Others
12	288 377	1728	1471-1587	3074	2978	1618	v C=O amid 1690
13	244 340	1730	1471-1587	3070	2935	1618	v C=O amid 1665
14	220 315	1732	1471-1589	3074	2985	1618	v C=O amid 1683
15	220 330	1705	1458-1589	3080	2951	1608	v C=O amid 1680
16	243 338	1720	1471-1554	3074	2929	1600	v C=O amid 1662
17	245 318	1726	1435-1577	3028	2985	1606	v C=O amid 1680 (vOH) 3250
18	237 305	1725	1444-1525	3101	2924	1606	v C=O amid 1675
19	261 310	1730	1491-1577	3074	2955	1606	v C=O amid 1660 (vOH) 3300

**Table-4:UV and IR spectral data for compound (20-25)**

Comp. No.	UV Ethanol	Characteristic bands of FT-IR (cm <sup>-1</sup> ,KBr)					
	$\lambda$ max nm	C=O	C=C	C-Har	C-Hal	C=N	Others
20	224 300	1701	1433-1577	3090	2980	1606	(-C $\equiv$ C-) asy. 2121 ( $\equiv$ C-H) 3205
21	258 323	1705	1464-1555	3080	2970- 2960	1608	-
22	250 338	1726	1450-1556	3090	2856- 2933	1608	-
23	247 317	1714	1460-1562	3088	2872- 2931	1635	-
24	220 308	1725	1450-1564	3085	2862- 2922	1602	-
25	230 303	1715	1445-1550	3080	2871- 2955	1608	-

## REFERENCES

- 1- Velaparthi,s.,Brunsteiner,M., Uddin ,R. ,Wan ,B. , Franzblau ,S.G.(5-tert-butyl-N-pyrazol-4-yl-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[d]isoxazole-3-carboxamide derivatives as novel potent inhibitors of mycobacterium tuberculosis pantothenate synthesis), A. J . Med. Chem.51,1999-2002,(2008).
- 2- Nadia R.Mohamed,Nahed Y.Khaireldin,Amin F.Fahmy,(Facil Synthesis of fused nitrogen containing heterocyclic as anticancer agent) ,Der Pharma Chemica, 2 :400-417,(2010).



- 3- V.K.Ahluwalia,A.Dahiya,V.Garg,( Reaction of 5-amino-4-formyl-3-methyl(or phenyl) -1-phenyl-1H- pyrazoles with active methylene compound :Synthesis of fused heterocyclic ring )J.Indian.Chem., 28 :368-388,(1997).
- 4- Rakesh N,Mistry and K.R.Desai, (Studies on synthesis of some heterocyclic chalcone ,pyrazoline ,pyrimidine -2-thione ,para-Acetanilide sulphonyl and benzoyl derivatives and their Antimicrobial activity ) ,E-J.Chem, 2 :30-41,(2005).
- 5- J.H.Wu,X.H.Wang,Y.H.YiandK.H.Lee, (Anti-AIDS agent 54.A potent anti-HIV Chalcone and flavonoids from genus Desmos, Bioorg.Med.Chem.,Lett., 13, 1813, (2003).
- 6- N.H.Nem,Y.Kim,Y.J.You,D.H.Hong,H.M.Kim,andB.Z.Ahn, (Cytotoxic 2,5 -dihydroxy chalcones with unexpected anti antigenic activity ) Eur.J.Md. Chem, 38, 179, (2003).
- 7- X.Wu,p.Wilairat and M.L.Go,(Antimalarial activity of ferrocenyl chalcones) , Bioorg.Med.Chem., Lett., 12 :2299-2302, (2002).
- 8- Won,S;Liu,C.;Tsao,L.;Weng,J.;Ko,H.;Wang,J.;Lin,C.(Synthetics chalcones as potential anti-inflammatory and cancer chemo preventive agent).Europ.J.Med.Chem., 40 :103-112,(2005).
- 9- B.H.Jonathan, (The Direct catalytic Asymmetric Three -component Mannich reaction) ,J.Am.Chem.soc., 122 :9336-9337,(2000).
- 10- Redha I.AL-Bayati , Mohammed M.AL-Dulaimi and Selvana A.Harak, (Synthesis of some new 3,4-dimethyl-3a,7a-dihydropyrano-[2,3]pyrazol) , J. of the College of Education, 1 :98-106,(2008).
- 11- Suad M.Al.Araji.,Mohammad R.Ahamed and Luma S,Ahamed , (Synthesis of New C-Substituted phenothiazine Derivatives), Al-Mustansiriya J.of Science, 20 :30-40,(2009).
- 12- Mohammed Amir ,Sadique Akhtar javed and Harish Kumar,( Synthesis and biological evaluation of some 4-(1H-indol-3-)-6-phenyl-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-2-ones),Acta Pharm., 58 :467-477.(2008).

## Physical and Mechanical Properties of PVAc-Gypsum Composite

Tariq S. Najim<sup>1</sup>, Atheer Alaa Abdulhussein<sup>1</sup> and Suhad A. Yassin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Polymer Research Unit-College of Science-Al-Mustansiriyah University

<sup>2</sup>Chemistry Dept. College of Science, Duhok University, Iraq

Submitted : 03/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

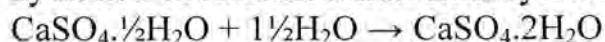
هذه الدراسة تتعلق بتحويل الجبس التجاري (كبريتات الكالسيوم شبه المائية) مع مستحلب بولي خلات الفينيل (PVAc) وتقدير الصفات الفيزيائية والميكانيكية للجبس المحور وغير المحور. نسبة الماء الى الجبس ثبتت على نسبة 45% خلال جميع التجارب. النماذج المتراكبة المحضرة من مستحلب (PVAc) مع الجبس حصل فيها تحسين ملحوظ في قوة التصادم والانضغاط ومعامل المرونة في حين لوحظ هناك انخفاض في قوة الانحناء عندما تغيرت نسبة الـ (PVAc) في الجبس من 2.5% الى 10% الهدف الاخر من هذه الدراسة هو تقييم امتصاص الماء من قبل متراكبات الجبس. PVAc. من النتائج العملية ظهر بشكل واضح، ان درجة الانتفاخ تقل كلما ازدادت نسبة (PVAc) في متراكبات جبس-PVAc.

### ABSTRACT

This paper is concern with the modification of commercial gypsum (calcium sulfate hemihydrate) with poly(vinyl acetate) PVAc and the evaluation of physical and mechanical properties of modified and unmodified gypsum. The water-gypsum ratio was held at 45% throughout all experiments. The prepared composites show a clear improvement in impact, compression strength and modulus of elasticity while, the bending strength is reduced when the PVAc proportion in gypsum was increased from 2.5 to 10%. The other objective of this study was to evaluate the water absorption of PVAc -gypsum composite. From the experimental results it is clear that the swelling% was reduced when the PVAc percentage in gypsum-PVAc composite was increased.

### INTRODUCTION

Plaster is a calcium sulfate-based material which solidifies and hardens when mixed with water. The chemical reaction during solidification is the hydration of calcium sulfate hemihydrate:



The amount of stoichiometric water required is rather 18.9g per 100g of hemihydrate powder [1], but higher amount of water is required for the proper degree of consistency of the plaster to become plastic or moldable. On the other hand, water quantity much exceeding the stoichiometric requirement gives rise to pores during molding and to a decrease of mechanical strength of plaster [2,3]. Almost all dwellings in the Iraq and most other countries have walls and ceiling plastered with gypsum. In controlling of the relative humidity in these dwellings, the moisture behavior of the gypsum plays an important role. The gypsum can absorb moisture from the indoor climate during periods of high humidity. It can also desorb moisture to the indoor climate in times of low humidity [4]. There are two commercial varieties of crude gypsum, rock gypsum and gypsum or gypsite used for the manufacture of gypsum binding material. These substances consist principally of a hydrous sulfate of lime ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) with varying percentage of silica, carbonate of lime, carbonate of magnesia and iron oxide. Building gypsum is an air-setting binder composed mainly of simihydrate gypsum and obtained by processing gypsum at temperatures 150-160°C [5]. Gypsum items have a number of valuable properties like relatively small bulk density, incombustibility, good sound absorbing capacity, good fire resistance, rapid drying and hardening with negligible shrinkage, superior surface finish, resistance to insects and rodents and low energy input during burning to produce gypsum plaster [5]. There are three types of gypsum can be distinguished:

- 1-Gypsum  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 2-Burned gypsum  $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ , Plaster of Paris or stucco
- 3-Dead gypsum  $\text{CaSO}_4$

The gypsum found in nature is partly dehydrated to burned gypsum by heating it between 150-160°C, as mentioned before. The burned gypsum ( $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ ) readily reabsorbs water under solidification and reconverts under swelling to the old condition ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). When gypsum is heated above 500°C, dead burned gypsum is obtained, which only very slowly react with water [4].

Multicomponent mixtures of modern gypsum – based composite materials are produced as dry, premixed mortars in highly automated plants with precisely controlled dosing and batch processing. The most important component of gypsum – based materials is a water soluble polymer, which is usually based on cellulose ethers: methyl cellulose or modified methyl cellulose. Methyl cellulose provides high water retention, improved consistency, as well as adhesion and plasticization of gypsum system [6].

Addition of acrylic polymers in dispersion state together with glass fiber into the gypsum material leads to high improvement in mechanical strength and durable to external effects [7]. The effect of latex on the properties of gypsum depends primarily on the latex- hemihydrate ratio. The magnitude of the observed effect generally increases proportionally with the dose this was interpreted as due to the reduction in water content [8-10].

Some natural fillers were used as reinforcement of gypsum, the effect of rice husk powder on selected physical mechanical properties of gypsum were investigated by Kim[11]. On the other hand, the influence of hemp and flax fibers, on the setting time of plaster and the mechanical properties of the composite matrix were evaluated by Dalmay and coworkers[12].

The objective of this study is to evaluate the effect of PVAc emulsion (which was added to the calcium sulfate hemihydrate with water) on the physical and mechanical properties of gypsum-PVAc composite.

## MATERIALS AND METHODS

The specimens of an unmodified and modified gypsum with PVAc were prepared with hydration of calcium sulfate hemihydrate. The PVAc/gypsum ratio was varied from 2.5 to 10% by weight. The quantity of water: gypsum ratio was adjusted at 45% by weight. After the castings were made, the specimens were cured in laboratory conditions at 30°C and about 25% relative humidity for 5 days.

### Poly(vinyl acetate) PVAc

PVAc for gluing of wood was used in this project, which was an emulsion paste obtained from local market. The content of water was estimated by drying at 50°C under vacuum until we obtain a constant weight.

### Gypsum

Gypsum used as a main matrix in this project was calcium sulfate hemihydrate gypsum ( $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ ), which was obtained from local market in Baghdad.

## Mechanical Properties Tests

### Impact Strength

Impact resistance is a measure of the ability of a material or structure to withstand certain level of the application of a sudden load without failure. In charpy method for impact measurement the specimen is notched sometime un-notched [13,14]. In this method, a free swinging pendulum with a round-up



mount is used as an impactor. The Charpy impact strength of un-notched specimens (G) in kilo joules per square meter is given by [13]:

$$G = \frac{U}{X.Y} \times 10^{-3}$$

Where U is impact energy in Jules, absorbed by the test specimen, X is the width of specimen in (mm) and Y is the thickness in (mm) of the test specimen.

### Bending Strength

Bending strength can be defined as the resistance of material to bending or the ultimate load to be tolerated by the specimen without failure. Bending strength was determined by using 5 \*100 mm specimen tested under three-point loading on a span 10cm [15]. From three-point test, modulus of elasticity (E) can be evaluated [16].

$$E = \frac{Mgl^3}{48IS}$$

Where

M is the load applied at the specimen in gram.

G is acceleration of gravity.

L is the span in cm.

S the bending of specimen.

I is the engineering bending moment. Which can be determined by the following relation:

$$I = \frac{bd^3}{12}$$

Where b is the width of specimen, d is the thickness of specimen

### Compression Strength

Compression test or crushing strength is the maximum stress that a rigid material withstand under longitudinal compression. Compression strength is the measured as a force per unit area of initial cross-section (50mm), and is listed as MPa.

$$\text{Compressive} = \frac{\text{Load}}{\text{Cross sectional area of sample before deformation}}$$

When the resin matrix has a high cross-link density, the polymer becomes rigid with a high value of compressive strength [17].



### Modulus of Elasticity

Three point flexural test was used to evaluate the elastic bending modulus of samples (E). The mechanical tests were determined by using the following relation [18].

$$E = \frac{gL^3}{48I}$$

Where g is 9.81 m/Sec<sup>2</sup>

L is the distance between the two loaded points

I is the geometric band moment

### Swelling test

The gypsum specimens were dried to constant weight and immersed in deionized water at room temperature. The gypsum specimens were periodically weighted after removing excess water from the surface of samples with a filter paper. Swelling was calculated from the following relation:

$$\text{Degree of Swelling (\%)} = \frac{W_t - W_o}{W_t} \times 100$$

Where,  $W_t$  is the weight of swollen gypsum specimen at time t and  $W_o$  is the initial weight of dry specimen

## RESULTS AND DISCUSSION

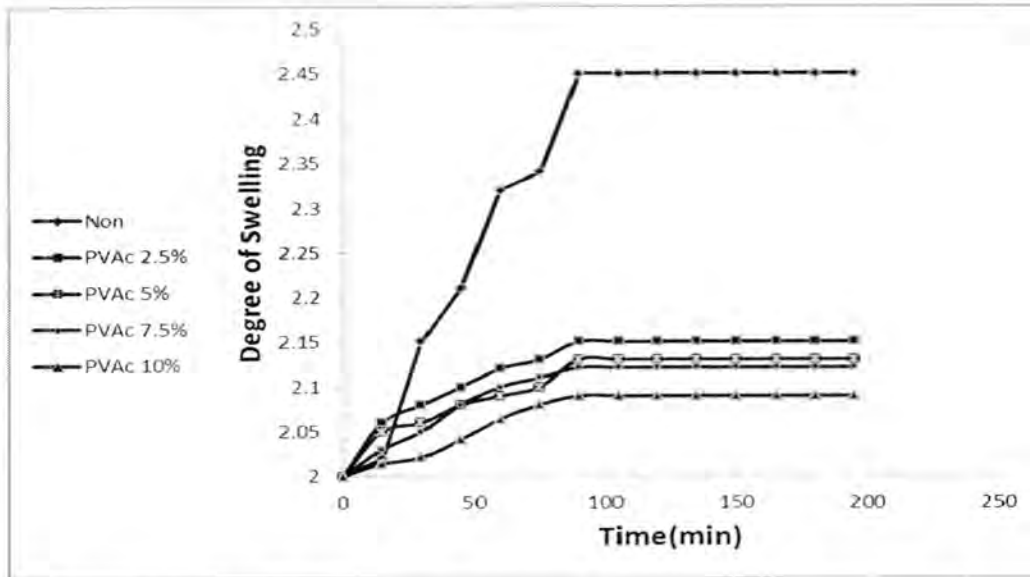
### Swelling properties of gypsum

The water absorption by gypsum materials is of a major concern as building material, because the absorption of water by gypsum materials cause serious damage to its mechanical properier[19].

The swelling of unmodified gypsum and gypsum-PVAc composite were done through the immersion of these materials in water for different time intervals (from 15 to 195 minutes). Table 1 and fig.1 is clearly reveal the decrease in degree of swelling of gypsum-PVAc composite, when the PVAc percentage in gypsum matrix varied from 2.5-10% in comparison with unmodified gypsum. The decreases in water absorption with increase of percentage of PVAc may be attributed to the decrease in porosity of gypsum structure. Inherently, the solid structure of solidified gypsum, which, created by hydration of hemihydrated gypsum is porous and the porosity increases with increase in water:gypsum ratio[19]. On the other hand, the hydrophobicity of PVAc when dry may be another reason for the decrease in the degree of swelling in PVAC

**Table -1: swelling properties of PVAc-gypsum composite**

Sample	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min	135 min	150 min	165 min	180 min	195 min
Non	2	2.02	2.15	2.21	2.32	2.34	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45
PVAc 2.5%	2	2.06	2.08	2.10	2.12	2.13	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15
PVAc 5%	2	2.05	2.06	2.08	2.09	2.1	2.13	2.13	2.13	2.13	2.13	2.13	2.13	2.13
PVAc 7.5%	2	2.03	2.05	2.08	2.10	2.11	2.12	2.12	2.12	2.12	2.12	2.12	2.12	2.12
PVAc 10%	2	2.014	2.021	2.041	2.064	2.08	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09

**Fig.-1 : Degree of swelling of gypsum and gypsum-PVAc composite.**

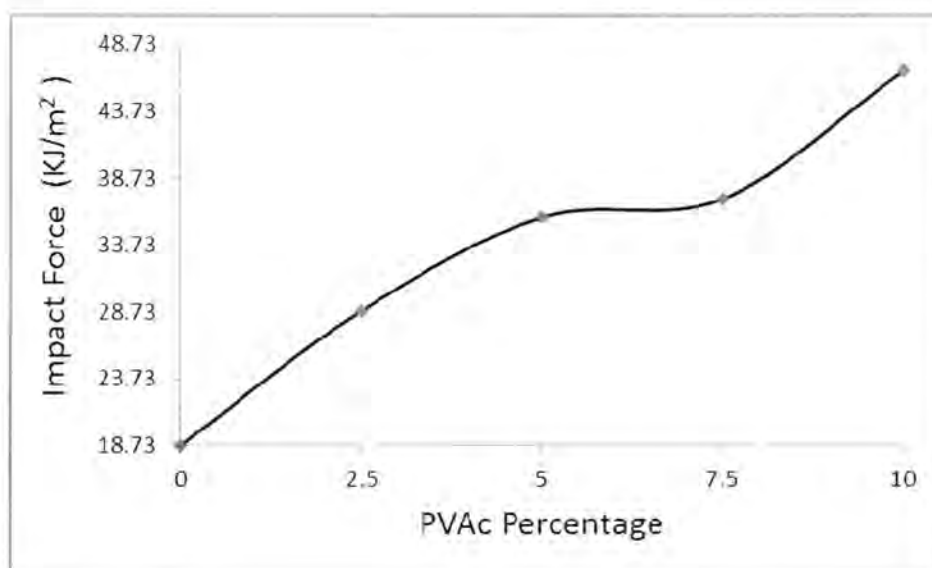
### Impact strength

When a material or structure is exposed to a sudden force, the material either withstand this load or failed, this behavior is depend on the structure of that material (either rigid or somewhat elastic). The hardened gypsum alone (water: gypsum ratio was 45%) and gypsum PVAc composite with PVAc proportion varied from 2.5-10%, were subjected to different impact forces. It was found that the impact strength is increased when, the PVAc proportion in gypsum-PVAc composite increases figure2 table2. It is clear from table2, that

the impact strength increases from  $18.73 \text{ KJ/m}^2$  for gypsum alone to  $46.73 \text{ KJ/m}^2$  for gypsum-PVAc composite with PVAc percentage is 10%. This increase in impact strength of the composite might be attributed to the ability of the PVAc polymer to fill in the voids in the plaster and gives an elastic behavior to the gypsum-PVAc composite, which finally lead to increase the impact strength of gypsum-PVAc composite.

**Table -2: Impact Force of gypsum and gypsum-PVAc composite.**

Sample	Impact Force ( $\text{KJ/m}^2$ )
Non	18.73
PVAc2.5%	28.82
PVAc 5%	35.81
PVAc 7.5%	37.18
PVAc 10%	46.73



**Fig.-2: Plot of impact strength versus the percentage of PVAc in gypsum-PVAc composite.**

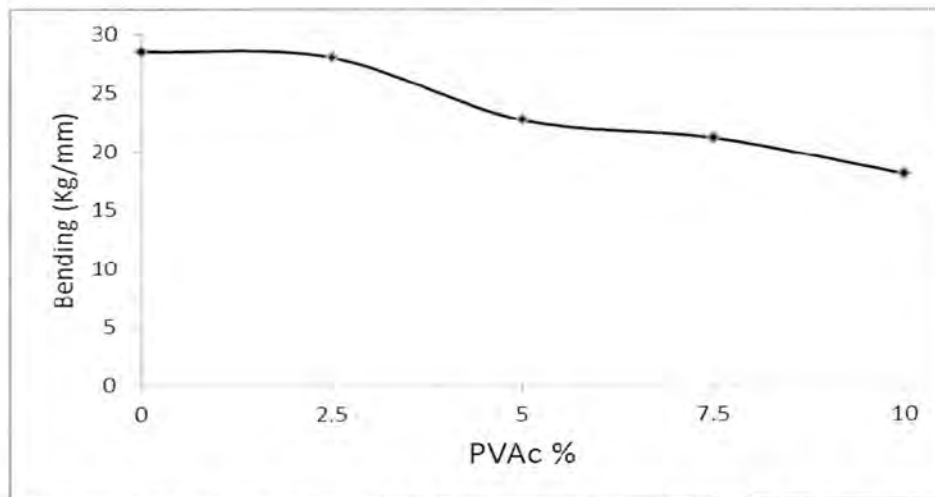
### **Bending and Compression strength**

The bending and compression strength are an important factors for evaluation of building materials, such as gypsum. The bending and compression strength of unmodified and modified gypsum with 2.5 to 10% of PVAc were carried out. It was observed from table3 and fig.3. There was a clear reduction of

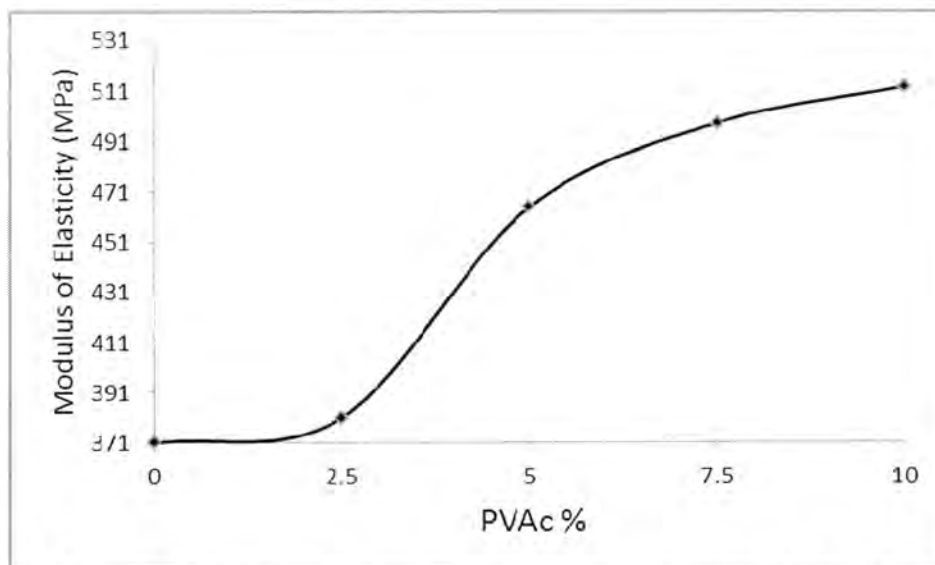
bending strength with increasing PVAc ratio from 2.5 to 10% (at constant water: gypsum ratio). In general, the elastic material has low bending strength when the three point test is used for estimation of bending strength accompanied with high modulus of elasticity [11]. In the case of modified gypsum with PVAc the reduction of bending strength accompanied with increase of modulus of elasticity table 3 and fig. 4, the deflection against mass in bending strength measurement was illustrated in fig. 5 and table 4. The increase of proportion of PVAc in gypsum matrix, although it reduces the voids in the structure of gypsum but, on the other hand, it increases to some extent the elasticity of the product. This behavior leads to decrease of bending strength and increase the elasticity of the modified gypsum with PVAc, moreover, the PVAc has low film strength [19]. Compression strength is the maximum force that applied on a unit area, the increase in compression strength of modified gypsum with PVAc is shown in fig. 6 and table 3, this increase may be due to the decrease of porosity of gypsum structure with the increase of PVAc proportion.

**Table -3: Mechanical properties (Compression Force, Bending strength and Modulus of Elasticity) of gypsum and gypsum-PVAc composite**

Sample	Compression Force (MPa)	Bending (Kg/mm)	Modulus of Elasticity (MPa)
Non	16	28.5	371
PVAc 2.5%	22	28.0	381.2
PVAc 5%	29	22.65	465
PVAc 7.5%	32	21.1	498
PVAc 10%	34.2	18.03	512.5



**Fig.-3: Plot of bending strength VS. percentage of PVAc in modified and unmodified gypsum**

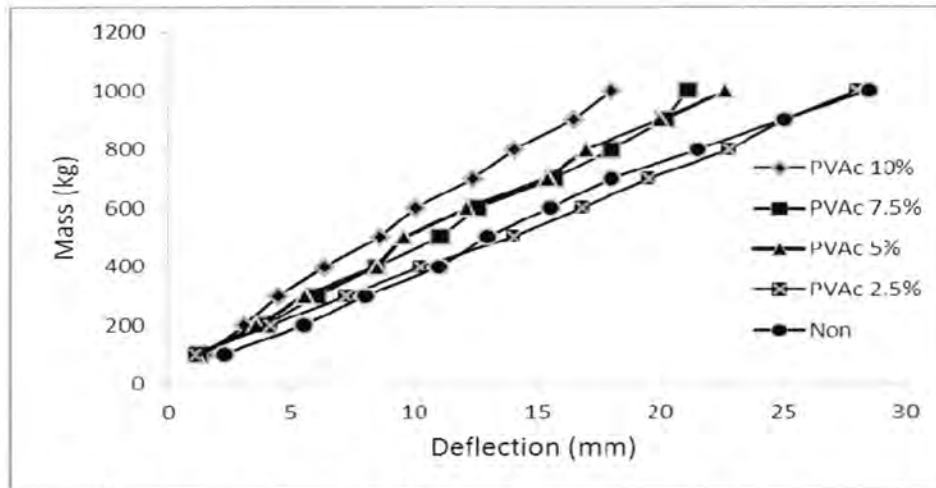


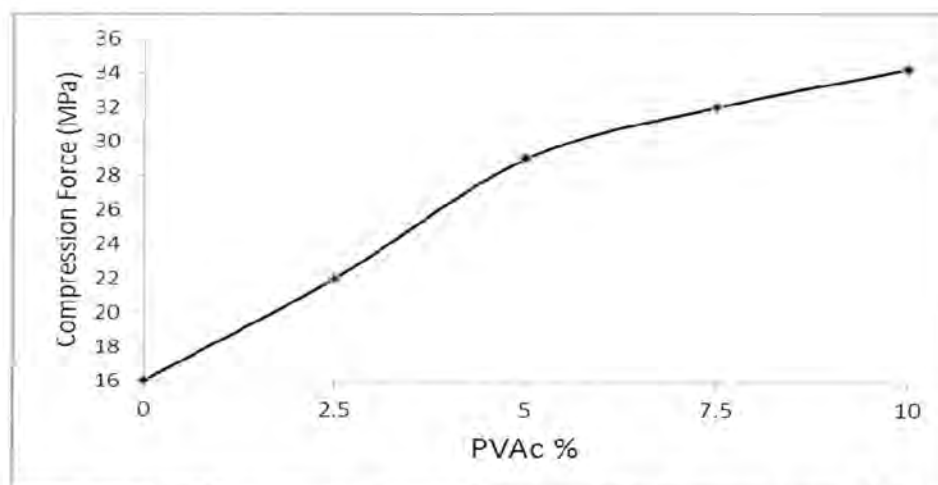
**Fig.-4: Modulus of elasticity versus PVAc percentage in modified and unmodified gypsum**



**Table -4: mass and deflection of Bending of gypsum and gypsum- PVAc composite**

Mass(kg)	)²-10mm ) Deflection *				
	Non	PVAc 2.5%	PVAc 5%	PVAc 7.5%	PVAc 10%
100	2.25	1.1	1.15	1.25	1.5
200	5.5	4.15	3.6	3.95	3.1
300	8.0	7.25	5.55	6.0	4.45
400	11.0	10.25	8.5	8.45	6.35
500	13.0	14.03	9.56	11.05	8.6
600	15.5	16.85	12.13	12.55	10.05
700	18.0	19.55	15.4	15.65	12.35
800	21.5	22.8	17.0	18.0	14.05
900	25.0	25.05	20.0	20.2	16.5
1000	28.5	28.0	22.65	21.1	18.03

**Fig.-5: Plot mass versus deflection of gypsum and gypsum-PVAc composite**



**Fig.-6: Plot of compression strength versus the percentage of PVAc in gypsum**

Gypsum as building material was brought from local market and modified with PVAc emulsion. The PVAc emulsion was added with water needed for hydration of  $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  during molding of the matrix. The PVAc content in gypsum was varied from 2.5 to 10%. The physical and mechanical properties of the produced composite were evaluated. Water absorption by the composite was reduced with increase of PVAc percentage. The impact, Compression and modulus of elasticity was increased with PVAc increase, while the bending strength was decreased with increase of PVAc percentage. In brief, the water absorption is a major concern for the gypsum as building material, reduction of this property is a prime objective, So, this work still in progress in order to find a new effective and cheap material to reduce the water absorption of gypsum and increase the mechanical properties.

### REFERENCES

- 1- M.J. Ridge, J. Beretka, calcium sulphate hemihydrate and its hydration, Rev. Pure Appl. Chem. 19:17-44 (1969).
- 2- G.A. King, symposium on New Building Materials and components, Iraq (1979).
- 3- J.J. Russel, F.A. Blakey,,Bending and Compression Strength of building materials, J.Appl.Sci.7:176 (1956).
- 4- Gossens E., moisture transfer properties of coated gypsum, Ph.D. thesis, Eindhoven University of technology, Netherland, (2002).

- 5- Duggal ,S.K., Building Material, 3<sup>rd</sup> Edition New age international Ltd, New Delhi, Chapter 19, (2008).
- 6- M.Arijan and K.sobolev., The optimization of gypsum-based composite material, cement and concrete research, 32 :1725-1728,(2002).
- 7- J. Bijen, Vanderplas, Polymer-modified glass fiber reinforced gypsum, Mater. Struct. 25,107 (1992).
- 8- A. Colak, characteristics of acrylic latex-modified and partially epoxy-impregnated gypsum, cement concrete Res. 31 : 1539-1547 (2001).
- 9- S. Eve, M. Gomina, J. Hamel, G. Orange, Investigation of the setting of polyamide fiber/latex filled plaster composites, J. Eur. Ceramic Soc. 26(13): 2541-2546(2006).
- 10- J.C. Rubio-Avalos, A. Manzano-Ramirez, J.G. Luna-Barcenas, J.F. Perezrobles, E.M. Alonso-Guzman, M.E. Contreras-Garcia, J. Gonzales Hemandez, Flexural behavior and Microstructure analysis of gypsum-SBR composite material, Mater. Lett.59 (2-3) :230-233 (2005).
- 11- S.Kim, Incombustibility, phyico-mechanical properties and TVOC emission behavior of the gypsum-rice husk boards for wall and ceiling materials for construction. Industrial Crops and products 29 :381-387 (2009).
- 12- P.Dalmay, A.Smith and T.chotard, Properies of cellulosic fiber reinforced plaster: influence of hemp or flax fibers on the properties of set gypsum., J.mater.sci.45 :793-803 (2010).
- 13- ISO-179 "Plastic determination of Charpy Impact Strength of rigid materials".
- 14- Fredrich K., "Application of fracture mechanics to composition materials" Series 6 Amsterdam (1989)
- 15- H.Derek, " An introduction to composite material" Cambridge university press, Cambridge, (1981).

- 16- J. Delmonte "Technology of carbon and graphite fiber composite" Van Norstrand Reinhold Co. New York, (1998).
- 17- S.J Pande, D.K. Sharma, fracture toughness of short glass fiber and glass particulate hybrid composites, *Fiber Science and Technology*, 21 :307-317, (1984).
- 18- Ragad A.A., "Effect of bonding system and kivlar fibers on the mechanical properties of urea formaldehyde resin as adhesive for wood-wood surface", Thesis, University of Baghdad college of education (Ibn Al-Haitham),(2005).
- 19- Colak A., physical and mechanical properties of polymer – Plaster composites. *Material Letters* 60 :1977 – 1982 (2006).



## Thermal Initiation of Methyl methacrylate Polymerization by Oxotris (dibenzyl dithiocarbamate) Vanadium (V)

Salah M. Abdullah

Polymer Researches Unit-College of Science-Al-Mustansiriyah University

Submit ted : 13/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

يتضمن البحث دراسة البدء الحراري لبلمرة المثل ميثاكريليت MMA بدرجة 80 ° م بواسطة معقد اوكسي ثلاثي (ثنائي بنزائل ثنائي ثايوكارباميت ) فناديوم (5) . وتحت ظروف البلمرة لم يلاحظ اي منع او اعاقه ، وان رتبة التفاعل بالنسبة للابتداء هي 0.5 بينما تكون هذه برتبة 1.95 بالنسبة للمونومر . لقد دلت النتائج الطيفية ان عملية الابتداء تحصل نتيجة انفصام لكاند ثنائي بنزائل ثنائي ثايوكارباميت من المعقد كجزر حر ويصحب ذلك اختزال الفناديوم (+5) الى (+4) . لقد تم اقتراح ميكانيكية لتفاعل تجزئة الباديء بوجود مونومر ال MMA وتم كذلك تعيين طاقة تنشيط البلمرة والابتداء . وتم تشخيص الانتظامية الفراغية للبولي MMA الناتج بواسطة طيف الاشعة تحت الحمراء والذي ابدى فعالية ضوئية عند تشعيه بالاشعة فوق البنفسجية .

### ABSTRACT

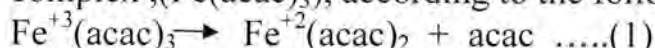
Oxo tris (dibenzyl dithiocarbamate) vanadium (V),  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$  initiates by free radical polymerization of methyl methacrylate (MMA) at 80 °C. Under employed experimental conditions , no retardation or inhibition occurs . The order with respect to the chelate (initiator) is closed to 0.5 , whereas the order with respect to monomer is 1.95 is indicating that the rate of initiation is dependent on monomer concentration . Spectroscopic analyses show that the initiation process occurs predominantly through scission of dibenzyl dithiocarbamate ligand  $((\text{PhCH}_2)_2\text{NC}(\text{S})\text{S}-)$  with reduction of vanadium (V) to (IV) . A reaction mechanism is proposed based on an intramolecular redox reaction which leads to the primary formation of  $\text{SC}(\text{S})\text{N}(\text{PhCH}_2)_2$  radical and vanadium (IV) chelate complex .

Activation energies of polymerization and initiation processes in the present system were also evaluated. The relevant kinetic parameter are evaluated .The tacticity of MMA polymer produced is examined by IR spectroscopy and the polymer show a photo-activity when irradiated with Ultra-violet light.

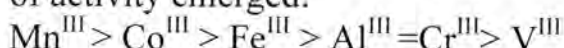


## INTRODUCTION

Thermal initiation of vinyl polymerization by transition metal chelates has received considerable attention in the last 30 years [1-5]. Reports in literature suggest that the derivatives can initiate various type of polymerization under suitable conditions. Arnett and Mendelson [6] first reported the ability of some metal chelates to give free-radical while studying the auto-oxidation of  $\text{Fe}(\text{acetyl acetonate})_3$  chelate complex,  $(\text{Fe}(\text{acac})_3)$ , according to the following equation :-



Several transition metal acetyl acetonate complexes were tested as thermal initiators of the polymerization of MMA [6] the following order of activity emerged:



Mn-acetyl acetonate was the most effective initiator while  $\text{V}^{\text{III}}$ -cetyl acetonate acted as inhibitor for MMA polymerization.

Kasting et. al.[7] and Nishikawa et. al.[8] have investigated the polymerization of butadiene and isoprene using several metal acetyl acetonate as initiator in benzene at  $80^\circ\text{C}$ . Bamford and Lind[9] have studied in detail the mechanism of thermal initiation of styrene, methyl methacrylate and acrylonitrile by  $\text{Mn}(\text{acac})_3$  and  $(1,1,1,\text{trifluoroacetyl acetonate})_3$  complexes. The latter initiator was found to be monomer selective.

Many vanadium (V) chelates (and their derivatives) as photo and thermal initiators of polymerization of methyl methacrylate and styrene. Photografting and photocrosslinking of pre-existing polymer containing photo and thermal active vanadium (V) chelates were also investigated [10-11]. Abdullah[12] showed that oxotris (dimethyl dithiocarbamato) vanadium(V) and oxotris(Aralkyl dithiocarbamato) vanadium(V) act as photoinitiators of styrene polymerization (in bulk and in benzene solution) when irradiated with light of  $\lambda=365 \text{ nm}$  at  $25^\circ\text{C}$ . These initiators also prove to be effective thermal initiators of styrene polymerization at a temperature range 60 to  $80^\circ\text{C}$ . Abeer[5] studied  $\text{Mn}^{+2}$  complexes with the previous legands as thermal initiators of MMA polymerization at  $80^\circ\text{C}$ . In the present work I have studied the polymerization of MMA at  $80^\circ\text{C}$  by oxotris (dibenzyl dithiocarbamato) vanadium (V)  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$  chelate complex.

## MATERIALS AND METHODS

Oxotris (dibenzyl dithiocarbamato) vanadium (V),  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$ , was synthesized as described by Casey and coworkers[13]. An aqueous solution of sodium dibenzyl dithiocarbamate (0.03 mole) was added to an aqueous of  $\text{VOSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

(0.01 mole) containing 2ml of 35%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . The brown precipitate obtained was extracted by chloroform (AR grade BDH). The chloroform solution was filtered into a five-fold excess of methanol and the produced precipitate was separated. Washed with methanol and dried under vacuum for 2hr at room temperature. Oxobis(dibenzyl dithiocarbamate) vanadium(IV),  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_2$ , was prepared as described by McCormick[14].

MMA monomer was purified<sup>4</sup> by removing the inhibitor (hydroquinone) by washing for three times with 10% NaOH solution. The monomer was then thoroughly washed with distilled water and dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$  before being fractionally distilled under reduced pressure of argon. Prepolymerization (1h at  $100^\circ\text{C}$ ) removed traces of peroxides. The MMA was stored under argon in the refrigerator and was distilled under reduced pressure before use. Analar benzene (BDH Ltd) was dried over sodium wire for 24h before use.

Polymerization process was carried out in a Pyrex vessel of  $10\text{cm}^3$  capacity, connected to an argon gas purging system. Dissolved air was removed by bubbling argon gas (purity 99.99%) for 5 minutes and the reaction vessel was covered by Aluminum foil to protect the polymerization system from light. Thermostat tank filled with water maintained at constant temperature ( $80 \pm 0.2$ ) using 150 watt aquarium heater used in conjunction with Sunvic-Mercury relay switch.

Rates of polymerization were measured gravimetrically by precipitating the polymer in 50 fold of pure methanol and calculated according to equation 2 :

$$\omega = \frac{-d[M]}{dt} = \frac{[M_0]}{100} \times \frac{dc}{dt} \quad \dots\dots\dots(2)$$

Where  $[M_0]$  is the initial monomer concentration,  $dc$  is the percent monomer conversion to polymer and  $dt$  represent time of heating.

Molecular weight of polymer was determined viscometrically with the aid of Mark-Houwink equation. The values of  $a$  and  $K$  in this equation were taken from reference[15].

IR spectra were measured by Shimadzu FTIR-8400S Fourier transform Infrared spectrophotometer using KBr disk technique. PG instruments Ltd. T80 UV-visible spectrophotometer was used to measured the spectral change in initiator during the polymerization process.

## RESULT AND DISCUSSION

### *Kinetics of thermal initiation:*

Oxotris (dibenzyl dithiocarbamate) vanadium (V) chelate readily initiated the polymerization of MMA (in bulk and in solution) thermally at  $80^\circ\text{C}$ . Fig.1 shows that the rate of polymerization is effectively

proportional to the square root of chelate concentration. MMA monomer concentration  $[M]$  (bulk) is kept constant. This is given in eq. (3).

$$\omega = 0.718 [\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3]^{1/2} \dots\dots(3).$$

The square root relationship suggests that the polymerization proceeds through free-radical intermediate and no retardation occur under the conditions employed.

The percent conversion-time relation is also indicates that no retardation or inhibition occur in the present system Fig.2. The kinetic parameter  $K_p/K_t^{1/2}$  ( $K_p$  and  $K_t$  being the rate coefficients of propagation and second-order termination respectively) was calculated from the relation:

$$\frac{K_p}{K_t^{1/2}} = \frac{1}{[M]} \left[ \omega \cdot \overline{D_p} \left[ \frac{2+\nu}{2(1+\nu)} \right] \right]^{1/2} \dots\dots\dots(4).$$

Relation (4) is applicable to a free-radical polymerization of MMA if termination occurs partially by combination in which the chain transfer to monomer is absent[3] and retardation and inhibition are insignificant. Therefore from the average number degree of polymerization  $\overline{D_p}$  (determined viscometrically) obtained by different initiator concentrations ranging from  $1 \times 10^{-4}$  to  $8 \times 10^{-4}$  mol.dm<sup>-3</sup> and constant monomer concentration (bulk 7.8 mol.dm<sup>-3</sup>), the mean value of  $K_p/K_t^{1/2}$  was deduced from equation(4) and equal to  $(0.18 \text{ dm}^{3/2} \text{ mol}^{-1/2} \text{ S}^{-1/2})$ . This value is in agreement with that obtained by Bamford and Lind[9] for MMA polymerization at 80°C using  $\text{Mn}(\text{acac})_3$  complex as initiator  $(0.17 \text{ dm}^{3/2} \text{ mol}^{-1/2} \text{ S}^{-1/2})$ .

Rate of polymerization were determined for constant chelate concentration and variable monomer concentration with benzene as diluents. The results presented in Fig.3 reveal that the order in monomer is 1.95. Therefore from the results in Fig.3 and Fig.1, the following rate equation was obtained for the polymerization of MMA under these conditions :

$$\omega = K[M]^{1.95} [\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3]^{0.5} \dots\dots(5)$$

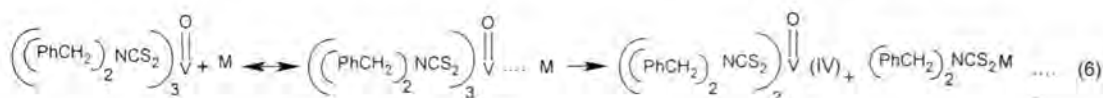
K in equation (5) is the overall rate constant  $K_p(f K_d/K_t)^{1/2}$ ,  $K_d$  and  $f$  being the rate coefficient of initiator decomposition and its efficiency in initiation process, respectively ,So, from the rate of polymerization for constant monomer concentration  $[M]$  and initiator concentration one might deduce the values of  $(f)$  and  $K_d$  for the present initiating system.

Whereas the order with respect to initiator is close to 0.5, the order with respect to monomer is greater than unity .Kinetic order of monomer higher than that of the normal equation of vinyl polymerization by radical mechanism have been also observed for the polymerization of MMA and styrene. Thiagarajan.[17] obtained monomer order of 1.44



for the thermal polymerization of MMA. Bamford and Lind[9] have also reported that the order of MMA is 1.5 when thermally initiated by  $\text{Mn}(\text{acac})_3$  complex at  $80^\circ\text{C}$ . Probha and Nandi [18] obtained an order of 1.5 for the thermal polymerization of MMA at  $70^\circ\text{C}$  using tris (dipivaloyl methan) iron (III) and  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  as initiators. These authors suggested that a complex formation between the chelate and monomer which undergoes a thermal oxidation-reduction to give the chelate radical.

In a separate experiment I have used benzoyl peroxide ( $3.5 \times 10^{-4}$  mol.  $\text{dm}^{-3}$ .) as thermal initiator at  $80^\circ\text{C}$  for polymerization of MMA and it was found the order of monomer is 0.95 (nearly unity) Therefore it was concluded that the vanadium chelate has a direct effect on increasing the order of monomer higher than unity. A complex formation between the monomer (M) and vanadium chelate molecule might be formed before the formation of the initiating radical.



### Spectral Observations:

The UV-visible absorption spectrum of  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$  in MMA solution is shown in Fig.4. On heating at  $80^\circ\text{C}$  the absorption spectrum changes as shown in Fig.4 and ultimately becoming indistinguishable from that of  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$  in MMA. The isosbestic point at ( $\lambda=465$  ) nm indicates that the overall chemical changes are relatively simple. The absorption range between 900 to 465nm increase in intensity during heating times.

The infrared spectrum was recorded for the thermal reaction product of the chelate after about 2 hours of heating at  $80^\circ\text{C}$  in benzene saturated solution (a gray precipitate). I follow the position of the vanadyl ( $\text{V}=\text{O}$ ) double bond stretching vibration before and after heating which appear at 945 and  $980 \text{ cm}^{-1}$  respectively.

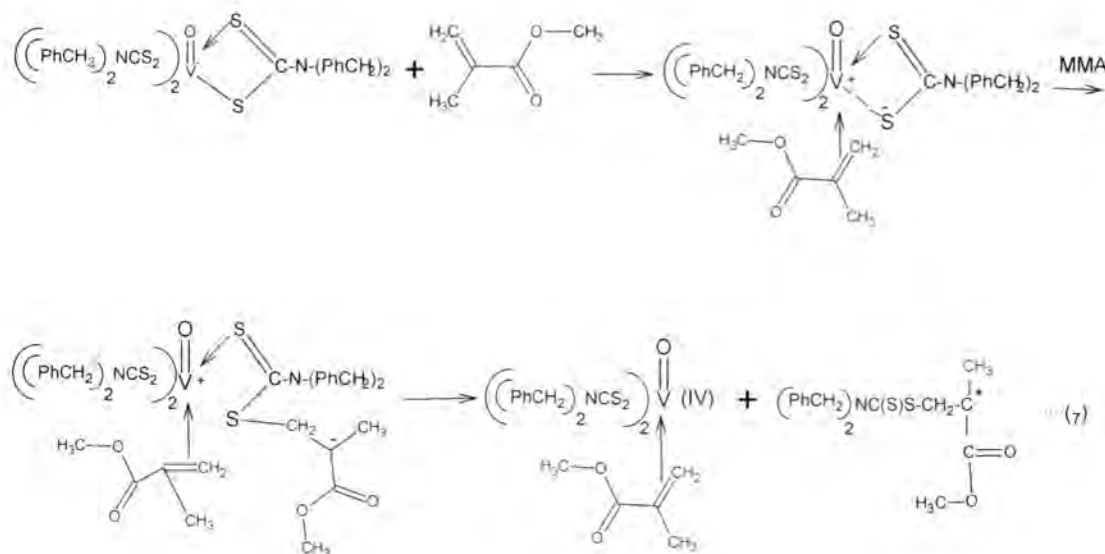
Since it was well established that the  $\text{V}=\text{O}$  bond consists of  $\sigma$ -bond together with  $p\text{-}d_\pi$  donation of electron from O to V atom, an electron donating ligand attached to the V would be expected to reduce the  $\text{V}=\text{O}$  bond character. A shift of  $35 \text{ cm}^{-1}$  to higher frequency that I have observed is therefore consistent with scission of dibenzyl dithiocarbamate ligand on heating. Moreover the  $\text{V}=\text{O}$  stretching vibration of the  $\text{VO}(\text{S}_2\text{N}(\text{PhCH}_2)_2)_2$  complex is located at  $982 \text{ cm}^{-1}$  which is very close to the stretching frequencies of  $\text{V}=\text{O}$  bond in the complex produced from the thermolysis of the correspondence V(V) chelate  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$ .

All spectral observations together with kinetic data reported therefore indicate that the primary process in thermolysis is scission of V-S bond and this might be induced by MMA molecule which can form an intermediate complex between vanadium chelate and MMA monomer before the formation of the primary initiating radical according to schem(7):



**Thermal Initiation of Methyl methacrylate Polymerization by Oxotris (dibenzyl dithiocarbamato) Vanadium (V)**

Salah



Scheme (7)

Thus the primary step is therefore heterolytic rather than hemolytic. If the MMA molecule could add to the anionic moiety to give a monomer anion which is oxidized by V(V) in the same molecule to produce the initiating radical(I).

The produced polymethyl methacrylate with the present initiator is therefore expected to possess the dibenzyl dithiocarbamato ( $-S-C(S)N(PhCH_2)_2$ ) as an end group in the polymer chain. It is well established that polymethyl methacrylate and polystyrene containing such end group are photosensitive when irradiated in presence of their respective monomers, appreciable increase in molecular weight with irradiation time is observed [19,20].

Accordingly, in a separate experiment we have used the polymethyl methacrylate (produced by  $VO(S_2CN(PhCH_2)_2)_3$  as thermal initiator) as a photoinitiator at wavelength shorter than 320 nm. The polymer produced after irradiation (2 hours) shows an increase in average number molecular weight from 320706 gm/mol to 405324 gm/mol. This result also confirms that the polymer consists of dibenzyl dithiocarbamato as an end group. Therefore a block copolymer of the type A-B-A could be produced from this polymer when it is used as photoinitiator for the polymerization of vinyl monomer other than MMA.

### **Activation energy of polymerization( $E_T$ ):**

The overall polymerization activation energy( $E_T$ ) was calculated from the slope of the Arrhenius plot shown in Fig.5. This activation energy ( $E_T$ ) deduced is 46.99 KJ/mol(11.231 Kcal/mol) which is agree to that obtained by Thiagarajan[17] for the polymerization of MMA at 80°C, and with the result obtained from Bamford and Lind<sup>9</sup>( $E_T = 11$  Kcal/mol) when they used Mn(ppd)<sub>3</sub> initiator for MMA polymerization at 80°C. Since the total activation energy ( $E_T$ ) is equal to( $E_p - E_t/2 + E_i/2$ ) ( $E_p$ ,  $E_t$  and  $E_i$  being the activation energies of propagation, termination and initiation respectively), and the value of ( $E_p - E_t/2$ ) reported in literature for the polymerization of MMA at 80°C is 5.4 Kcal/mol[21]. From these value and the value of ( $E_T$ ) determined in this work, then  $E_i$  is deduced and found is 11.66 Kcal/mol. Bamford and Lind[9] found  $E_i$  value(12.9 Kcal/mol) very close to that obtained in this work for thermal polymerization of MMA initiated by Mn(ppd)<sub>3</sub> initiator at 80°C and very close for the  $E_i$  value obtained by Thiagarajan[17] (11.0 Kcal/mol) for thermal polymerization of MMA at 80°C.

The tacticity of PMMA produced by the present initiating system was examined by infrared spectroscopy. The IR spectrum of polymer film is very similar to that reported for atactic PMMA[22] and it is quite different from that of isotactic or syndiotactic PMMA[22]. Thus it is concluded that only dibenzyl dithiocarbamato radical is involved in initiation process and the rest of the coordination vanadium(v) complex molecule is not involve in the initiation step or propagation process so that there is no chance of any stereoregularity of the MMA repeating unit in the polymer chain.

In conclusion, the chelate complex of oxotris(dibenzyl dithiocarbamato) vanadium(v) serves as a novel thermal initiator for the polymerization of MMA at 80°C, without retardation or inhibition through a free radical mechanism. The order of monomer is higher than unity which is suggest that the complex formation between MMA and initiator from which the primary radical containing MMA unit with the dibenzyl dithiocarbamato fragment is responsible for the initiation process.

According to the mechanism of thermal decomposition, oxidation state of vanadium change from (V) to (IV), the conclusion was based on spectral and kinetic observation. The PMMA produced bearing an end group of  $-S(S)CN(PhCH_2)_2$  which is photoactive when irradiated with light of  $\lambda$  shorter than 320 nm. The PMMA produced is atactic and the present initiating system has no effect on the tacticity of polymer produced.

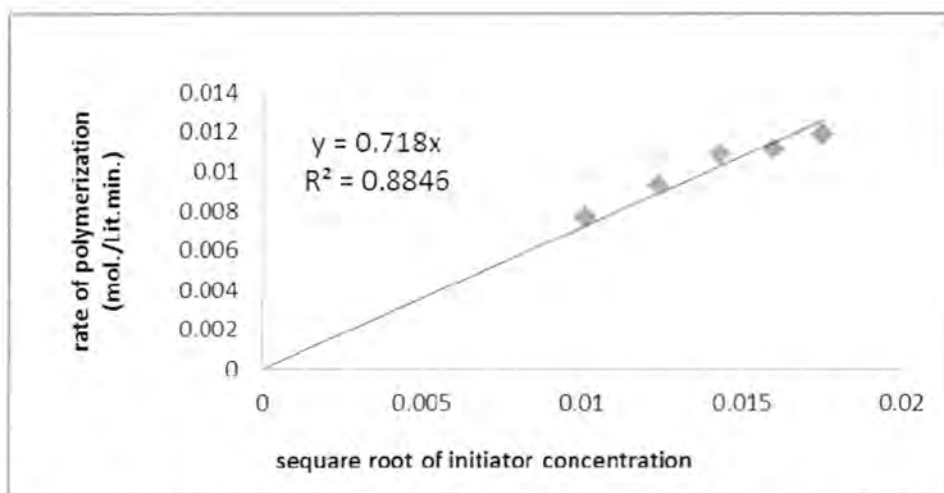


Fig. -1: the dependence of rate of MMA polymerization (bulk) on  $[\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)]$  at  $80^\circ\text{C}$ .

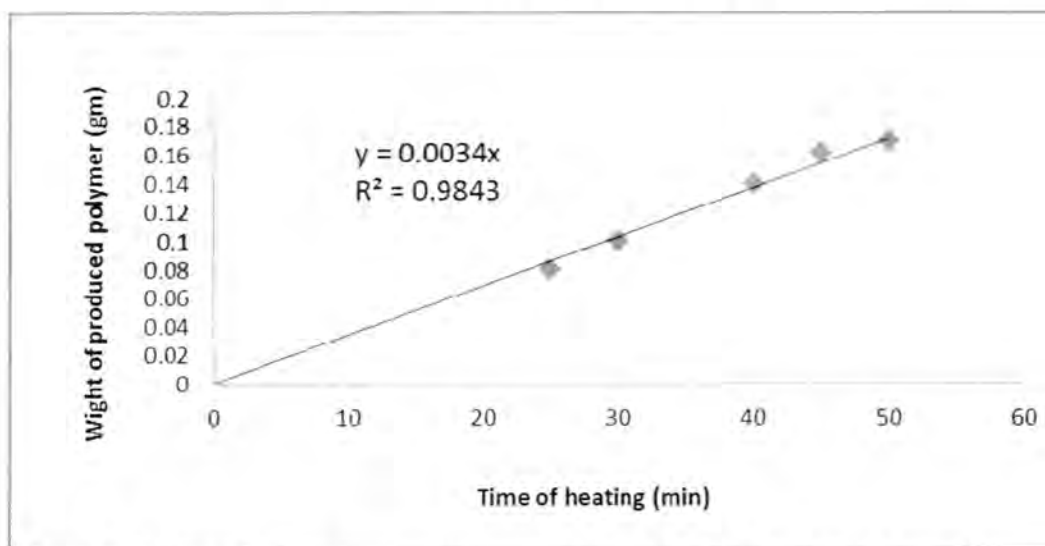
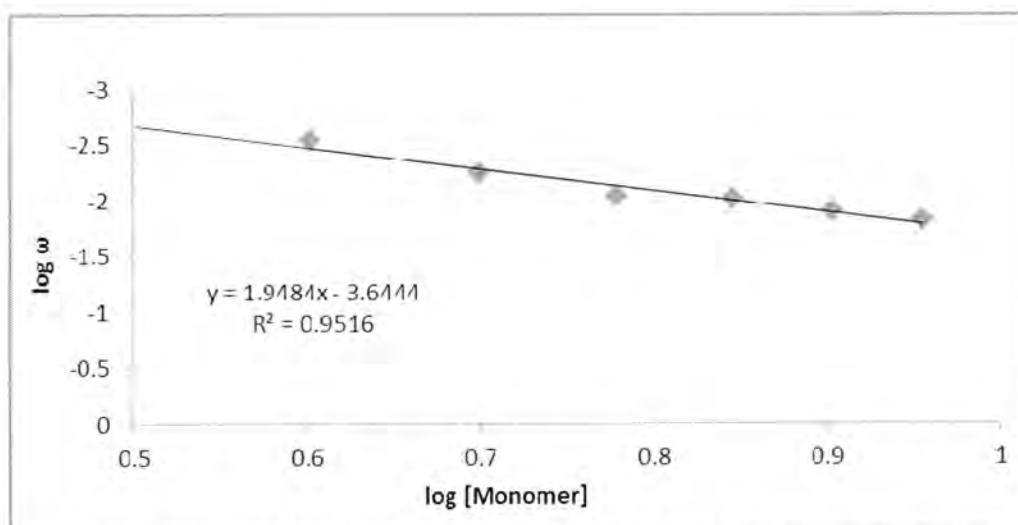
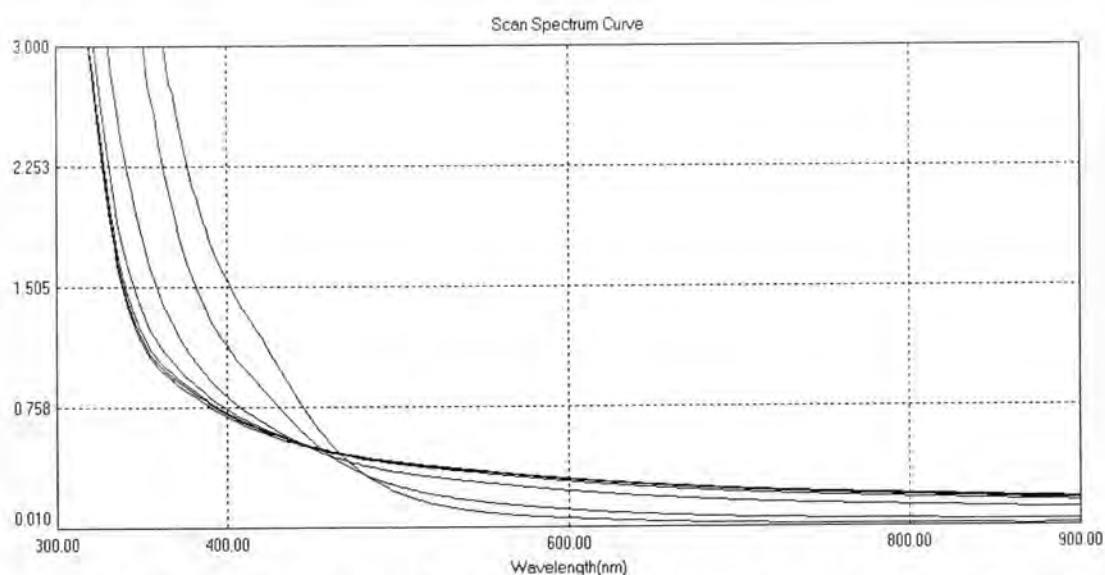


Fig. -2: The relation percent conversion of MMA (bulk) to polymer with time at  $80^\circ\text{C}$ . at initiator concentration  $= 3.2 \times 10^{-4} \text{ mol. dm}^{-3}$ .



**Fig. -3:** the rate of polymerization of MMA at 80°C. as a function of monomer concentration [M], Benzene is used as diluent, and constant initiator concentration ( $2.56 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ ).



**Fig. -4:** The change in UV-Visible absorption spectra of  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$  ( $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol. dm}^{-3}$ ) in MMA during thermal polymerization at 80°C.

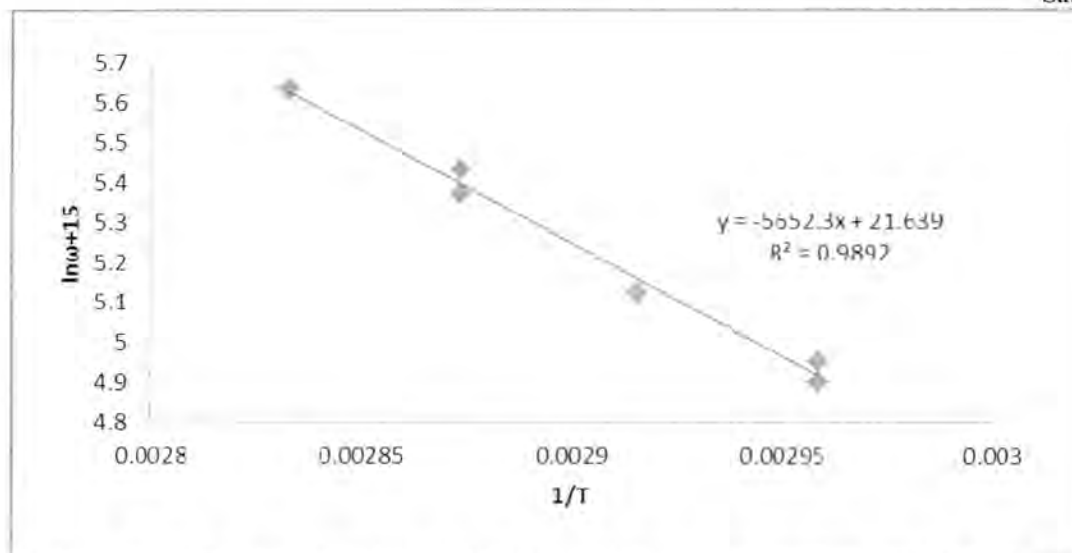


Fig. -5: Arrhenius plot of the rate of polymerization for MMA /  $\text{VO}(\text{S}_2\text{CN}(\text{PhCH}_2)_2)_3$  initiating system at  $80^\circ\text{C}$ .  $[\text{M}] = 7.8 \text{ mol. dm}^{-3}$ , and initiator concentration is  $3.0 \times 10^{-4} \text{ mol. dm}^{-3}$ .

## REFERENCES

- 1) Barton, J. & Borsing, F., "in complexes in Free-Radical Polymerization", A. D. Jenkins (Ed): Elsevier, New York, P. 9, (1988).
- 2) Bamford, C. H., In "mechanism and structure in polymer chemistry", ed. A. D. Jenkins. Wiley, London, P. 95, (1974).
- 3) Aliwi, S. M. Msc (1974) and PhD theses, College of Science, University of Liverpool (1976).
- 4) Al-taie, A. A. PhD thesis, College of Science, University of Al-Mustansiriyah (2008).
- 5) Abeer, A. M.Sc thesis, College of Science, University of Al-Mustansiriyah (2000).



- 6) Arnett, E. M., and Mendelson, M. A., "Destructive Autoxidation of Metal Chelates. III. Effects of Additives on the Reaction. Metal Acetylacetonates as Radical Sources", J. Amer. Chem. Soc., 84 ,3821 and 3824 (1962).
- 7) Kasting E. G., Neaman H., Ries H. and Berding C. Angew, "Metal Chelates as Polymerization Initiators", Chem. Inter. Edn., 3, 322 (1965)
- 8) Nishikawa Y. and Otsu T., J. Chem. Soc. Japan, Industrial Chem. Soc. "Recent studies in photoinitiated polymerization", 72, 751 (1965)
- 9) Bamford C. H. and Lind D. J., "Studies in Polymerization. XVIII. Initiation by Metal Chelates", Proc. Roy. Soc., A, 302, 145 (1968).
- 10) Aliwi S. M. and Bamford C. H., "photoactive polymer containing vanadium preparation, characterization ", Polymer, 18, 375, (1977).
- 11) S. M. Aliwi and C. H. Bamford , " photoactive polymer containing vanadium kinetics of photodecomposition" Polymer 18, 381, (1977).
- 12) Barton, J. & Borsing, F., "in complexes in Free-Radical Polymerization", A. D. Jenkins (Ed): Elsevier, New York, P. 9, (1988).
- 13) Bamford, C. H., In "mechanism and structure in polymer chemistry", ed. A. D. Jenkins. Wiley, London, P. 95, (1974).
- 14) Aliwi, S. M. Msc (1974) and PhD theses , College of Science, University of Liverpool (1976).
- 15) Al-taie, A. A. PhD thesis, College of Science, University of Al-Mustansiriyah (2008).

- 16) Abeer, A. M.Sc thesis, College of Science, University of Al-Mustansiriyah(2000).
- 17) Arnett, E. M., and Mendelson, M. A., "Destructive Autoxidation of Metal Chelates. III. Effects of Additives on the Reaction. Metal Acetylacetonates as Radical Sources", J. Amer. Chem. Soc., 84 ,3821 and 3824 (1962).
- 18) Kasting E. G., Neaman H., Ries H.and Berding C. Angew, "Metal Chelates as Polymerization Initiators", Chem. Inter. Edn., 3, 322 (1965)
- 19) Nishikawa Y.and Otsu T., J. Chem. Soc. Japan, Industrial Chem. Soc. "Recent studies in photoinitiated polymerization", 72, 751 (1965)
- 20) Bamford C. H. and Lind D. J., "Studies in Polymerization. XVIII. Initiation by Metal Chelates", Proc. Roy. Soc., A, 302, 145 (1968).
- 21) Aliwi S. M. and Bamford C. H., "photoactive polymer containing vanadium preparation, characterization ", Polymer, 18, 375, (1977).
- 22) S. M. Aliwi and C. H. Bamford , " photoactive polymer containing vanadium kinetics of photodecomposition" Polymer 18, 381, (1977).
- 23) Abdullah S. M., MSc.Thesis, College of Science, Mustansiriyah University (1994).
- 24) Casey, A. T., Macky, D. J., Martin, R. L. & White, A. H., "N,N-Dialkyldithiocarbamate complexes of niobium(V), vanadium(V), molybdenum(V), molybdenum(VI), and rhenium(v)", Aust. J. Chem., 25. 477(1972).
- 25) McCormick, B., "Structure and spectra of dithiocarbamate complexes of oxovanadium(IV)", J.,Inorg. Chem. 7, 1965(1968).

- 26) Edward, A. Collins "Experimental in polymer Science", John Wiley and Sons, New York.(1973)
- 27) F. R. Mayo, "Chain Transfer in the Polymerization of Styrene. IV. The Effect of Chain Length on the Reaction of Styrene and Carbon Tetrachloride", J. Amer. Chem. Soc.,70, page 3689 (1948).
- 28) Thiagarajan R., Nandi U. S. and Kalpagam V., "Mixed ligand complexes in vinyl polymerization—II: [NN'-ethylenebis(salicylideneiminato)] (benzoylacetonato)cobalt(III) as an initiator", Eur. Polym. J. 18,page 261, (1982).
- 29) Probha R. and Nandi U. S.," Mechanism of initiation of polymerization by ferric acetylacetonate", J. Polym. Sci., Polymer Letters, 14, 19 (1976).
- 30) Otsu T.and Yoshida N.," Living mono- and biradical polymerizations in homogeneous system synthesis of AB and ABA type block copolymers" Polymer Bulletin, 11,135(1984).
- 31) Otsu T. and Yoshida N., "Efficient synthesis of two or multi component block copolymers through living radical polymerization with polymeric photoiniferters" , Polymer Bulletin, 7,197(1982).
- 32) Matheson M. H., Auer E. E., Bevilacqua E. B. and Hart E. J., " Rate Constants in Free Radical Polymerizations. I. Methyl Methacrylate" J. Amer. Chem. Soc., 71, page 497, (1949).
- 33) Hammel/Scholl "Atlas of Polymers and Plastics Analysis" Carl Hanser Verlage, VCH publisher, Vol.1, (1985).

## The Relationship Between IL-10 and Dislipidemia in Type 2 Diabetics

Majid Kadhun Hussain\*, Sura Muhsin Abood\*\* and Lameia Adnan Shaker\*\*\*

\*Department of Biochemistry-College of Medicine-Kufa University

\*\*Department of Chemistry-College of Science-AL-Mustansiriya University\*\*

\*\*\*Bacteriologist Department of Medical Cytogenic-Medical City Directorate of Teaching

Submitted : 11/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

تم تصميم الدراسة الحالية لتقدير مستوى الانترلوكين-10 (IL-10) في مرضى السكري النوع الثاني وايضا لاثبات فيما اذا كان هناك علاقة بين IL-10 و التغيرات في مستويات الدهون والبروتينات الدهنية لدى نفس المرضى. لتحقيق هذا الغرض تم دراسة 49 من مرضى السكري (21 اناث و 28 ذكور) معدل اعمارهم  $47.23 \pm 14.23$  (23-60) لمقارنة النتائج تضمنت الدراسة 30 شخصا من الاصحاء (17 اناث و 13 ذكور) معدل اعمارهم  $39.35 \pm 3.89$  (27-55) وصفت كمجموعة سيطرة. قيس مستويات IL-10 بطريقة التقدير المناعي المتمز والمربط إنزيميا (ELISA) بينما قدر مستوى السكر الصيامي بالدم (FBGL) بطريقة Glucose-oxidase وتم تقدير تراكيز الكوليسترول والكليسيردات الثلاثية والبروتينات الدهنية، بالطرق اللونية. وكشفت النتائج انخفاضا معنويا ( $P < 0.001$ ) في مستوى IL-10 لدى مرضى السكري عند مقارنته مع امثاله في الاشخاص الاصحاء بينما لوحظت زيادة معنوية ( $P < 0.05-0.001$ ) في مستوى الكوليسترول والكليسيردات الثلاثية والبروتينات الدهنية (LDL, VLDL). فيما لوحظ انخفاضا معنويا ( $P < 0.0001$ ) في مستوى HDL لدى مرضى السكري النوع الثاني بمقارنتها مع الاشخاص الاصحاء. اظهر تحليل الارتباط الخطي علاقات ارتباطية معنوية سالبة بين مستويات الكوليسترول ( $r = -0.45, P < 0.001$ ) والكليسيردات الثلاثية ( $r = -0.37, P < 0.05$ ), LDL ( $r = -0.30, P < 0.05$ ) و VLDL ( $r = -0.37, P < 0.05$ ) وموجبة HDL ( $r = 0.49, P < 0.001$ ) مع مستوى IL-10 في مرضى السكري لم تلاحظ مثل هذه العلاقة لمستوى الكوليسترول و HDL و LDL عند الاصحاء. كما ظهرت علاقات ارتباطية معنوية سالبة لمستويات IL-10 ( $r = -0.51, P < 0.001$ ) و HDL ( $r = -0.49, P < 0.001$ ) وموجبة للكوليسترول ( $r = 0.65, P < 0.001$ ) والكليسيردات الثلاثية ( $r = 0.58, P < 0.001$ ) مع FBGL في المصابين بالمرض عند مقارنتهم بالاشخاص الاصحاء. بالنتيجة فان انخفاض

مستوى IL-10 قد يساهم في الإصابة بداء السكري ومن جهة أخرى تشير النتائج الى العلاقة الواضحة بين مستويات الكوليسترول والكليسيردات الثلاثية و البروتينات الدهنية مع مستوى IL-10 لدى مرضى السكري النوع الثاني.

## ABSTRACT

The current study was designed to estimate the differences in serum interleukin-10 (IL-10) levels in patients with type II diabetes and control group also to demonstrate whether a relationship was indicated among IL-10 and the changes in the levels of lipid and lipoproteins (dyslipidemia) in the same patients. To achieve this aim, 49 diabetic patients (21 females and 28 males) at ages of  $47.23 \pm 14.23$  y were enrolled. To compare the results, 30 healthy individuals (17 females & 13 males) of ages  $39.35 \pm 3.89$  y were also included as a control group. Serum IL-10 levels were measured in the patients & the control group by an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Fasting blood glucose level (FBGL) was estimated by the glucose-oxidase method. Total cholesterol, triglyceride and HDL were measured by colorimetric method. The results revealed significantly ( $P < 0.001$ ) decreased of serum IL-10 levels in diabetic patients when compared with those of the control group. Total cholesterol, triglycerides, LDL and VLDL values exhibited significantly ( $P < 0.005-0.0001$ ) elevation in the diabetic patients when compared with those of control group. While HDL level significantly ( $P < 0.0001$ ) decreased in diabetic patients in comparison with those of control group. The linear regression analysis revealed a significant negative correlation for cholesterol ( $r = -0.45$ ,  $P < 0.001$ ), triglycerides ( $r = -0.37$ ,  $P < 0.05$ ), LDL ( $r = -0.30$ ,  $P < 0.05$ ) & VLDL ( $r = -0.37$ ,  $P < 0.05$ ) level and positive correlation HDL ( $r = 0.49$ ,  $P < 0.001$ ) levels with the IL-10 values in the diabetic patients. Such correlation was not observed for the level of cholesterol, HDL and LDL in control group. Serum IL-10, Total cholesterol, triglycerides & HDL levels were shown to be significantly ( $r = -0.51$ ,  $P < 0.001$ ,  $r = 0.65$ ,  $P < 0.001$ ,  $r = 0.58$ ,  $P < 0.001$ ,  $r = -0.49$ ,  $P < 0.05$ ), correlated with FBGL in the diabetic patients but not in control group. In conclusion, low level of IL-10 could be involved in pathogenesis of type 2 diabetes and there is association between IL-10 and dyslipidemia in these patients.

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM), due to its growing incidence, is today a global epidemic. DM is a chronic and evolutive pathological process involved in



metabolic disorders of various nutrients and is characterized by defects of insulin secretion, insulin action or both, with resulting hyperglycemia [1].

It has been suggested that the type 2 diabetes is manifestation of the inflammatory host response. This host response is orchestrated by production of pro and anti-inflammatory cytokine that are under genetic control [2].

IL-10 is a protein product of T helper 2 (Th2) subset cells, macrophage, and hepatocyte. The protein is synthesized as a 178 amino acid precursor and secreted as a 160 amino acid glycoprotein with molecular weight of about 18 kd. IL-10 forms a 35-to 40 –kd homodimer when secreted under physiologic condition. The principal action of IL-10 is to inhibit T cell-dependent immune response [3] that was originally described as a “cytokine synthesis Inhibitory factor” IL-10 inhibits the production of many cytokines implicated in diabetes mellitus including IL-6 and TNF- $\alpha$  [4- 8].

Anti-inflammatory mechanisms might play a protective role against the development of insulin resistance in apparently healthy human[9].IL-10 at least partly represents the effect of an anti-inflammatory response on the type 2 diabetes and metabolic syndrome [10]. These findings suggest that Th2- type cytokines, particularly IL-10 may have a central role in the control of the disease process .We therefore propose that low IL-10 production capacity is associated with the type 2 diabetes and metabolic syndrome.

In type 2 diabetes mellitus lipid abnormalities are almost the rule. Nowadays frequency of diabetes mellitus is increasing many folds. Research findings show that it is the body composition components, mainly body fate and lipid profiles that are responsible for increase prevalence of this disease [11-13]. In conclusion there is association between low IL-10 level and FBGL in type 2 diabetes and dyslipidemia.

## MATREIALS AND METHODS

Forty nine patients of type 2 diabetes mellitus were selected randomly, in this study. The patients routinely visited the Specialized Center for Endocrinology and Diabetes –AL-Kindy teaching hospital in Baghdad during January-February 2010. They were 21 females and 28 males. Their mean age was  $47.23 \pm 14.23$  y with a range of 23-65 y. The control group consisted of 30 healthy individuals (17 females & 13 males) their mean ages  $39.35 \pm 3.89$  y with a rang 27-50 y. Serum was collected from each blood sample and preserved at -20 C° until analysis. Serum IL-10 level was estimated by an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Fasting blood glucose level was measured by glucose oxidase method. Total cholesterol, triglyceride and HDL were measured by colorimetric method. Patients with a history of

myocardial infarction, stroke, and cancer (determined by questionnaire) were excluded.

### Statistical analysis

Data analyses were carried out using the statistical package for social sciences (SPSS version 10). The results were expressed as (mean  $\pm$  SD) and analyzed by the use of independent t-test which was done for the comparison of two groups. The differences were considered significant when P value was  $<0.05$ . Pearson's correlation analysis of the data was made by using the statistical program.

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of determination of IL-10 levels demonstrated significant ( $P<0.001$ ) decreased in diabetic patients when compared with those of the control group. FBGL, total cholesterol, triglycerides, LDL and VLDL levels exhibited significantly ( $P<0.005$ - $0.0001$ ) elevation in the diabetic patients when compared with those of control group. While HDL level significantly ( $P<0.001$ ) decreased in diabetic patients when compare with those of control subjects (Table1). The association between IL-10 level and dyslipidemia were clarified by linear regression analysis. A significant correlation was found for total cholesterol( $r = -0.45$ ,  $P<0.001$ ) triglycerides ( $r = -0.37$ ,  $P<0.05$ ), HDL ( $r=0.49$ ,  $P<0.001$ ), LDL ( $r=-0.30$ ,  $P<0.05$ ), & VLDL( $r = -0.37$ ,  $P<0.05$ ) levels, with the IL-10 values in the diabetic patients such correlation was not observed for the level of cholesterol, HDL and LDL in control group. (Table 2 and fig 1, 2, 3, 4, 5)

Further conformation of the relationship between IL-10, total cholesterol and triglycerides levels with the FBGL values was demonstrated by the linear regression analysis. A significant correlation ( $r = -0.51$ ,  $P<0.001$ ), ( $r = 0.65$ ,  $P<0.001$ ), ( $r = 0.58$ ,  $P<0.001$ ) & ( $r = -0.49$ ,  $P<0.01$ ), for IL-10, total cholesterol, triglycerides & HDL levels were observed with FBGL magnitudes in the diabetic patients, but not in the control group (Table 3 & Fig 6, 7, 8, 9).

The cross sectional nature of the relation between low IL-10 level and lipid and glucose metabolism is one limitation of our study. It is tempting to speculate that the association is between IL-10 and type 2 diabetes. However, on the basis of previous findings on might hypothesize that high level of IL-10 should theoretically cause an up regulation of tyrosine kinase activity of the insulin receptor and decrease lipolysis by counter regulating the effect of TNF- $\alpha$  and IL-6 [14-18]. Therefore, high IL-10 production could confer protection against the type 2 diabetes and metabolic syndrome,

whereas a low IL-10 production capacity would predispose one to the type 2 diabetes and metabolic syndrome.

It might be premature to make solid conclusion regarding the role of cytokines in lipid metabolism, nevertheless, adding the external environmental factors such as food intake and lifestyle, we hypothesize that genotypes of cytokine genes might be one of the internal factors which affects lipid metabolism [19].

In diabetes many factors may affect blood lipid levels this is because carbohydrates and lipid metabolism are interrelated to each other if there is any disorder in carbohydrate metabolism. It also leads disorder in lipid metabolism so there is high concentration of cholesterol and triglycerides and due to this there is reduction in HDL cholesterol level in diabetes. Additionally, Insulin has an effect on lipid metabolism. Insulin deficiency causes excessive metabolism of free fatty acids this may be lead to disorder in lipid metabolism in type 2 diabetes [20, 21].

Our data suggests that anti inflammatory mechanism might play a protective role against the development of insulin resistance in apparently healthy humane.

**Table -1: Serum IL-10, Cholesterol, Triglyceride ,HDL,LDL, &VLDL levels in diabetic patients & control group**

Parameter	group	Mean±SD	Range	P-value
FBGL (mmol/L)	Control	5.09 ± 0.67	3.70 – 6.30	<0.001
	Patient	10.15 ± 2.00	7.30 – 16.00	
IL-10 (pg/ml)	Control	156.07± 37.71	104.98 -234	<0.001
	Patient	75.97 ± 4.96	66.23 – 92.44	
Cholesterol (mmol/L)	Control	4.05 ± 0.61	2.80 – 5.00	<0.005
	Patient	6.73 ± 1.23	5.20 – 9.70	
Triglyceride (mmol/L)	Control	1.47 ± 0.40	1.00 – 2.70	<0.001
	Patient	2.76±0.96	1.30 – 4.80	
HDL (mmol/L)	Control	1.51±0.20	1.20 – 2.0	< 0.001
	Patient	1.06±0.097	0.96 – 1.30	

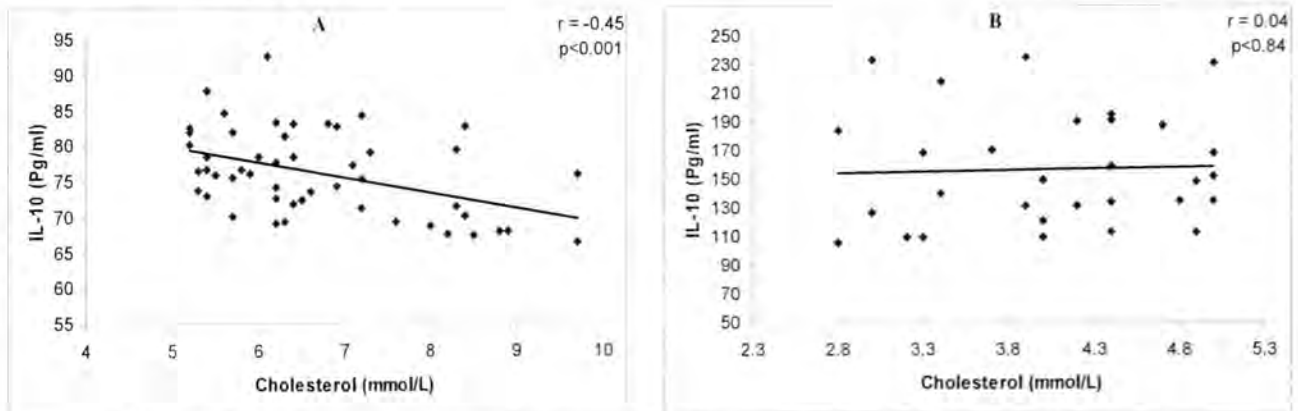
<b>LDL (mmol/L)</b>	Control Patient	1.87±0.48 4.381±1.07	0.91 - 2.70 2.25 – 6.56	<0.001
<b>VLDL (mmol/L)</b>	Control Patient	0.67±0.2 1.24±0.55	0.45 – 1.23 0.59 – 2.18	<0.0001

**Table -2 : The correlation coefficient of serum IL-10, with Cholesterol, Triglyceride, HDL, LDL & VLDL levels of diabetic patients and the control group**

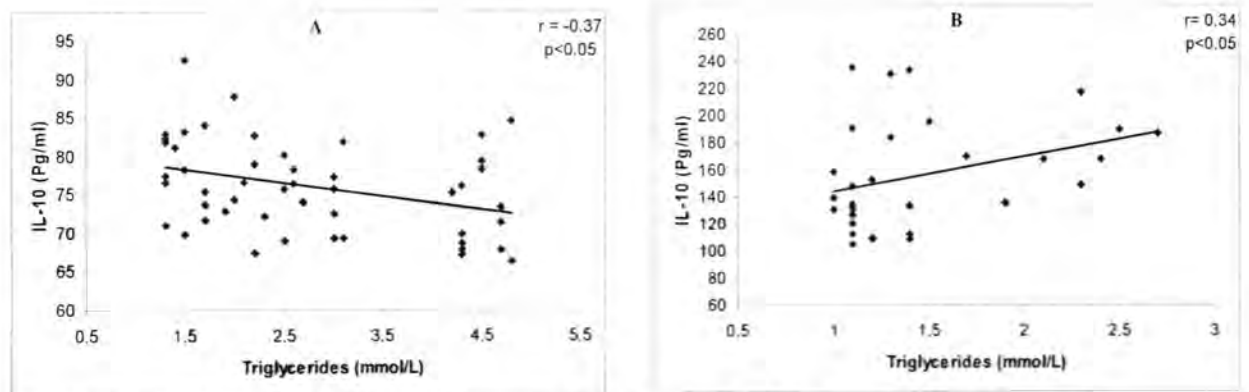
Parameter	Diabetic patients		Control group	
	r	P- value	r	P- value
<b>Cholesterol (mmol/L)</b>	<b>-0.45</b>	<b>P&lt;0.001</b>	<b>0.04</b>	<b>N.S</b>
<b>Triglyceride (mmol/L)</b>	<b>-0.37</b>	<b>P&lt;0.05</b>	<b>0.34</b>	<b>P&lt;0.05</b>
<b>HDL (mmol/L)</b>	<b>0.49</b>	<b>P&lt;0.001</b>	<b>0.05</b>	<b>N.S</b>
<b>LDL (mmol/L)</b>	<b>-0.30</b>	<b>P&lt;0.05</b>	<b>0.07</b>	<b>N.S</b>
<b>VLDL (mmol/L)</b>	<b>-0.37</b>	<b>P&lt;0.05</b>	<b>0.33</b>	<b>P&lt;0.05</b>

**Table -3: The correlation coefficient of FBGL with IL-10,cholesterol, triglyceride levels of diabetic patients and the control group & HDL**

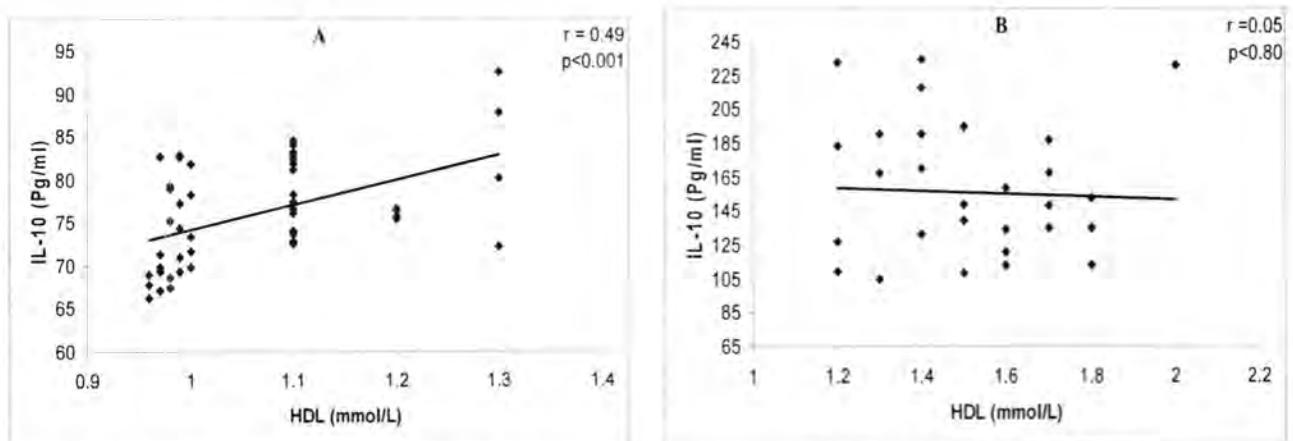
Parameter	Diabetic patients		Control group	
	r	P- value	r	P- value
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	<b>-0.51</b>	<b>P&lt;0.001</b>	<b>0.27</b>	<b>N.S</b>
<b>Cholesterol (mmol/L)</b>	<b>0.65</b>	<b>P&lt;0.001</b>	<b>0.28</b>	<b>N.S</b>
<b>Triglyceride (mmol/L)</b>	<b>0.58</b>	<b>P&lt;0.001</b>	<b>0.18</b>	<b>N.S</b>
<b>HDL (mmol/L)</b>	<b>-0.49</b>	<b>P&lt;0.001</b>	<b>0.18</b>	<b>N.S</b>



**Fig. -1: The correlation of serum Cholesterol level with IL-10 level in A:diabetic patients and B: control group**



**Fig. -2: The correlation of serum Triglyceride level with IL-10 level in A:diabetic patients and B: control group**

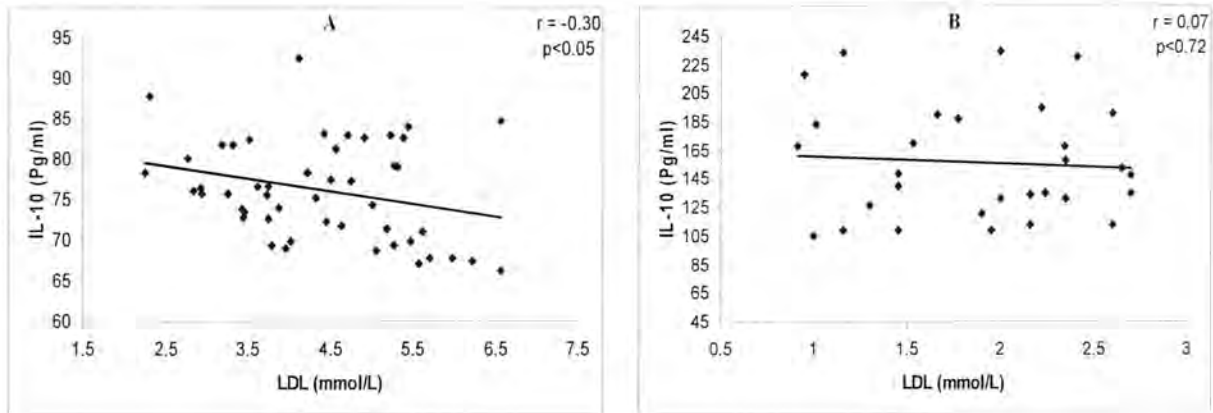


**Fig. -3: The correlation of serum HDL level with IL-10 level in A:diabetic patients and B: control group**

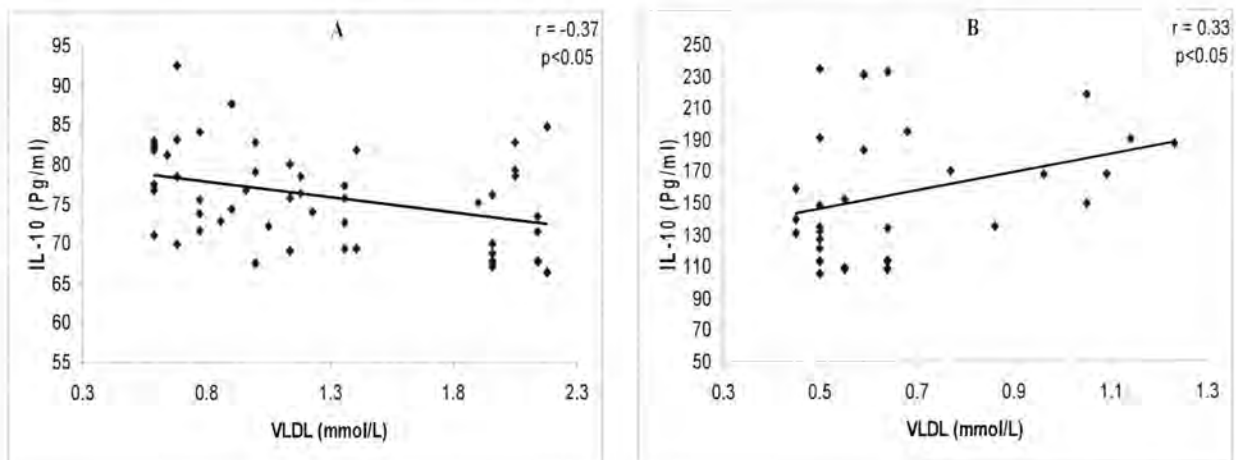


# The relationship between IL-10 and Dislipidemia in type 2 diabetics

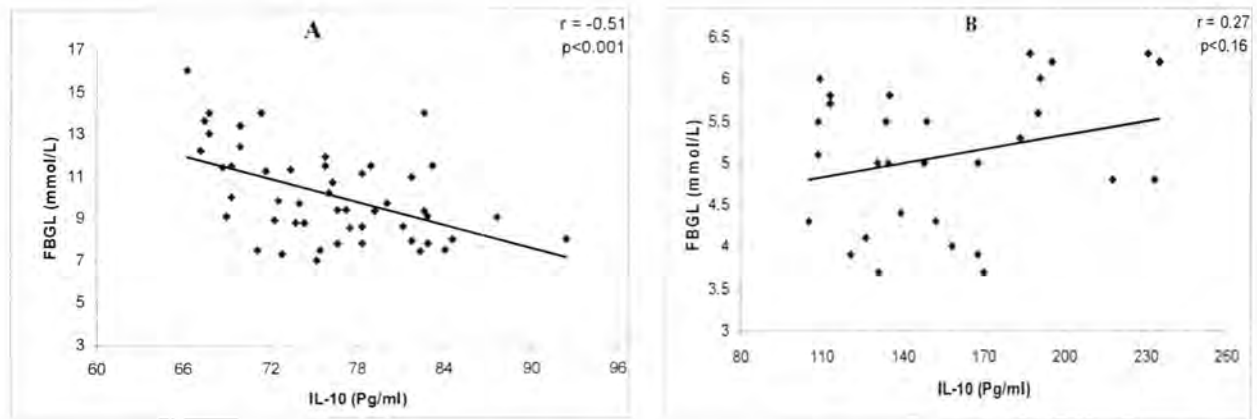
Majid, Sura and Lameia



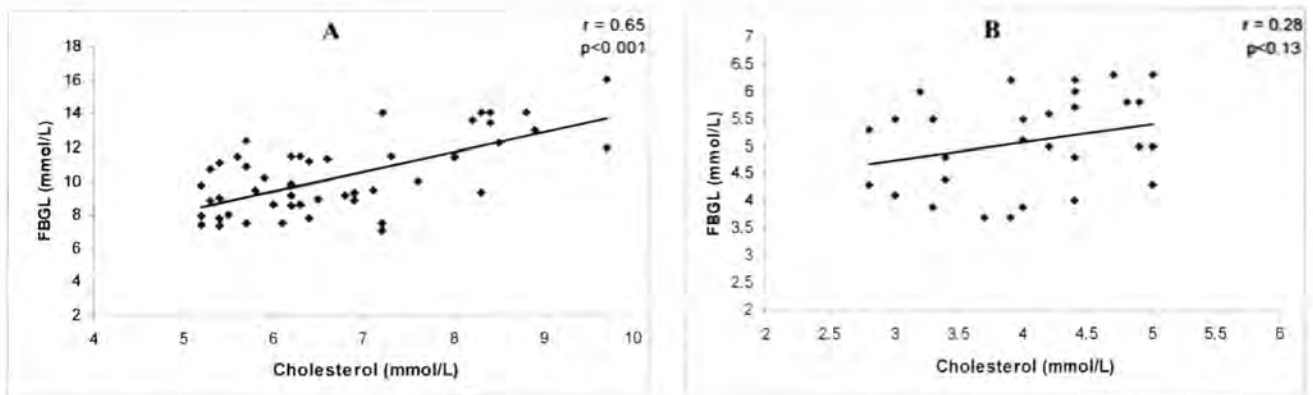
**Fig. -4: The correlation of serum LDL level with IL-10 level in A:diabetic patients and B: control group**



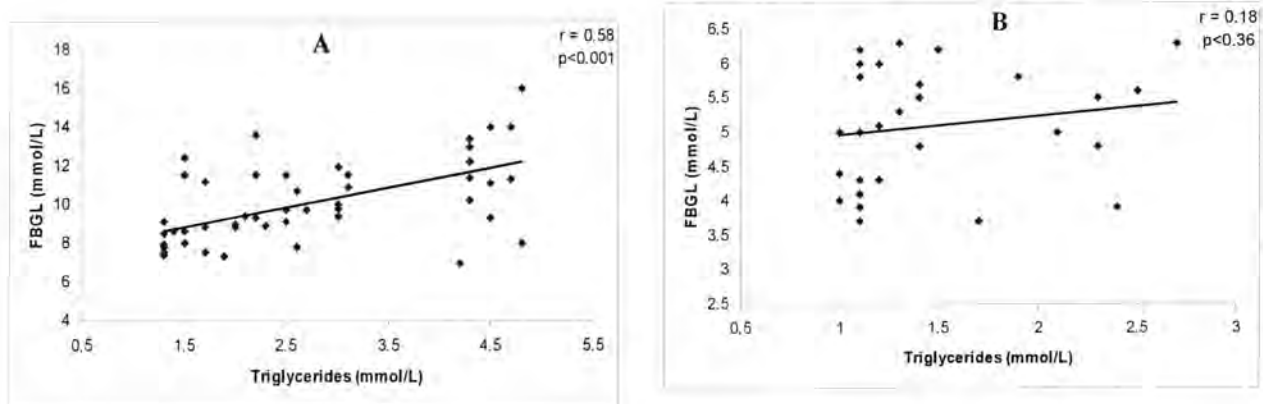
**Fig 5: The correlation of serum VLDL level with IL-10 level in A:diabetic patients and B: control group**



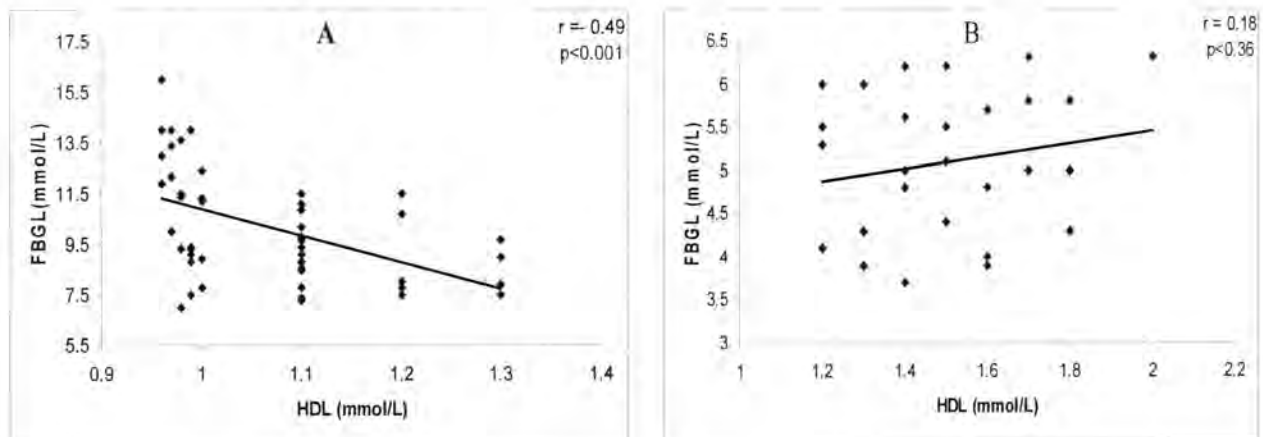
**Fig 6: The correlation of IL-10 level with FBGL in A:diabetic patients and B: control group**



**Fig7: The correlation of cholesterol level with FBGL in A:diabetic patients and B: control group**



**Fig 8: The correlation of triglycerides level with FBGL in A:diabetic patients and B: control group**



**Fig 9: The correlation of HDL level with FBGL in A:diabetic patients and B: control group**

## REFERENCES

- 1) Larissa Queiroz de Lira<sup>1</sup>, Roberto Dimenstein: vitamin a and gestational diabetes. Rev Assoc Med Bras 56(3): 355-9 (2010).
- 2) Exel EV, Gussekloo J, and Fräölich M, et al.: Low production capacity of interleukin -10 associated with the metabolic syndrome and type 2 diabetes. Diabetes 51:1088-1092 (2002).

- 3) **Michael M. Frank, K. Frank Austen, Henry N. Claman, Emil R. Unanue:** Samter's Immunologic diseases. 5<sup>th</sup> ed, Little, Brown and Company Boston New York Toronto London, 137 (1995).
- 4) **Wang XZ, Chen ZX, and Zhang J, et al.:** Expression of insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth Factor 1 receptor and its intervention by interleukin-10 in experimental hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 9 (6): 1287-1291 (2003).
- 5) **Wang XZ, Zhang J, and Huang YH, et al.:** Effects of transmitters and interleukin-10 on rat hepatic fibrosis induced by CCl<sub>4</sub>. *World J Gastroenterol* 9: 539-543 (2003).
- 6) **Hill DB, D'Souza NB, Lee EY, Burikhanov R, Deaciuc IV, deVilliers WJ:** A role for interleukin-10 in alcohol-induced liver sensitization to bacterial lipopolysaccharide. *Alcohol Clin Exp Res* 26: 74-82 (2002).
- 7) **LISA R. LEON:** Molecular Biology of Thermoregulation Invited Review: Cytokine regulation of fever: studies using gene knockout mice. *J Appl Physiol* 92: 2648-2655 (2002).
- 8) **Fiorentino DF, Zlotnik A, and Mosmann TR, et al.:** IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 147: 3815-3822 (1991).
- 9) **Nikolajuk A, Kowalska I, and Gorska M, et al. :** Plasma interleukin - 10 concentrations is positively related to insulin sensitivity in young healthy individuals. *Diabetes Care* 28(8): 2036-2037 (2005).
- 10) **Noore KW, de Waal Malefyt R, and Coffman RL, et al. :** Interleukin - 10 and the interleukin -10 receptor. *Annu Rev Immunol* 19: 683-765 (2001).
- 11) **Arora M, Koley S, and Gupta S, et al.:** A study on lipid profile and body fate in patients with diabetes mellitus. *Anthropologist* 9(4): 295-298 (2007).
- 12) **American Diabetes Association.** Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 30: 4-41 (2007).

- 13) **Joshua A, Becham B, and libby P:** Diabetes and Atherosclerosis. JAMA 287: 2570-81 (2002).
- 14) **Hopkins PN, and Hunt SC, Wu LL:** Hypertension dyslipidemia and insulin resistance : links in a chain or spokes on a wheel ? Carr Opin Lipidol 7:241-253 (1996).
- 15) **Fröhlich M, Imhof A, and Berg G, et al.:** Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. Diabetes Care 23:1835-1839 (2000).
- 16) **Feingold KR, and Grunfeld C:** Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. Diabetes 41(2):97-101(1992).
- 17) **Hotamisligil GS, Budavari A, and Murray D et al.:** reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes :central role of tumor necrosis factor –alpha. J Clin Invest 94:1543-1549 (1994).
- 18) **Hotamisligil GS, Peraldi P, and Budavari A, et al.:** IRS-1 mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$  and obesity –induced insulin resistance. Science 271:665-668(1996).
- 19) **Chang YH, Huang CN, and Shiau MY:** Cyotkines, metabolism and type 2 diabetes mellitus. J Biomed Lab Sci 21(4):112-117 (2009).
- 20) **Smith S, and Lall A M:** A Study on Lipid Profile Levels of Diabetics and Non-Diabetics Among Naini Region of Allahabad, India Turk J Biochem 33 (4):138–141 (2008).
- 21) **Godkar P and Godkar D:** Text book of medical laborarty technology. Chemistry of carbohydrates, 2<sup>nd</sup> ed Bhalani publishing house, New Delhi-India 176-233 (2003).



## Isolation and Identification of Three Flavonoids from *Artemisia herba-alba* (Asteraceae)

Hamed .J.Jaffer<sup>a</sup>, Muhanned .J.Mahmoud<sup>b</sup>

a-Department of Chemistry-College of Science-Al-Mustansiria University

b-Department of Chemistry-College of Education (Ibn-Al-Haitham)

Submitted : 18/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

يستخدم نبات الارتميسيا هربا اليا (الشيح) بشكل واسع في الطب الشعبي من قبل سكان الشرق الاوسط وشمال افريقيا. واثبتت بعض الفلافونات المفصولة منه سابقا فعاليتها على الجهاز العصبي. تسجل الان فصل ثلاث فلافونات اضافية من المستخلص المائي الكحولي من النبات.

5,3'-Dihydroxy-6,7,4'-trimethoxy flavone(Eupatorin), 5,7,4'-Trihydroxy-6,3',5'-trimethoxy flavone, and 5,7,4'-Trihydroxy-6,3'-dimethoxy flavone(Jaceosidin).

فصلت هذه المركبات بواسطة اعمدة الكروماتوغرافيا وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وتم اثبات

تراكيبها بواسطة اطياف الرنين النووي المغناطيسي وطياف الكتلة واطياف الاشعة فوق البنفسجية.

### ABSTRACT

*Artemisia herba-alba* (Asteraceae) is widely used by local population in folk medicine in middle east and north africa. Some previously isolated flavones prove to posses neurological activities. Now, we report the isolation of three additional flavones from aqueous ethanolic extract of the plant , 5,3'-Dihydroxy-6,7,4'-trimethoxy flavone(Eupatorin), 5,7,4'-Trihydroxy-6,3',5'-trimethoxy flavone, and 5,7,4'-Trihydroxy-6,3'-dimethoxy flavone(Jaceosidin). They were isolated by using column and TLC chromatography and their structures were confirmed by NMR,MS and UV spectra.

### INTRODUCTION

*Artemisia herba-alba* (Asteraceae) known as the "desert wormwood", is a dwarf shrub growing in north Africa and middle east. The plant which is used by the local population in folk medicine is named in Arabic Al-Shih [1] . It has a wide use in traditional medicine, for treatment of gastric disturbances, such as diarrhea, abdominal cramps and for healing external wounds [2] . Uses for diabetes mellitus and other conditions as jaundice are also reported [3-6] . Plant is recommended for neurological disorders, and the ethanolic extract has

shown activity in the GABAA-benzodiazepine receptor assay [7,8]. A fraction which has a santolina alcohol prove to have a significant antibacterial activity [9-11]. The antifungal activity of *Artemisia herba-alba* was found to be associated with two major volatile compounds isolated from the leaves of the plant, Carvone and Piperitone [12,13]. The plant also shows anthelmintic [14,15], nematocidal [16], antileishmanial [17] and antivenom activities [18]. Many phytochemical studies reported that the essential oil was largely composed of monoterpenoids mainly oxygenated such as 1,8-Cineol, Chrysanthenone and Camphor as major component [19,20]. Eight polyphenolic and related constituents were isolated from Moroccan *Artemisia herba-alba* [21-22]. The wax was obtained from other extract of the plant [23]. The sesquiterpene lactones are among the prominent natural products found in *Artemisia* species and are largely responsible for the importance of these plants in medicine and pharmacy [24,25]. The first flavones isolated from *Artemisia herba-alba* was 5,4'- dihydroxy-6,7,3'- trimethoxy flavones [1]. Four other flavones, Hispiduline, Cirsilineol, Dinatin and Skrofulin were successfully isolated and they prove to possess neurological activities [8,26]. The importance of *Artemisia herba-alba* encouraged us to continue searching the flavonoids of this plant.

## MATERIALS AND METHODS

*Artemisia herba-alba* was collected from Alromady city at the west of Iraq (100 km west of Baghdad) in November. The plant was identified and a voucher was deposited by Iraqi herbarium centre (Abo garib, Baghdad). The aerial parts (250 g) was air-dried, ground and defatted with petroleum ether (40-60) and then extracted with 80% ethanol using soxhlet apparatus. The resulted extract was filtered and the filtrate was evaporated under vacuum. The thick brown syrup residue gave a positive colour reaction with Mg/HCl was chromatographed using column chromatography, silica gel, ethyl acetate:methanol (80:20). Further purification was carried out using preparative thin layer chromatography resulted in separation of three flavonoids(I,II,III). Yields of these flavonoids were 230mg, 260mg and 200mg.

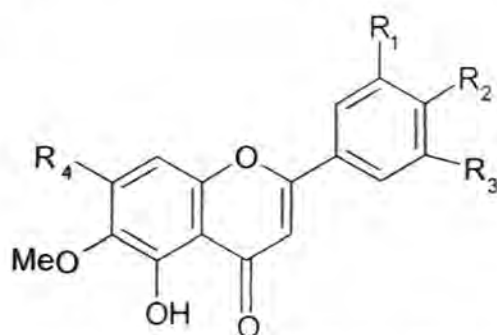
The UV spectra of the isolated compounds were recorded on UV-160A. UV-Visible recording spectrophotometer. College of Science, Al-Mustansria University, Baghdad-Iraq.

Mass Spectra were determined on an A.E.I. M.S.9 double focussing mass spectrometer, using an Elliot 905 computer based data system. <sup>1</sup>H nmr Spectra in DMSO-d<sub>6</sub> were recorded on a Bruker WM250 (250.13MHz) in Strathclyde University, Glasgow, U.K.

## RESULTS AND DISCUSSION

The reinvestigation of the aerial parts of *Artemisia herba-alba* afforded the isolation and identification of three flavonoids. These flavonoids (I,II,III) are different from those previously isolated from this plant [1,26,27]. Their UV spectra in methanol are typical of flavones having hydroxyl or methoxy substituents at 3' and 4' positions [1] (table 1). The UV spectra of the isolated compounds (I,II,III) confirmed the absence of ortho 3',4'-dihydroxy system in their structures, such as a system should produce a shift of band I 30-40 nm on addition of anhydrous  $\text{AlCl}_3$  in methanol, relative to the methanol spectrum. The shift of band I produced by the addition of anhydrous  $\text{AlCl}_3$  was significantly less than this value. These facts confirmed that the structures of isolated flavonoids have the following systems :

3'-hydroxy-4'-methoxy,                      3'-methoxy-4'-hydroxy                      ,3',4'-dimethoxy



I= 5, 3'- Dihydroxy - 6,7,4'- trimethoxy flavone

$\text{R}_1 = \text{OH}$  ,  $\text{R}_2 = \text{OMe}$  ,  $\text{R}_3 = \text{H}$  ,  $\text{R}_4 = \text{OMe}$  (Eupatorin)

II= 5,7,4' - Trihydroxy - 6,3',5'-trimethoxy flavone

$\text{R}_1 = \text{OMe}$  ,  $\text{R}_2 = \text{OH}$  ,  $\text{R}_3 = \text{OMe}$  ,  $\text{R}_4 = \text{OH}$

III 5,7,4' -Trihydroxy - 6,3' - dimethoxy flavone

$\text{R}_1 = \text{OMe}$  ,  $\text{R}_2 = \text{OH}$  ,  $\text{R}_3 = \text{H}$  ,  $\text{R}_4 = \text{OH}$  (Jaceosidin)

Compound I (Eupatorin) has been isolated before from the leaves of *vitex negundo*[28] and from *stevia procumbens* [29]. Mass spectrum of this compound ( I) showed a molecular ion peak  $\text{M}^+$  at 344 [89%] in accordance with formula  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$  . The fragmentation pattern showed peaks  $m/e$  329 (M-15 ; 66% ), 326 (M-18; 75% ), 301 (M-43; 71% ) . The  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound (I) in  $\text{DMSO}-d_6$  showed three methoxy groups (positions 4',6,7) as a singlet peaks at  $\delta$  3.78, 3.86 and 3.90 ppm . The spectrum indicated the presence of an olefinic proton at  $\delta$  6.98 (s, H-3), while (H-8) was appeared as a singlet at  $\delta$  6.64. Two doublets at  $\delta$  7.70 and  $\delta$  7.12 ppm could be belongs to (H-5') and (H-6') respectively. The (H-2') appeared as a singlet signal at  $\delta$  7.58 ppm. Compound (II) which was isolated previously from *artemisia frigida* [30]

showed the molecular ion peak  $M^+$  at 360 (84%) represent the formula  $C_{18}H_{16}O_7$ . The fragmentation pattern showed peaks at  $m/e$ : 345 (M-15; 61%), 342 (M-18; 73%), 327 (M-33; 40%), 317 (M-43; 66%), (M-58; 65%). The  $^1H$  nmr spectrum of compound (II) showed a singlet signal at  $\delta$  3.78 ppm for two methoxy groups at 3' and 5' positions. Another singlet belongs to methoxy group at position 6 appeared at  $\delta$  3.90 ppm. Two singlets at 6.60 and 6.95 ppm could be belongs to (H-8) and olefinic (H-3) respectively. Finally, the two protons of (H-2') and (H-6') appeared as a singlet at 7.18 ppm. The compound (III) (Joceosidine) was isolated from different plants [28,30]. The molecular ion peak was accordance with formula  $C_{17}H_{14}O_7$ . The fragmentation pattern showed peaks at 330 ( $M^+$ , 73%), 315 (M-15; 50%), 312 (M-18; 63%), 287 (M-43; 55%). Compound (III) has two methoxy groups at 3' and 6' appeared at as singlet signals at  $\delta$  3.90 and 3.75 ppm respectively. The olefinic proton (H-3) and the protons H-8 and H-2' appeared as a singlets at  $\delta$  6.62, 6.94 and 7.18 ppm respectively, while H-5' and H-6' appeared as doublets at  $\delta$  7.70 and 7.58 ppm respectively. The nmr spectra of the isolated flavonoids (I,II,III) supported the UV and MS data.

**Table -1 : UV spectra data for flavonoids I,II,III isolated from *Artemisia herba-alba* ( $\lambda$  max, nm).**

Compound No.	I	II	III
MeOH	270,335	270,328	268,335
NaOMe	275,290,362	235,360	272,320
AlCl <sub>3</sub>	255,285,360	280,295,355	275,360
AlCl <sub>3</sub> /HCl	255,275,350	275,295,345	265,352
NaOAc	270,360	274,360	270,375
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	270,330	274,328	268,355

**Table -2 :  $^1H$  NMR and Mass spectra Data for flavonoids I,II,III isolated from *Artemisia herba-alba***

Compound No.	I	II	III
$^1H$ nmr(DMSO), $\delta$	3.78, 3.86, 3.90 (9H, s, 3xOMe), 6.64 (1H, s, H8), 6.98(1H, s, H3), 7.12(1H, d, H6'), 7.58(1H, s, H2'), 7.70(1H, d, H5')	3.78(6H, s, 2xOMe), 3.90(3H, s, OMe), 6.60(1H, s, H8), 6.95(1H, s, H3), 7.18(2H, s, H2' and H6')	3.75(3H, s, OMe), 3.90(3H, s, OMe), 6.62(1H, s, H8), 6.94(1H, s, H3), 7.18(1H, s, H2'), 7.58(1H, d, H6'), 7.70(1H, d, H5')



<b>Mass Spectrum</b>	344(M <sup>+</sup> ; 89%), 329(M-15; 66%), 326(M- 18; 75%), 301(M-43; 71%)	360(M <sup>+</sup> ; 84%), 345(M-15; 61%), 342(M-18; 73%), 327(M- 33; 40%), 317(M-43; 66%), 302(M-58; 65%) .	330(M <sup>+</sup> ; 73%), 315(M-15;50%), 312(M-18; 63%), 287(M- 43; 55%).
----------------------	---	---	--

### REFERENCES

1. R. Segal, D. Cohen, S. Sokolofy, D.V. Zaitschek, A new flavone from *Artemisia herba-alba*, *Lloydia*, 163: 103-105(1973) .
2. I. Feuerstein, D. Muller, K. Hobert, A. Danin, R. Segal, The constituent of essential oils from *Artemisia herba-alba* population of Israel and Sinai, *Phytochemistry*, 25 : 2343-2347(1986) .
3. H.I. Marrif, B. H. Ali, K.M. Hassan, Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba*(*Asso.*) in rabbits and mice, *J. of Ethnopharmacol.*, 49: 51-55 (1995) .
4. A. Ziyyat, A. Legssyer, H. Mekhfi, A. Dassouli, M. Serhrouchni, W. Benjelloun, Phytochemistry of hypertension and diabetes in oriental Morocco, *J. Of Ethnopharmacol.*, 58(1) :45-54(1997) .
5. A. Tahraoui, J. El-Hilaly, Z.H. Israili, B. Lyoussi, Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco(Errachidia province), *J of Ethnopharmacol.*,110(1):105-107 (2007).
6. S.M. Al-khazaraji, L.A. Al-shamaony, H. A.A. Twaij, Hypoglycemic effect of the *Artemisia herba-alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *J. of Ethnopharmacol.*, 40: 163-166 (1993).
7. S. M. Salah, A.K. Jager, Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities, *J. of Ethnopharmacology*, 97: 145-149 (2005) .



8. S.M. Salah , A.K. Jager, Two flavonoids from *Artemisia herba-alba*(Assoc.) with in vitro GABA<sub>A</sub>-benzodiazepine receptor activity, J. of Ethnopharmacol. 99 : 145-146(2005) .
9. J. Yashphe, I. Feuerstein, S. Barel , R. Segal, The antibacterial and antispasmodic activity of *Artemisia herba-alba*(Asso.) II, Examination of essential oils from various chemotypes, Int. J. Crude Druge Res. 25(2) : 89-96(1987) .
10. J. Yashphe, R. Segal, A. Breuer, G. Erdreich-Naftali, Antibacterial activity of *Artemisia herba-alba*, J. Of Pharma. Sci.,68 (7) : 924-925(1979) .
11. A. Sherif, R.G. Hall, M. El-Amamy, Drugs, Insecticides and other agents from *Artemisia*. Medical Hypotheses, 23 : 187-193(1987) 187-193.
12. S.M. Salah, M.H. Belal, G. El-Baroty, Fungicidal activity of *Artemisia herba-alba*(Asso.), J. Of Envir. Sci. and health. Part B. Pesticides, Food contaminats and agricultural wastes, 41(3): 237-244 ( 2006) .
13. S. Charchari, A. Dahoun, F. Bachi, A. Benslimani, Antimicrobial activity of in vitro of essential oils of *Artemisia herba-alba*(Asso.) and *A. Judaica* L. from Algeria. Riv. Ital. Eppos, 18 : 3-6(1996) .
14. U.E. Idrs, S.E. Adam, G. Tartour, The anthelmintic efficacy of *Artemisia herba-alba* against *Haemonchus contortus* infection in goats, National Institute Of Health Quarterly,22(3): 138-143 (1982) .
15. N.S. Al-Wailli, *Artemisia herba-alba* extract for treating *Enterobius vermicularis* infection, Transactions Of the Royal Society Of Tropical Medicine and Hygiene, 82 : 626-629(1988) .
16. L. AlBanna, R.M. Darwish, T. Aburjal, Effect of plant extracts and essential oils on root-knot nematode, Phytopathological Mediterranea,42(2): 123-128(2003) .
17. S. Hatimi, M Boudouma, M. Bichichi, N. Chaib, N.G. Idrissi, Evaluation in vitro de l'active antileishmanienne d'*Artemisia herba-alba*(Asso.), Bulletin de la Socie te de Pathologie exotique, 94(1) : 29-31(2001) .

18. A.K.J. Sallal, A. Alkofahi, Inhibition of the hemolytic activities of Snake and Scorpion venoms in vitro with plant extracts, *Biomedical Lett.*,53(212) :211-215 ( 1996) .
19. B.M. Lawrence , Progress in essential oils, *Perfume & Flavor*, 6(1) :37-38 and 43-46(1989) .
20. S. Lemberg, Armoise, *Artemisia herba-alba*,*Perfume & flavore*, 7 : 58-60 and 62-63(1982).
21. F. Mouhajir, J.A. Pedersen, M. Redali , S.G.H.N. Touer, Phenolics in Moroccan plant species as studies by electron spin resonance spectroscopy, *Can. Pharmaceutical Biology*, 39(5) : 391-398(2001) .
22. T-H. Kim, H. Ito, T. Hatano, S. Taniguchi, S. Khennouf , T. Yoshida, Chemical constituents of *Artemisia herba-alba* (Asso.), *Nat. Med.* 58(4): 165-168 (2004) .
23. P.I. Sanchez , G.J.Delgadol, Organic principles in east Spanish plants, III. Separation and identification of the components of an *Artemisia herba-alba valentine* wax by gas-liquid chromatography, *Grasasy Aceites* (sevilla, spain), 29(5):323-327 (1978).
24. R. Segal, S. Sokoloff, B. Haran, D.V. Zaitschek, Lichtenberg, New sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*, *Phytochemistry*, 16 : 1237-1241(1977).
25. R. Segal,I. Feuerstein, H. Duddeck, M. Kaiser , A. Danin, The sesquiterpene lactones from two populations of *Artemisia herba-alba.*, *Phytochemistry*, 22: 129-131 (1983) .
26. X-L. Shen, M. Nielsen, M.R. Witt, O. Sterner, O. Bergendorff , M. Khayyal, Inhibition of [methyl-3H]diazepam binding to rat brain membranes in vitro by dinatin and skrofulein, *Acta pharmacologica Sinica*, 15(5): 385-388 (1994).
27. X-L. Shen,M.R. Witt, M. Nielsen, O Bergendorff, O. Sterner, M.T. Khayyal, T.S. El-Alfy , H. El-gohary, Flavone derivatives isolated from *Artemisia herba-alba* have affinity to brain benzodiazepine and -1 adrenergic receptors in vitro , *Zhongguo Yaolixue Yu Dulixue Zazhi*, 7(4): 305-306 (1993).

28. B. Achari, U.S. Chowdhury, P.K. Dutta, S.C. Pakrash, Two isomeric flavanones from *viterx negundo*. *Phytochemistry* 23(3) : 703-704(1984).
29. V.E.Sosa, R.Gil, J.C.Oberti, P.Kulaanthaivel, W.Herz. Sesquiterpene lactones and flavones from *stevia procumbens*. *J.Nat.Product.* 48(2) : 340-340(1984).
30. Y-L, Liu, T.J.Mabry. Flavonoids from *Artemisia frigida*, *Phytochemistry*, 20(6) : 1389-1395(1981).
31. T.Nakasugi, M.Nakashima, K.K. omai. Antimutagens in Galyou (*Artemisia argyi levl.et vant.*). *J. Agric. Food Chem.* 48 : 3256-3266(2000).

## **Spectroscopic and Biological Activity Studies of Thiadiazole Ligand Type N<sub>2</sub>O and its Complexes with Fe(II), Co(II) and Ni(II)**

Hasan A. Hasan, Ali H. Samir and Wurood Ali Jaafar Al-Saedi  
Department of Chemistry–College of Education Ibn al-Haitham–University of Baghdad

Submitted : 30/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### **الخلاصة**

في هذا البحث تم استخدام المشتق [2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole][S] لتحضير الليكاند الثلاثي السن -2-(2-Hydroxy-benzylidene)amino-5-thiol-1,3,4-thiadiazole][HL] من نوع (N<sub>2</sub>O).

تم تصعيد الليكاند باستخدام الايثانول كمذيب مع املاح الايونات [ Fe(II) و Co(II) مع Ni(II) ] بنسبة 2:1 (M:L) بوجود هيدروكسيد البوتاسيوم كقاعدة لتكوين المعقدات. تم تشخيص المعقدات بالطرق الطيفية (الاشعة تحت الحمراء والاشعة فوق البنفسجية-المرئية مع الامتصاص الذري) وقياسات محتوى الكلوريد و التوصيلية الكهربائية مع درجة الانصهار. هذه الدراسات بينت ان الشكل الهندسي هو ثماني السطوح لمعقدات [ Fe(II) و Co(II) مع Ni(II) ] بالصيغة العامة [M(L)<sub>2</sub>] أما قياسات الفعالية البيولوجية فأظهرت ان معقد الحديد فعال تجاه Bacillus(G+) strain بينما بقيت المعقدات لم تظهر أي فعالية تجاه نوعين من البكتريا . Bacillus(G+) and Pseudomonase(G-)strains.

### **ABSTRACT**

In this work, the precursor [2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole][S] has been used in the synthesis of new tridentate ligand [2-(2-Hydroxy-benzylidene)amino-5-thiol-1,3,4-thiadiazole][HL] type (N<sub>2</sub>O).

The ligand was refluxed in ethanol with the metal ions [Fe(II), Co(II) and Ni(II)] salts, using KOH as a base in (2:1) molar ratio to give the complexes. These complexes were characterised by atomic absorption(A.A), F.T.I.R, ultraviolet visible(U.V-Vis) spectroscopies, along with conductivity, chloride content and melting point measurement. These studies revealed an octahedral geometries for Fe(II), Co(II) and Ni(II) complexes with the general structure [M(L)<sub>2</sub>]. The Fe(II) complex exhibited biological activity against the Bacillus(G+) strain, while the other complexes have no biological activity against the two types of bacteria the Bacillus(G+) and the Pseudomonase(G-) strains.

## INTRODUCTION

Since thiadiazoles have a variety of potential biological activities and utilities as technologically useful materials, a number of methods for their preparation have been developed. A useful preparative method for 2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole was developed by Guha(1) by treating thiosemicarbazide with carbon disulphide and potassium hydroxide. Heterocyclic amines(2,3) have been widely used for the synthesis of new Schiff's bases.

Azoles, thiadiazole and their derivatives continue to draw the attention of synthetic organic and inorganic chemists due to the large group of compounds possessing a wide spectrum of uses. Heterocyclic compounds possessing the 1,3,4-thiadiazole ring system has shown antifungal, bacteriostatic as well as antihelmintic effects(4,5). Compounds containing the mentioned ring also exhibit anti-inflammatory, antimicrobial properties(6) in addition to the depression effect on the central nervous system(7). All the tested thiodiazole compounds are less active than oxacillin, which is currently used as clinical antibiotic(8). In the recent past, number of studies has highlighted the use of azo compounds and its complexes with transition metals in various significant applications(9).

## MATERIALS AND METHODS

All chemicals used supplied from Fluka and Merck companies and used without any further purification. Infrared spectra were performed using a Shimadzu (FT-IR)-8400S spectrophotometer in the range ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ). Spectra were recorded as potassium bromide discs at Ibn-sina company. The electronic spectra of the compounds were obtained using a (U.V.-Visible) spectrophotometer type Shimadzu 160, in the range (200–900 nm) using quartz cell of (1.0)cm length with concentration ( $10^{-3}$ ) mole  $L^{-1}$  of samples in DMF at  $25^\circ C$ , and electrical conductivity measurements of the complexes were recorded at ( $25^\circ C$ ) for ( $10^{-3}$ – $10^{-5}$ )M solutions of the samples in DMF using a PW 9526 digital conductivity meter. The chloride content determined using potentiometric titration method on 686-Titro Processor-665 Dosim A-Metrohm/Swiss, and melting points were obtained using an electrothermal apparatus Stuart melting point, and metals were determined with a Shimadzu (A.A.) 680G atomic absorption spectrophotometer, all measurements were obtained in Ibn Sina company.

### 1- Preparation of [2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole][S]

A mixture of (2.0g, 20mmol.) of thiosemicarbazide and (2.33g, 20mmol.) of anhydrous sodium carbonate was dissolved in 25ml of absolute ethanol 99.9%. To this solution (3.2g, 40mmol.) of carbon disulphide was added.



The resulting mixture was heated under reflux for 7hrs., and the reaction mixture was then allowed to cool down to room temperature. Most of solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in distilled water 20ml, after which it was carefully acidified with cold concentrated hydrochloric acid to give a pale yellow precipitate. The crude product was filtered and washed with cold water, recrystallized from ethanol to give the desired product as yellow needles, with a yield of (1.6g, 67%) and a m.p. of (229-230)<sup>o</sup>C(10).

### **2-Preparation of 2-(2-Hydroxy-benzylidene)amino-5-thiol-1,3,4-thiadiazole [HL].**

A mixture of compound [S] (0.2g, 1mmol.), absolute ethanol (99.9%, 25ml.) and the appropriate salicylaldehyde (0.12g, 1mmol.) in acidic medium was refluxed in a water bath for (4-5)hrs., and the reaction mixture was then allowed to cool at room temperature and the precipitate was filtered, dried and recrystallized from ethanol (50%) to give a yellow crystals, with a yield of (75%) and a m.p. of (241-243)<sup>o</sup>C.

### **3- Preparation of the Fe(II) complex (1)**

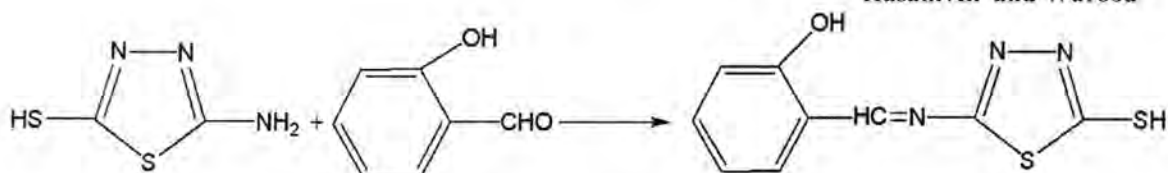
A solution of (0.06g, 0.4mmol.) of dehydrated iron(II) chloride dissolved in(10 ml.) ethanol was added dropwise to a solution of [HL] (0.2g, 0.8mmol.) dissolved in (15ml.) ethanol, the pH of the reaction mixture was adjusted by adding potassium hydroxide in equivalent quantity, and the reaction mixture was allowed to reflux for 2hrs. A dark brown precipitate was formed, which was filtered off, washed several times with absolute ethanol and dried. The yield was (0.17g, 85%) of the title complex, which has a m.p. of (300<sup>o</sup>C)dec.

### **4- Preparation of the Co(II) complex (2) and Ni(II) complex (3)**

A similar method to that mentioned for the preparation of the Fe(II)(1) complex was used to prepare the complexes of [HL] with Co(II) and Ni(II) ions.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The ligand [HL] was obtained in high yield by the condensation reaction using one equivalent of compound [S] and one equivalent of salisaldehyde, where a potentially tridentate new cyclic ligand type N<sub>2</sub>O donor atoms have been synthesised. The ligand contains one labile proton [HL] and by removing this proton an anionic(-1) tridentate system is formed. The ligand was prepared according to the general route shown in the Scheme (1).

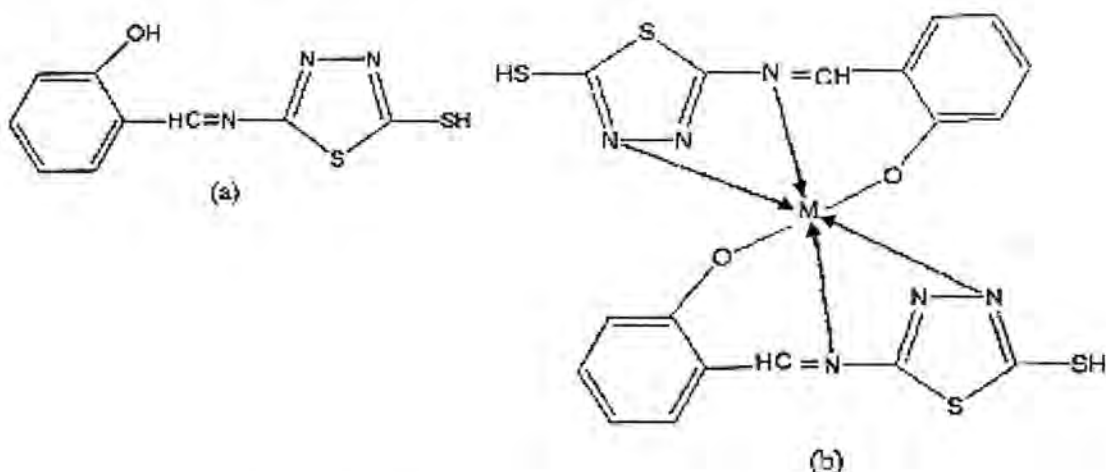


**Scheme (1)**

**General route for the preparation of the ligand [HL]**

All complexes were prepared with similar methods by refluxing the ligand [HL]

(Scheme 2a) with the corresponding metal chloride salt in ethanol, as a solvent, and potassium hydroxide as a base where the pure complexes were formed (Scheme 2b).



**Scheme (2)**

**Chemical structures of the ligand [HL] (a) and the synthesised complexes (b)**

### Infrared spectral data

I.R. spectral data for the ligand [HL] and (1), (2) and (3) complexes are shown in Fig.(1). The important infrared bands for the ligand and the produced complexes with their assignments are listed in Table (1).

The I.R. spectrum for [HL] displayed band at  $(2873)\text{cm}^{-1}$  assigned to the iminic  $\nu(\text{C-H})$  stretching and a broad band at  $(3236)\text{cm}^{-1}$  which can be attributed to  $\nu(\text{OH})$  stretching and the absence of this band in all complexes indicates the deprotonation followed by complexation(11). The I.R. spectra showed a weak band at  $(2360)\text{cm}^{-1}$  for the ligand and all complexes which can be attributed to  $\nu(\text{S-H})$  stretching, while the ligand displayed a band at  $(902)\text{cm}^{-1}$  due to  $(-\text{S-C-S})$ (12)stretching vibration.



On the other hand, the band at  $(1604)\text{cm}^{-1}$  which attributed to the iminic  $\nu(\text{C}=\text{N})$  exocyclic stretching in the spectrum of the free ligand, was shifted to a higher frequency and appeared at  $(1635, 1608 \text{ and } 1608)\text{cm}^{-1}$  for the complexes (1), (2) and (3) respectively, indicating weak coordination of nitrogen of the imine group to the metal atoms(13).

The ligand exhibit significant stretching band at  $(1273)\text{cm}^{-1}$ , this indicated the presence of  $(=\text{N}-\text{N}=\text{C}-)$  cyclic group(10).

The band at  $(1570)\text{cm}^{-1}$  due to the  $\nu(\text{C}=\text{N})$  endocyclic stretching vibration (near the S-H group) and have tautomerism with the (S-H) in the free ligand was shifted to a lower frequency and appeared at  $(1504, 1516 \text{ and } 1539)\text{cm}^{-1}$  for complexes (1), (2) and (3) respectively, assigned to the  $\nu(\text{C}=\text{N})$  stretching of reduced bond order. This can be attributed to delocalisation of the metal electron density to the  $\pi$ -system of the ligand(14,15).

The band at  $(1249)\text{cm}^{-1}$  which is due to the  $\nu(\text{C}-\text{O})$  stretching vibration in the free ligand was shifted to lower frequency and observed at  $(1242, 1203 \text{ and } 1203)\text{cm}^{-1}$  for complexes (1), (2) and (3) respectively, This shift in the  $\nu(\text{C}-\text{O})$  vibration confirms the coordination of the ligand through the oxygen atom to the metal ion(16,17). Finally the complexes exhibited bands at the range  $(486-497)$  and  $(524-547)\text{cm}^{-1}$  which could be assigned to the  $\nu(\text{M}-\text{N})$  and  $\nu(\text{M}-\text{O})$  stretching vibration modes respectively(13). Due to the larger dipole moment change for  $\nu(\text{M}-\text{O})$  compared with  $\nu(\text{M}-\text{N})$ , the  $\nu(\text{M}-\text{O})$  band usually appears at higher frequency than the  $\nu(\text{M}-\text{N})$  band(18).

**Table -1: I.R. spectral data of the synthesised compounds**

Compound	$\nu(\text{C}=\text{N})$ Exocyclic	$\nu(\text{C}=\text{N})$ Endocyclic	$\nu(\text{O}-\text{H})$	$\nu(\text{N}-\text{H})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$	$\nu(\text{S}-\text{H})$	$\nu(\text{M}-\text{O})$	$\nu(\text{M}-\text{N})$
[HL]	1604	1570	3236	3479	1249	2360	-	-
[Fe(II)(L) <sub>2</sub> ]	1635	1504	-	3414	1242	2360	540	478
[Co(II)(L) <sub>2</sub> ]	1608	1516	-	3479	1203	2360	547	486
[Ni(II)(L) <sub>2</sub> ]	1608	1539	-	3414	1203	2360	524	497

### (U.V.-Vis.) spectra

(U.V.-Vis.) spectra and molar conductivity measurement for complexes (1), (2) and (3) are shown in Table (2), and the U.V.-Vis. spectra are shown in Fig.(2). The U.V.-Vis. spectrum of complex (1), exhibited a high intensity peak at  $(314)\text{nm}$  related to the intraligand  $(n \rightarrow \pi^*)$  transition, and peak at  $(692)\text{nm}$  related to  $(^5\text{T}_{2g} \rightarrow ^5\text{E}_g)$  transition, suggesting an octahedral geometry around the iron(II) ion(19,20). The U.V.-Vis. spectrum of complex (2), exhibited a peak at  $(326)\text{nm}$  due to the  $(n \rightarrow \pi^*)$  transition and peak at  $(351)\text{nm}$  which refer to the (C.T.) transition and a peak at  $(412)\text{nm}$  due to  $(^4\text{T}_{1g}^{(f)} \rightarrow ^4\text{T}_{1g}^{(p)})$  transition, suggesting an octahedral geometry around the cobalt(II) ion(19,21). The U.V.-Vis. spectrum of

complex (3) exhibited peaks at (238) and (345) nm due to the ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) and (C.T.) transitions, while the peak at (680)nm may due to the ( $^3A_{2g} \rightarrow ^3T_{1g}^{(f)}$ ) transition, suggesting an octahedral geometry around the nickel(II) ion(19,21).

The molar conductance of the complexes in (DMF) lie in the (7.48-51) S.cm<sup>2</sup>.mole<sup>-1</sup> range, indicating their non-electrolytic behavior(22).

**Table -2: (U.V.-Vis.) spectral data and molar conductivity in DMF solution.**

Compound	$\lambda$	Assignments	$\Lambda_m$ S.cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup>	Ratio	Suggested structure
[Fe(II)(L) <sub>2</sub> ]	319 692	$n \rightarrow \pi^*$ $^5T_{2g} \rightarrow ^5E_g$	51	neutral	octahedral
[Co(II)(L) <sub>2</sub> ]	326 351 412	$n \rightarrow \pi^*$ C.T. $^4T_{1g}^{(F)} \rightarrow ^4T_{1g}^{(P)}$	14.28	neutral	octahedral
[Ni(II)(L) <sub>2</sub> ]	238 345 680	$\pi \rightarrow \pi^*$ C.T. $^3A_{2g} \rightarrow ^3T_{1g}^{(F)}$	7.48	neutral	octahedral

## BIOLOGICAL SCREENING: THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST

In our study the synthesised compounds have been screened for their antibacterial activity against the Bacillus(G+) and Pseudomonase(G-) strains by the agar diffusion technique(23). Each of the compounds was dissolved in DMF to give a final concentration of (0.001)mg/ml, and from the data shown in Table (3), and [Figs.(3 and 4)], the Fe(II) complex exhibited a biological activity against the Bacillus(G+) strain [inhibition zone = 1.3cm] only, while the other complexes have no biological activity against the two types of bacteria [inhibition zone = zero].

**Table -3: The biological activity of the synthesised complexes**

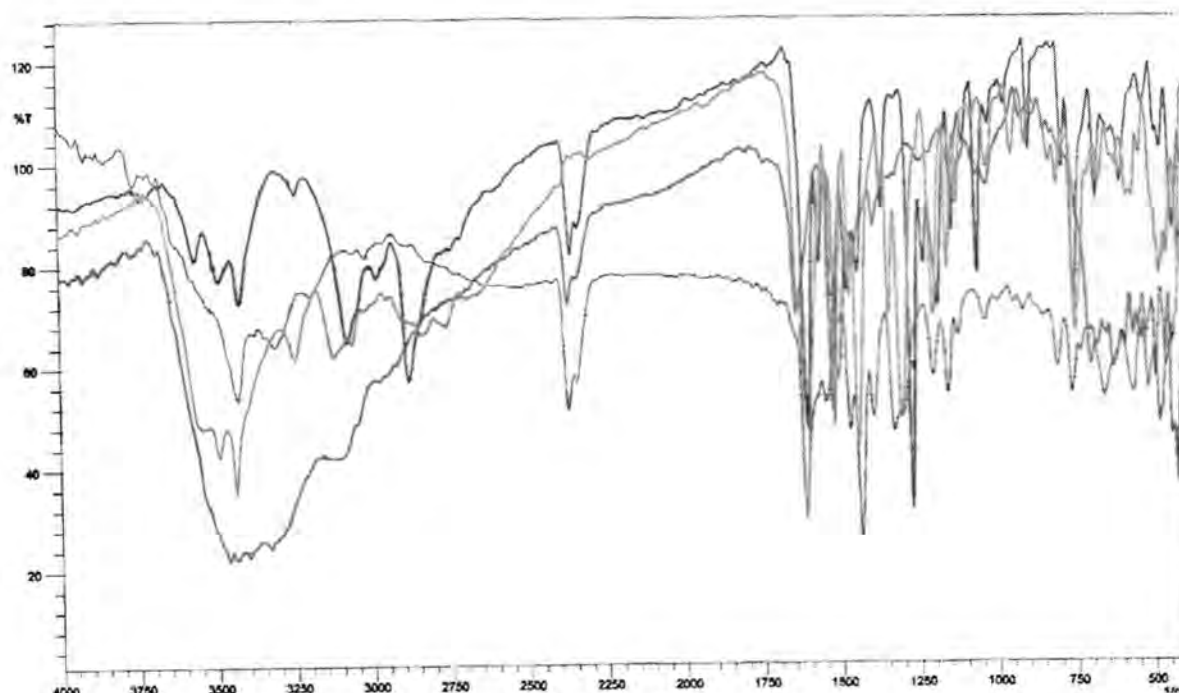
compound	Bacillus (G+)	Pseudomonase (G-)
[Fe(II)(L) <sub>2</sub> ]	+	-
[Co(II)(L) <sub>2</sub> ]	-	-
[Ni(II)(L) <sub>2</sub> ]	-	-

Table (4) represented below shows the chloride content, melting point, atomic absorption and some other physical properties for the ligand and the synthesised complexes.



**Table -4: Results of elemental analysis and physical properties for the ligand and the synthesised complexes**

compound	M.wt	Yield %	Color	m.p.	Metal Found, (calculate)	Cl <sup>-</sup> content
[HL]	237	75	Pale yellow	241-243	-	-
[Fe(II)(L) <sub>2</sub> ]	527.85	85	Dark brown	300 dec.	10.2 (10.5)	Nil
[Co(II)(L) <sub>2</sub> ]	530.93	68	Green	287 dec.	10.9 (11.09)	Nil
[Ni(II)(L) <sub>2</sub> ]	530.69	50	Yellow orange	300 dec.	10.8 (11.05)	Nil



**Fig. -1: The I.R Spectra of :**  
**Ligand [HL]**  
**[Fe(II)(L)<sub>2</sub>] complex**  
**[Co(II)(L)<sub>2</sub>] complex**  
**[Ni(II)(L)<sub>2</sub>] complex**



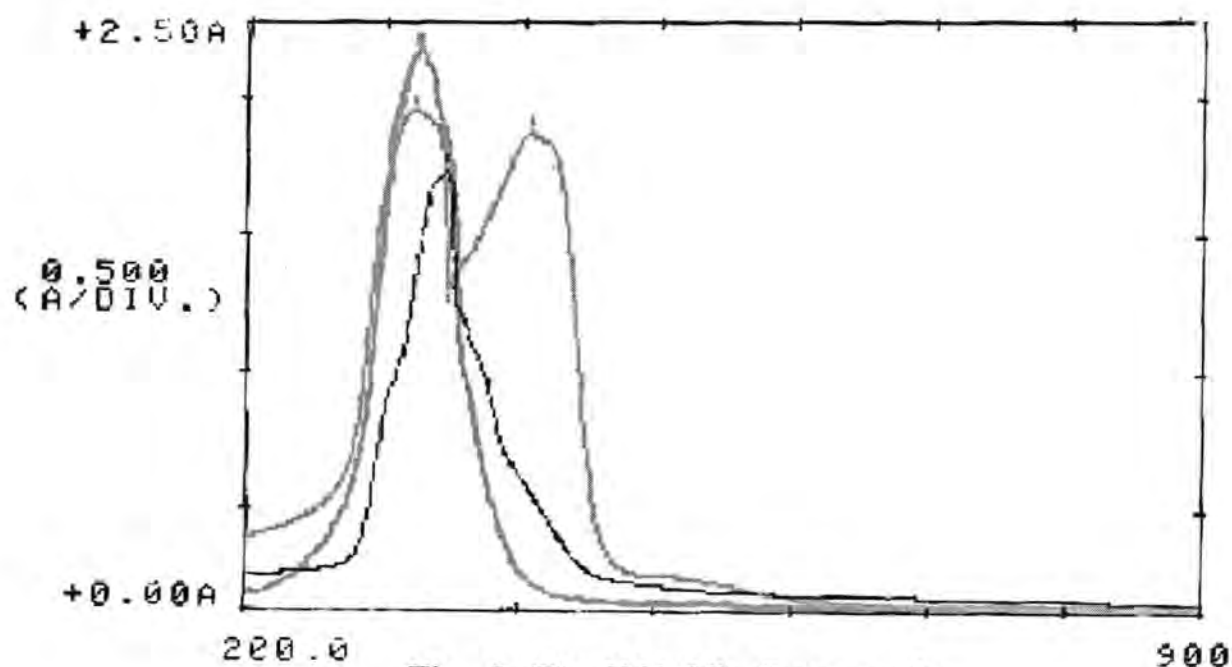
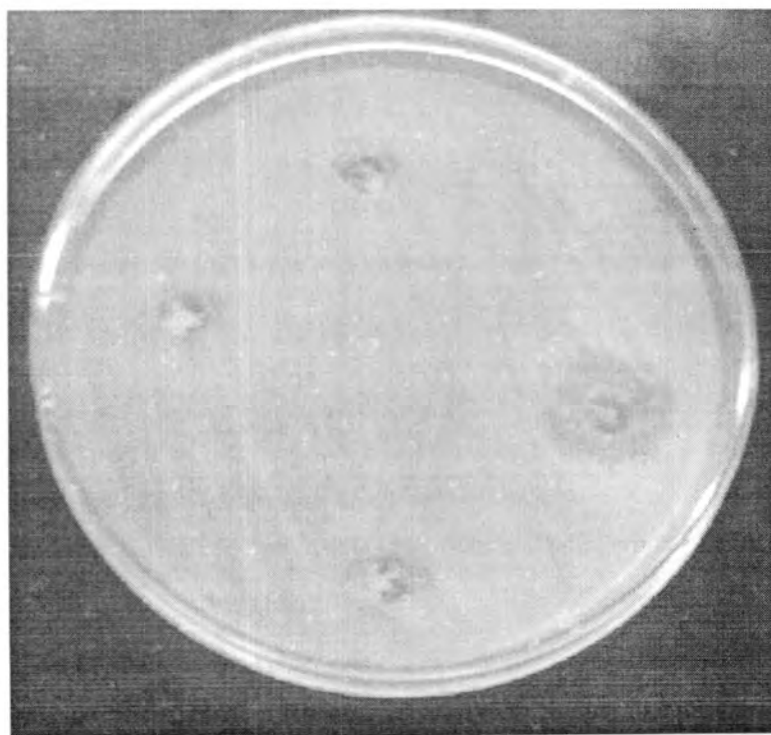
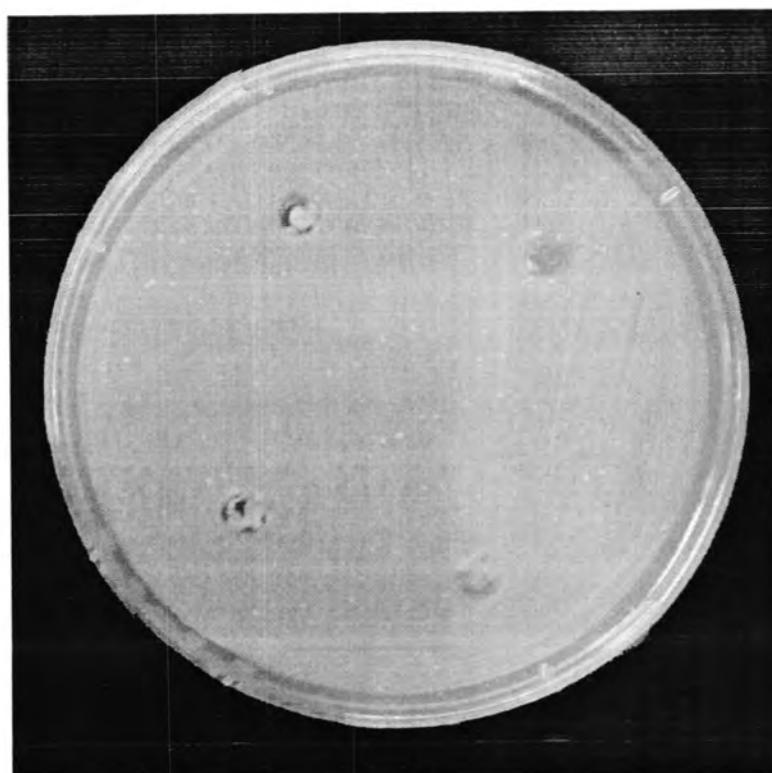


Fig. -2: The U.V.-Vis. Spectra of :  
[Fe(II)(L)<sub>2</sub>] complex  
[Co(II)(L)<sub>2</sub>] complex  
[Ni(II)(L)<sub>2</sub>] complex



**Fig. -3: Effect of the complexes towards the**



**Fig. -4: Effect of the complexes towards the**

## REFERENCES

- 1- Guha G. and Am J.. Chem. Soc., **44**, 1510 (1922).
- 2- Gupya A.K.S. and Gagela K. J.Ind. Chem. Soc., 690-691 (1981).
- 3- Esaszar J., Morvay J. and Herczeg O., J.Ind. Chem. Soc., **107**, 7153 (1987).
- 4- Sengupta P.K., Ray M.R. and Charavorti S.S, Indian J.Chem. **16**, 231 (1978).
- 5- Singh S., Yadav L.D. and Singh H., Bokin Bombai **8**, 385 (1980), J.Ind. Chem. Soc.**94**, 103250 (1981).
- 6- Eweiss N.F. and Bahajaj A.A., J.Heterocyclic Chem. **24**, 1173 (1987).
- 7- Uher M. and Berkers D., Chem. **53**, 215 (1999).
- 8- Zamani K., Faghihi K., Pol.J.Pharmacol. **55** :1111-1117 (2003).
- 9- Ali H. Samir, Hasan A. Hasan, Manhel Reemon Aziz, Journal of College of Education **1**: 292-406 (2010).
- 10- Nadia A.S., PhD, thesis, college of science, Al-Nahrain University, Iraq, (2005).
- 11- Kumar D.S., Sengotturelan N., Polyhydron, **23**, 665 (2004).
- 12- Socrates G. "Infrared Characterstic Group Frequencies" Wiley, Newyork, (1980).
- 13- El-Sonbati .A.Z., El-bindary. A.A., Al-Sarawy. A.A., Spectrochim Acta Part A **58**, 2771. (2002).
- 14- Al-Jeboori. M.J., Al-Dujaili. A.H., Al-Janabi. A.E. Transit Met Chem **34**, 10 (2009).
- 15- Livingston S.E., Mayfield J.H., Moorse D.S. Aust J Chem **28**, 253(1975).

- 16- Tumer M., Celik C., Koksall H., Transit Met. Chem., **24**, 525, (1999).
- 17- Tumer M., Koksall H., Transit Met. Chem., **24**, 13, (1999).
- 18- Nakamoto K., Inorg.Chem, **10**, 798 (1971).
- 19- Lever A.B.P., Inorganic electronic spectroscopy, 2nd edn. Elsevier, New York (1984).
- 20- Singh N.B., Singh J., Pathak K.K., Transit Met.Chem, **5**, 60, (1980).
- 21- Barboin M., Cimpoesou M., Guran C., M.B.D, Romania, **3**, 227, (1996).
- 22- Geary W.J., Coord.Rev., **7**, 81, (1971).
- 23- Shank R.C., Duguid J.P., Marmion B.P., Swain R.A., Medical "microbiology the practical of medical microbiology" 12<sup>th</sup> ed., 2, (1975).

## Influence of Thickness on Dispersion Parameters of Silver Nitrate Doped Poly (Vinyl Alcohol)

Saad Farhan Oboudi\*, Sami Salman Chiad\*\* and Nadir Fadhil Habubi\*\*

\*Baghdad University-College of Science-Physics Department

\*\*Al-Mustansiriyah University-College of Education-Physics Department

Submitted : 10/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

درست الخواص البصرية لأغشية بولي فينيل الكحول المشوبة بنترات الفضة  $\text{AgNO}_3$  باستخدام طريقة الصب. لقد كان سمك الأغشية المحضرة  $\mu\text{m}$  (10, 20, 30, 40). سجل طيف الامتصاصية لغرض دراسة تأثير زيادة السمك على بعض الثوابت البصرية. أظهرت القياسات أن كل من طيف الامتصاصية ومعامل الامتصاص يزداد بزيادة سمك الغشاء. تم حساب طاقات المتذبذب المفردة وقد وجد بان قيمتها تقل من  $4.67 \text{ eV}$  الى  $3.9 \text{ eV}$  بزيادة سمك الغشاء من  $10 \mu\text{m}$  الى  $40 \mu\text{m}$ . أظهرت القياسات أن فجوة الطاقة البصرية تقل من  $2.33 \text{ eV}$  الى  $1.95 \text{ eV}$ .

### ABSTRACT

Poly (vinyl alcohol) doped  $\text{AgNO}_3$  films with different thicknesses were prepared by casting method. The thickness of the prepared films were 10, 20, 30 and  $40 \mu\text{m}$ . Absorption spectra have been recorded in order to study the effect of increasing thickness on some optical constants. This study reveals that the absorbance and absorption coefficient have affect by increasing the film thickness.

The single-oscillator parameters were determined and its value decreases from  $4.67 \text{ eV}$  to  $3.9 \text{ eV}$  by increasing thickness from 10 to  $40 \mu\text{m}$ . The optical energy gap decreased from  $2.33 \text{ eV}$  to  $1.95 \text{ eV}$ .

### INTRODUCTION

Polymeric materials have attracted scientific and technological researchers because of their widespread applications. This is mainly due to the light weight, good mechanical strength, and optical properties, which make them multifunctional materials. Moreover, PVA is traditionally considered as an excellent host material for composites [1-5]. Recently, polymer blends and composites have been subjects of interest for both theoretical and experimental studies because of certain physical and chemical properties needed for specific applications that may be obtained by blending [6]. It has been observed that polymer blending has a significant effect on the physical properties, including optical, thermal,



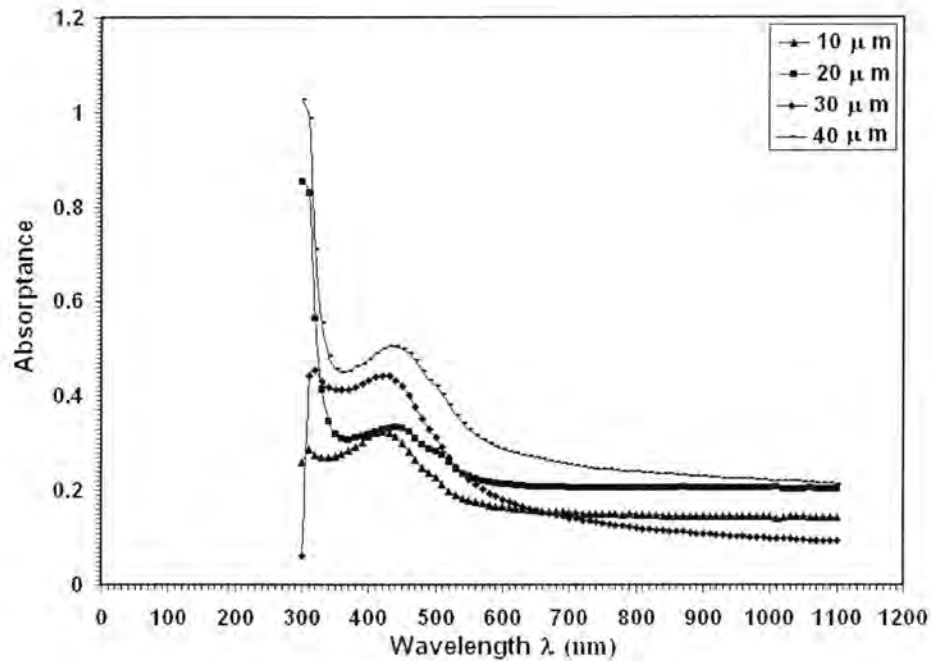
and electrical properties. These changes in physical properties depend on the chemical nature of the guest material and the way in which it interacts with the host polymer. The doping of transition metals to polymeric networks is of considerable interest for scientific and technological purposes [7-9]. The nature of interaction between metal ions and polymer molecules is usually approached by different techniques. In fact, PVA:Ag is one of many compounds used in our laboratory to investigate the effect of various dopants on the physical properties. Hence, in this work, it is planned to study the effect of thickness on some characteristics, including the energy gap and band tail of Ag-doped poly (vinyl alcohol) (PVA) films.

## **MATERIALS AND METHODS**

Poly (vinyl alcohol) with molecular weight 10000 g/mol, supplied by (BDH chemicals, England) with high purity were used as basic polymeric materials in this work., the aqueous solution of this polymer were prepared by dissolving PVA with different weight in a mixed of deionized water and ethanol and thoroughly stirred using a magnetic stirrer for about one hour at room temperature until PVA was completely soluble.  $\text{AgNO}_3$  solution was prepared by dissolving the salt in redistilled water. 5% concentrated of  $\text{AgNO}_3$  were mixed with PVA matrix. The solution was poured into flat glass plate dishes. Homogenous films were obtained after drying in an oven for 24 hours at 313K .The thickness of the produced films was in the range of 10, 20, 30 and 40  $\mu\text{m}$ . The absorbance and transmittance measurements were carried out using a Shimadzu UV/VIS-160A double bean spectrophotometer in the wavelength range (300-1100) nm.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The absorbance spectra of the prepared films are shown in figures (1). Where we can use these spectra to determine optical band gap and optical constants of the films, we can see from this figure that the absorption edge has been slightly changed with the increasing of the film thickness.

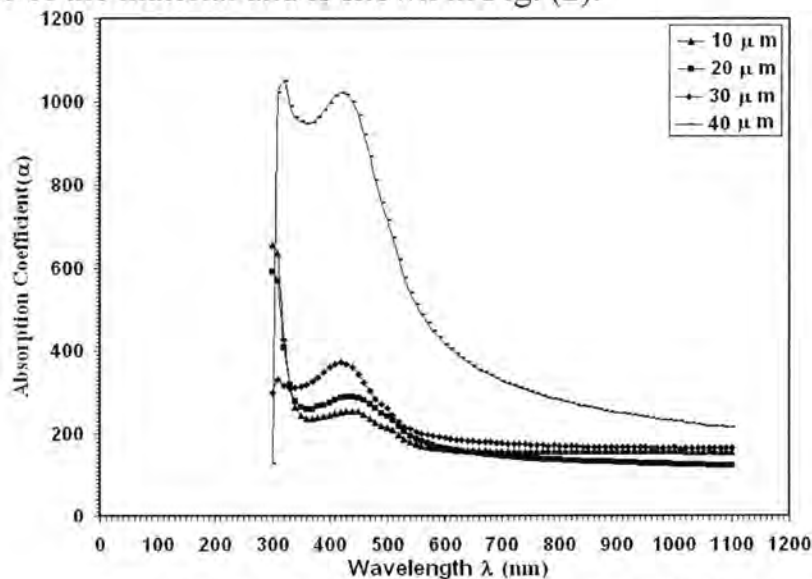


**Fig. -1: Absorbance versus wavelength for the PVA:Ag films.**

The investigation of the spectrum of the absorption coefficient near the fundamental edge was calculated using the following relation[10]:

$$\alpha = \frac{2.303A}{d} \dots\dots\dots(1)$$

Which provides us with valuable information about the energy band structure of the material and is shown in Fig. (2).



**Fig. -2: Absorption coefficient versus wavelength.**

$E_g$  values are given in Table 1. It is seen that  $E_g$  values change with the increasing of film thickness. The width of the localized states available in the optical band gap of the PVA:Ag films affects the optical band gap structure and optical transitions and it is called as Urbach tail, which is related directly to a similar exponential tail for the density of states of either one of the two band edges [10]. The Urbach tail of the films can be determined by the following relation [11]:

$$\alpha = \alpha_0 \exp (E/E_u) \dots\dots\dots (1)$$

Where  $E$  is the photon energy,  $\alpha_0$  is constant and  $E_u$  is the Urbach energy which refers the width of the exponential absorption edge. The obtained  $E_u$  values are given in Table 1. Urbach energy values of the films increase with increasing Ag content. The  $E_u$  values change inversely with optical band gaps of the films. The decrease in  $E_g$  is attributed to the creation of levels at the energy gap. This creation leads to a redistribution of states, from band to tail, thus allows for a greater number of possible bands to tail and tail to tail transitions [12]. As a result, both a decrease in the optical gap and a broadening of the Urbach tail occurred.

The refractive index is a significant factor in optical communication and in designing devices for spectral dispersion and the refractive index dispersion data below the interband absorption edge are important for technological applications of the optical materials, because, the dispersion energy is related to the optical transition strengths and optical conductivity. Thus, in order to analyze the refractive index dispersion of the films, we used the single-oscillator model, developed by DiDomenico and Wemple [13]. the refractive index is expressed as follows [13]:

$$n^2 = 1 + [E_d E_o / E_o^2 - (h\nu)^2] \dots\dots\dots (2)$$

Where  $n$  is the refractive index, and  $E_o$  is the single-oscillator energy for electronic transitions and  $E_d$  is the dispersion energy which is a measure of the strength of interband optical transitions. This model describes the dielectric response for transitions below the optical gap. Plotting  $(n^2 - 1)^{-1}$  vs.  $(h\nu)^2$  allows us to determine the oscillator parameters.  $E_o$  and  $E_d$  values were calculated from the slope and intercept on the vertical axis of  $(n^2 - 1)^{-1}$  vs.  $(h\nu)^2$  plot, as shown in Fig. 3. The obtained  $E_o$  and  $E_d$  values suggest that the single-oscillator model is valid for PVA:Ag films. The  $E_o$  values were found to decreases with the increasing of the film thickness.

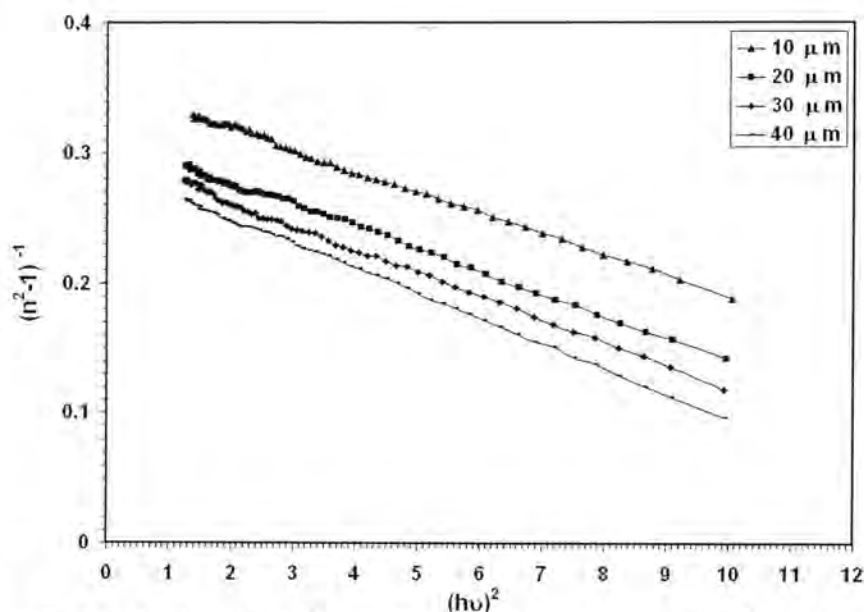


Fig. -3: Variation in  $(n^2 - 1)^{-1}$  as a function of  $(h\nu)^2$  of PVA:Ag films

The  $(n^2 - 1)^{-1}$  vs.  $\lambda^{-2}$  was plotted to obtain the high frequency dielectric constant value of PVA:Ag films. The single-oscillator parameters  $E_0$  and  $E_d$  is related to the imaginary part of dielectric constant. The  $\epsilon_i$  parameter includes the desired response information about electronic and optical properties of the optical material. Thus, the fact that the moments of the  $\epsilon_i$  spectrum are determined is very important for the optical applications of the optical material studied.

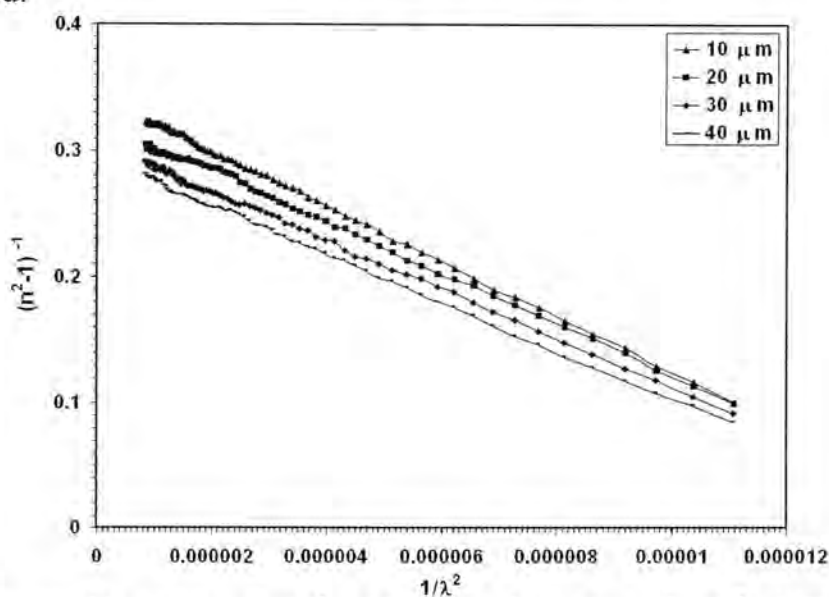


Fig. -4: Variation in  $(n^2 - 1)^{-1}$  as a function of  $(\lambda)^{-2}$  of PVA:Ag films

The  $M_{-1}$  and  $M_{-3}$  moments of the optical spectrum can be obtained from the following relations [14]:

$$E_o^2 = M_{-1} / M_{-3} \quad , \quad E_d^2 = M_{-1}^3 / M_{-3} \quad \dots\dots\dots (3)$$

The values obtained for the dispersion parameters  $E_o$ ,  $E_d$ ,  $M_{-1}$  and  $M_{-3}$  are listed in Table (1). For the definition of the dependence of the refractive index  $n$  on the light wavelength ( $\lambda$ ), the single-term Sellmeier relation can be used [14]:

$$n^2(\lambda) - 1 = S_o \lambda_o^2 / 1 - (\lambda_o/\lambda)^2 \quad \dots\dots\dots (4)$$

Where  $\lambda_o$  is the average oscillator position and  $S_o$  is the average oscillator strength. The parameters  $S_o$  and  $\lambda_o$  in Eq. (4) can be obtained experimentally by plotting  $(n^2 - 1)^{-1}$  vs.  $\lambda^{-2}$ . From Figure 4, the slope of the resulting straight line gives  $1/S_o$ , and the infinite-wavelength intercept gives  $1/S_o \lambda_o^2$ .

**Table -1 : The Optical Parameters**

Thickness $\mu\text{m}$	$E_o$ (eV)	$E_d$ (eV)	$E_g$ (eV)	$n(o)$	$\epsilon_\infty$	$S_o \times 10^{13}$ $\text{m}^{-2}$	$\lambda_{nm}$
10	4.67	13.36	2.33	1.96	3.84	4.5	225
20	4.27	13.77	2.30	2.05	4.20	5.0	250
30	4.08	13.60	2.04	2.08	4.32	5.1	251
40	3.9	13.47	1.95	2.11	4.45	5.2	253

### We can conclude

The single-oscillator parameters were determined. The change in dispersion was investigated with the increasing of the film thickness. The optical energy gap decreased from 2.33 to 1.95 eV. Analysis revealed that the type of transition is allowed direct one.

### REFERENCES

- [1] Duan B., Yuan X., Zhu Y., Zhang Y., Li X, Zhang Y. and Yao K., A Nanofibrous Composite Membrane of PLGA–Chitosan/ PVA Prepared by Electrospinning, European Polymer Journal, 42: 2013–2022 (2006).
- [2] Zidan H. M., Electron Spin Resonance and Ultraviolet Spectral Analysis of UV-Irradiated PVA Films Filled with  $\text{MnCl}_2$  and  $\text{CrF}_3$ , J. Appl Polym Sci., 88: 104-111 (2003).
- [3] Abd El-Kader K. M. and Orabi A. S., Spectroscopic behavior of poly(vinyl alcohol) films with different molecular weights, Polymer Testing, 21, 591-595, (2002).



- [4] Lobo B., Ranganath M. R., Ravi Chandran T.S., Venugopal R. G., Ravindrachary V. and Gopal S., Iodine-doped polyvinylalcohol using positron annihilation spectroscopy, *Phys Rev B*, 59: 13693-13698 (1999).
- [5] Andelaziz M. and Ghannam M. M., Influence of titanium chloride addition on the optical and dielectric properties of PVA films, *Physica B. Condensed Matter*, 405 (3): 958-964 (2010).
- [6] Bhajantri R. F., Ravindrachary V., Harisha A., Crasta V., Nayak S. P. and Poojary B., Microstructural studies on BaCl<sub>2</sub> doped poly(vinyl alcohol), *Polymer*, Polymer 47: 3591-3598 (2006).
- [7] S. Mahendia, A.K. Tomar and Sh. Kumar, Nano-Ag doping induced changes in optical and electrical behaviour of PVA films, *Science and Engineering: B*, 176 ( 7): 530-534 (2011).
- [8] Lin C. W., Thangamuthu R. and Yang C. J., Proton-conducting membranes with high selectivity from phosphotungstic acid-doped poly(vinyl alcohol) for DMFC applications, *Journal of Membrane Science*, 253 (1-2): 23-31 (2005).
- [9] Tawansi A., El- Khodary A. and. Abdeinaby M. M, A study of the physical properties of FeCl<sub>3</sub> filled PVA, *Current Applied Physics*, 5(6): 572-578 (2005).
- [10] Stephen K., Leary O. and P. K. Lim, On determining the optical gap associated with an amorphous semiconductor: A generalization of the Tauc model, *Solid State Com.*, (104)1 17-21 (1997).
- [11] Urbach F., The Long-Wavelength Edge of Photographic Sensitivity and of the Electronic Absorption of Solids, *Phys. Rev.* 92: 1324 (1953).
- [12] OLeary S. K., Zukotynski S. and Perz J. M., Optical absorption in amorphous semiconductors, *J. Non-Cryst. Solids*, 210: 249 (1997).
- [13] DiDomenico M. and Wemple S. H., Theory of the Elasto-Optic Effect in Nonmetallic Crystals,, *J. Appl. Phys.* 40: 720 (1969).
- [14] Wemple S. H. and DiDomenico M., Optical Dispersion and the Structure of Solids, *Phys. Rev. Lett.* 23: 1156 (1969).

## Induced Neutron Cross Sections Evaluation on the Statistical Simulation in Cd-108

\*Iman Tarik AL-Alawy, \*\*Radhi H.AL-Taweel and \*\*\*Dheyaa A.Nassrullah

\*Department of Physics, College of Sciences, AL-mustansyriyah University.

\*\*Department of Physics, College of Education, AL-mustansyriyah University.

\*\*\*Ministry of Sciences and Technology, Department of Physics.

Submitted : 03/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

من البيانات التجريبية للوكالة الدولية للطاقة الذرية لنظير الكاديوم Cd-108. تم اقتراح طريقة جديدة لأيجاد كثيرة حدود للمقطع العرضي لمدى الطاقات المسموح بها، يبدأ من طاقة العتبة لكل تفاعل والمستحثة بواسطة النيوترونات لنظير الكاديوم Cd-108 لعنصر هدف سميك. حيث تم حساب كثيرة الحدود المتعامدة بالاعتماد على طريقة المربعات الصغرى لتقريب المنحنيات والتي تمثل المنحني المقترح، باستخدام ثلاثة أنواع من الخطأ (خطأ المعدل الموزون والخطأ المطلق والخطأ الكلي). حيث تم تحديد القيم المختارة للوزن المعدل للمقطع العرضي الخاص لكل قيمة للاتحاد.

### ABSTRACT

From experimental data of the International Atomic Energy Agency(IAEA) for isotope cadmium-108. A new way had been proposed to find a polynomial of the cross section in the energy range starting from threshold energy for each reaction, and induced in the Cd-108 thick target element. least squares orthogonal polynomial has been calculated depending on least squares curve fitting that is represented adopted curve. Using three kinds of weighted average (the weight mean error, the absolute error, and the sum error). An estimate of the adopted values the weighted average cross sections are also given.

### INTRODUCTION

Cross sections of induced neutron reactions are necessary in applications, e. g., activation detectors (also known as radio chemical detectors) used to prob energy components of a neutron fluence. A great deal of effort has been devoted to the development of techniques to measure cross sections neutron spectra and fluences in diverse areas of research [1-10]. In all the established methods used to measure the neutron spectra based on the threshold reaction

(n,2n), (n,abs), (n.el), (n,g), (n,tot), (n,a), (n,d), (n,he3), (n,n+a), (n,inl), (n,n+p), (n,

$n+d$ ),  $(n,p)$ ,  $(n,n+t)$  and  $(n,t)$  reactions for Cd-108 is the application of threshold detectors. Table (1) describe the Q-values and threshold energies for these reactions. In all of these applications the energy dependent reaction cross sections and the spectrum weighted integral cross sections , are of basic importance.

The goal of this work is to evaluate statistically the existing experimental neutron cross sections data available in Atomic Energy Agency (IAEA) Like EXFOR and ENDF Libraries for Cd-108 in the energy range starting from threshold energy. Considering in this review most known existing data in the international Atomic Energy Agency (IAEA). The compilation and recommendation of the considered cross sections have been made in two groups. The first group, is to justify the availability of cross section data which have been considered and reviewed in the EXFOR library by different authors [11-14], the second group is the cross section data which have been evaluated in the ENDF/B-VII library.

The use of computerized statistical fitting procedure of the final results is made in simple principal features of this study .The treatment of the experimental data used as input for the analysis , and the method used to analyze the data and their related uncertainties of this work have been placed on the statistical fitting of the experimental data by mean of a weighted Least-squares orthogonal polynomial fitting yielding fitted excitation curves for adopted cross section values together with an estimate of their point-wise. This method treat the uncertainties attached to the data , whether their origin is systematic or random , in a purely statistical way. The data , and specifically the uncertainties assigned to the data, are not always specified by the authors as being either systematic or statistical , at best one single error is usually given . Thus, the results given in this work ,viewed the considerations of the uncertainties attached to the recommended adopted values.

## MATERIALS AND METHODS

All collected data sets from EXFOR library were classified according to measurement type , into the following catigores:

- a) The original cross sectionmeaserment values have been used in this work. These unmodified data were used for the inout in the program.
- b) The error on the cross section data plays an essential part in assigning the statistical weight to each data input point by the fitting program.
- c) The numerical data of these experiments were not available in tabular form, and because of the widely differing modes of error analysis, it has not been possible to separate systematic from statistical errors.
- d) Thus, the overall errors assigned by the experimenters have been used as input in the program.

The effect of error which stemmed from the uncertainties of the standards used in the initial normalization could not be taken into account in all cases because the errors originally have been given to the measured data.

- e) The sets of experimental cross sections data collected for different authors with different energy intervals. These data are rearranged according to the energy interval 0.01 MeV.
- f) The orthogonal polynomial fitting for the energy interval 0.01 MeV to the corresponding cross sections with their errors is programmed using matlab 7.0
- g) The interpolation have been calculated to obtain the adopted cross section data were weighted according to least squares of the absolute error, the weight mean error, and the sum error as shown in table (2) and (3) for EXFOR and ENDF library respectively.

### Description of the considered data

#### (1) Data from EXFOR Library

A brief description of each individually considered data set is given below for Cd-108 for each reaction for the EXFOR Library:

##### (a) $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$ reaction

The sets of measured data for the cross sections of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$  reaction reported by Filatenkov A.A. and Chuaev S.V.(2001)[11] have been plotted, interpolated and recalculated in steps of 0.01 MeV. Starting from minimum induced neutron energy shown in table (2) the measured data and the calculated adopted cross sections result are shown in figure (1).

##### (b) $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,abs)$ reaction

The cross sections data published by Razbudej (1977) [12a] for this reaction have been plotted, interpolated and recalculated in steps of 0.01 MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table(2). Of the incident neutron energy in order to obtain the adopted cross sections of this reaction. The results of adopted cross sections and the experimental results for the authors mentioned above are shown in figure (1).

##### (c) $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,el)^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$ reaction

The measured data for the cross sections of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,el)^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$  reaction, for this reactions on  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$  by neutron bombardment reported by Popov A.B. and Samosvat G.S.(1985)[13] have been plotted, interpolated, and recalculated in steps of 0.01 MeV starting from minimum induced



neutron energy shown in table (2). These results with the calculated adopted cross sections are plotted as a function of neutron energy as shown in figure (1).

**(d)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\gamma)^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$  reaction**

The measured data for the cross sections of the  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\gamma)^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$  reaction for the  $\gamma$ - Gamma emission reactions on  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$  by neutron bombardment reported by Musgrove L.de A. R.(1978)[14] have been plotted , interpolated, and recalculated in fine steps of 0.01 MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table(2). In order to calculated adopted cross sections are plotted as a function of neutron energy as shown in figure (1).

**(e)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,tot)$  reaction**

The measured data for the cross sections of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,tot)$  , reaction are reported by Razbudej V.F. et al.(1977)[12b]. These data have been plotted interpolated and recalculated in steps of 0.01MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table(2) .The measured data and the calculated adopted cross sections results are drawn as a function of incident neutron energy as shown in figure (1).

**Table -1: Q-Value and threshold energy of Cd-108 target element for reaction**

Target	Reaction	Q-Value(MeV)	Threshold Ene. (MeV)
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$	-10.3388	10.43547
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,abs)$	-	-
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,el)^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$	0.0	0.0
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\gamma)^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$	7.32742	0.0
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,tot)$	-	-
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\alpha)^{105}_{46}\text{Pd}_{59}$	4.80691	0.0
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,d)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$	-5.91498	5.97029
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,he3)^{106}_{46}\text{Pd}_{60}$	-6.20975	6.26781
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,n+\alpha)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$	-2.28719	2.30858
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,inl)$	-	-
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,n+p)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$	-8.13955	8.21566
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,n+d)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$	-15.45071	15.59517
	$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,p)^{108}_{47}\text{Ag}_{61}$	-0.86814	0.87626



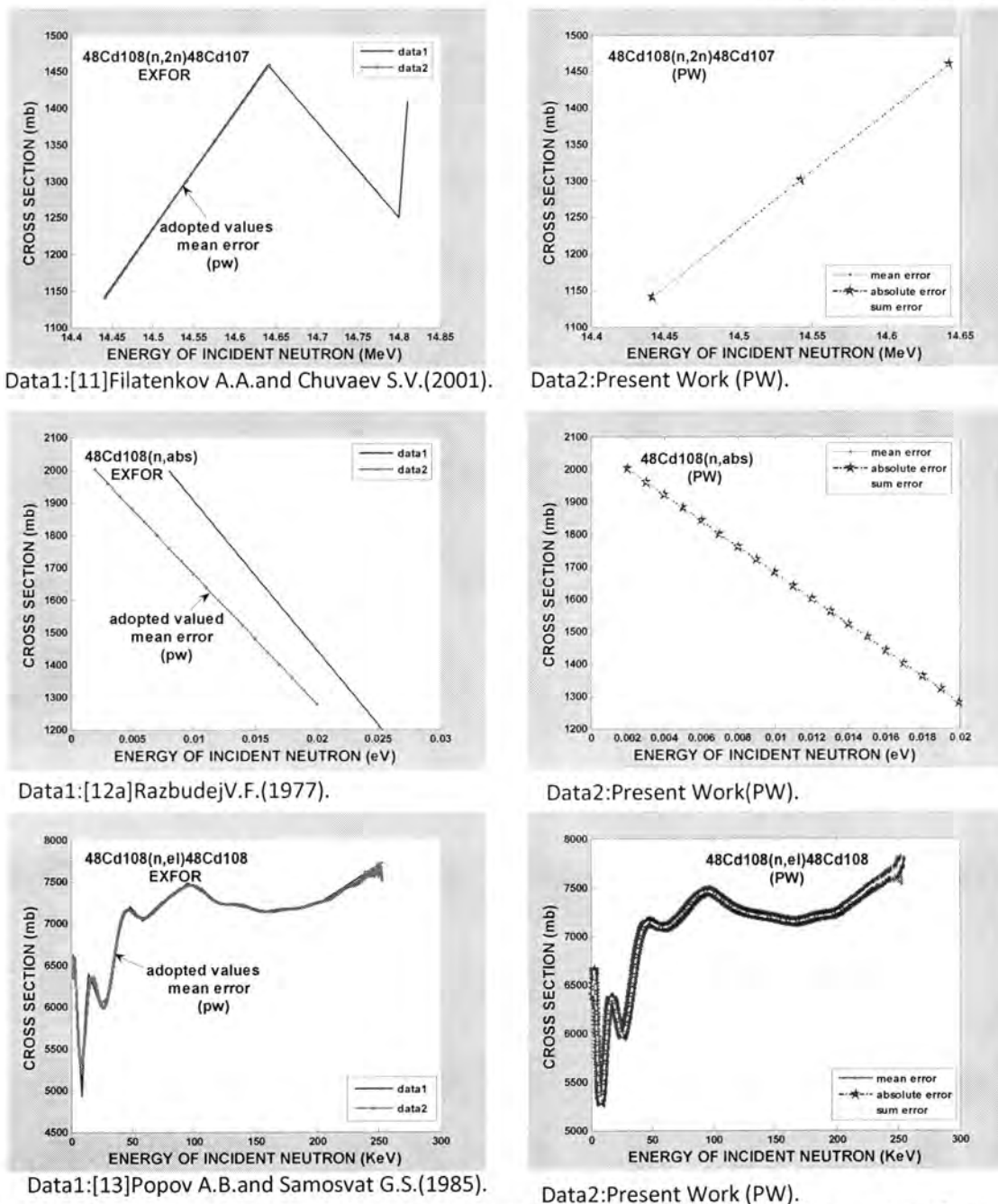
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+t)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$	-17.1341	17.2943
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, t)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$	-9.19347	9.27943

**Table-2: Fitting Parameters according to the weighted Least- Squares Polynomial based on the EXFOR Library.**

Reaction	$E_n$ (min) MeV	$E_n$ (max) MeV	n	k	Remark
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, 2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$	14.442	14.642	3	1 1 1	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, abs)$	1E-8	1E-7	19	1 1 1	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, el)^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$	0.001	0.252	25	24 27 24	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \gamma)^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$	0.003	0.174	1714	48 20 20	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, tot)$	8E-8	3E-6	3619	20 68 63	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.

**n-Total number of input data point**

**k-Degree of fitting**



**Fig-1:**The adopted cross sections of (n,2n),(n,abs),(n,el),(n,g)and (n,tot) reactions for Cd – 108 as calculated by the present work according to the weighted Least-Squares polynomial on the EXFOR Library.

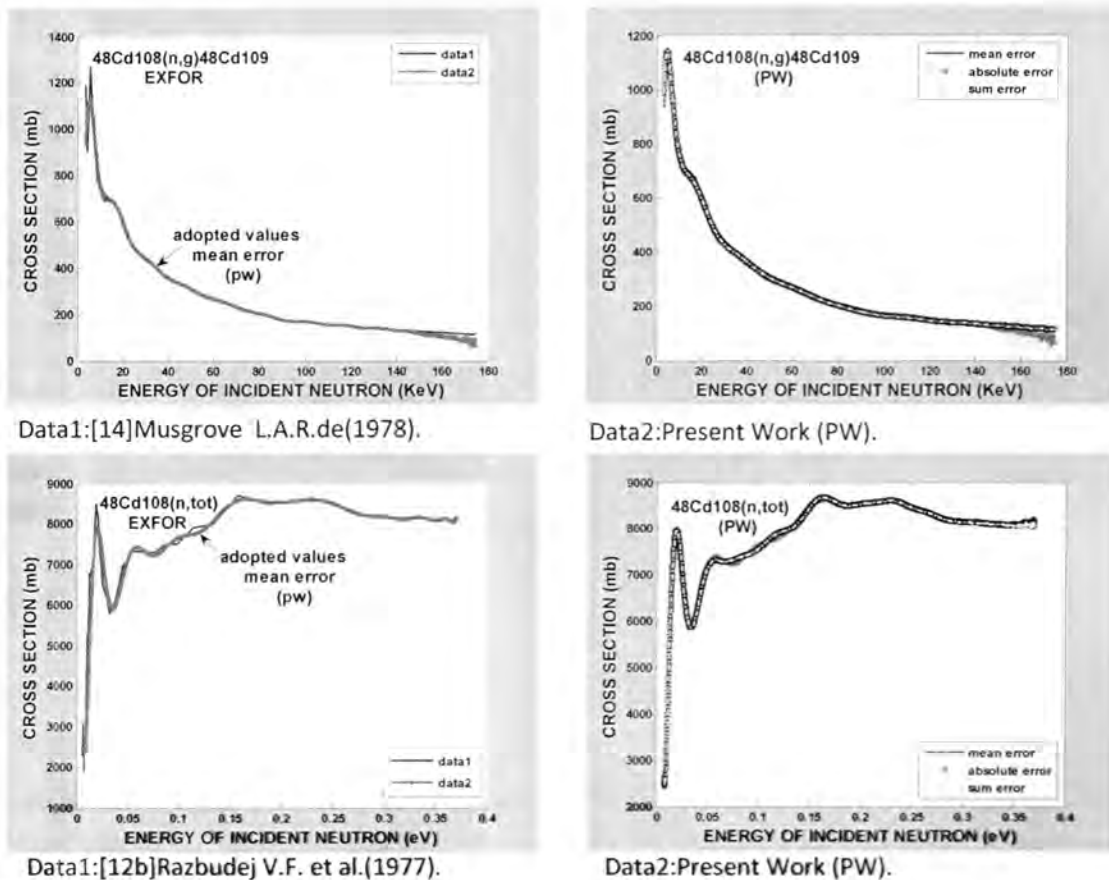


Fig.-1: To be continued (2/2).

## (2) Data from ENDF/ B-VII Library

A brief description of each individually considered data set is given below for Cd-108 for each reaction for the ENDF/B-VII Library:

### (a) $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\alpha)^{105}_{46}\text{Pd}_{59}$ reaction

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\alpha)^{105}_{46}\text{Pd}_{59}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

### (b) $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$ reaction

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(c)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,el)^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,el)^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(d)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,d)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,d)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(e)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,he3)^{106}_{46}\text{Pd}_{60}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,he3)^{106}_{46}\text{Pd}_{60}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(f)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,g)^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,g)^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(g)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,n+\alpha)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,n+\alpha)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(h)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,inl)$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,inl)$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tabulated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(k)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n + p)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n + p)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(l)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n + d)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n + d)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(n)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, p)^{108}_{47}\text{Ag}_{61}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, p)^{108}_{47}\text{Ag}_{61}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(m)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n + t)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n + t)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

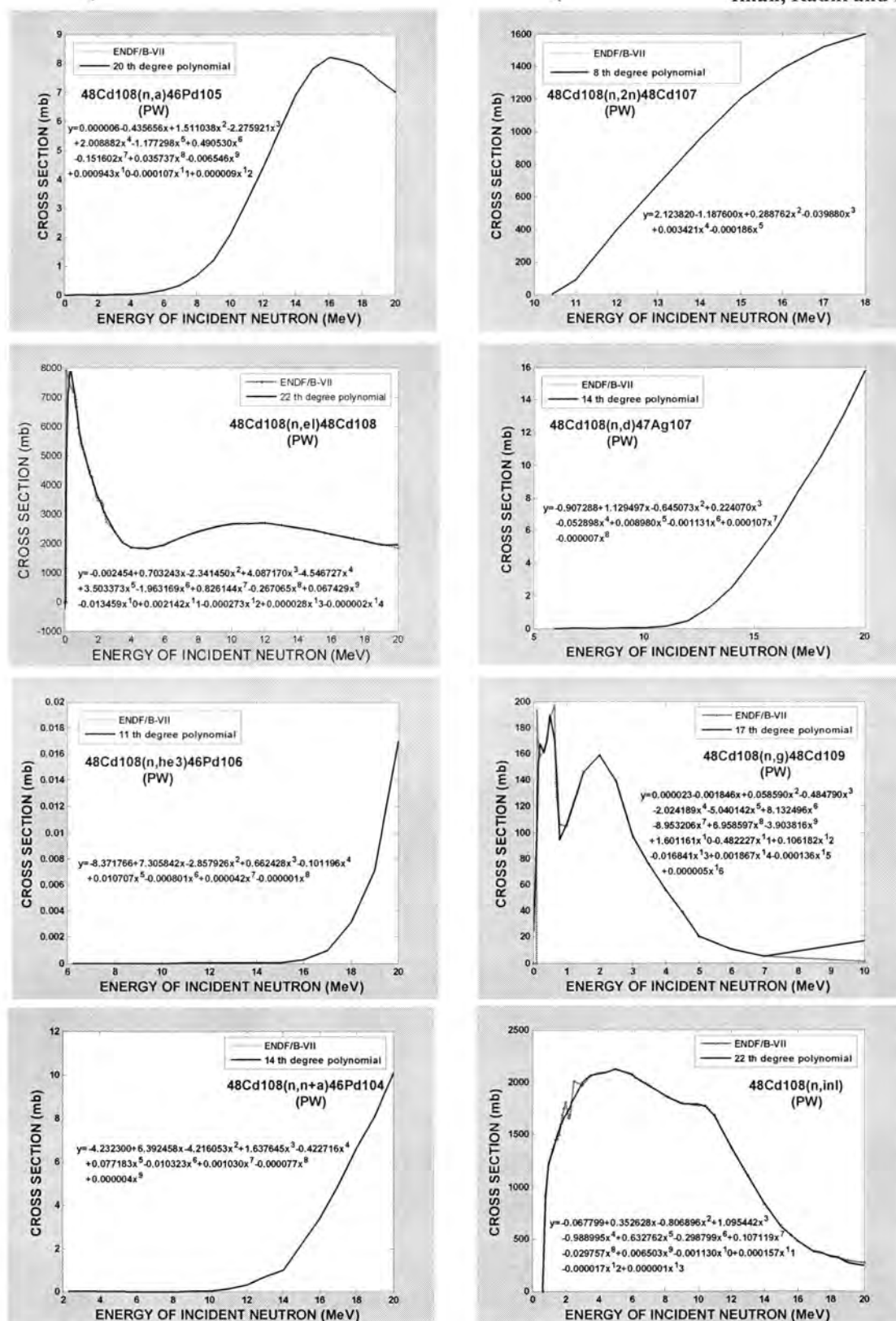
**(n)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, tot)$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, tot)$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(m)  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, t)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, t)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).





**Fig-2:**The adopted cross sections of the (n,a), (n,2n), (n,el), (n,d), (n,he3), (n,g), (n,n+a), (n,inl), (n,n+p), (n,n+d), (n,p), (n,n+t), (n,tot), (n,t) reactions for Cd-108 as calculated by the present work according to the weighted least squares polynomial based on the ENDF/B-VII.

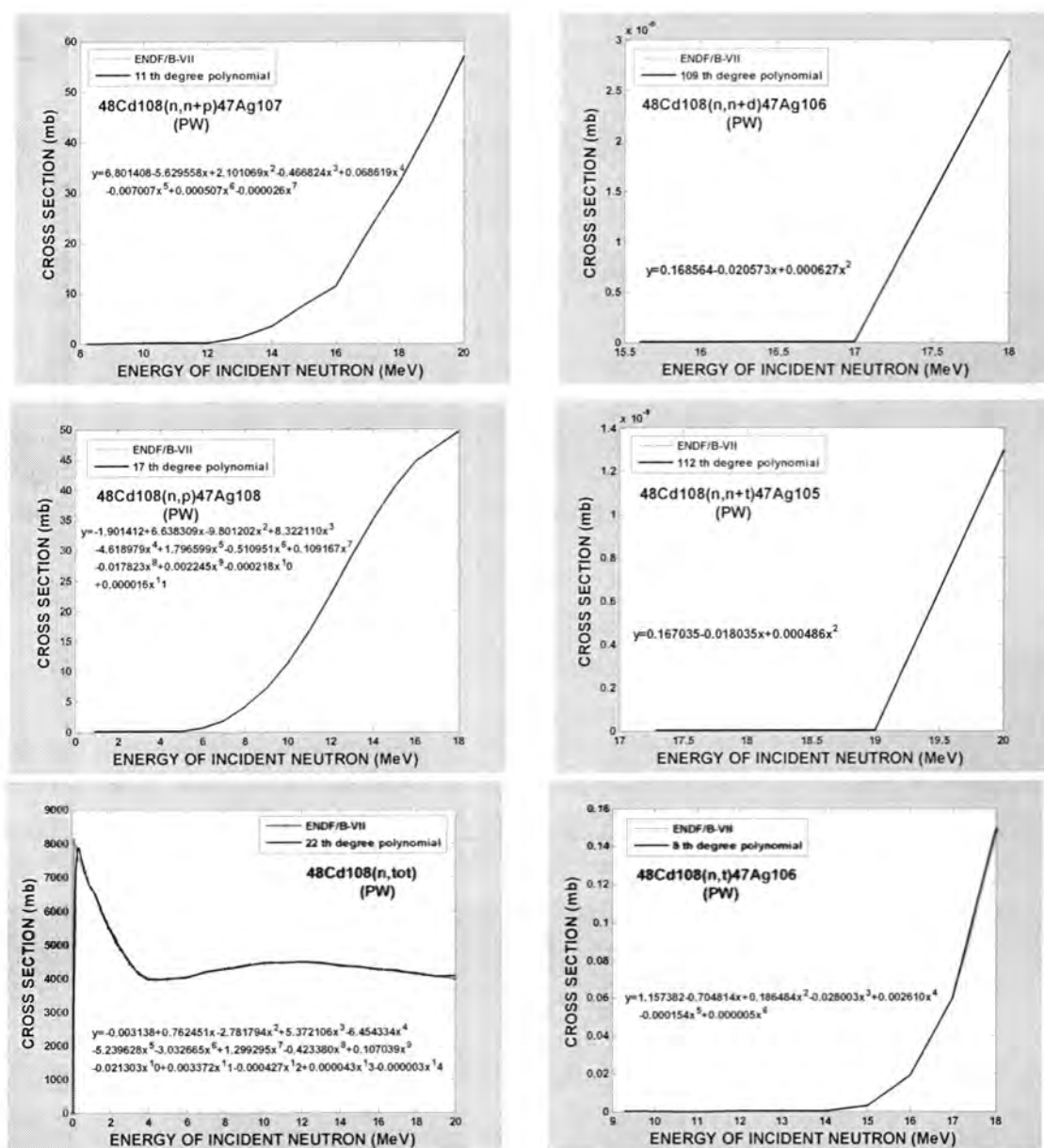


Figure-2: To be continued (2/2).

Table -3: Fitting parameters according to the weighted Least –Squares polynomial based on the ENDF/B-VII

Reaction	$E_n$ (min)MeV	$E_n$ (max)MeV	n	k
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\alpha)^{105}_{46}\text{Pd}_{59}$	1E-11	20	21	20
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$	10.43	18	9	8
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\text{el})^{108}_{48}\text{Cd}_{60}$	1E-11	20	63	22
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,d)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$	5.967	20	15	14
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\text{he3})^{106}_{46}\text{Pd}_{60}$	6.256	20	12	11
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,\gamma)^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$	1E-11	10	25	17
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n,n+\alpha)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$	2.297	20	15	14

$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{inl})$	0.639	20	45	22
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+p)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$	8.216	20	12	11
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+d)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$	15.6	18	3	109
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, p)^{108}_{47}\text{Ag}_{61}$	0.874	18	18	17
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+t)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$	17.29	20	3	112
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{tot})$	1E-11	20	63	22
$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, t)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$	9.287	18	9	8

### Fitting Program procedure

The actual fitting procedure of the weighted Least- Squares polynomial fitting [15,16]. A program build in this work to be used in this analysis of polynomials which allows an lower high degree of fitting up to degree 1 in  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, 2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{abs})$  reaction and a high degree of fitting 68 in  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{tot})$  reaction.

The diagonalization of the of the orthogonality condition results have been made to the generation of the infinite Itilbert matrix, This program also calculates statistically the parameters which reflect the goodness of fit of a given degree of polynomial, in order to adopte the nuclear cross section data published and analysied at International Atomic Energy Agncy which is collected and evaluated in this work .These data have been used with corresponding induced neutron energy as input data in the program using matlab 7.0. The importance of each input data point, or weight, is considered to be inversely proportional to  $(\Delta\sigma)^2$  (absolute weight) or  $(\Delta\sigma/\sigma)^2$  (relative weight) or inversely proportional to sum weight or the  $(\Delta\sigma)^2$  (mean weight).

Two procedure are performed on the data , 1.The operation results in the determination of the optimum degree of fit. 2. The operation yields point –wise values of the fitted function of the degree. Chosen and the statistical uncertainties of these point-wise values at the discrete values of the independent variable ; The uncertainties are attributed to the individual point-wise values only , which will contain the whole uncertainly at the discrete values in the 0.01 interval.

The parameters used in fitting the

$^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, 2n)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{abs})$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{el})$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \gamma)$ ,  $^{109}_{48}\text{Cd}_{61}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{tot})$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \alpha)^{105}_{46}\text{Pd}_{59}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, d)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{he3})^{106}_{46}\text{Pd}_{60}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+\alpha)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, \text{inl})$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+p)^{107}_{47}\text{Ag}_{60}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+d)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, p)^{108}_{47}\text{Ag}_{61}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, n+t)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$ ,  $^{108}_{48}\text{Cd}_{60}(n, t)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$ .

Data are summarized in table (2) for EXFOR Library and in table (3) for ENDF/B-VII, Library.

The uncertainties of the input data, from the actual input data are probably the most sensitive to the analysis of nuclear cross section data from libraries, and the assumptions made in the interpretation of the significance of the uncertainty input parameter must be considered as an experimental values it was useful to convert the  $\Delta\sigma$  (the uncertainties of the input data to the relative errors, absolute errors, or mean error to achieve the importance of good fitting through the considered neutron energy range. The fitting were based separately for each reaction including the threshold regions in order to reduce the resultant uncertainties of the fitted points and eliminate the oscillations for the fitted adopted function.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 and 3 show the results of the fitting point-wise of the Cd-108 neutron induced cross sections. The point-wise uncertainties weightes are also included. The fitted adopted curevs based on the three kinds of weighted average (the absolute error, the weight mean error, and the sum error) are shown on figures 1 and 2 for different neutron induced cross-sections together with the experimental data from EXFOR and ENDF respectively. This method performed a more accurate measurements, we can see from these figures the presence of a final structure of adopted values became apparent immediately with the cross sections data.

In this analysis, mainly because of the lack of high accuracy of the available data, no exact fitting of the finel structure has been attempted, our suggested three methods to calculate the adopted cross sections give a very good agreement with the data and have a high coincidence of comparable data and the least squears orthogonal polynomials. In this, neutron induced Cd-108 cross section reactions, case and for the given energy range, the 0.01MeV intervals read from the curve were supplemented to the input data.

Note from figure (1) of the EXFOR Library interaction was represented ( $n,2n$ ) and ( $n,abs$ ) in linear or semi-linear for three ways which indicates the decrease of rank polynomial for adopted curve while the increased of rank of interaction ( $n,tot$ ), ( $n,\gamma$ ) because of the increased fluctuations as in figure(1) as well as from the observation figure(2) your ENDF Library showed a polynomial for adopted curves method in the weight mean error and absolute error the highest rank of representation compared with the way sum error.

## REFERENCES

- [1]Liskien H. and Paulsen A., "Compilation of Cross Section for Some Neutron Induced Threshold Reactions", EUR 119, Vol.1(May 1966) and Vol.2 (Aprill 1967), Central Bureau for Nuclear Measurements.



- [2] Ben G. David, Techn, Report "Nuclear Standards for Neutron Measurements", IAEA-107.57, IAEA, Vienna (1968).
- [3] Spaepen J. and Liskien H., Tech. Report "Nuclear Standards for Neutron Measurements", IAEA-107,259, IAEA, Vienna (1968).
- [4] Fabry A., Coster De M., Minsart M., Schepers J.C., and Vandeplas P., "IAEA Conference on Nuclear Data for Reactors, Helsinki, 15-19 June (1970)".
- [5] Bak H.I. and Lorenz A., "Review of the current status of the U-238, Np-237 And Th-232 Fission Cross section", Journal of the Korean Nuclear Society, Vol.3, No.2, P.77 (1971).
- [6] Seuny GY Ro, Jac Shik Jun and Sae Hyung Cho, "Measurement of the Fast Neutron Flux Density in the Bulk Shielding Experimental Tank of the Triga Mark-ii Reactor Using Solid State Track Detector", Journal of the Korean Nuclear Society, Vol.5, No.4, p.334 (1973).
- [7] Robert De Levie, "Advanced Excel for Scientific Data Analysis", Oxford University Press (2004).
- [8] Herman M. and Trkov A., "data Formata and Procedures for the Evaluated Nuclear Data File ENDF/B-VI AND ENDF/B-VII", CSEWG Document ENDF-102 Report BNL-90365-(2009).
- [9] Pesples C.R., "Alternatives ti the Americium-Beryllium Neutron Source for The Compensated Neutron Porosity Log ", M.Sc. Thesis, North Carolina State University (2007).
- [10] Adame Thomas M., "G104-A2LA Guide for Estimation of Measurement Uncertainty in Testing ", July (2002).
- [11] Filatenkov A.A. and Chuvaev S.V., "Measurement of a set of Badly Know Neutron Induced cross sections", Khlopin Radiev, Inst., Leningrad Reports No.258, (2001).
- [12a] Razbudej V.F., Vertebnyj V.P., Muravitskij A.V., "Investigation of Slow Neutron Interaction With Cd-106, Cd-108, Cd-110 Isotopes", 4A11 Union Conf. on Neutron Phys., Kiev, 18-22 Apr 1977, Vol.2, P.276 (1977).
- [12b] Razbudej V.F., Vertebnyj V.P., Muravitskij A.V., "Investigation of Slow Neutron Interaction With Cd-106, Cd-108, Cd-110 Isotopes", 4A11 Union Conf. on Neutron Phys., Kiev, 18-22 Apr 1977, Vol.2, P.276 (1977).



- [13] Popov A.B., Samosvat G.S., "Differential Elastic Scattering Cross Section Of Cadmium Isotopes and P-Neutron Strength Functions in the Range From A=50 to A=130", Inst. For Nucl. Res., Dubna Reports No.3,85,p.226 (1985).
- [14] Musgrove A.R.De L., Allen B.J., Macklin R.L., "Neutron-Capture Resonance Parameters and Cross Sections For the Even –A Isotopes of Cadmium" Jour. Of Physics, Part G (Nucl. And Part. Phys.) Vol.4, Issue-5, P.771, (1978)
- [15] Francois Dubeau and Youness Mir, "On Discrete Least Squares Polynomial Fit Linear Spaces and Data Classification", Journal of Mathematics and Statistics 3(4)P.222-227, (2007).
- [16] Michael Carley, "Moving Least Squares Via Orthogonal Polynomials", Siam J.Sci.Comput. Vol.32, No.3, P.1310-1322, (2010).

## Simulation of Cherenkov Light Lateral Distribution Function in Extensive Air Showers for Tunka25 EAS Array

Ahmed A. Al-Rubaiee, Muhammed Ali Abid and Sarah Hussein Ali  
Al-Mustansiriyah University, College of Science, Department of Physics

Submitted : 31/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

تم محاكاة دالة التوزيع الفراغي للجسيمات الأولية المشحونة باستخدام برنامج كورسيكا لوابل من الجسيمات المشحونة تبعا لشروط وترتيب منظومه Tunka-25. ولقد تم اجراء المحاكاة لجسيمات البروتون، نوى ذرات الحديد، الكاربون، الهليوم، الليثيوم و جسيمات كاما ضمن مدى الطاقة  $10^{14} - 10^{16}$  الكترون فولت ولثلاث زوايا  $0^\circ, 10^\circ, 30^\circ$  وقد تم مقارنه نتائج هذه المحاكاه مع النتائج العمليه لمنظومه Tunka-25 لنفس الجسيمات و مدى الطاقة.

### ABSTRACT

The Cherenkov light Lateral distributions function for primary particles in extensive air showers have been simulated with CORSIKA code for conditions and configuration of the Tunka-25 EAS array. In this work the calculation is performed for primary protons, iron nuclei, carbon, helium, lithium and  $\gamma$ -quanta in the energy range  $10^{14}$ - $10^{16}$  eV for three zenith angles  $0^\circ, 10^\circ$  and  $30^\circ$ . The results of this simulation are compared with the measurements of Tunka-25 array for the same particles and energy range.

### INTRODUCTION

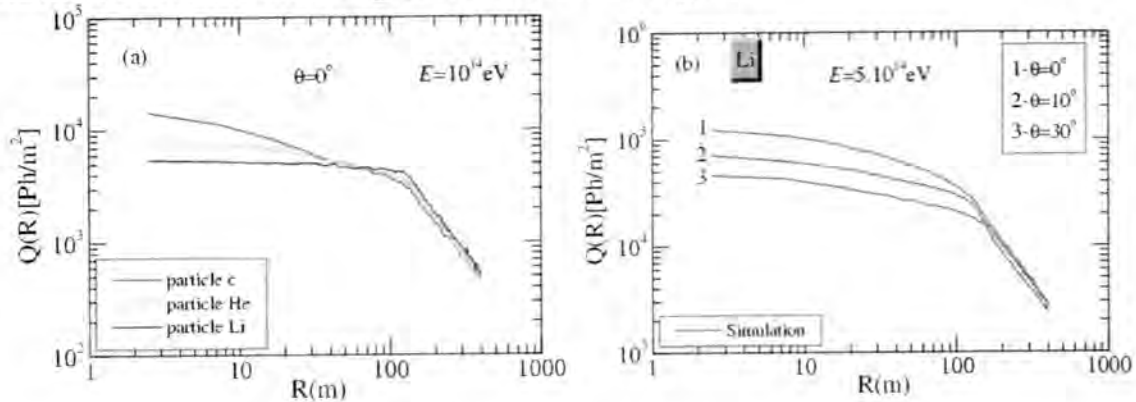
An air shower is one of the most complex physical processes in the field of particle physics. The only approach to gain access to the information of these processes is with the help of computer simulations of Extensive air showers (EAS) [1]. The program CORSIKA (**CO**smic **R**ay **S**imulations for **K**Ascade) is a detailed Monte Carlo program to study the evolution and properties of EAS in the atmosphere [2].

In this work the simulation of Cherenkov light Lateral distribution function (LDF) in EAS is performed with the CORSIKA code for configuration of Tunka-25 array [3] using the model QGSJET (Quark Gluon String model with JET's) [4] for the simulations of hadronic showers for high energies and the model GHEISHA (Gamma Hadron Electron Interaction Shower) [5] for the simulation of hadronic shower at low energies and EGS4 (Electron Gamma Shower) code [6] for the simulation of electromagnetic component and Cherenkov radiation. The calculation was

estimated for Primary protons, iron nuclei, carbons, helium, lithium and  $\gamma$ -quanta in the energy range  $10^{14}$ - $10^{16}$  eV for three zenith angles ( $0^\circ$ ,  $10^\circ$  and  $30^\circ$ ). The comparison of the simulated Cherenkov light LDF with that measured with Tunka-25 EAS array was gave a good agreement.

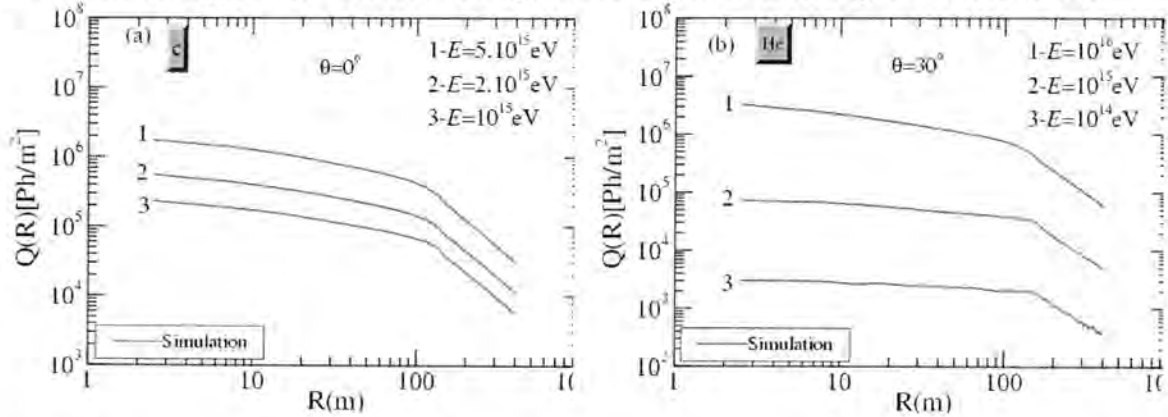
### The Simulation by Corsika Code

A good procedure to study the cascade development in the atmosphere is a Monte Carlo code to simulate the EAS development in the atmosphere. The CORSIKA program allows to simulate interactions and decays of nuclei, hadrons, muons, electrons, and photons in the atmosphere up to energies of some  $10^{20}$  eV [7]. It gives type, energy, location, direction, and arrival times of all secondary particles that are created in an air shower and passed a selected observation level. One of the reasons for the success of CORSIKA as the most used air shower simulation program comes from the combination of the best programs available to describe the interactions of the various particles which appear in the development of EAS. The calculations was performed for different particles like (p, Fe, c, He, Li and  $\gamma$ -quanta) in the energy range  $10^{14}$ - $10^{16}$  eV for different zenith angles  $\theta = (0^\circ, 10^\circ \text{ and } 30^\circ)$ . The figure 1a,b shows the results of the simulated Cherenkov light LDF for EAS initiated by primary Carbon, Helium and Lithium for different energies and different angles.



**Fig.-1: The lateral distribution function of Cherenkov light simulated by CORSIKA code for; (a) vertical shower at the energy  $10^{14}$  eV for carbon, helium and lithium particles and (b) primary lithium for different angles  $0^\circ$ ,  $10^\circ$  and  $30^\circ$  at the energy  $5 \cdot 10^{14}$  eV.**

The characteristics of primary Carbon and Helium particles for different energies and different angles are explained in figures 1a and 1b.



**Fig.-2: Lateral distribution of Cherenkov light which simulated with CORSIKA code for (a) primary Carbon at the energies  $10^{15}$ ,  $2 \cdot 10^{15}$  and  $5 \cdot 10^{15}$  eV for vertical showers; (b) primary Helium at the energies  $10^{14}$ ,  $10^{15}$  and  $10^{16}$  eV for  $\theta=30^\circ$ .**

#### Comparison of Corsika Simulation with Experimental Data

The method of EAS core location reconstruction is based on fitting of the  $Q_i$  data by LDF function with light destiny at the core distance  $i=190$  m when [8]:

$$Q(R) = Q_{kn} f(R) \quad (1)$$

$Q_{kn}$  is the light flux at the distance  $R_{kn}$ , which is given as [8]:

$$Q_{kn} = Q_{190} \left( \frac{R_{kn}}{175} \right)^{-2.2}$$

(2)

Where  $Q_{190}$  is density of Cherenkov radiation at the distance 190m from the shower axis.

And:

$$f(R) = \begin{cases} \exp\left(\frac{(R_{kn} - R)}{R_0} \left(1 + \frac{3}{R+3}\right)\right), & R < R_{kn} \\ \left(\frac{R_{kn}}{R}\right)^{2.2} & 200 \geq R \geq R_{kn} \\ \left(\frac{R_{kn}}{200}\right)^{2.2} \left(\left(\frac{R}{200} + 1\right)/2\right)^{-b}, & R > 200 \end{cases} \quad (3)$$

Al-Rubaiee, Muhammed and Sarah

Where  $R$  is the core distance (in meter),  $R_o$  is a parameter of the first branch of LDF and  $R_{kn}$  is the distance of the first change of LDF given by [8]:

$$R_o = \exp(6.79 - 0.56P), \quad (4)$$

$$R_{kn} = 207 - 24.5P \quad (5)$$

Where the steepness  $P$  is given by [9]:

$$P = 7.3 - (0.008 \times \Delta X), \quad (6)$$

Where

$$\Delta X = \frac{X_o}{\cos \theta} - X_{\max} \quad (7)$$

where  $X_o = 955 g.cm^{-2}$  (The total vertical depth of the atmosphere) [10]; and  $X_{\max}$  is the depth of the shower maximum development which is given by [10]:

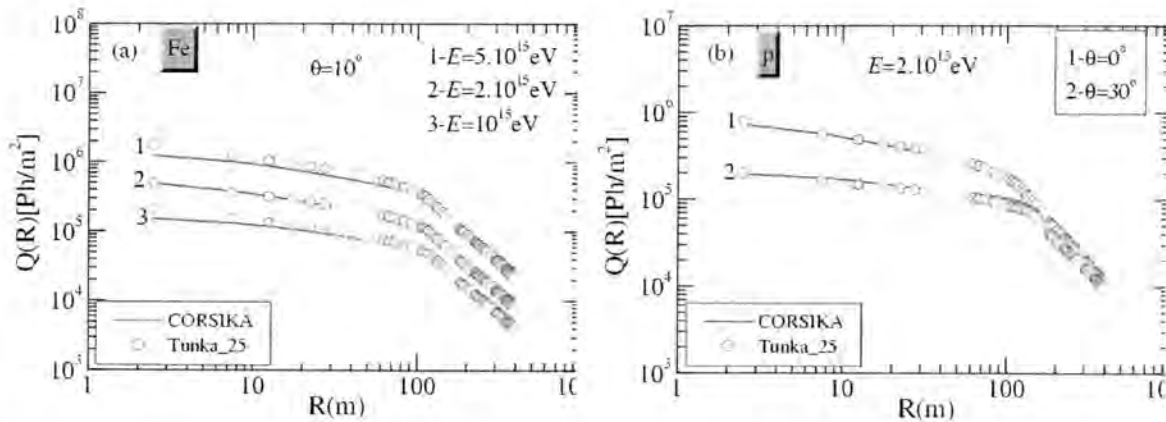
$$X_{\max} = 560 + 65 \log \left( \frac{E_o}{10^{16} eV} \right) \quad (8)$$

The parameter  $b$  in eq. (3) can be define as [8]:

$$b = \begin{cases} 4.48 - 12.3 \ln(6.5P), & P < 6 \\ 3.43, & P \geq 6 \end{cases} \quad (9)$$

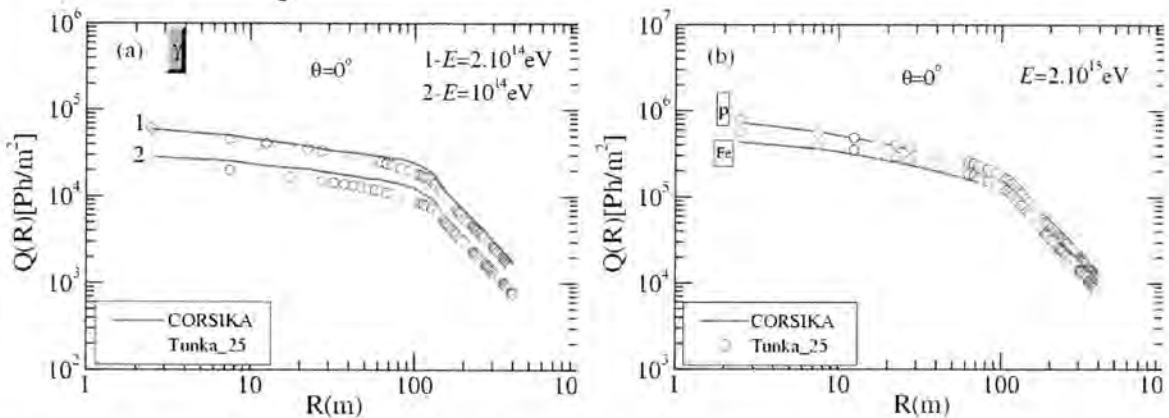
In Figure 3a, the comparison between the Cherenkov light LDF which was simulated by using CORSIKA code with that measured with Tunka-25 array for different energies is presented for iron nuclei. Figure 3b displays the difference between the primary proton for vertical showers and the same particle at  $\theta=30^\circ$  in comparison with the Tunka-25 at the energy  $2 \cdot 10^{15}$  eV.





**Fig.-3: Comparison of the simulated Cherenkov light LDF (solid lines) with the data obtained with Tunka-25 EAS array (symbol lines) for (a) Iron nuclei at the energies  $10^{15}$ ,  $2 \cdot 10^{15}$  and  $5 \cdot 10^{15} \text{ eV}$  for  $\theta = 10^\circ$ ; (b) primary proton at the energy  $2 \cdot 10^{15} \text{ eV}$  for different angles  $\theta = 0^\circ$  and  $30^\circ$ .**

In Figure 4a one can see the comparison between the simulated Cherenkov light LDF and that measured with Tunka-25 EAS array for primary  $\Upsilon$ -quanta at the energy  $10^{14}$ ,  $2 \cdot 10^{14}$  at vertical shower. Figure 4b demonstrates the possibility for reconstruction the type of the EAS primary particles, where in these figure one can see the differences between the simulated Cherenkov light LDF and that measured with Tunka-25 EAS array for different particles.



**Fig.-4: Lateral distribution of Cherenkov light which is simulated with CORSIKA code (solid lines) and one measured with Tunka-25 (symbols) for (a)  $\Upsilon$ -quanta for vertical showers at energies  $10^{14}$  and  $2 \cdot 10^{14} \text{ eV}$ ; (b) primary proton and iron nuclei for vertical showers at energy  $2 \cdot 10^{15} \text{ eV}$ .**

Al-Rubaiee, Muhammed and Sarah

In the present work the Monte Carlo code CORSIKA has been used to simulate the development of cascades in the atmosphere initiated by p, Fe, c, He, Li and  $\gamma$ -quanta) in the energy range  $10^{14}$ - $10^{16}$  eV for three zenith angles ( $0^\circ$ ,  $10^\circ$  and  $30^\circ$ ). The CORSIKA simulation of the Cherenkov light lateral distribution function in Extensive Air Shower is performed for configuration of the Tunka-25 EAS array. The comparison of the simulated Cherenkov light lateral distribution function with that measured with the Tunka-25 array demonstrates the possibility to identify the primary particles and to determine their energies in the energy range  $10^{14}$ - $10^{16}$  eV. The main advantage of the given approach consists in the possibility to make a library of lateral distribution function samples which could be utilized for the analysis of real events which are detected with the Extensive Air Shower array and reconstructed of the primary cosmic rays energy spectrum and mass composition.

## REFERENCES

1. Grieder P. K. F, Extensive Air Showers, Vol.2, P. 989, (2007).
2. Heck D., Knapp J., Capdevielle J.N., et al. CORSIKA: A Monte Carlo Code to Simulate Extensive Air Showers. Forschungszentrum Karlsruhe, P. 90 (1998).
3. Budnev N., Chernov D., Galkin V. et al.: Tunka EAS Cherenkov array - status 2001 // Proc. 27 ICRC, Hamburg, 7-15 Aug., :581-584(2001).
4. Kalmykov N.N., Ostapchenko S.S., Pavlov A.I., Nucl. Phys. B., P. 17(1997).
5. Chernov D.V., Kalmykov N.N., Korosteleva E.E., et al. The Tunka experiment: Towards a 1-km<sup>2</sup> Cherenkov EAS array in the Tunka Valley // Int. J. Mod. Phys. A. 20 (29) :6796-6798 (2005).
6. Ostapchenko S. QGSJET-II: Towards reliable description of very high energy hadronic interactions // Nucl. Phys. B. Proc. Suppl., 151 :143-146 (2006).
7. D.Heck, J. Knapp, J.N. Capdevielle, G. Schatz and T. Thouw, Report FZKA Forschungszentrum Karlsruhe, p. 6019 (1998).
8. Prosin V.V., Budnev N.M., Chvalaiev O.A. et al. The Cosmic Ray Mass Composition in the Energy Range  $10^{15}$ - $10^{18}$  eV measured with the Tunka Array: Results and Perspectives// Nucl. Phys. Proc. Suppl., 190 :247-252, (2009).

9. Budnev N. M. ,Chernov D. V. ,Gress O. A. et al. Cosmic ray energy spectrum and mass composition from  $10^{15}$  to  $10^{17}$  eV by data of the Tunka EAS Cherenkov array // Proc. 29<sup>th</sup> ICRC, Pune, 6 :257-260 (2005).
10. Matthews, J.: A Heitler model of extensive air showers. Astro. Phys., 22 :387-397(2005).



## Calculation the Alpha Yields from (p, $\alpha$ ) Reactions for Fe and Se Element Targets

Iman Tarik Al-Alawy and Waleed Jabbar Mhana

Department of Physics-College of Science-University of Al-Mustansiriyah

Submitted : 03/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

لقد تم حساب قدرة الايقاف ونواتج الفا من تفاعلات (p, $\alpha$ ) لخمس اهدف من العناصر المتوسطة بمدى طاقي من طاقة العتبة الى 31.6 MeV لطاقات البروتون. حيث تم تحليل كامل لمدى الطاقة ابتداء من طاقة العتبة لكل تفاعل للحصول على المقاطع العرضية المختارة لفترات صغيرة من طاقة الفا الساقطة 0.01 MeV مع الاخطاء المصاحبة لكل قراءة. لقد تم استخدام صيغة زكلر لحساب ناتج الفا لكل تفاعل.

### ABSTRACT

Stopping power and alpha yields from (p, $\alpha$ ) reactions for five medium target elements in the energy range from threshold energy up to 31.6 MeV proton energies have been calculated. Complete energy range starting from threshold energy for each reaction have been analyzed and the adopted cross sections were reproduced in fine steps of incident proton energy in 0.01 MeV intervals with the corresponding errors. The stopping power according to Zeigler formula was used in order to obtain the alpha yield for each reaction.

### INTRODUCTION

This study concerns with the nuclear reactions used in the production of the protons or alpha which are important in shielding calculations, accelerators and proton therapy. The (p, $\alpha$ ) reactions induced by bombardment of medium elements have been intensively studied with high energy resolution up to energies accessible with conventional electrostatic accelerators. In addition to the intrinsic value of (p, $\alpha$ ) cross section in the investigation of nuclear spectroscopy and reaction mechanisms, such data are essential for the polarization of (p, $\alpha$ ) reactions as alpha sources [1]. The cross sections evaluation for (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) reactions are calculated according to the available International Atomic Energy Agency (IAEA) libraries and other experimental published data. The stopping power depends on the type and energy of the

incident particle and on the properties of the materials it passes. In passing through matter, fast charged particles ionize the atoms or molecules which they encounter. The yield for a target having any thickness can be defined as the ratio of the number of nuclei formed in the nuclear reaction to the number of particles incident on the target. Thick target yield is defined for a fixed macroscopic energy loss,  $E_{in}-E_{out}$ , in a thick target. Integral yield is defined for a finite energy loss down to the threshold of the reaction,  $E_{in}-E_{th}$ . The recommended cross sections discussed in the present work and the target stopping powers of Ziegler [2,3] and SRIM program (2003) [4] were used to calculate the alpha yield for a target of significant thickness. The cross sections of (p, $\alpha$ ) reactions published by different authors [5-7] in the energy range 4.8-31.6 MeV. Adopted values have been calculated, the cross sections were reproduced in fine steps of incident proton energy in 0.01 MeV intervals with the corresponding errors. In this study the stopping power have been calculated using SRIM program and Ziegler formulae [2,3] corpuscle to three regions based on the velocity of the incident proton (V). The calculated adopted cross sections for these reactions have been evaluated and a systematic behavior of alpha yields with proton energy and target numbers (Z) have been observed throughout the studied isotopes.

## Theoretical part

### a. Stopping Power

Particles such as protons with certain energy will lose all their energies in a definite distance in a medium before it stopped completely. The mechanism for the stopping power of ions penetrating condensed matter depends on the charge and velocity of the incident corpuscle and the nature of the matter, for that reason one can be compilation the energy loss of the charge corpuscle to three regions (high, intermediate and low energy). The behavior of ions in each region can be explained as the following [8]:

#### i. The high energy region

This region can occurs when the velocity of the incident corpuscle (V) is ( $V \geq 2V_0Z_1$ ) where ( $Z_1$ ) is the atomic number of ion and ( $V_0$ ) represents the Bohr velocity ( $V_0 = 2.18 \times 10^6$  m/s) and this is about the velocity of the conduction electrons in solid. Ions with velocity below ( $V_0$ ) have adiabatic collisions with target electrons and hence small stopping power. The stopping power increases with decreasing ion-velocity [9].

The electronic stopping power ( $S_e$ ) is to prevail with Bethe (1932) equation applies in this region [10]:



$$-\frac{dE}{dx} = NS_e = \frac{4\pi K^2 e^4 Z_1^2}{mV^2} NZ_2 \left[ \ln \left( \frac{2mV^2}{I} \right) - \ln(1 - \beta^2) - \beta^2 \right] \quad \dots (1)$$

Where N: is the atomic density of the medium [ $N = N_a (\rho/A)$ ].

$N_a$ : is the Avogadro's number ( $N_a = 6.022 \times 10^{23} \text{ mole}^{-1}$ ).

$\rho$ : is the density of matter.

A: is the mass number.

e,m: are the charge and mass of the electron respectively.

$Z_1, Z_2$ : are the atomic numbers of ion and target respectively.

$\beta$ : is the ratio between incident corpuscle velocity and the velocity of light  $\beta = \frac{V}{c}$ .

I: is the mean ionization and excitation potential.

K: is the coulomb constant  $K = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} = 8.99 \times 10^9 \text{ Nm}^2\text{C}^{-2}$ .

## ii. The Intermediate Energy Region

The intermediate energy region occurs when the velocity (V) of the incident corpuscle is in the range ( $2V_0Z_1^{2/3} > V \geq V_0Z_1^{2/3}$ ); it includes the maximum stopping power. In this region the effect of effective charge is clear and that is because of loss its energy which is mean decrease of corpuscle velocity and charge  $Z_1$  decreased too, and that because of loss or acquire electrons and there will be elastic collision with the nuclei of atoms occur. Thus equation (1) was modified, and its express electronic stopping power as [10]:

$$-\frac{dE}{dx} = NS_e = \frac{4\pi K^2 e^4 Z_1^2}{mV^2} NZ_2 L \quad \dots (2)$$

Where L is the stopping atomic number which depends on the velocity of incident corpuscle and the medium of the target.

## iii. The Low energy region

It occurs when the incident corpuscle velocity (V) ( $V < V_0Z_1^{2/3}$ ) in this region, to calculate the cross section for electronic stopping on the Thomas-Fermi potential as a function of velocity. The equation for this region is given by [11, 12]:

$$S_e = 8\pi e^2 a_0 \frac{Z_1^{7/6} Z_2}{Z^{2/3}} \left( \frac{V}{V_0} \right) \quad \dots (3)$$

$$\text{Where } Z^{2/3} = Z_1^{2/3} + Z_2^{2/3} \quad \dots (4)$$

$$\text{and } a_0 \text{ represents the Bohr radius, } a_0 = \frac{h^2}{me^2} = 0.529 \text{ \AA} \quad \dots (5)$$

In the scope of this work, the electronic stopping powers were programmed and calculated using the Ziegler formulae expressions valid for the energy range as follows [2]:

1- Energy range  $(1-10) \times 10^{-3}$  MeV

$$-\frac{dE}{dx} = A_1 E^{1/2} \quad \dots (6)$$

2- Energy range  $(10-999) \times 10^{-3}$  MeV

$$\left(-\frac{dE}{dx}\right)^{-1} = \left(-\frac{dE}{dx}\right)^{-1}_{Low} + \left(-\frac{dE}{dx}\right)^{-1}_{High} \quad \dots (7)$$

$$\left(-\frac{dE}{dx}\right)_{Low} = A_2 E^{0.45} \quad \dots (8)$$

$$\left(-\frac{dE}{dx}\right)_{High} = \left(\frac{A_3}{E}\right) \ln \left[ 1 + \left(\frac{A_4}{E}\right) + A_5 E \right] \quad \dots (9)$$

3- Energy range  $(1000-100.000) \times 10^{-3}$  MeV

$$\left(-\frac{dE}{dx}\right) = \left(\frac{A_6}{\beta^2}\right) \left[ \ln \left( \frac{A_7 \beta^2}{1 - \beta^2} \right) - \beta^2 - \sum_{i=0}^4 A_{i+8} (\ln E)^i \right] \quad \dots (10)$$

Where  $E$  : is the proton energy in (MeV).

$A_i$ : are the coefficients given by Ziegler [2, 13].

$\beta$ : is the ratio between incident corpuscle velocity and the

### b. Alpha Yield

The Yield of alpha detected per incident particle,  $Y$ , for an ideal, thin, and uniform target and monoenergetic particles beam of incident energy  $E_b$  is given by [14].

$$Y = (nt)\sigma(E_b)\varepsilon(E_b) \quad \dots (11)$$

Where  $n$ : is the number of target atoms per unit volume.

$t$ : is the target thickness.

$\sigma$ : is the reaction cross section.

$\varepsilon$ : is the alpha-detection efficiency.

For target which is not infinitesimally thin, the beam loses energy as it passes through the target, and the Yield is then given by [15, 16].

$$Y = \int_{E_{thr}}^{E_b} \frac{n\sigma(E)\varepsilon(E)dE}{-\frac{dE}{dx}(E)} \quad \dots (12)$$

In which  $(E_{thr} = E_b - \Delta E)$

Where  $E_{thr}$ : is the reaction threshold energy.

$\Delta E$  : is the energy loss of the beam in the target.

$f$  : is the number of target atoms in each target molecule.  
 $-\frac{dE}{dx}(E)$  : is the stopping power of the medium as a function of the beam energy.

If the target is sufficiently thick, and there exist one atom per each molecule (i.e.,  $f = 1$ ) and taking the efficiency  $\varepsilon(E) = 1$ , then the resulting alpha yield is called the thick-target yield which is given by [17]:

$$Y(E_h) = \int_{E_{thr}}^{E_h} \frac{n\sigma(E)dE}{-(dE/dx)} \quad \dots (13)$$

$$\text{Since stopping power} = \frac{1}{n} \left( -\frac{dE}{dx} \right).$$

### Data Reduction and Analysis

Method Used to Obtain the Adopted Cross Sections is as the following:

- The sets of experimental cross sections data were collected for different authors and with different energy intervals. The cross sections with their corresponding errors for each value are re-arranged according to the energy interval 0.01 MeV for available different energy range for each author.
- The normalization for the statistical distribution of cross sections errors to the corresponding cross section values for each author has been done.
- The interpolation for the nearest data for each energy interval as a function of cross sections and their corresponding errors have been done using Matlab program version (7.0).
- The interpolated values were calculated to obtain the adopted cross section which is based on the weighted average calculation according to the following expressions [17]:

$$\sigma_{wa} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{\sigma_i}{(\Delta\sigma_i)^2}}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{(\Delta\sigma_i)^2}} \quad \dots (14)$$

Where the standard deviation error is:

$$S.D. = \frac{1}{\sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{1}{(\Delta\sigma_i)^2}}} \quad \dots (15)$$

Where  $\sigma_i$ : is the cross section value.

$\Delta\sigma_i$  is the corresponding error for each cross section value.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table (1) present the international atomic energy Agency (IAEA) libraries (EXFOR) used in the present work for available measuring data collected for (p,α) reactions. The available data in the literature, taken from EXFOR library, concerning the measurement of the (p,α) reaction cross sections for the target elements  $^{54}_{26}\text{Fe}_{28}$ ,  $^{57}_{26}\text{Fe}_{31}$ ,  $^{74}_{34}\text{Se}_{40}$ ,  $^{76}_{34}\text{Se}_{42}$ , and  $^{77}_{34}\text{Se}_{43}$  mentioned in table-1 were evaluated in the present work in order to calculate the adopted cross sections using adopt.m program, which is written in the present work using Matlab-7.0 program. The adopted evaluated cross sections are calculated (using adopt.m program) and plotted as a function of incident proton energy starting from threshold energy for each reaction. The results for each (p,α) reaction are discussed as follows:

### 1- $^{54}_{26}\text{Fe}_{28}(p,\alpha)^{51}_{25}\text{Mn}_{26}$ Reaction

The  $^{54}_{26}\text{Fe}_{28}(p,\alpha)^{51}_{25}\text{Mn}_{26}$  reaction is used as a source of neutron. The sets of the cross sections data of this reaction presented by Levkovskij (1991) [5], have been plotted, interpolated, and recalculated in steps of 0.01 MeV at threshold energy 9.5 MeV up to 27.6 MeV as shown in figures (1).

### 2- $^{57}_{26}\text{Fe}_{31}(p,\alpha)^{54}_{25}\text{Mn}_{29}$ Reaction

The measurements of the  $^{57}_{26}\text{Fe}_{31}(p,\alpha)^{54}_{25}\text{Mn}_{29}$  reaction cross sections reported by Levkovskij (1991)[5], Sudar and Qaim (1994)[6], and Al-Abyad et al.(2009) [7], have been plotted, interpolated, and recalculated in steps 0.01 MeV at threshold energy 4.8 MeV up to 24.8 MeV, as shown in figures (2).

### 3- $^{74}_{34}\text{Se}_{40}(p,\alpha)^{71}_{33}\text{As}_{38}$ Reaction

The  $^{74}_{34}\text{Se}_{40}(p,\alpha)^{71}_{33}\text{As}_{38}$  cross sections reported by Tanaka Levkovskij (1991) [5], have been plotted, interpolated, and recalculated in steps 0.01 MeV at threshold energy 8.6 MeV up to 27.6 MeV as shown in figures (3).

**Table -1: International libraries used for available measuring data collection for (p, α) reactions.**

Target Element	(p,α) reaction		Target Element	(p, α) reaction	
	Library	Product		Library	Product
$^{54}_{26}\text{Fe}_{28}$	EXFOR*	$^{51}_{25}\text{Mn}_{26}$	$^{76}_{34}\text{Se}_{42}$	EXFOR*	$^{73}_{33}\text{As}_{40}$
$^{57}_{26}\text{Fe}_{31}$	EXFOR	$^{54}_{25}\text{Mn}_{29}$	$^{77}_{34}\text{Se}_{43}$	EXFOR*	$^{74}_{33}\text{As}_{41}$
$^{74}_{34}\text{Se}_{40}$	EXFOR*	$^{71}_{33}\text{As}_{38}$			

\* Only one author gives data.

#### 4- ${}^{76}_{34}\text{Se}_{42}(p, \alpha){}^{73}_{33}\text{As}_{40}$ Reaction

The sets of measured data for the cross sections of  ${}^{76}_{34}\text{Se}_{42}(p, \alpha){}^{73}_{33}\text{As}_{40}$  reaction reported by Levkovskij (1991) [5], have been plotted, interpolated, and recalculated in steps of 0.01 MeV from threshold energy 9.9925 MeV up to 31.6 MeV as shown in figures (4).

#### 5- ${}^{77}_{34}\text{Se}_{43}(p, \alpha){}^{74}_{33}\text{As}_{41}$ Reaction

The sets of measured data for the cross sections of  ${}^{77}_{34}\text{Se}_{43}(p, \alpha){}^{74}_{33}\text{As}_{41}$  reaction reported by Levkovskij (1991) [5], have been plotted, interpolated and recalculated in steps of 0.01 MeV starting from threshold energy 9.5 MeV up to 29.5 MeV. The measured data and the calculated adopted cross sections results are shown in figures (5).

In analyzing the (p,α) reactions in sections we note that the discrete nuclear states that are populated in ordinary decays have discrete separations, widths, and lifetimes. Thus if we were to calculate the cross sections at a given incident proton energy of a nuclear state, it is very unlikely that the overlap of the energy distributions of two different states could cause confusion as to the stationary state resulting from the decay.

When the widths of unstable states are small compared with their separation, the states are distinct and observable. And if the states are overlap and strongly mixed, these states do not have distinctly observable wave functions. Because of the instability of the compound nucleus, results in an uncertainty in the energy of these states. The energy uncertainty is given by the width of the resonance and lifetime of the state. Therefore, the resonance will have the character of the energy distribution of any decaying state of width, lifetime, and a maximum total cross section.

The stopping power of medium target elements for proton-particles has been calculated in the present work using two methods:

- 1- We adopt SRIM (2003) [4], as an experimental results.
- 2- We used Ziegler equations and Ziegler coefficients mentioned in table (2), as a theoretical calculation results.

For these calculations, the (stop.m) program has been written in Matlab-7.0 program for this purpose. The alpha yields from (p,α) reactions are very important quantity as well as the cross sections in analyzing problems of the following [18]:

1. Radiation shielding.
2. Criticality safety on spent fuel.



3. Have influence on safety design and operation of the facility that the light nuclei have large cross

sections for alpha product.

Therefore, the alpha yield for  $^{54}_{26}\text{Fe}_{28}$ ,  $^{57}_{26}\text{Fe}_{31}$ ,  $^{74}_{34}\text{Se}_{40}$ ,  $^{76}_{34}\text{Se}_{42}$ , and  $^{77}_{34}\text{Se}_{43}$  target elements were calculated in the present work using equation (15).

**Table -2: Coefficients for stopping of proton used in the Zeigler formula [2,23].**

Target Element	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-6	A-7	A-8	A-9	A-10	A-11	A-12
H	1.262	1.44	242.6	1.20E+04	0.1159	0.0005099	54360.000	-5.052	2.049	-0.3044	0.01966	-0.0004659
Fe	3.519	3.963	6065	1243	0.007782	0.01326	3650	-9.809	3.763	-0.5164	0.0305	-0.00066
Se	5.874	6.656	7395	117.5	0.007684	0.01734	3006	-13.11	4.965	-0.6735	0.03935	-0.0008425

For energies 1-10 KeV/amu use coefficients A-1.

For energies 10-999 KeV/amu use coefficients A-2 to A-5.

For energies above 1000 KeV/amu use coefficients A-6 to A-12.

The main aim of this study is to increase a alpha yields from (p, $\alpha$ ) reactions by increasing the energy of proton beams which can interact with different targets. The stopping power and alpha yields of the (p, $\alpha$ ) reactions for eight target elements maintained above have been obtained. The results have been shown in figure (7) respectively for each target element.

In all figures, the alpha yields of most of the (p, $\alpha$ ) reactions seem to depend strongly on the structure of the individual nucleus, the incident proton energy, and stopping power of the target element.

Generally, the behavior of the stopping power decreases with increasing the alpha yields which agrees with Ref. [2,19,20]. It is clear from the calculated results shown in these figures that for the calculated alpha yield values for 0-100% abundance target element  $^{54}_{26}\text{Fe}_{28}$ ,  $^{57}_{26}\text{Fe}_{31}$ ,  $^{74}_{34}\text{Se}_{40}$ ,  $^{76}_{34}\text{Se}_{42}$ , and  $^{77}_{34}\text{Se}_{43}$  follow the trend in the asymmetry parameter of alpha excess (N-Z)/A so that by increasing this parameter the maximum alpha yields will be increase as shown in table (3). This increment may be attributed to the fact that by increasing the number of neutrons the outer shells are populated by an excess alpha which increases the occurrence probability of (p, $\alpha$ ) reactions.

**Table -3: The maximum alpha yield and the asymmetry parameter for the 0-100% abundance elements.**

Target elements	Maximum neutron yield (atom*1.0E-9)	(N-Z)/A
$^{54}_{26}\text{Fe}_{28}$	489.64	0.0370
$^{57}_{26}\text{Fe}_{31}$	516.76	0.0877
$^{74}_{34}\text{Se}_{40}$	454.44	0.0810
$^{76}_{34}\text{Se}_{42}$	780.56	0.1052
$^{77}_{34}\text{Se}_{43}$	203.97	0.1168

For odd-odd elements the asymmetry parameters are zero; i.e. the elements are symmetric ( $Z=A/2$ ,  $N=A/2$ ). The binding energy, the Q-values, and the alpha yields differ by much larger amounts among the medium elements than within any group.

Hence, for even-Z and even-A target elements  $^{54}_{26}\text{Fe}_{28}$ ,  $^{57}_{26}\text{Fe}_{31}$ ,  $^{74}_{34}\text{Se}_{40}$ ,  $^{76}_{34}\text{Se}_{42}$ , and  $^{77}_{34}\text{Se}_{43}$  of (p, $\alpha$ ) reactions the maximum alpha yield were found to be a function of the target atomic number (Z) and the asymmetry parameter (N-Z)/A, where the maximum alpha yield decrease with increasing (Z) and decreasing asymmetry parameter.

The most important results of the alpha yields studies can be summarized as follows:

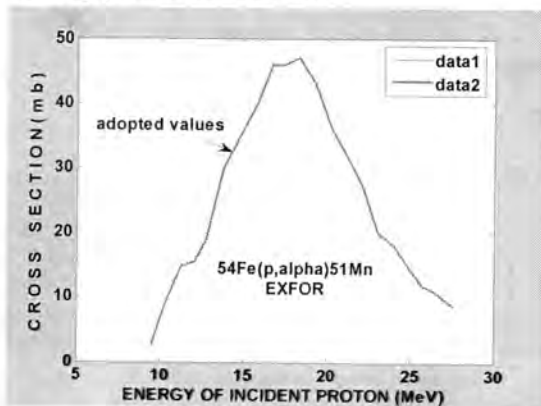
- a- The described calculations of alpha yields, with the use of different targets, should be performed in order to determine the alpha scaling shielding.
- b- The use of different medium target element showed a change in dynamics of the incident proton energy, but the alpha yields was changed rapidly for the following proton energy range:
  - Incident proton energy 4-31.6 MeV in  $^{54}_{26}\text{Fe}_{28}$ ,  $^{57}_{26}\text{Fe}_{31}$ ,  $^{74}_{34}\text{Se}_{40}$ ,  $^{76}_{34}\text{Se}_{42}$ , and  $^{77}_{34}\text{Se}_{43}$

The alpha yield described above these energy ranges was changed slightly for the maintained target elements.

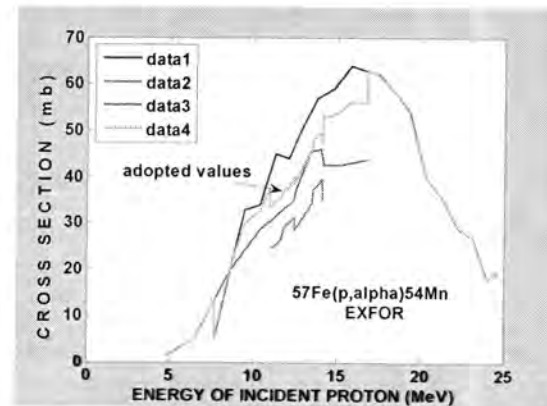
Because the widths of nuclear states are either small compared with their separation or overlapped. We therefore, conclude that it is reasonable to speak

of discrete quasibound stationary states because their separation is far greater than their width, and we also conclude that such nuclear states do not contribute to the density of final states because there is only one nuclear state that can be reached in a given decay process.

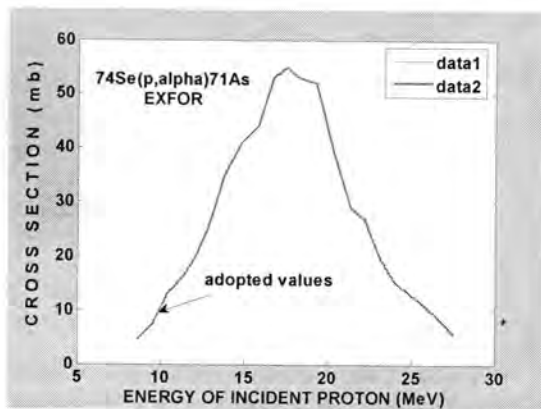
The alpha production by proton incident reactions, (p, $\alpha$ ) reactions, with medium nuclei have large cross sections for alpha production and they could have influence on safety design and operation of these facilities. Hence, accelerators using protons are used in such fields as physics, biology, proton therapy and medicines.



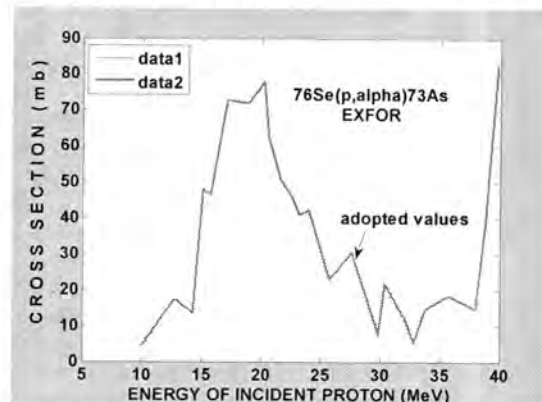
**Fig. -1: The adopted cross section of the  $^{54}\text{Fe}(p,\alpha)^{51}\text{Mn}$  reaction (present work) compared with EXFOR Library.**  
Data 1:Ref. No.[5]; Data 2: (PW).



**Fig.-2: The adopted cross section of the  $^{57}\text{Fe}(p,\alpha)^{54}\text{Mn}$  reaction(present work) compared with EXFOR Library.**  
Data 1:Ref. No.[5]; Data 2: Ref. No.[9];Data 3: Ref. Data 4: (PW).



**Fig. -3: The adopted cross section of the  $^{74}\text{Se}(p,\alpha)^{71}\text{As}$  reaction (present work) compared with EXFOR Library.**  
Data 1:Ref. No.[9]; Data 2: (PW).



**Fig.-4: The adopted cross section of the  $^{76}\text{Se}(p,\alpha)^{73}\text{As}$  reaction (present work) compared with EXFOR Library.**  
Data 1:Ref. No.[8]; Data 2: (PW).

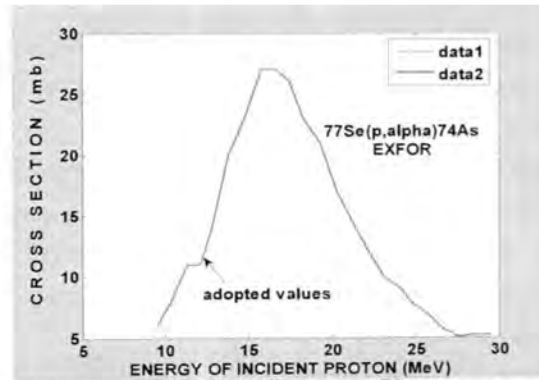


Fig. -5: The adopted cross section of the  $^{77}\text{Se}(p,\alpha)^{74}\text{As}$  reaction (present work) compared with EXFOR Library.  
Data 1:Ref. No.[5]; Data 2: (PW).

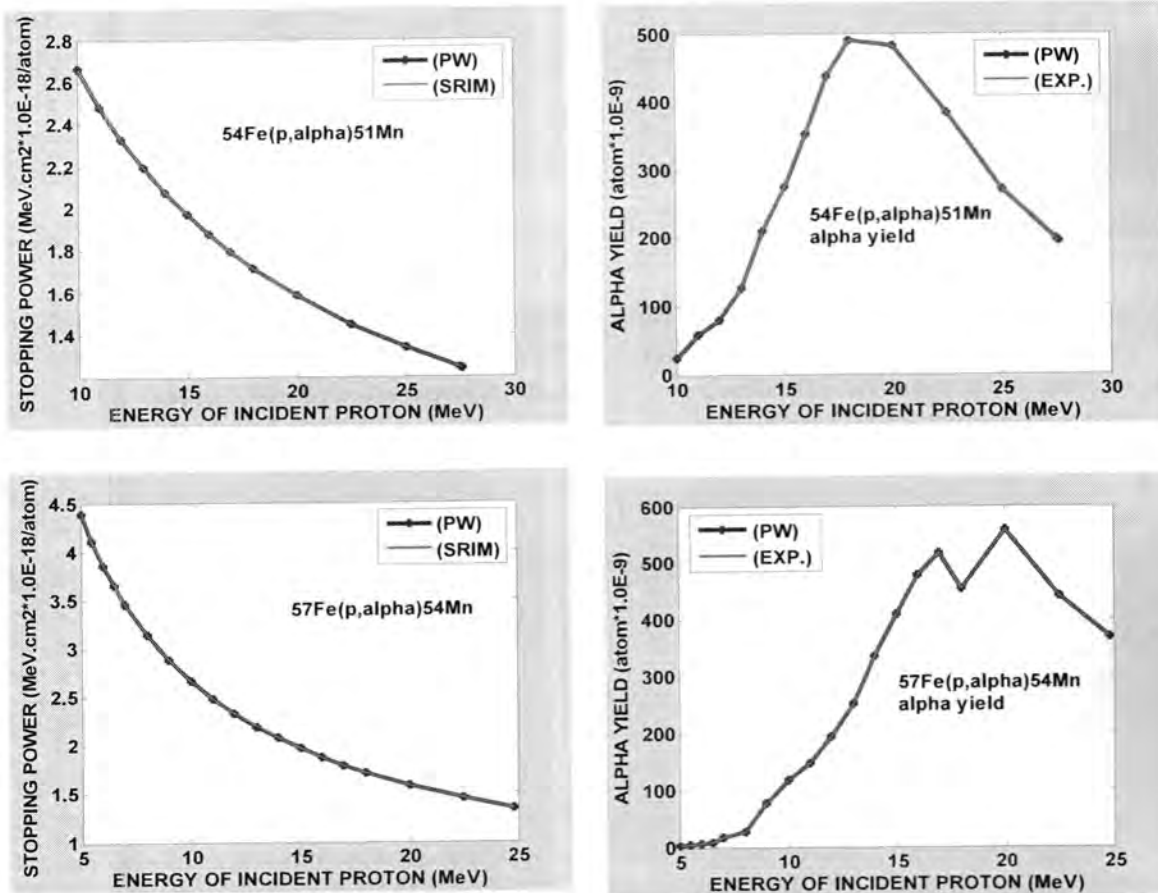


Fig.-6:Left side; the comparison between the calculated stopping power in the present work (pw) and SRIM (2003) of proton in the Ni. Right side; the alpha yield as calculated in the present work compared with experimental results based on the adopted cross section of the  $\text{Fe}(p,\alpha)\text{Mn}$  reaction.

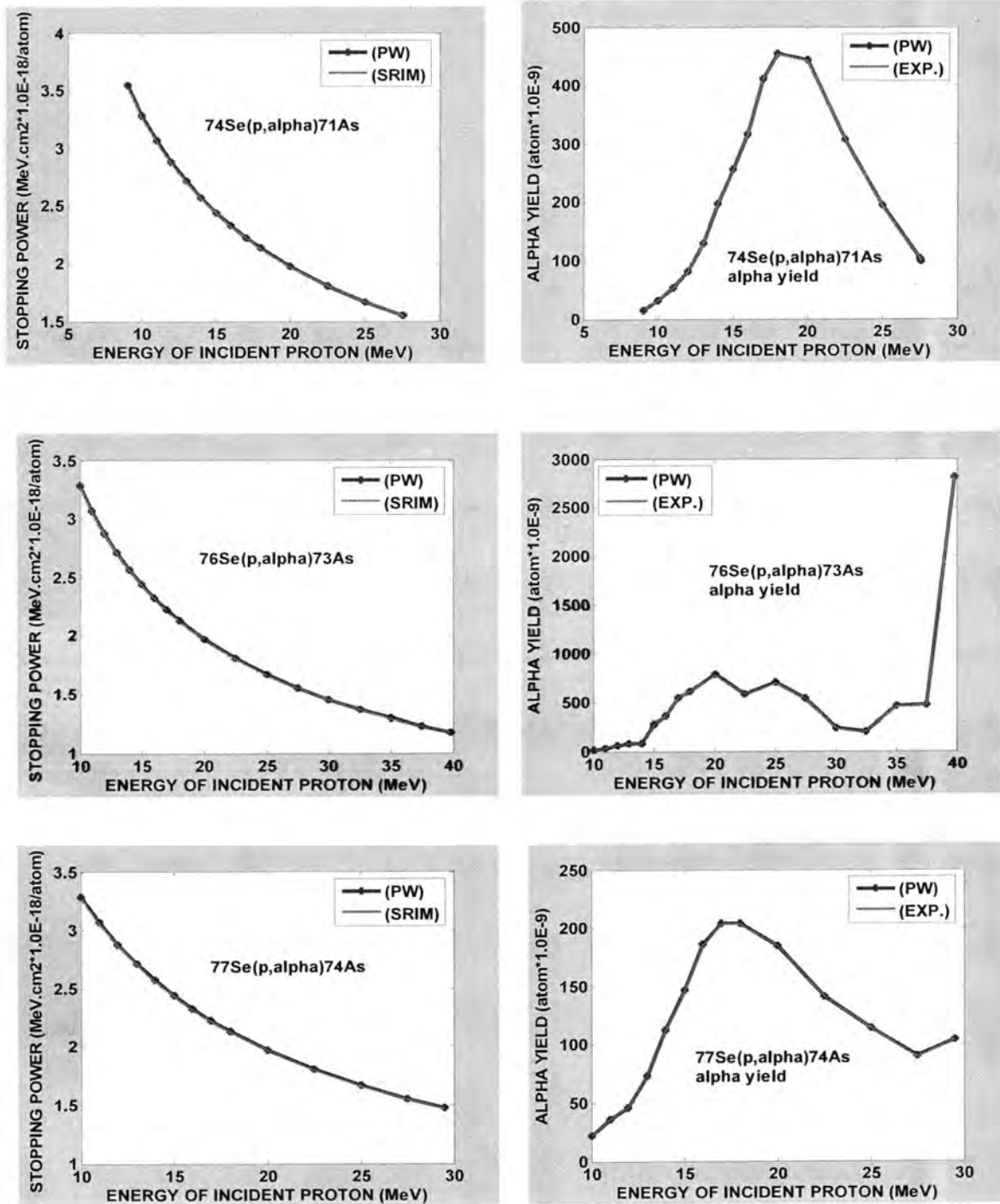


Fig.-7: Left side; the comparison between the calculated stopping power in the present work (pw) and SRIM (2003) of proton in the Ni. Right side; the alpha yield as calculated in the present work compared with experimental results based on the adopted cross section of the Se(p, $\alpha$ )As reaction.



## REFERENCES

- [1] Ahmed A.H., and Youhana H.M., "Empirical formula to Calculate n-Yields from ( $\alpha$ ,n) Reactions for  $^9\text{Be}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{23}\text{Na}$ , and  $^{27}\text{Al}$  the Light Element Targets", Nuclear Instrument and Methods in Physics Research A, 582, 287 (2007).
- [2] Ziegler J.F., "Handbook of Stopping Cross-Sections for Energetic Ions in all Elements", Pergamon Press, Oxford, 5, (1980).
- [3] Ziegler J.F., "Stopping and Ranges Elements", Helium Pergamum Press, Oxford, 4, (1977).
- [4] SRIM(2003)program, experimental results from the original work by: J.F.Ziegler, "The Stopping and Range of Ions in Matter", 2-6,Pergamon Press,(1977-1985).
- [5] Kaufman S., "Reactions of Protons with Ni-58 and Ni-60", Physical Review 117, 1532(1960).
- [6] Sudar S.,and Qaim S.M., "Excitation functions of some proton and deuteron induced reactions on iron and alpha- particle induced reactions on manganese in the energy region up to 25 Mev", Physical Review, Part, Nuclear Physics, 50, 2408 (1994)
- [7] Al-Abyad M.,Comsan M.N., and Qaim S.M., "Excitation functions of proton-induced reactions on natural Fe and enriched 57-Fe with particular reference to the production of 57-Co", Applied Radiation and Isotopes 1, 67,Issue. 122 (2009).
- [8] Lindhard H.H. and Schardff M., "Hydrogen Stopping Powers and Ranges in all Ellements", Phys.Rev, 124, 128 (1961).
- [9] Powers D. and Olson H.J., Phys.Rev, 73, 2271 (1980).
- [10] Beth H.A, Ann.Physik, 5, 325 (1930).
- [11] Lindhard J. and Winther A., Mat.Fys.Medd.Dan.Vid., Selsk, 34, (1964).
- [12] Ashely J.C., Ritchi R.H., and Brant W., Phys.Rev, B5, 2329 (1972).

- [13] Andersen H.H., and Ziegler J.F., "Hydrogen Stopping Powers and Ranges in all Elements", Vol.3, Pergamon Press, Oxford, 3 (1977).
- [14] Nukulin V. Ya., and Polukhin S.N., "Saturation of the Neutron Yield from megajoule Plasma Focus Facilities", Journal of Plasma Physics, 33 (4), 04 (2007).
- [15] Becturts K.H. and Wirtz K., "Neutron Physics", Springer (1964).
- [16] Norman E.B., Chupp T.E., Lesko K.T., and Schwalbac P., Nucl.Phys.A, 390, 561 (1982).
- [17] Feige Y., Olthman B.G., and Kasiner J., Geophys. Res. 73, 3135 (1968).
- [18] Knole G.F., "Radiation Detection and Measurement", John Wiley and Sones :90-92 (2000).

## Thermal Properties of Carbon Nano Tubes Reinforced Epoxy Resin Nano Composites

Bahjat B. Kadhim<sup>1</sup>, Faiza M. Salim<sup>2</sup> and Haider O. Muhsen<sup>1</sup>

1- Department of Physics, College of Science, University of Al- Mustansiriyah

2- Department of Physics, Opened Education College, Ministry of Education

Submitted : 05/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

تم دراسة الخواص الحرارية للمركبات النانوية لراتنج الأيبوكسي المدعمة بالأنانابيب الكربونية النانوية (CNTs). تم تدعيم راتنج الأيبوكسي ب (CNTs) نوع متعدد الجدران (MWCNTs) لتحضير المركبات النانوية بكسور حجمية مختلفة. استخدمت تقنية القلابة اليدوية لتحضير المركبات النانوية.

تضمنت الاختبارات الحرارية قياس التوصيلية الحرارية باستخدام تقنية قرص لي، واختبار معدل التعرية الحرارية باستخدام تقنية الشعلة الأوكسي - أستيلينية. تم حساب التوصيلية الحرارية نظرياً عن طريق عملية المحاكاة باستخدام Nielsen model. نفذت برامج المحاكاة لانتقال الحرارة بثلاثة أبعاد لأختبار التعرية الحرارية لنماذج مركبات الأيبوكسي النانوية باستخدام طريقة الفروقات المحددة.

بينت نتائج التوصيلية الحرارية بأن قيم التوصيلية الحرارية تزداد تعاقبياً بزيادة الكسر الحجمي للأنانابيب الكربونية النانوية متعددة الجدران (MWCNTs). يسلك معدل التعرية الحرارية سلوك معاكس، حيث يهبط عند الكسور الحجمية العالية ل (MWCNTs) بسبب مساعدتها في نقل الفيض الحراري أكثر من كون الأيبوكسي لوحده. قورنت نتائج أختبار التعرية الحرارية العملية ونتائج المحاكاة لفهم طبيعة التماسك بين مكونات المادة المركبة النانوية. وقد تضمنت هذه المقارنة الخواص المتنوعة المقاسة والمحسوبة عند كسور حجمية مختلفة للأنانابيب الكربونية النانوية متعددة الجدران.

### ABSTRACT

The effects of reinforcement of Carbon Nano Tubes (CNTs) on thermal properties of epoxy resin based composites was studied. Epoxy resin was reinforced with CNTs type multi-walls (MWCNTs) to prepare nanocomposites with different volume fractions. Hand lay - up technique was used to prepare the nanocomposites.

Thermal tests included thermal conductivity measurement by using Lees disc and erosion rate test by using oxy-acetylene flame technique.

Thermal conductivity is calculated theoretically via simulation operation by using Nielsen model. Simulation programs of heat transfer in three dimensions for erosion test of epoxy nanocomposites specimens were carried out using finite difference method.

Thermal conductivity results show that the values increase progressively by increasing of volume fraction of (MWCNTs ). Erosion rate behaves inversely, where it drops at high volume fractions of (MWCNTs ) because of there help to transfer heat flow more than epoxy was alone. Ablation test results of experimental work and theoretical simulation were compared to understand the nature of adhesion mechanism between components of nanocomposite material. This comparison included the variation of the above measured and calculated properties in different volume fractions of the (MWCNTs ).

---

## INTRODUCTION

Nanocomposites can be defined as a composite material in which at least one of the phases (mostly the filler) shows dimensions in the nanometer range. As the fillers size reach the nanometer level, the interactions at the interfaces become considerable large with respect to the size of the inclusion and thus the final properties show significant change [1]. A nano composite, like a traditional composite has two parts, filler and the matrix. A traditional composite typically uses a fiber such as carbon fiber or fiber glass as the filler, in a nano composite the filler is a nano material. Nano material ranges in size from 1-100 nm [2-3].

The classes of nanocomposites that will be used in this work are the carbon nano tubes nanocomposites with a thermosets polymer (epoxy) as a matrix. Iijima.S first observed carbon nanotubes while studying another class of macromolecules called fullerenes in 1991. Carbon nanotubes are made up of graphene molecules [4]. Nano tubes composed of a single layer of graphene are called single-wall carbon nanotubes (SWNTs), where as those that have concentric multiple layers of graphene are called multi-wall carbon nano tubes (MWNTs). Typically SWNTs have diameters of order 1 nm, and lengths of order 100 nm to several  $\mu\text{m}$ . MWNTs have much larger diameters of tens to hundreds of nanometers. Intermediate to these are the so-called few-walled carbon nanotubes (FWNT) that have only a few layers, such as double-wall carbon nanotubes (DWNT) [5].



**Fig. -1: Schematic of: (a) SWCNT, (b) DWCNT, and (c) MWCNT [1,5]**

The high thermal conductivity of single wall carbon nanotubes (SWNT's) makes them ideal for thermal management applications. To illustrate, in magnetic field aligned films of SWNT's, a value of 250 W/m-K has been measured at room temperature[6]. For single tubes, theoretical calculations of the thermal conductivity give even higher values of about 10,000 W/m-K[7]. The polymer matrix is epoxy resin, a term which is often applied to both the prepolymers and to the cured resins, is a type of polymer which contain reactive epoxy groups, in its prepolymer[8]. Epoxy is a thermosets polymer that forms a strong gridley cross linked network of polymer chains. Epoxy has been widely used in commercial applications with fiber glass, graphite, and aromatic fibers. Applications include: aircraft components, pressure vessels, rocket motor cases, and car bodies [9]. Advantages of the use of epoxy resin include: excellent adhesion, excellent mechanical properties (strength and stiffness), excellent chemical resistance, excellent weather resistance, low shrinkage and good corrosion protection [9, 10 and 11]. In recent years be done measure the thermal conductivity by using different methods for two type of carbon nano tubes by H. Zhong and Jennifer R. Lukes[12], M. Fujii et al[13], Moisala and A.[14], Jonathan O'Reilly[15] and Ana L. et al [16], the researchers found through that these properties changed with measurement method.

Applications of polymer nanocomposites depend on: matrix, nanofillers, etc. , automobile (gasoline tanks, bumpers, interior and exterior panels, etc.), Construction (shaped extrusions, panels), Electronics and electrical (printed circuits, electric components), Food packaging (containers, films), Cosmetics (controlled release of "active ingredients"), Dentistry (filling materials), Environment (biodegradable materials), Gas barrier (tennis balls, food and beverage packaging), flame retardant, military, aerospace and commercial applications [17].

The aim of this work is to determine the effect of volume fraction of carbon nanotubes (equivalent to volume percentage 0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4%) on the thermal conductivity, the ablation time and rate of epoxy-matrix nanocomposites. Calculate the thermal conductivity of composites by



using Nielsen models. Simulate the ablation test of these composites by using finite difference method to predict ablation time as well as ablation rate. Comparing the results of experimental work and theoretical simulation to assist the results of both of these methods to produce good thermal insulators.

## THEORETICAL APPROACH

Thermal conduction is the phenomenon by which heat is transported from high-to-low temperature regions of a substance. The property that characterizes the ability of a material to transfer heat is the thermal conductivity. It is best defined in terms of the expression [18]:

$$Q = -\lambda \frac{dT}{dx} \dots\dots\dots(1)$$

Where  $Q$  denotes the heat flux, or heat flow, per unit time per unit area (area being taken as that perpendicular to the flow direction),  $\lambda$  is the thermal conductivity coefficient, and  $dT/dx$  is the temperature gradient through the conductive medium. Equation (1) is valid only for steady – state heat flow, that is, for situations in which the heat fluxes do not change with time. In addition, the minus sign in the expression indicates that the direction of heat flow is from hot to cold, or down the temperature gradient.

Heat is transported in material by both lattice vibration waves (phonons) and free electrons. A thermal conductivity is associated with each of these mechanisms, and the total conductivity is the sum of the two contributions.

Non- metallic materials transfer heat by lattice vibrations so that there is no net motion of the media as the energy propagates through [19]. To measure the thermal conductivity methods are used depending on the nature of the substance under investigation. The poor conductor measurement by Lee's disc method.

Lee's disc has determined the conductivity of small thin disc of material by a method, which is applicable over a wide range of temperatures [20]. The arrangement is shown in Fig. 2. The substance S was contained between two copper discs B and A, and the heater between B and a third copper disc C. The temperatures of all the copper discs were measured by thermometer.

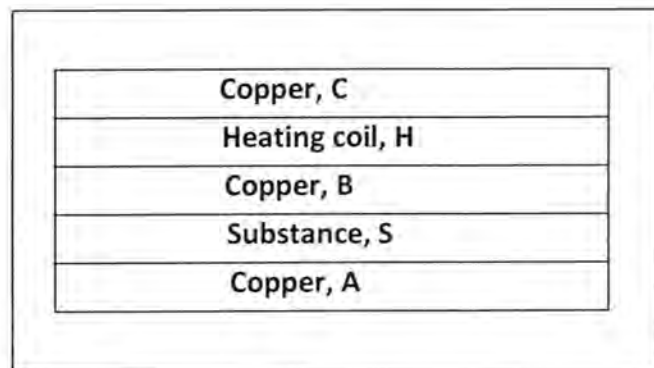
When the discs had been assembled they were varnished to give them the same emissivity, and the whole apparatus was suspended in an enclosure of constant temperature.

It can be obtained  $Q$  in terms of  $IV$ , since the total heat supplied must be equal to that given up by the various surfaces:

$$Q = \frac{IV}{\pi r^2 (T_c + T_A) + 2\pi \left[ d_A T_A + \frac{d_s}{2} (T_A + T_B) + d_B T_B + d_c T_c \right]} \dots\dots\dots(2)$$

So, thermal conductivity coefficient becomes:

$$\lambda = \left( \frac{Qd_s}{T_B - T_A} \right) \left[ T_A + \frac{2T_A}{r} \left( T_A + \frac{d_s}{4} \right) + \frac{d_s T_B}{2r} \right] \dots\dots\dots(3)$$



**Fig.-2: Schematic arrangement diagram of Lee's disc method [20].**

The thermal conductivity however depends on the shape, orientation and distribution of particles or fibers in the matrix and falls between an upper bound is given by:

$$\lambda_c = \lambda_m V_m + \lambda_A V_A \dots\dots\dots(4)$$

and a lower bound is given by

$$\lambda_c = \frac{\lambda_m \lambda_A}{V_m \lambda_A + V_A \lambda_m} \dots\dots\dots(5)$$

The upper bound represents additives that are totally aligned in the direction of the measured thermal conductivity and have the length of the specimen while the lower bound represents additives that are totally aligned in the opposite direction of the measured thermal conductivity and have the length of the specimen. Different models were suggested to predict the exact thermal conductivity of a composite [21], same of these models is Nielsen Model which was used in this study [22]:

$$\frac{\lambda}{\lambda_m} = \frac{(1 + AB\phi)}{(1 - B\psi\phi)} \dots\dots\dots(6)$$

Where:

$$B = \frac{\lambda_f / \lambda_m - 1}{(\lambda_f / \lambda_m + A)}$$

$$\psi = 1 + [(1 - \phi m) / \phi m^2] \phi$$

$\phi$  : Volume fraction of additives,  $\phi m$ : maximum volume fraction,  $A$ : geometry of additives.

Ablation phenomena is defined as; the degradation, decomposition, and erosion of a material caused by high temperature, pressure, time, percent oxidizing species, and velocity of gas flow.

Also, ablative plastic, is defined as; a material that absorb heat (with a low material loss and char rate) through a decomposition process (pyrolysis) that takes place at or near the surface exposed to the heat [23].

In the ablation process the high heat fluxes are dissipated by the material through a series of endothermic processes that finally lead to the loss and the consumption of the material itself. The working process of an ablative heat shield can be briefly summarized as follows: the ablative material keeps the surface temperature within a certain range, and as a consequence an increase of the heat flux will not cause a consistent temperature raise, but will cause an increase of the surface "recession rate". Therefore, important parameters in the choice of a suitable ablator are the ablation temperature (the temperature at which the material degradation begins) and the density [24]. The most significant properties of an ablative material are specific heat, thermal conductivity, and density. In particular, the density is characterized by a lower limit dictated by the necessity of a low recession rate, and an upper limit dictated by the light weight requirements of all the aerospace parts. Furthermore, the degradation of an ablative material has to be an endothermic reaction, yielding a fair amount of gases. Such different properties are barely attained by a single material. Ablative materials have matrix and fillers, each of them contributing to different properties. In general, the degradation reaction affects mainly the matrix. In fact, most of the matrices of ablative materials are made out of polymers, taking advantage of the highly endothermic nature of polymer degradation in non-oxidative atmospheres, and of their many good properties such as low density, low thermal conductivity, high specific heat, in addition to excellent mechanical properties. In summary, the polymeric constituent in an ablator basically has to accomplish two functions, first it degrades thereby absorbing energy, and second it serves as a binder for the other components. The most commonly used resins are phenol formaldehyde, epoxies, silicones, and polytetrafluoroethylene ablation [24].

The ablation rate for ablative materials was calculated by dividing the original thickness of the specimen by the time to burn through as follows [25]:

$$A_r = \frac{d_s}{b_t} \dots \dots \dots (7)$$

Where:  $A_r$  : ablation rate,  $d_s$  : Thickness of Specimen, and  $b_t$  : burn through time, while the insulation index was calculated by using the equation below:

$$I_T = \frac{b_t}{d_s} \dots \dots \dots (8)$$

Ablative test was measured by three type's technique: (i) Static Rocket test motor experiment, (ii) Laser ablation test and, (iii) flame test [25], which was used in this work.

## SIMULATIO APPROACH

Partial differential equations are encountered in many branches of physics and engineering in which more than one dimension exist in the differential equations. Heat transfer equation is example of partial differential equations. The equation is transformed to ordinary differential equations when it becomes one dimensional only. Numerical solution of partial differential equation is an important class of solution since many of the above equations cannot be solved analytically. Scientists prefer finite difference method (FDM) since basic scientific experiments do not contain difficult geometries [26]. Finite difference method relays on using difference approximations to be substituted in the partial differential equations. Heat transfer equation in Cartesian coordinate is given by[27]:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \frac{\lambda}{\rho c} \left( \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right) + Q \dots \dots \dots (9)$$

Where  $T$  is the temperature,  $t$  is the time,  $x, y, z$  are the rectangular coordinates,  $\lambda$  is the thermal conductivity coefficient,  $\rho$  is the density,  $c$  is the specific heat, and  $Q$  is the latent heat of phase transformation. The finite difference equation of heat transfer using explicit method [28] is:

$$\begin{aligned} T(x, y, z, t + \Delta t) = T(x, y, z, t) + \frac{\lambda \Delta t}{\rho c} & \left( \frac{T(x + \Delta x, y, z, t) + T(x - \Delta x, y, z, t) - 2T(x, y, z, t)}{\Delta x^2} \right. \\ & + \frac{T(x, y + \Delta y, z, t) + T(x, y - \Delta y, z, t) - 2T(x, y, z, t)}{\Delta y^2} \\ & \left. + \frac{T(x, y, z + \Delta z, t) + T(x, y, z - \Delta z, t) - 2T(x, y, z, t)}{\Delta z^2} \right) + Q \Delta t \dots \dots \dots (10) \end{aligned}$$

Heat can be also transferred by convection or radiation that occurs generally at the boundary of the simulated piece. These methods can be used to fix the boundary problem and can be described by the following equations [29]:

$$Q = hA(T_w - T_\infty) \dots \dots \dots (11)$$

For convection heat transfer and:

$$Q = F_\epsilon F_G \sigma A (T_1^4 - T_2^4) \dots \dots \dots (12)$$

For radiation heat transfer where:  $h$  is the convection heat transfer coefficient,  $Q$  is the amount of energy transferred per unit time,  $A$  is the surface area,  $T_w$  is the surface temperature,  $T_\infty$  is the temperature of the fluid  $F_\epsilon$  is the emissivity function,  $F_G$  is the geometric function,  $\sigma$  is the Stefan-Boltzmann constant,  $T_1$  is the temperature of the radiating body and  $T_2$  is the temperature of the irradiating body.



In this study a simulation of the ablation of three-dimensional square insulators according to ASTM E285 - 80 standards is performed. The thermal properties of the insulator are known. This insulator is subjected to an oxy-acetylene flame of 2773 – 3273 K. The simulation also supposes a certain temperature at which the insulator is removed by gravity or the mechanical effect of the flame [30].

## MATERIALS AND METHODS

The experimental work is divided into three parts. The first part includes specimen preparation for five groups (pure epoxy, 0.1 vol. %, 0.2 vol. %, 0.3 vol. %, and 0.4 vol. %). The second part includes two empirical tests: the first set of tests includes the thermal conductivity coefficient measurement using Lee's disc method; the second set of tests includes ablative test using flame technique. The third part includes a computer simulation for ablative test using finite difference method.

The polymer (Epoxy Resin), designated (EPO- 105) in the form of liquid used in this work. The required (EPO- 105) of 300 gm was mixed with 150 gm Hardener. Hardener was mixed thoroughly until a homogenous state of the mixture was obtained. Added were used as reinforcing materials for epoxy resin composites, these added are carbon nanotubes type.

Preparation of epoxy resin composites specimens included mixtures preparation by hand mixing method. Mixtures preparation includes the preparation of epoxy specimens; carbon nano tubes composites specimens by using hand lay-up method, Specimens preparation according to standard methods for thermal conductivity test, Lee Disc B.S-Griffin-George LTD and Ablative test, ASTM E- 285-80[30, 31].

Thermal conductivity coefficient of specimens was measured by using Lee's disc method principle [20]. Thermal conductivity was then calculated according to equation (3). The average of three measurements was taken for each specimen to minimize the possible errors. Thermal conductivity was calculated theoretically in three directions using Nielsen Model [21].

The ablative test was carried out by using flame test method. This test was done according to ASTM - E – 285 – 80 [30]. By this test, ablation rate ( $A_r$ ) was determined. The ablation rate for each specimen was calculated using the equation (7). The average of the three measurements was taken for each specimen to reduce error.

Simulation programs of heat transfer in three dimensions of ablative test for five groups of epoxy nano composites were carried out using finite difference method. The program was written in FORTRAN90 language using a computer type Pentum4. The program was starting to solve heat conduction equation in three dimensions (10) and equations (11) and (12) for the boundaries.



## RESULTS AND DISCUSSION

Thermal properties results were shown in Figures 3, 4, 5 and 6. Influence of CNTs vol. % (empirical and simulation) on thermal conductivity of epoxy matrix was shown in Figure 3. Reinforcement by CNTs leads to increase thermal conductivity values with the increasing vol. %. This increment was depending on direction of CNTs with respect to heat flux and its type, which was MWCNTs. Generally, direction of CNTs (parallel, perpendicular, and random ) and interface between the matrix and CNTs was clearly observed on these values of thermal conductivity. Influence of interface between the matrix and the reinforcement materials was clearly observed on thermal conductivity. Figure (3) shows the influence of (MWCNTs) vol. % and the direction of (MWCNTs) by simulation; theoretical parallel direction (Theo. PAR dir.), theoretical perpendicular direction (Theo. PER dir.), and theoretical random direction (Theo. RAN dir.), on the thermal conductivity of epoxy matrix and its comparison experimental random direction results. From the Figures it can be seen, that the values of experimental results (EXP. RAN. dir.) were located between parallel direction and random direction of (MWCNTs) with respect to heat flow direction. That can be explained as; most of (MWCNTs) were aligned in parallel direction of heat flow supplied which is led to high value of thermal conductivity. Interfaces in nanotube/ polymer composites as well as concentration of defects in the multi-walled carbon nanotubes are known to affect the thermal conductivity. The influence of the nanoscale structure of the tube, the structure of the nanocomposite, and properties of the nanotube/matrix interface will affect the bulk thermal conductivity.

Figure 4 shows a comparison of influence of CNTs volume fraction on the erosion rate of epoxy matrix of simulation operation (SIMU.) with that of the experimental (EXP.) results of oxy-acetylene torch. It can be seen from the Figure that the erosion rate of experimental values is lower than simulation values. Figure 4 can be explained by assistant of Figures 5 and 6 which is shown the temperature distribution after (13.40 and 23.37) seconds when CNTs of 0.1.% and 0.4 % volume fraction is punctured by simulation operation of oxy-acetylene torch respectively. In there Figs, it can be seen three temperature distribution regions (0 – 1000, 1000 – 2000, and 2000 – 3000) °C. Figures of simulation (5 and 6) can be explained by using ablation mechanism; The good ablative characteristics of the resins under study may also be due to the fact that reinforcing MWCNTs may act as a heat dissipater or provide a much better network for transferring heat in a random manner. This may divert the heat path away from the targeted direction much more than the uncomposited resin would do. Hence the MWCNTs network will actually act as an additional heat barrier. At the same time it will act as a mechanical stabilizer to the charred layers, which

protect this porous layer. Thus, will hinder the erosion process and in turn enhance the insulation process by maintaining the thickness of these layers. Moreover, in the ablation process the high heat fluxes are dissipated by the material through a series of endothermic processes that finally lead to the loss and the consumption of the material itself. The working process of an ablative heat shield can be briefly summarized as follows: the ablative material keeps the surface temperature within a certain range, and as a consequence an increase of the heat flux will not cause a consistent temperature raise, but will cause an increase of the surface "recession rate". During ablation, some pyrolytic deposition of carbon from the  $\text{CH}_4$  or other gases in the outer portions of the char can contribute to the strength and resistance to mechanical removal from the flow field. The char is a thermal insulation; the interior is cooled by volatile material percolating through it from the decomposing polymer. During percolation, the volatile materials are heated to very high temperatures with decomposition to low molecular weight species, which are injected into the boundary layer of gases. This mass injection creates a blocking action, which reduces the heat transfer to the material. Thus, a char-forming resin acts as a self-regulating ablation radiator, providing thermal protection through transpiration cooling and insulation. Ablation of the char occurs by sublimation of carbon and oxidation in the boundary layer with concomitant vaporization. In epoxy resins, pyrolysis reaction is found to occur in three general processes: (1) low temperature out gassing of free epoxy present in the resin material, (2) formation of water from post-cure reaction at 423 K – 673 K, and (3) thermal fragmentation of the polymer structure above 803K, to yield lower molecular weight species, which evolve, with hydrogen gas, as the primary product (in the absence of oxygen) at 973 K, and above. Epoxy compounds provide high char yield, low oxygen to minimize CO and  $\text{CO}_2$  formation, and many carbon – hydrogen bonds, which provide the evolution of  $\text{H}_2$  and  $\text{CH}_4$  for transpiration cooling. The epoxy resin has good forming characteristics; good adherence to the CNTs, and strength in the composite, and it form a char that adheres well to the CNTs reinforcements.

### **We can conclude**

1. Reinforcing of epoxy resin with CNTs has Improved the ablation and thermal properties of nanocomposites in different volume percent, depending on distribution of CNTs.
2. The thermal conductivity increased linearly with nanotube concentration to a maximum increase of 40% at 0.4 vol.% carbon nanotubes.
3. Results of ablation have been shown in CNTs had better than results of macroscopic carbon fibers.

4. From simulation results it can be seen that there was high influence of CNTs direction with respect to thermal flux, on thermal conductivity values.
5. Simulation results of ablation show that the best values of erosion are for 0.4 vol. % groups with respect to CNTs nanocomposites, which agree with experimental results.

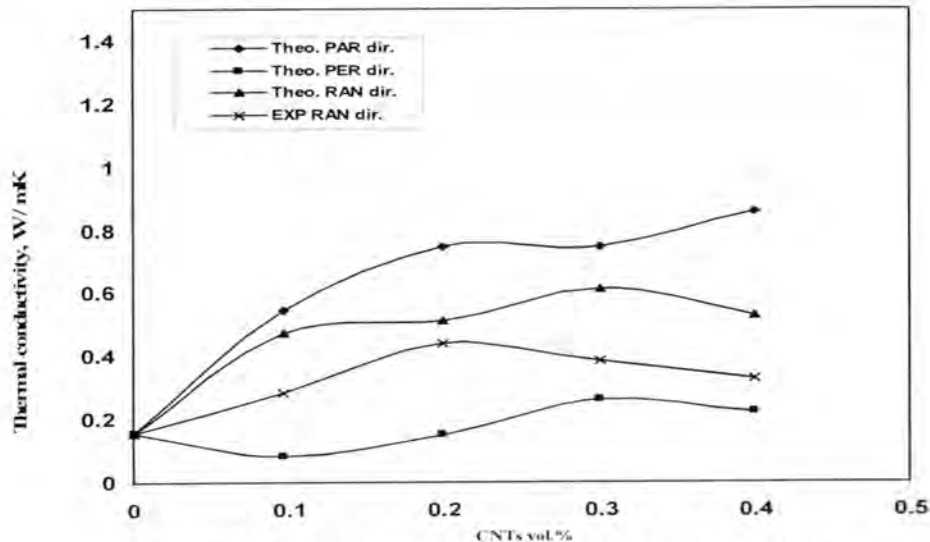


Fig.3: Influence of CNTs vol% and direction on the thermal conductivity of epoxy of simulation results and its comparison experimental random direction results.

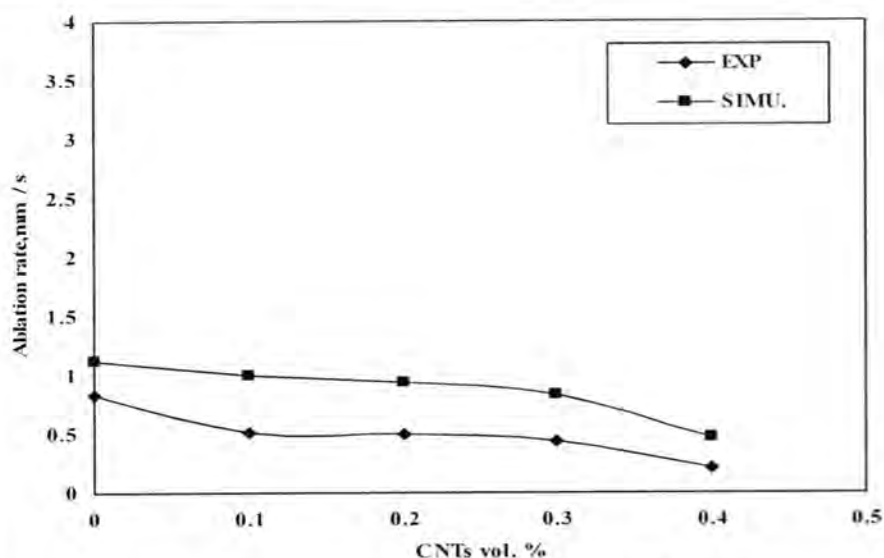
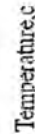
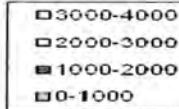


Fig.4: Comparison between influence of CNTs volume fraction on the erosion rate of epoxy by simulation operation and the experimental results.



Temperature, °C



287



## REFERENCES

1. Cihan Uzunpinar, "Effect of Dispersion of Swents on the Viscoelastic and Final Properties of Epoxy Based Nanocomposites", M. Sc. Thesis, Graduate Faculty of Auburn University, (2010).
2. J. Robertson, "Realistic applications of CNTs," *Materials Today*, vol. 7, pp. 46-52, (2004).
3. L. Bokobza, "Multiwall carbon nanotube elastomeric composites: a review", *Polymer*, vol. 48, pp. 4907-4920, (2007).
4. Anuraga Kosuri, "Alignment of Carbon Nanotubes in Composites", M.Sc. Thesis, the Florida State University, College Of Engineering, (2005).
5. Mateusz B. Bryning, "Carbon Nanotube Networks in Epoxy Composites and Aerogels", PhD Thesis, University Of Pennsylvania, (2007).
6. Hone and J., *Appl. Phys. Letters* 77, 666, (2000).
7. Berber and S. *Phys. Rev. Lett.* 84, 4613, (2000).
8. L. L. Clements and R. L Morre, *Composites*, 3, 93, (1979).
9. Bower, Mark V.E; "Composite Materials"; the University of Alabama in Huntsville, Huntsville-Alabama, Copyright, USA, (2000).
10. Callister, William D; "Material Science and Engineering, An Introduction"; Sixth Edition, Department of Metallurgical Eng., The University of UTAH, John Wiley & Sons, Inc., USA, (2003).
11. Bolten, W; "Engineering Materials Technology"; Third Edition, Wiley & Sons Inc, (1993).
12. Hongliang Zhong and Jennifer R. Lukes, "Thermal Conductivity Of Single-Wall Carbon Nanotubes", Department of Mechanical Engineering and Applied Mechanics, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, 19104-6315, Proceedings of IMECE04 2004 ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition , Anaheim, California USA, November 13-20, (2004).
13. Motoo Fujii, Xing Zhang, Huaqing Xie, Hiroki Ago, Koji Takahashi, Tatsuya Ikuta, Hidekazu Abe, and Tetsuo Shimizu, "Measuring the Thermal Conductivity of a Single Carbon Nanotube", Institute for



Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University, Kasuga 816-8580, Japan, PRL 95, 065502, (2005).

14. Moisala and A., "Thermal and electrical conductivity of single- and multi-walled carbon nanotube-epoxy composites", *Composites Science and Technology*, 66(10): p. 1285-1288, (2006).
15. Jonathan O'Reilly, "Epoxy/Single-Walled Carbon Nanotube Nanocomposites and Thin Films", *Biomedical Science*, c/o 2008 Texas A&M University,(2008).
16. Ana L. Martinez-Hernandez, Carlos Velasco-Santos and Victor. M. Castaño, "Carbon Nanotubes Composites: Processing, Grafting and Mechanical and Thermal Properties", *Centro de Fisica Aplicada y Tecnologia Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Boulevard Juriquilla 3001, Santiago de Querétaro, Querétaro, 76230, México, Current Nanoscience*, , 6, 12-39,(2010).
17. Polymer Nanocomposites Master In Nanoscience Low Dimensional Systems and nanostructures January 24<sup>th</sup> ,(2008).
18. M.W. Zemanesky; "Modern University Physics", Addison Wesley Publishing Company, New York, (1972).
19. C. Kittel; "Introduction to Solid State Physics", John Wiley and Sons Inc., New York, (1976).
20. E.Grimsehi; "A Text Book of Physics", Vol.2, Blackie and Sons, London, (1944).
21. Van Vlack, "Materials Science for Engineers", Addison-Wesley Publishing Co., London, (1976).
22. B.P.Philips,"Technical paper", Dexter, Dow Chemical Co.,U.S.A.,(1999).
23. G.Lubin, "Hand Book of Advanced Plastics Composites", Litton Educational Co., New York, (1969).
24. E. L. Strauss, "in Aspect of Polymer Degradation and Stabilization", edited by H. H. G. Jellinek, (Elsevier, New York), p. 528, (1978).
25. R.Srinivasan and V.Banton, "App. Phys. Lett.", Vol.41, P576, (1982).
26. M.Rappaz, "International Materials Review", Vol.34, No.3, P 131, (1989).

27. E.Schmid, G.Spitz and W.Losch, "Theoretical Physics on the personal computer", Springer-Verlag,(1989).
28. J.P.Hallman, "Heat Transfer ", McGraw Hill, New York, (1982).
29. A.Bejan,"Heat Transfer", John Wiley and Sons, England, (1993).
30. ASTM, "Annual Book of ASTM Standard", Section 12-Plastic, Vol. (08.01), Easton, M.V.S.A, (1996).
31. ASTM, "Annual Book of ASTM Standard", Section 8-plastic, Vol. (8.02), Easton, M. V. S. A, (1985).

## A Least-Squares Polynomial Fitting to Simulate Cross Section Variations in Cd-106

\*Iman Tarik AL-Alawy, \*\*Radhi H.AL-Taweel and \*\*\*Dheyaa A.Nassrullah

\*Department of Physics, College of Sciences, AL-mustansyriyah University.

\*\*Department of Physics, College of Education, AL-mustansyriyah University.

\*\*\*Ministry of Sciences and Technology, Department of Physics.

Submitted : 03/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

تم تحليل البيانات الاحصائية للوكالة الدولية للطاقة الذرية مثل مكتبات ENDF, EXFOR لتقييم البيانات الاحصائية للمقاطع العرضية التجريبية لنظير الكاديوم Cd-106 لعنصر هدف سميك لتعين المقاطع العرضية للتفاعلات النووية والتي تمتلك مدى من الطاقات يبدأ من طاقة العتبة والمستحثة بواسطة النيوترونات لنظير الكاديوم Cd-106. ثم تمثيل العلاقة بين المقطع العرضي والطاقة بالاعتماد على كثيرة الحدود ذات الدوال المتعامدة مع الاخذ بنظر الاعتبار مقدار اللاتحديد للمقطع العرضي. حيث تم حساب المعدل الموزون في المنحني المقترح بالاعتماد على قيم اللاتحديد باستخدام ثلاثة طرق (خطأ المعدل الموزون والخطأ المطلق والخطأ الكلي). حيث تم تحديد القيم المختارة للوزن المعدل للمقطع العرضي الخاص بكل قيمة لللاتحديد.

### ABSTRACT

The data were statistically analyze to the International Atomic Energy Agency(IAEA) like EXFOR and ENDF Libraries, to be assess the statistical data of the experimental cross section for isotope cadmium Cd-106 of a thick target element, to appoint cross sections of nuclear reactions. That have energy range starting from threshold energy for induced neutrons in the isotope cadmium Cd-106. The relation shape between cross section and energy has been represented depending on least squares polynomial orthogonal taking into consideration the amount of cross section uncertainties. Weight average was calculated relay on uncertainties by using three method (the weight mean error, the absolute error, and the sum error) an estimate of the adopted values the weighted average cross sections and their respective uncertainties are also given.

### INTRODUCTION

Cross sections of induced neutron reactions are necessary in applications, e.g. activation detectors (also known as radio chemical

detectors) used to prob energy components of a neutron fluence . A great deal of effort has been devoted to the development of techniques to measure cross sections neutron spectra and fluences in diverse areas of research [1-10]. In all the established methods used to measure the neutron spectra based on the threshold reaction

$(n,2n), (n,abs), (n,el), (n,g), (n,n+p), (n,p), (n,a), (n,d), (n,he3), (n,inl), (n,n+a), (n,t)$  and  $(n,tot)$  reactions for Cd-106 is the application of threshold detectors. Table (1) describe the Q-values and threshold energies for these reactions. In all of these applications the energy dependent reaction cross sections and the spectrum weighted integral cross sections , are of basic importance.

The goal of this work is to evaluate statistically the existing experimental neutron cross sections data available in Atomic Energy Agency (IAEA) Like EXFOR and ENDF Libraries for Cd-106 in the energy range starting from threshold energy. Considering in this review most known existing data in the international Atomic Energy Agency (IAEA). The compilation and recommendation of the considered cross sections have been made in two groups. The first group, is to justify the availability of cross section data which have been considered and reviewed in the EXFOR library by different authors [11-17], the second group is the cross section data which have been evaluated in the ENDF/B-VII library.

The use of computerized statistical fitting procedure of the final results is made in simple principal features of this study .The treatment of the experimental data used as input for the analysis , and the method used to analyze the data and their related uncertainties of this work have been placed on the statistical fitting of the experimental data by mean of a weighted Least-squares orthogonal polynomial fitting yielding fitted excitation curves for adopted cross section values together with an estimate of their point-wise. This method treat the uncertainties attached to the data , whether their origin is systematic or random , in a purely statistical way. The data , and specifically the uncertainties assigned to the data, are not always specified by the authors as being either systematic or statistical , at best one single error is usually given . Thus, the results given in this work ,viewed the considerations of the uncertainties attached to the recommended adopted values.

## MATERIALS AND METHODS

All collected data sets from EXFOR library were classified according to measurement type , into the following catigores:

- a) The original cross section measerment values have been used in this work. These unmodified data were used for the inout in the program.
- b) The error on the cross section data plays an essential part in assigning the statistical weight to each data input point by the fitting program.

- c) The numerical data of these experiments were not available in tabular form, and because of the widely differing modes of error analysis, it has not been possible to separate systematic from statistical errors. Thus, the overall errors assigned by the experimenters have been used as input in the program.
- d) The effect of error which stemmed from the uncertainties of the standards used in the initial normalization could not be taken into account in all cases because the errors originally have been given to the measured data.
- e) The sets of experimental cross sections data collected for different authors with different energy intervals. These data are rearranged according to the energy interval 0.01 MeV.
- f) The orthogonal polynomial fitting for the energy interval 0.01 MeV to the corresponding cross sections with their errors is programmed using matlab 7.0
- g) The interpolation have been calculated to obtain the adopted cross section data were weighted according to least squares of the absolute error, the weight mean error, and the sum error as shown in table (2) and (3) for EXFOR and ENDF library respectively.

### Description of the considered data

#### (1) Data from EXFOR Library

A brief description of each individually considered data set is given below for Cd-106 for each reaction for the EXFOR Library:

##### (a) $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$ reaction

The sets of measured data for the cross sections of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$  reaction reported by Filatenkov A.A. and Chuvaev(2001) [11a], Filatenkov A.A. et al.(1999)[12], Konno C. et al.(1993)[13a] have been plotted, interpolated and recalculated in steps of 0.01 MeV. Starting from minimum induced neutron energy shown in table (2) the measured data and the calculated adopted cross sections result are shown in figure (1).

##### (b) $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,abs)$ reaction

The cross sections data published by Razbudej et al.(1977) [14] for this reaction have been plotted, interpolated and recalculated in steps of 0.01 MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table(2). Of



the incident neutron energy in order to obtain the adopted cross sections of this reaction. The results of adopted cross sections and the experimental results for the authors mentioned above are shown in figure (1).

**(c)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, el)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$  reaction**

The measured data for the cross sections of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, el)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$  reaction, for this reactions on  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$  by neutron bombardment reported by Popov A.B. and Samosvat G.S.(1985)[15] have been plotted, interpolated, and recalculated in steps of 0.01 MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table (2). These results with the calculated adopted cross sections are plotted as a function of neutron energy as shown in figure (1).

**(d)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, \gamma)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$  reaction**

The measured data for the cross sections of the  $^{106}_{48}\text{Cd}(n, \gamma)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$  reaction for the  $\gamma$ - Gamma emission reactions on  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$  by neutron bombardment reported by Musgrove L.de A. R.(1978)[16] have been plotted , interpolated, and recalculated in fine steps of 0.01 MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table(2). In order to calculated adopted cross sections are plotted as a function of neutron energy as shown in figure (1).

**(e)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, n + p)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction**

The measured data for the cross sections of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, n + p)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  , reaction are reported by Filatenkov A.A. and Chuvaev S.V.(2001)[11b], Konno C. et al.(1993)[13b], Filatenkov A.A. and Chuvaev S.V.(2001)[11c]. These data have been plotted interpolated and recalculated in steps of 0.01MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table(2) .The measured data and the calculated adopted cross sections results are drawn as a function of incident neutron energy as shown in figure (1).

**(f)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, p)^{106}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction**

The measured data for the cross sections of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, p)^{106}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction are reported by Bormann M.et al.(1968)[17] only. These data have been plotted interpolated and recalculated in steps of 0.01 MeV starting from minimum induced neutron energy shown in table(2) . The measured data and the calculated adopted cross sections results are drawn as a function of incident neutron energy as shown in figure (1).

**Table -1: Q-Value and threshold energy of Cd-106 target element for reaction**

Target	Reaction	Q-Value(MeV)	Threshold Ene. (MeV)
$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$	-10.8737	10.9773
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,abs)$	-	-
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,el)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$	0.0	0.0
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,\gamma)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$	7.92366	0.0
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,n+p)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$	-7.3535	7.4235
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,p)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$	0.5872	0.0
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,a)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$	5.99301	0.0
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,d)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$	-5.1289	5.1778
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,he3)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$	-15.7560	17.3436
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,inl)$	-	-
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,n+a)^{102}_{46}\text{Pd}_{56}$	-1.63234	1.64789
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,t)^{104}_{47}\text{Ag}_{57}$	-8.89959	8.98438
	$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,tot)$	-	-

**Table-2: Fitting Parameters according to the weighted Least- Squares Polnomial based on the EXFOR Library.**

Reaction	$E_n$ (min) MeV	$E_n$ (max) MeV	n	k	Remark
$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$	12.302	17.702	55	39 36 38	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,abs)$	8E-8	1E-7	2	1 1 1	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,el)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$	0.001	0.251	2500	18 25	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro.

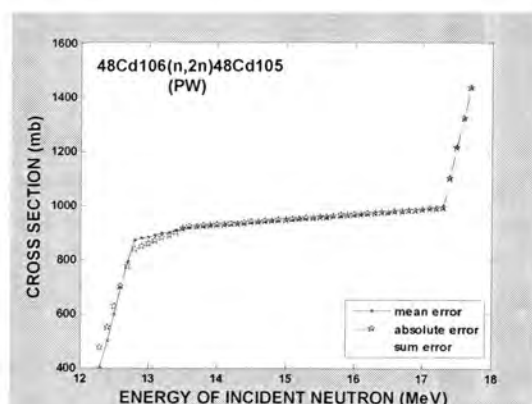
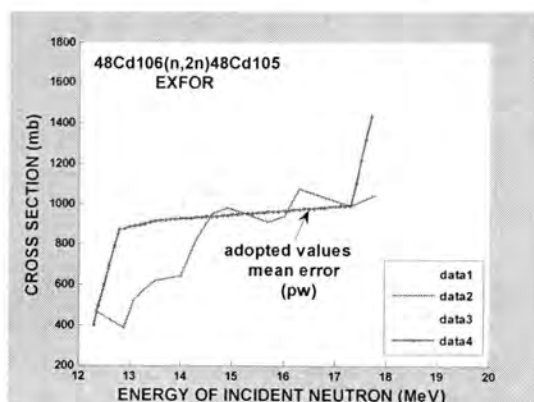
# A Least-Squares Polynomial Fitting to Simulate Cross Section Variations in Cd-106

Imaf, Radhi and Dheyaa

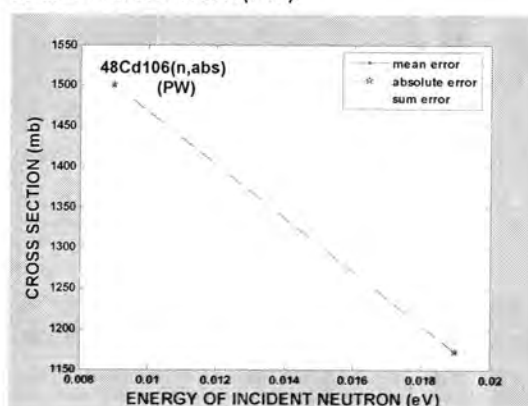
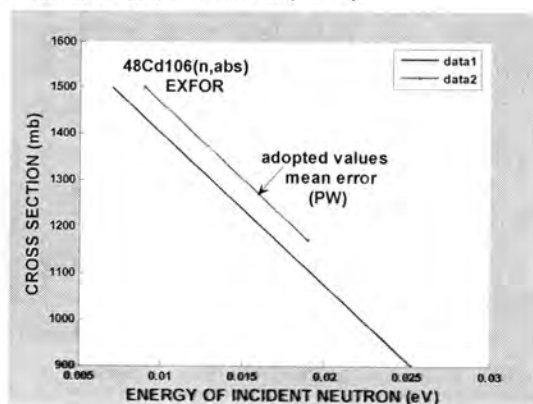
				23	Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,\gamma)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$	0.003	0.174	1714	60 21 21	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,n+p)^{105}_{47}\text{Ag}$	13.562	14.862	14	13 10 10	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.
$^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,p)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$	12.782	19.282	66	21 10 10	Data were weight according to the Least-Squares of the weight mean erro. Data were weight according to the Least-Squares of the absolute erro. Data were weight according to the Least-Squares of the sum erro.

n-Total number of input data point

k-Degree of fitting

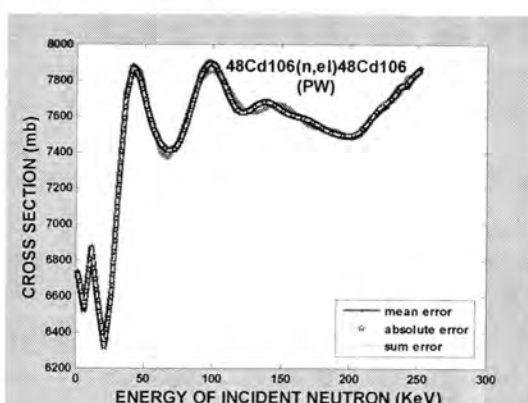
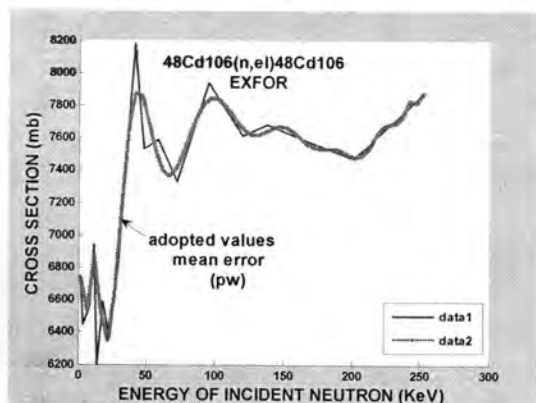


Data1:[11a]Filatenkov A. A. and Chuvaev S.V.(2001). Data2:[12]Filatenkov A.A. et al.(1999).  
Data2:[13a]Konno C.et al.(1993). Data4: Present Work (PW).



Data1:[14]Razbudej et al.(1977).

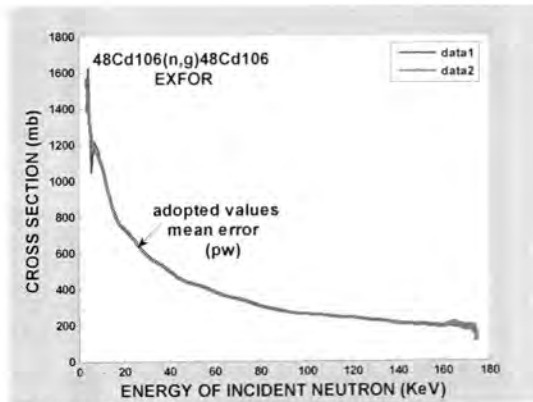
Data2:Present Work (PW).



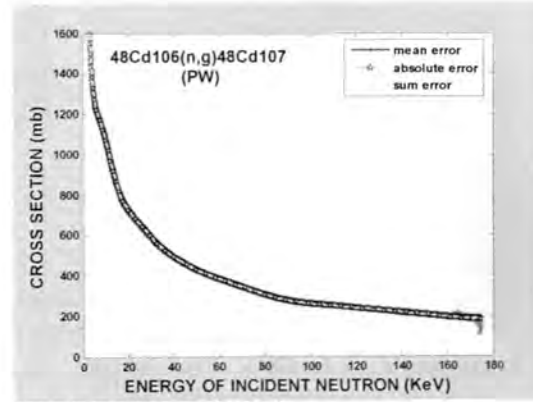
Data1:[15]Popov A.B. and Samosvat G.S.(1985).

Data2:Present Work (PW).

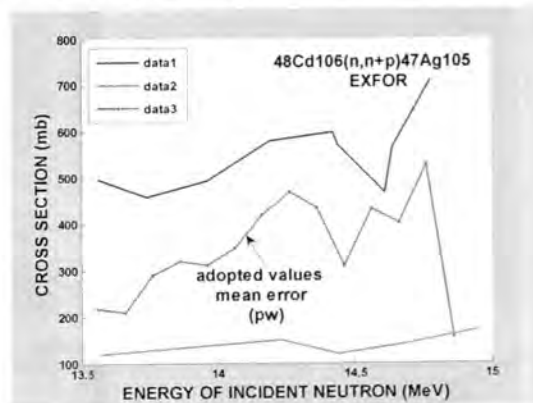
**Figure-1:**The adopted cross sections of (n,2n),(n,abs),(n,el),(n,g),(n,np)and (n,p) reactions for Cd – 106 as calculated by the present work according to the weighted Least-Squares polynomial on the EXFOR Library.



Data1:[16]Musgrove A.R.L.DE(1978).

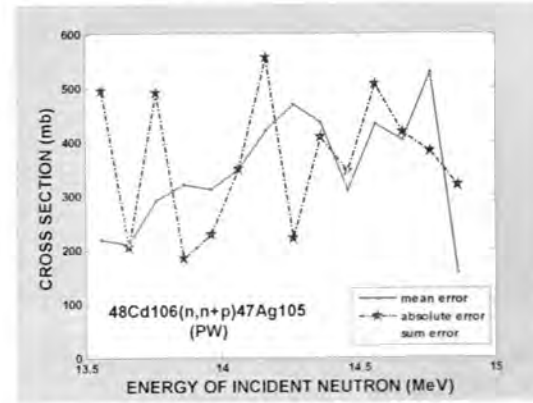


Data2:Present work (PW).



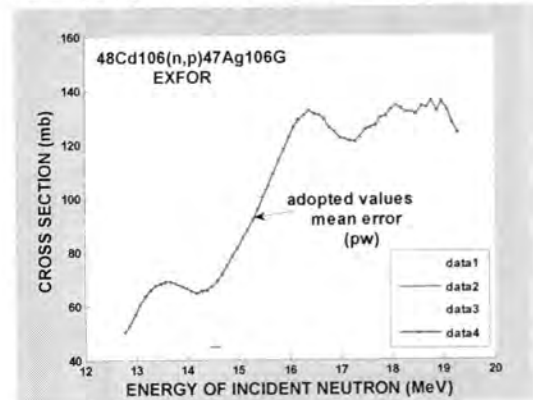
Data1:[11b]Filatenkov A.A.and Chuvaev S.V.(2001).

Data3:[11c]Filatenkov A.A.and Chuvaev S.V.(2001).

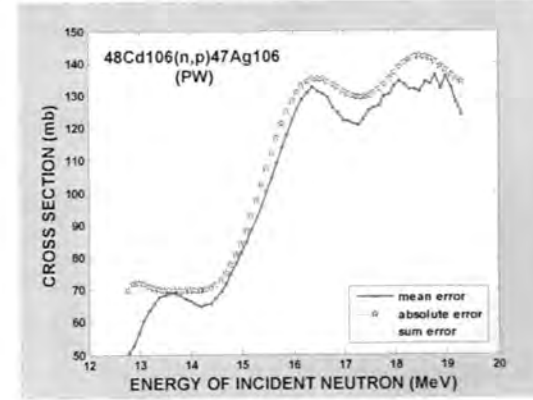


Data2:[13b]Konno C. et al.(1993).

Data4:Present Work (PW).



Data1:[17]Bormann M.et al.(1968).



Data2:Present Work (PW).

Figure-1: To be continued (2/2).

## (2)Data from ENDF/ B-VII Library

A brief description of each individually considered data set is given below for Cd-106 for each reaction for the ENDF/B-VII Library:

### (a) $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,\alpha)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$ reaction

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,\alpha)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the



minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(b)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(c)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,el)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,el)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(d)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,d)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,d)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(e)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,he3)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,he3)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(f)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,g)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,g)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(g)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,n+\alpha)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, n + \alpha)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(h)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, \text{inl})$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, \text{inl})$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(k)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, p)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, p)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(l)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, n + p)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction**

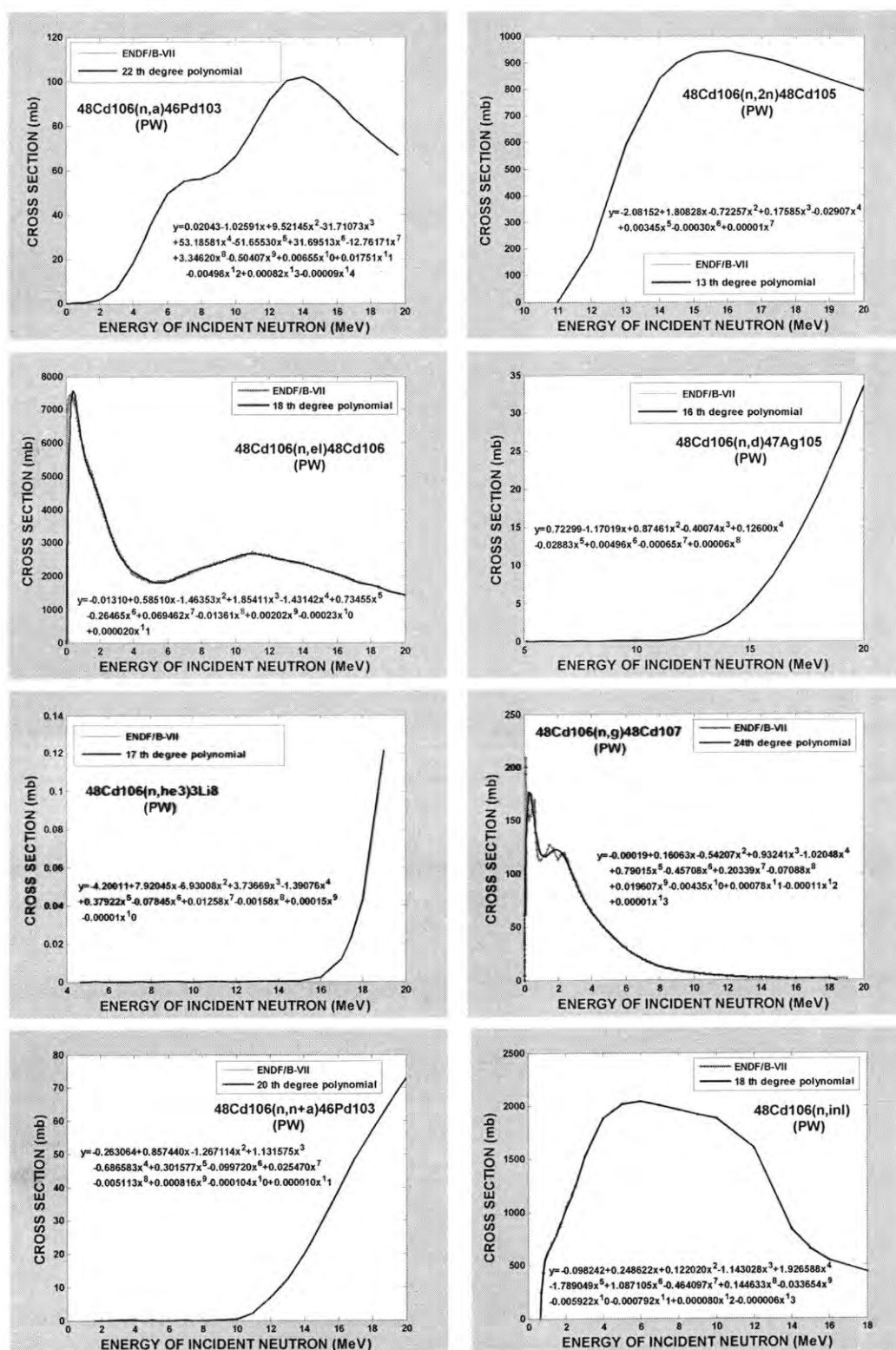
The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, n + p)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(n)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, \text{tot})$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, \text{tot})$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).

**(m)  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, t)^{104}_{47}\text{Ag}_{57}$  reaction**

The evaluated cross sections data of  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n, t)^{104}_{47}\text{Ag}_{57}$  reaction are measured and declared by ENDF/B-VII Libraries Libraries, starting from the minimum induced neutron energy which is tablated in table(3). These data have been plotted as function of incident neutron energy for this reaction as shown in figure(2).



Figures-2: The adopted cross sections of the (n,a), (n,2n), (n,el), (n,d), (n,he3), (n,g), (n,n+a), (n,inl), (n,p), (n,n+p), (n,tot) and (n,t) reactions for Cd-106 as calculated by the present work according to the weighted least squares polynomial based on the ENDF/B-VII Library.

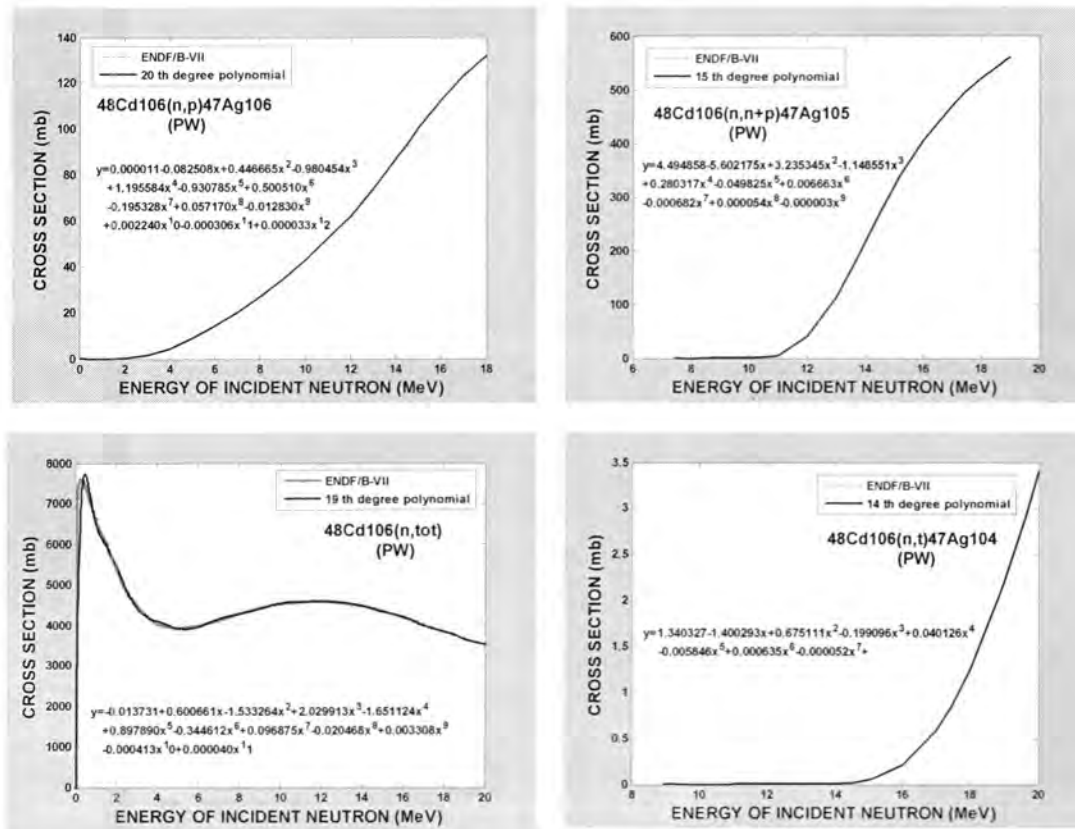


Figure-2: To be continued (2/2).

Table -3: Fitting parameters according to the weighted Least-Squares polynomial based on the ENDF/B-VII

Reaction	$E_n$ (min) MeV	$E_n$ (max) MeV	n	K
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,\alpha)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$	1E-11	19.6183	33	22
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$	10.9746	20	15	13
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,\text{el})^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$	1E-11	20	336	18
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,d)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$	5.08752	20	24	16
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,\text{he3})^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$	4.63053	19	24	17
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,\gamma)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$	1E-11	19	165	24
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,n+\alpha)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$	1.64341	20	30	20
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,\text{inl})$	0.63872	18	33	18
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,p)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$	1E-11	18	21	20
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,n+p)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$	7.41965	19	18	15
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,\text{tot})$	1E-11	20	423	19
$^{106}_{48}\text{Cd}(n,t)^{104}_{47}\text{Ag}_{57}$	8.93981	20	18	14



### Fitting Program procedure

The actual fitting procedure of the weighted Least- Squares polynomial fitting [18,19]. A program build in this work to be used in this analysis of polynomials which allows a lower degree of fitting up to degree 1 in  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,abs)$  reaction and a high degree of fitting 60 in  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,\gamma)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$  reaction.

The diagonalization of the of the orthogonality condition results have been made to the generation of the infinite Itilbert matrix, This program also calculates statistically the parameters which reflect the goodness of fit of a given degree of polynomial, in order to adopte the nuclear cross section data published and analysed at International Atomic Energy Agency which is collected and evaluated in this work .These data have been used with corresponding induced neutron energy as input data in the program using matlab 7.0. The importance of each input data point, or weight, is considered to be inversely proportional to  $(\Delta\sigma)^2$  (absolute weight) or  $(\Delta\sigma/\sigma)^2$  (relative weight) or inversely proportional to sum weight or the  $(\Delta\sigma)^2$  (mean weight).

Two procedure are performed on the data , 1.The operation results in the determination of the optimum degree of fit. 2. The operation yields point –wise values of the fitted function of the degree. Chosen and the statistical uncertainties of these point-wise values at the discrete values of the independent variable ; The uncertainties are attributed to the individual point-wise values only , which will contain the whole uncertainly at the discrete values in the 0.01 interval.

The parameters used in fitting the  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,2n)^{105}_{48}\text{Cd}_{57}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,abs)$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,el)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,\gamma)^{107}_{48}\text{Cd}_{59}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,n+p)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,p)^{106}_{47}\text{Ag}_{59}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,\alpha)^{103}_{46}\text{Pd}_{57}$ ,  $^{106}_{48}\text{B}_{58}(n,d)^{105}_{47}\text{Ag}_{58}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,he3)^{104}_{46}\text{Pd}_{58}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,inl)^{106}_{48}\text{Cd}_{58}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,n+\alpha)^{102}_{46}\text{Pd}_{56}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,t)^{104}_{47}\text{Ag}_{57}$ ,  $^{106}_{48}\text{Cd}_{58}(n,tot)$ , Data are summarized in table (2) for EXFOR Library and in table (3) for ENDF/B-VII, Library.

The uncertainties of the input data, from the actual input data are probably the most sensitive to the analysis of nuclear cross section data from libraries, and the assumptions made in the interpretation of the significance of the uncertainty input parameter must be considered as an experimental values it was useful to convert the  $\Delta\sigma$  (the uncertainties of the input data to the relative errors, absolute errors, or mean error to achieve the



importance of good fitting through the considered neutron energy range. The fitting were based separately for each reaction including the threshold regions in order to reduce the resultant uncertainties of the fitted points and eliminate the oscillations for the fitted adopted function

## RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 and 3 show the results of the fitting point-wise of the Cd-106 neutron induced cross sections. The point-wise uncertainties weightes are also included. The fitted adopted curves based on the three kinds of weighted average (the absolute error, the weight mean error, and the sum error) are shown on figures 1 and 2 for different neutron induced cross-sections together with the experimental data from EXFOR and ENDF respectively. This method performed a more accurate measurements, we can see from these figures the presence of a final structure of adopted values became apparent immediately with the cross sections data.

In this analysis, mainly because of the lack of high accuracy of the available data, no exact fitting of the final structure has been attempted, our suggested three methods to calculate the adopted cross sections give a very good agreement with the data and have a high coincidence of comparable data and the least squares orthogonal polynomials. In this, neutron induced Cd-106 cross section reactions, case and for the given energy range, the 0.01MeV intervals read from the curve were supplemented to the input data.

Note from figure (1) of the EXFOR Library it successfully adopted curve in the representation of data (other) a high degree of accuracy. We note the increase in the rank of polynomial increase in the number (other) where the lower rank of the polynomial is 1 of the reaction of  $(n,abs)$  and the highest rank of the polynomial 60 of the reaction of  $(n,\gamma)$  because of the increased fluctuations as in figure(1) as well as from the observation figure(2) your ENDF Library, when ever increasing fluctuations increases the rank of polynomial where we note that there is a high accuracy in the representation of data to polynomial, where many including all the points inside the curved.

## REFERENCES

- [1] Liskien H. and Paulsen A., "Compilation of Cross Section for Some Neutron Induced Threshold Reactions", EUR 119, Vol.1 (May 1966) and Vol.2 (April 1967), Central Bureau for Nuclear Measurements.
- [2] Ben G. David, Techn, Report "Nuclear Standards for Neutron Measurements", IAEA-107.57, IAEA, Vienna (1968).
- [3] Spaepen J. and Liskien H., Tech. Report "Nuclear Standards for Neutron Measurements", IAEA-107,259, IAEA, Vienna (1968).
- [4] Fabry A., Coster De M., Minsart M., Schepers J.C., and Vandeplass P., "IAEA Conference on Nuclear Data for Reactors, Helsinki, 15-19 June (1970)".
- [5] Bak H.I. and Lorenz A., "Review of the current status of the U-238, Np-237 And Th-232 Fission Cross section", Journal of the Korean Nuclear Society, Vol.3, No.2, P.77 (1971).
- [6] Seuny GY Ro, Jac Shik Jun and Sae Hyung Cho, "Measurement of the Fast Neutron Flux Density in the Bulk Shielding Experimental Tank of the Triga Mark-ii Reactor Using Solid State Track Detector", Journal of the Korean Nuclear Society, Vol.5, No.4, p.334 (1973).
- [7] Robert De Levie, "Advanced Excel for Scientific Data Analysis", Oxford University Press (2004).
- [8] Herman M. and Trkov A., "data Formata and Procedures for the Evaluated Nuclear Data File ENDF/B-VI AND ENDF/B-VII", CSEWG Document ENDF-102 Report BNL-90365-(2009).
- [9] Pesples C.R., "Alternatives to the Americium-Beryllium Neutron Source for The Compensated Neutron Porosity Log ", M.Sc. Thesis, North Carolina State University (2007).
- [10] Adame Thomas M., "G104-A2LA Guide for Estimation of Measurement Uncertainty in Testing ", July (2002).

- [11a] Filatenkov A.A. and Chuvaev S.V., "Measurement of a set of Badly Know Neutron Induced cross sections", Khlopin Radiev, Inst., Leningrad Reports No.258, (2001).
- [11b] Filatenkov A.A. and Chuvaev S.V., "Measurement of a set of Badly Know Neutron Induced cross sections", Khlopin Radiev, Inst., Leningrad Reports No.258, (2001).
- [11c] Filatenkov A.A. and Chuvaev S.V., "Measurement of a set of Badly Know Neutron Induced cross sections", Khlopin Radiev, Inst., Leningrad Reports No.258, (2001).
- [12] Filatenkov A.A., Chuvaev S.V., Aksenov V.N., Yakovlev A., "Systematic Measurement of Activation Cross Sections at Neutron Energies from 13.4 To 14.9 MeV", Khlopin Radiev, Inst., Leningrad Reports No.252, (1999).
- [13a] Konno C., Ikeda Y., Oishi K., Kawade K., "Activation Cross Section Measurements at Neutron Energy From 13.3 to 14.9 MeV", Jaeri Reports No.1329, (1993).
- [13b] Konno C., Ikeda Y., Oishi K., Kawade K., "Activation Cross Section Measurements at Neutron Energy From 13.3 to 14.9 MeV", Jaeri Reports No.1329, (1993).
- [14] Razbudej V.F., Vertebnyj V.P., Muravitskij A.V., "Investigation of Slow Neutron Interaction With Cd-106, Cd-108, Cd-110 Isotopes", 4A11 Union Conf. on Neutron Phys., Kiev, 18-22 Apr 1977, Vol.2, P.276 (1977).
- [15] Popov A.B., Samosvat G.S., "Differential Elastic Scattering Cross Section Of Cadmium Isotopes and P-Neutron Strength Functions in the Range From A=50 to A=130", Inst. For Nucl. Res., Dubna Reports No.3, 85, p.226 (1985).
- [16] Musgrove A.R., Allen B.J., Macklin R.L., "Neutron-Capture Resonance Parameters and Cross Sections For the Even -A Isotopes of Cadmium" Jour. Of Physics, Part G (Nucl. And Part. Phys.) Vol.4, Issue-5, P.771, (1978).
- [17] Bormann M., Behrend A., Riehle I., Vogel O., "Measurement of (n,2n) Excit. Functions in German", Nuclear Physics, Section A 115, 309 (1968).

- [18] Francois Dubean and Youness Mir, "On Discrete Least Squares Polynomial Fit Linear Spaces and Data Classification", Journal of Mathematics and Statistics 3(4) :222-227,(2007).
- [19] Michael Carley, "Moving Least Squares Via Orthogonal Polynomials", Siam J.Sci.Comput. 32(3) :1310-1322,(2010).

## Mutual Correlation Between MUF and FOT Parameters at Baghdad for the Maximum Solar Cycle 23

Khalid A. Hadi

Deptment of Astronomy & Space-College of Science-University of Baghdad

Submitted : 03/04/2011

Accepted Date : 29/05/2011

### الخلاصة

تم في هذا البحث اقتراح معادلة شبه تجريبية تبادلية بين الحد الأعلى للترددات المستخدمة (MUF) والحد الأمثل للترددات العاملة (OWF). أن قيم معاملتي الـ (MUF) والـ (OWF) تم حسابها باستخدام النموذج العالمي (VOACAP) عند حدود القيم العليا للنشاط الشمسي للدورة 23. أظهرت التحليلات التي أجريت لمعامل الارتباط بين المعاملين ارتباطاً جيداً بين قيم الـ (MUF) والـ (OWF)، كما أعطت المعادلة المقترحة نتائج ذات تطابق جيد بين القيم المحسوبة وفق المعادلة المقترحة والبيانات المأخوذة من النموذج العالمي.

### ABSTRACT

In the present work, an empirical correlation formula between the Maximum Usable Frequency (MUF) and the Optimum Workable Frequency (OWF) is suggested. The values of these ionospheric parameters were obtained from the dataset generated using the international communication HF model (VOACAP) for the maximum solar activity time of the 23 solar cycle. The tested correlation coefficient between these two parameters showed a good correlation with each other. The suggested formula gave a good fitting between the predicted values and the generated data of the international model.

### INTRODUCTION

As radio waves travelling, they interact with objects and the media in which they travel. So they can be reflected, refracted or diffracted. These interactions cause the radio signals to change direction, and may reach areas which would not be possible if they travelled in a straight line.

One of the most effective atmospheric layers on the HF wave propagation is the ionosphere. Therefore, the ionospheric status is an important factor when making HF propagation predictions. Several frequency parameters have been introduced to describe the optimum frequency radio frequency values the optimal range of radio frequency values. Among these frequencies are the



Lowest Useable Frequency (LUF), the Frequency of Optimum Transmission (FOT), and the Maximum Usable Frequency (MUF).

The prediction of propagation characteristics of HF radio waves is very useful for keeping radio systems operating within HF frequency band. Various models have been developed to get accurate prediction. Some of these models were implemented by a number of organizations to get a computer based tools for HF propagation prediction tasks. Voice of America Coverage have developed coverage analysis program (VOACAP) [1] and ITU-R developed REC533 for the same purposes [2].

### **The Ionospheric Communication Parameters**

The ionospheric propagation parameters are used as operation indicator for the usable HF-frequencies. These parameters depend on the ionospheric layer nature during the propagation time

Maximum Usable Frequency (MUF) is the highest frequency that will be reflected back to Earth by the ionized layers. Above this frequency there is no reflection and thus no skip. MUF depends on the layer that is responsible for refraction/reflection and so contact between two stations relying on skip will depend on the amount of sunspot activity, the time of day, time of year, and latitude of the two stations.

The MUF is not significantly affected by transmitter power and receiver sensitivity. There are two definitions for "MUF". The International Telecommunications Union ITU-R had recommends two definitions for MUF [3]:

1. Operational MUF (or just MUF) is the highest frequency that would permit acceptable operation of a radio service between given terminals at a given time under specific working conditions.
2. Basic MUF, being the highest frequency by which a radio wave can propagate between given terminals by ionospheric propagation alone, independent of power.

The difference in frequency between operational MUF and basic MUF is in practice from ten to thirty-five percent [4]. The MUF is the frequency for which ionospheric support is predicted on 50% of the days of the month, i.e. 15 days out of 30 days. So on a given day communications may or may not succeed on the frequency marked as the MUF.

To ensure a good communication link between two locations, the operating frequency is typically chosen below the predicted MUF. A

commonly used formula for finding the optimal operating frequency for a given path is to calculate between 80 to 90% of the MUF.

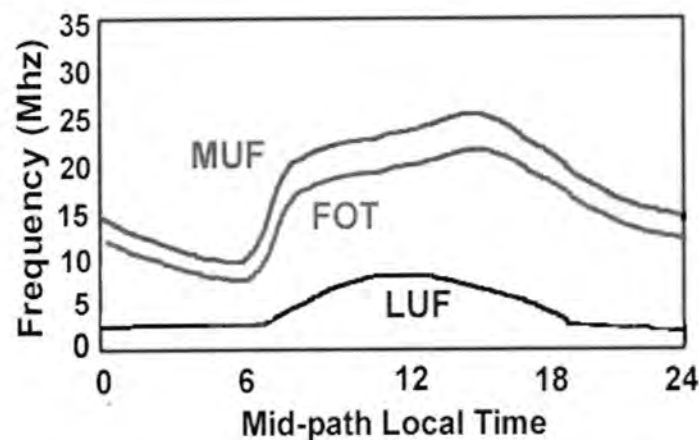
Frequency of Optimum (Working) Transmission (**FOT**) is the highest effective (i.e. working) frequency that is predicted to be usable for a specified path and time for 90% of the days of the month. It is abbreviated as FOT and normally just below the value of the MUF [5].

The FOT is usually the most effective frequency for ionospheric reflection of radio waves between two specified points on Earth. Approximately 85 % of the MUF [see figure (1)][6].



**Fig. - 1: Ionospheric path configuration**

Figure -2 : Shows the Typical Behavior of the Variation of the MUF, LUF, and FOT Parameters.



**Fig. - 2: The typical behavior of the variation of the Ionospheric Parameters [7].**

Depending on what model we may use for determining MUF and FOT, the percentage of usable days may be 50% or 90%. "VOACAP uses 50%, for example". Synonyms for the optimal operating frequency are **FOT** (frequency of optimum traffic), **OTF** (optimum traffic frequency or optimum transmission frequency), and **OWF** (optimum working frequency) [8].

### **The Adopted HF-Model**

In this project, the Voice of America Ionospheric Communications Analysis and Prediction model (VOACAP) has been adopted to get the dataset of the required ionospheric parameters.

The (VOACAP) model has been selected because this model represents one of the last best HF modern communication models.

VOACAP is the most powerful, flexible and complete product predicting the ionospheric propagation (only HF) to date [9].

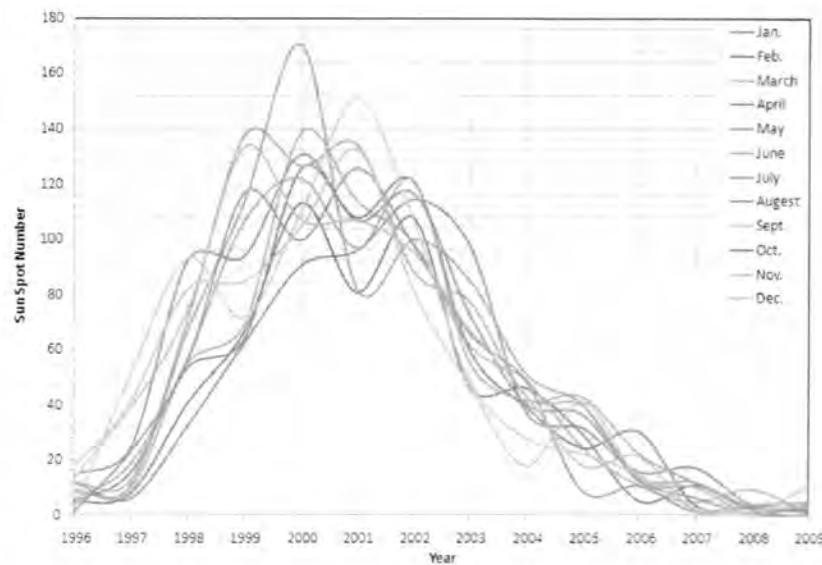
In 1985, the Voice of America Ionospheric Communications Analysis and Prediction (VOA) adopted the Ionospheric Communications Analysis and Prediction Program as the approved model to be used for broadcast relay station design and antenna specification. As the program was modified for these purposes, the name was changed to the Voice of America Coverage Analysis Program (VOACAP) to distinguish it from the official National Telecommunications and Information Administration (NTIA) "IONCAP" program. The development of VOACAP was accomplished for VOA by the Naval Research Laboratory and the Institute for Telecommunication Sciences (Department of Commerce, NTIA).

The Voice of America Coverage Analysis Program (VOACAP) predicts the expected performance of high frequency (HF) broadcast systems, and in doing so is useful in the planning and operation of HF transmissions for the four seasons, different sunspot activities, hours of the day, and geographic location [10].

### **Dataset Analysis**

In the present work, an analytical study has been made for the collected data from the execution of the (VOACAP) international model. The MUF, FOT, and LUF parameters were calculated using method-26 of the international model. These parameters have been made for the region restricted between the longitudes ( $40.0^{\circ}$ -  $48.0^{\circ}$  N) and latitudes ( $29.0^{\circ}$ -  $37.25^{\circ}$  E). In this study, Baghdad city has been picked to represent as a transmitting station with other twenty six different selected receiving stations laid within the studied region.

The calculations for year 2000 have been selected to be the date of study because in this year the sun spot numbers were in their highest values (during the solar cycle 23). Figure (3) shows the observed sun spot number for 23<sup>rd</sup> solar cycle.



**Fig. - 3: The observed sun spots for the 23 solar cycle**

Table (1) illustrates the values of the recommended sun spot numbers of the studied year 2000.

**Table - 1: Observed Monthly Sunspot Numbers**

	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Jan.	11.5	5.7	31.9	62	90.1	95.6	114.1	97.5	37.2	31.3	15.4	16.9	3.4	1.5
Feb.	4.4	7.6	40.3	66.3	112.9	80.6	107.4	46.2	46	29.2	5	10.6	2.1	1.4
Mar.	9.2	8.7	54.8	68.8	138.5	113.5	98.4	61.5	48.9	24.5	10.8	4.8	9.3	0.7
Apr.	4.8	15.5	53.4	63.7	125.5	107.7	120.7	60	39.3	24.4	30.2	3.7	2.9	1.2
May	5.5	18.5	56.3	106.4	121.6	96.6	120.8	55.2	41.5	42.6	22.2	11.7	2.9	2.9
Jun.	11.8	12.7	70.7	137.7	126.5	134	88.3	77.4	43.2	39.6	13.9	12	3.1	2.6
Jul.	8.2	10.4	66.6	113.5	170.1	81.8	99.6	85	51	39.9	12.2	10	0.5	3.5
Aug.	14.4	24.4	92.2	93.7	130.5	106.4	116.4	72.7	40.3	36.4	12.9	6.2	0.5	0
Sep.	1.6	51.3	92.9	71.5	109.7	150.7	106.6	48.8	27.7	22.1	14.5	2.4	1.1	4.2
Oct.	0.9	22.8	55.5	116.7	99.4	125.5	97.5	65.6	48.4	8.5	10.4	0.9	2.9	4.6
Nov.	17.9	39	74	133.2	106.8	106.5	95	67.2	43.7	18	21.5	1.7	4.1	4.2
Dec.	13.3	41.2	81.9	84.6	104.4	132.2	81.6	47	17.9	41.2	13.6	10.1	0.8	10.6

Figure (4), shows a sample of the output data set for the international model.

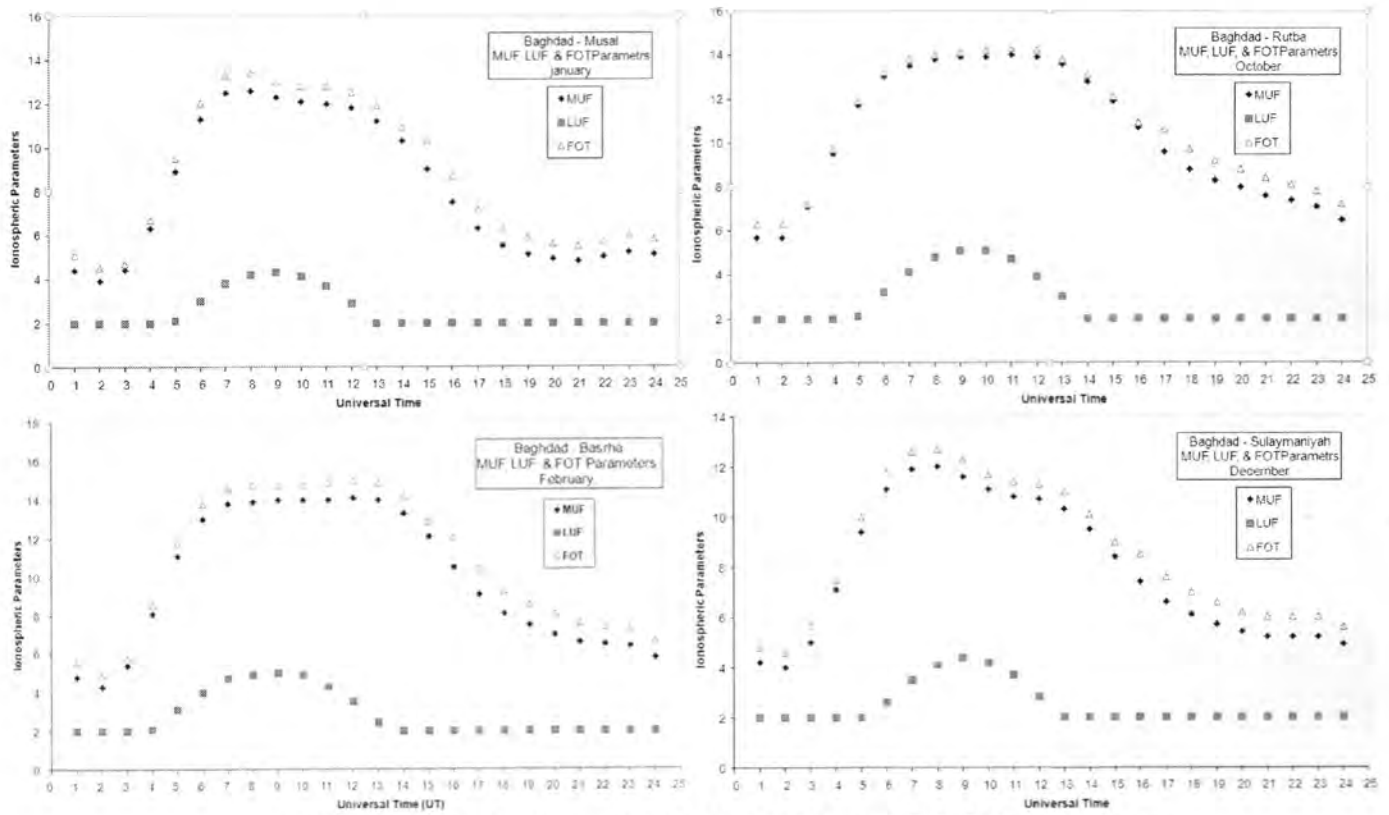
IONOSPHERIC COMMUNICATIONS ANALYSIS AND PREDICTION PROGRAM									
VOACAP VERSION 08.1124W									
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012345									
COMMENT	Any VOACAP default cards may be placed in the file: VOACAP.DEF								
LINEAR	55	number of lines per page							
COEFFS									
TIME	1	24	1	-1					
MONTH	2000	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00 9.0010.00
SUNSPOT	90.	113.	139.	126.	122.	127.	170.	131.	109. 99.
LABEL	BASRA (AL BASRAH)								
CIRCUIT	33.35N	44.38E	30.50N		47.78E	S	0		
SYSTEM	1.	145.10.00	90.	73.0	5.0010.00				
FPROP	1.00	1.00	1.00	0.00					
ANTENNA	1	1	2	30	0.000	[default\CONST17.VOA		0.0	500.0000
ANTENNA	2	2	7	30	0.000	[default\SWAMP.VOA		0.0	-0.0000
FREQUENCY	2.00	3.00	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00	9.0010.0011.0012.00	
METHOD	26	0							
EXECUTE									
QUIT									
CCIR coefficients METHOD 26 VOACAP 08.1124W PAGE 1									
JAN 2000 SSN = 90. Minimum angle=10.000 degrees									
BAGHDAD	BASRA (AL BASRAH)		AZIMUTHS		N, MI, KM				
	33.35 N	44.38 E	- 30.50 N	47.78 E	133.73	515.53	243.5	450.0	
SMTR	2-30	2-D Table	[default\CONST17.VOA]	Az=	0.0	OFFaz=133.7	500.000KW		
RCVP	2-30	2-D Table	[default\SWAMP.VOA]	Az=	0.0	OFFaz=311.5			
3 MHz NOISE	= -145.0	dBW	REQ. REL = 90%	REQ. SNR = 73.0	dB				
GMT	LMT	FOT	HPE	ESMUF	MUF	LUF			
1.0	4.0	3.11	3.36	0.00	4.09	2.00			
2.0	5.0	2.79	4.92	0.00	3.08	2.00			
3.0	6.0	3.83	5.22	0.00	4.50	2.00			
4.0	7.0	5.67	7.73	0.00	6.67	2.00			
5.0	8.0	7.91	10.79	0.00	9.30	2.00			
6.0	9.0	9.38	13.07	0.00	11.27	2.00			
7.0	10.0	10.20	14.17	0.00	12.01	4.27			
8.0	11.0	10.13	14.03	0.00	11.89	5.22			

Fig. -4 : Sample of the Data Set for the International Model

The conducted analytical study for the MUF and FOT parameters have been made in order to investigate the capability of getting a mutual correlation between the two parameters. The investigation was made using Microsoft Excel program. The statistical correlation has been applied on the calculated dataset to assess the nature of correlation between MUF and FOT parameters.

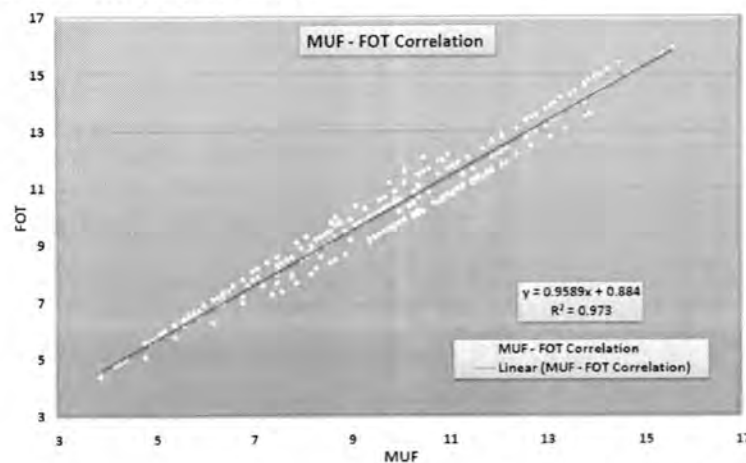
Figure (5) presents samples of the MUF, FOT, and LUF variations for some of the selected links and for different months of the studied year.





**Fig. – 5: Variations of MUF, LUF, and FOT Parameters**

Figure (6) shows the scatter plot made between MUF and FOT. It's obvious that the relation between MUF and FOT is simple. So, a linear correlation coefficient between the two parameters could be determined. And this linear correlation could be utilized to predict the value of one of these coefficients in term of other one.



**Fig. – 6: The regression correlation between the MUF and FOT parameters.**

Also a correlation assessment was done between the pairs (MUF & LUF), (FOT & LUF). The attained results indicated a low correlation exist between the elements of these pairs, as shown in table (2)

**Table – 2: Correlation Coefficient of MUF, LUF, and FOT Parameters**

<i>Links</i>	<i>Parameter</i>	<i>MUF</i>	<i>LUF</i>	<i>FOT</i>
Baghdad Rutba	MUF	1		
	LUF	0.657296	1	
	FOT	0.984868	0.601958	1
Baghdad Sulaymaniyah	MUF	1		
	LUF	0.627454	1	
	FOT	0.985732	0.575448	1
Baghdad Basrha	MUF	1		
	LUF	0.673512	1	
	FOT	0.986426	0.617536	1
Baghdad Musai	MUF	1		
	LUF	0.658248	1	
	FOT	0.985527	0.606652	1

### The Suggested Correlation Formula

Referring to the results shown in table (2), the relationship between MUF and FOT was expressed in term of a simple equation. In order to get accurate predictions, the data set were divided into two periods. The first one was valid for the time period (local time, LT) [4 AM. – 1 PM.] while the second one is valid for the other time interval of the day:

$$FOT = \sum_{n=0}^{n=2} a_n MUF^n$$

$$FOT = a_0 + a_1 MUF + a_2 MUF^2 \dots (1)$$

Tables (3) and (4) show the values of a's for the 12 months of the year.

**Table – 3: Correlation Parameters for the period LT. (4 AM. – 1 PM.)**

Month	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$R^2$
1	0.6331	0.9397	0.0055	0.9996
2	0.9886	0.8831	0.0076	0.9995
3	0.7258	0.9069	0.0044	0.9987
4	1.9997	0.7132	0.0115	0.9969
5	4.1042	0.2796	0.0293	0.9861
6	- 0.5348	1.0779	-0.0045	0.9995
7	- 0.8315	1.1564	-0.0096	0.9995
8	3.5397	0.3044	0.0317	0.9945
9	2.1966	0.6152	0.0183	0.9979
10	1.8189	0.7022	0.0134	0.9994
11	1.3396	0.8055	0.0115	0.9998
12	0.9874	0.8913	0.0073	0.9996

**Table – 4: Correlation Parameters for the period LT. (2 PM. – 3 AM.)**

Month	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$R^2$
1	- 1.1938	1.5296	-0.0293	0.9982
2	- 1.3392	1.5302	-0.0267	0.9980
3	- 1.0005	1.4349	-0.0247	1.000
4	- 0.282	1.3118	-0.0188	0.9860
5	5.3064	0.3430	0.0176	0.9776
6	3.0463	0.7449	-0.0027	0.9325
7	- 1.3873	1.6372	-0.0474	0.9458
8	- 0.0412	1.2750	-0.0252	0.9834
9	0.9535	1.0472	-0.0081	0.9899
10	- 0.9733	1.4036	-0.0221	0.9958
11	- 0.2421	1.2816	-0.0145	0.9976
12	- 0.9287	1.4775	-0.0289	0.9959

Table (5) shows a sample of the predicted value for months “January and July” for the link “Baghdad-Basrah” which were determined using equation (1). Also, in this table the predicted FOT values which were determined using the international recommended criteria ( $FOT = 0.85 MUF$ ) are listed.

It is clear that the results obtained using the relationship gives in equation (1) is more accurate because it leads to overall mean square error equal to (0.0228), which is much below the accuracy of the calculated data set.

**Table – 5: The predicted FOT parameter Baghdad – Basrah. January 2000**

UT	LT	MUF	FOT	Theo. FOT	Pred. FOT
1	4	4.3	4.9	3.66	4.72
2	5	3.9	4.4	3.32	4.34
3	6	4.8	5.1	4.08	5.20
4	7	7.2	7.7	6.12	7.48
5	8	10.3	10.9	8.76	10.43
6	9	12.6	13.4	10.71	12.61
7	10	13.6	14.4	11.56	13.56
8	11	13.5	14.3	11.48	13.47
9	12	13.1	13.9	11.14	13.09
10	13	13.1	13.9	11.14	13.82
11	14	13.2	14	11.22	13.89
12	15	13	13.8	11.05	13.74
13	16	12.4	13.1	10.54	13.27
14	17	11.4	12.1	9.69	12.44
15	18	10.1	11.6	8.59	11.27
16	19	8.6	9.8	7.31	9.79
17	20	7.1	8.2	6.04	8.19
18	21	6.2	7.1	5.27	7.16
19	22	5.7	6.6	4.85	6.57
20	23	5.4	6.2	4.59	6.21
21	24	5.2	5.9	4.42	5.97
22	1	5.2	6	4.42	5.97
23	2	5.4	6.2	4.59	6.21
24	3	5.1	5.9	4.34	5.85

**Table – 6: The predicted FOT parameter Baghdad – Basrah. July 2000**

UT	LT	MUF	FOT	Theo. FOT	Pred. FOT
1	4	7.9	7.7	6.72	7.70
2	5	8.2	8	6.97	8.00
3	6	8.9	8.7	7.57	8.70
4	7	9.7	9.5	8.25	9.50
5	8	9.9	9.7	8.42	9.70
6	9	9.9	9.7	8.42	9.70
7	10	10.1	9.9	8.59	9.89
8	11	10.7	10.5	9.10	10.48
9	12	11.5	11.2	9.78	11.27
10	13	11.9	11.7	10.12	11.65
11	14	11.9	11.7	10.12	11.53
12	15	11.7	11.4	9.95	11.39
13	16	11.5	11.2	9.78	11.25
14	17	11.3	11.1	9.61	11.11
15	18	11	10.8	9.35	10.91
16	19	10.4	10.2	8.84	10.49
17	20	9.8	9.6	8.33	10.08
18	21	9.5	10.1	8.08	9.87
19	22	9.5	10.1	8.08	9.87
20	23	9.6	10.2	8.16	9.94
21	24	9.5	10.1	8.08	9.87
22	1	9.2	9.7	7.82	9.67
23	2	8.7	9.3	7.40	9.32
24	3	8.2	8.8	6.97	8.98

**We can conclude**

1. The relationship between MUF and FOT is simple and could be described by simple mathematical relationship.
2. To gain an accurate prediction the data set should be divided into two intervals per day, the first one is for the period (LT) [4 AM. – 1 PM.] and the second is for the remaining time of the day.
3. The relationship between the (FOT with LUF) and (MUF with LUF) is too complicated and can't be easily represented in terms of simple mathematical equation.



## REFERENCES

1. Lane, G., F. J. Rhoads and L. Deblasio, "Voice of America Coverage Analysis Program (VOACAP); A Program Guide", VOA B/ESA Report 01-93, PB93-155174, (1993).
2. ITU-RS **Recommendation 533**, "High Frequency Propagation Model", NTIA/ITS, Boulder, Colorado 80305, USA, (1995).
3. International Telecommunication Union ITU-Recommendation "Definitions of maximum and minimum transmission frequencies", P.373-7, 10 - (1995).
4. Tomas Hood, HF Radio Propagation - Maximum Usable Frequency,- MUF, LUF, and FOT. The Basics of the Maximum Usable Frequency, NW7US, (2010).
5. Frequency of optimum transmission - Glossary of Telecommunication Terms, **Wikipedia, Wikimedia Foundation, Inc., June (2008).**
6. Larry D., and Floyd L., "Electronics Technician" Volume 7, Antennas and Wave Propagation, NAVEDTRA 14092, (1995).
7. Atmospheric Effects on Electromagnetic Systems, HF and Lower Frequency Radiation, "Choosing the Right Frequency". Naval Postgraduate School, Dept. of Meteorology, (2004)
8. Don Stephenson, "The monthly newsletter of the Lancaster & Fairfield County" - Amateur Radio Club, November (2006).
9. Marcel H. De Canck, ON5AU "Review of HF propagation analysis & prediction programs"
10. Institute for Telecommunication Sciences (ITS), "General Information on the ITS HF Propagation Analysis Package", Boulder, Colorado, (1995).

## Reciprocity Theory and the Empirical Formulae to Calculate the Cross Sections from (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) Reactions for Ni (A=58,60,61)

Iman Tarik Al-Alawy and Waleed Jabber Mhana

Department of Physics-College of Science-University of Al-Mustansiriyah

Submitted : 03/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

لقد تم تطبيق النظرية التبادلية وقد تم استنباط الصيغ التجريبية للمقاطع المحسوبة لتفاعلات (p, $\alpha$ ) و ( $\alpha$ ,p) للأهداف السميكة للعنصر المتوسط (Ni (A=58, 60, 61) في مديات الطاقة ابتداء من طاقة العتبة إلى 49.85 MeV من طاقة البروتون وإلى 150 MeV من طاقة الفا. حيث تم تطبيق النظرية التبادلية بتطابق جيد للمقاطع العرضية للتفاعلات التي لها مقاطع عرضية تجريبية. لقد تم لأول مرة إيجاد صيغ بولينوميال جديدة للمقاطع العرضية التي لها علاقة بطاقة البروتون، وطاقة الفا، والعدد الذري ومعامل عدم التناظر لعناصر الهدف.

### ABSTRACT

Reciprocity theory has been applied and Empirical formulae have been obtained for calculating cross sections for (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) reactions on Ni(A=58, 60, 61) thick targets medium elements in the energy range from threshold up to 49.85 MeV proton energy and to 150 MeV alpha energy. The reciprocity theory has been applied with good estimation of the cross sections for the reactions that have experimental cross sections. For the first time new polynomial expressions were found relating the cross sections with proton energy, alpha energy, atomic number, and the asymmetry factor of the target elements.

### INTRODUCTION

The incident and product nuclear particles to be considered in the present work are protons and alpha that can cause nuclear reactions. Protons are one of the basic components of the nuclei of atoms (alpha being the other). They have about the same mass as alpha, but they have a positive charge of one unit. As a result, they interact strongly with the electrons in normal matter, and they have shorter ranges than alpha of similar energy [1]. The alpha are neutral particles, and they can penetrate through material easily. As was the case of gamma rays, this makes them both useful and dangerous. Alpha can induce nuclear reactions readily, and they are products of many reactions [2].

The (p, $\alpha$ ) reactions induced by bombardment of medium elements have been intensively studied with high energy resolution up to energies accessible with conventional electrostatic accelerators. In addition to the intrinsic value of (p, $\alpha$ ) cross section in the investigation of nuclear spectroscopy and reaction mechanisms, such data are essential for the polarization of (p, $\alpha$ ) reactions as alpha sources [3,4].

For ( $\alpha$ ,p) reactions; as a beam of alpha travels through bulk matter, the intensity will decrease as alpha are removed from the beam by nuclear reactions. For fast alpha, many reactions such as ( $\alpha$ ,p), ( $\alpha$ , $\alpha$ ), are possible [2]. Absorption reactions include those where the alpha becomes part of the nucleus, and another type of particle is emitted. The absorption reactions most important to nuclear well logging are ( $\alpha$ ,p) reaction; where alpha absorption is followed by the emission of a gamma ray or proton, respectively [4]. The interaction of alpha with matter is not only of experimental or theoretical interest but has important practical applications, particularly in the operation of reactors [1].

There are many detailed theories of nuclear reaction. In Bohr Theory (1936) [5], it was assumed that a nuclear projectile incident on a nucleus would interact strongly with all the nucleons in the nucleus and quickly share its energy with them to form a nucleus in a highly excited state. The compound nucleus so created would decay in a manner independent of its mode of formation, and depends only on the properties of the compound nucleus itself, such as its energy and angular momentum. In Fernbach et al. theory (1949) [6]; it was proposed that an incident nucleon would interact with the nucleus and that the probability of absorption into the compound nucleus would be relatively small. These different aspects of a nuclear reaction can be unified into a single theory (Weisskopf), (1957) [7]; Feshbach, (1958) [8]). According to Weisskopf, any nuclear reaction proceeds through a series of stages. When the incident particle reaches the edge of the nuclear potential, the first interaction will be a partial reflection of the wave function, called *shape elastic scattering*. We recall that any potential discontinuity has a finite reflection coefficient for an incident wave which is independent of the direction of the travel of the wave. The part of the wave function which enters the nucleus undergoes absorption. Feshbach proposes that the first step in the absorption process consists of a two-body collision. If the struck nucleon leaves, a *direct reaction* occurs. Presumably this process becomes more probable at higher energies because, then, at least one nucleon would have a good chance of receiving enough energy to leave the nucleus. If the struck nucleon does not leave the nucleus, more complicated interactions can set in. The cross sections of (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) reactions published by different authors [9,14] for Ni (A=58, 60, 61) target elements were plotted, interpolated and recalculated. Adopted values have

been calculated, the cross sections were reproduced in fine steps of incident proton energy in 0.01 MeV intervals with corresponding errors.

### Theoretical Basics

If the cross sections of the reaction  $X(a,b)Y$  are measured as a function of  $E_p$  ( $E_p$  = kinetic energy of incident proton), the cross sections of the inverse reaction  $Y(b,a)X$  can be calculated as a function of  $E_a$  ( $E_a$  = kinetic energy of incident alpha). This is called the Reciprocity Theory which states that [15]:

$$\frac{\sigma(a,b)}{g(a,b)\lambda_a^2} = \frac{\sigma(b,a)}{g(b,a)\lambda_b^2} \quad \dots (1)$$

Where  $\sigma(a,b)$  and  $\sigma(b,a)$  represent cross sections of  $X(a,b)Y$  and  $Y(b,a)X$  reactions respectively,  $g(a,b)$  and  $g(b,a)$  represent a statistical factors of  $X(a,b)Y$  and  $Y(b,a)X$  reactions respectively,  $\lambda_a$  is the de-Broglie wave length divided by  $2\pi$  for incident particle  $a$  and  $\lambda_b$  is that for product particle  $b$ , which is regarded as incident particle in the reverse reaction.

#### a. Cross Section of Compound Nucleus

The cross section of compound nucleus is given by [2]:

$$\sigma = \frac{\pi}{k^2} g \frac{\Gamma^2}{(E - E_R)^2 + \Gamma^2/4} \quad \dots (2)$$

Where the wave number  $k = 1/\lambda = p/\hbar = mv/\hbar = 2mE/\hbar$  ... (3)

$\lambda$  is the de-Broglie wave length divided by  $2\pi$  of incident particle.

$\hbar$  is the Plank constant divided by  $2\pi$ .

$p$  is the momentum of incident particle.

$m$  and  $v$  are the mass and velocity of incident particle.

$E$  is the kinetic energy of incident particle.

$E_R$  is single isolated resonance energy.

The statistical  $g$ -factors is given by [2]:

$$g = \frac{2I_c + 1}{(2S_a + 1)(2S_x + 1)} \quad \dots (4)$$

The total angular momentum of the resonance (compound nucleus) is given by:

$$I_c = S_a + S_x + \ell_a \quad \dots (5)$$

Where  $S_a$  is the spin of the incident particle.

$S_x$  is the spin of the target.

$\ell_a$  is the orbital angular momentum of incident particle.

The total width of the state is the sum of the partial widths [16,17]:

$$\Gamma = \sum_i \Gamma_i \quad \dots (6)$$

$$\text{or } \Gamma = \hbar/\tau \quad \dots (7)$$

Where  $\tau$  is the lifetime of any decay state.



At resonance  $E = E_R$  equation (2) becomes:

$$\sigma = \frac{4\pi}{k^2} g \quad \dots (8)$$

Therefore, equation (8) becomes

$$\sigma(p, \alpha) = \frac{4\pi}{k_p^2} g(p, \alpha) \quad \dots (9)$$

$$\text{and } \sigma(\alpha, p) = \frac{4\pi}{k_\alpha^2} g(\alpha, p) \quad \dots (10)$$

Which gives the compound nucleus cross section for (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) respectively.

Hence, using the definition of k, equation (9) and (10) states that:

$$\frac{k_p^2 \sigma(p, \alpha)}{g(p, \alpha)} = \frac{k_\alpha^2 \sigma(\alpha, p)}{g(\alpha, p)} \quad \dots (11)$$

$$\text{Since } k_p = \frac{m_p v_p}{\hbar} = \frac{2m_p E_p}{\hbar} \quad \dots (12)$$

$$\text{And } k_\alpha = \frac{m_\alpha v_\alpha}{\hbar} = \frac{2m_\alpha E_\alpha}{\hbar} \quad \dots (13)$$

Substituted equation (12) and (13) in equation (11) we get:

$$\frac{m_p^2 v_p^2 \sigma(p, \alpha)}{g(p, \alpha)} = \frac{m_\alpha^2 v_\alpha^2 \sigma(\alpha, p)}{g(\alpha, p)} \quad \dots (14)$$

In terms of  $E_p$  and  $E_\alpha$ , equation (14) becomes:

$$\frac{2m_p E_p \sigma(p, \alpha)}{g(p, \alpha)} = \frac{2m_\alpha E_\alpha \sigma(\alpha, p)}{g(\alpha, p)} \quad \dots (15)$$

Thus, equation (15) can be rewritten as follows:

$$\sigma(p, \alpha) = \frac{g(p, \alpha) m_\alpha E_\alpha}{g(\alpha, p) m_p E_p} \sigma(\alpha, p) \quad \dots (16)$$

Where  $m_p$  and  $m_\alpha$  are the proton and alpha masses with their kinetic energies  $E_p$  and  $E_\alpha$  respectively.

It is clear from this equation that the cross sections of reverse reaction are related by variable parameters which can be calculated if the nuclear characteristics of the reactions are known.

## b. Derivation the Proton and Alpha Energy

The reactions  $X(p, \alpha)Y$  and  $Y(\alpha, p)X$  can be represented with the compound nucleus (C.N.) at energy  $E$ . It is clear that there are some important and useful relations between the kinetic energies of proton and alpha. The separation energies of proton ( $S.E._p$ ) and neutron ( $S.E._n$ ) can be calculated using the following relations [15,18]:

$$E = S.E._p + \frac{M_X}{M_X + M_p} E_p \quad \dots (17)$$



$$E = S.E_{\alpha} + \frac{M_Y}{M_Y + M_{\alpha}} E_{\alpha} \quad \dots (18)$$

With

$$S.E_p = [M_X + M_p - M_{C.N.}] * 931.5 \quad \dots (19)$$

$$S.E_{\alpha} = [M_Y + M_{\alpha} - M_{C.N.}] * 931.5 \quad \dots (20)$$

Equating equation (17) and (18) and combining them with subtraction of equation (19) and (20) we get:

$$S.E_p + \frac{M_X}{M_X + M_p} E_p = S.E_{\alpha} + \frac{M_Y}{M_Y + M_{\alpha}} E_{\alpha} \quad \dots (21)$$

$$S.E_p - S.E_{\alpha} = [M_X + M_p - M_Y - M_{\alpha}] * 931.5 \quad \dots (22)$$

It is clear that the Q-value of the reaction  $X(p,\alpha)Y$  is given by:

$$Q(p,\alpha) = [M_X + M_p - M_Y - M_{\alpha}] * 931.5 \quad \dots (23)$$

$$\text{or } Q(p,\alpha) = S.E_p - S.E_{\alpha} \quad \dots (24)$$

$$Q(p,\alpha) = \frac{M_Y}{M_Y + M_{\alpha}} E_{\alpha} - \frac{M_X}{M_X + M_p} E_p \quad \dots (25)$$

**Therefore;**

$$E_n = \frac{M_Y + M_{\alpha}}{M_Y} \left( Q(p,\alpha) + \frac{M_X}{M_X + M_p} E_p \right) \quad \dots (26)$$

$$\text{Since } Q(p,\alpha) = -\frac{M_X}{M_X + M_p} E_{thr}(p,\alpha) \quad \dots (27)$$

**Then**

$$E_n = \frac{M_Y + M_{\alpha}}{M_Y} \left[ \frac{M_X}{M_X + M_p} E_p - \frac{M_X}{M_X + M_p} E_{thr}(p,\alpha) \right] \quad \dots (28)$$

$$E_n = \frac{M_Y + M_{\alpha}}{M_Y} \cdot \frac{M_X}{M_X + M_p} [E_p - E_{thr}(p,\alpha)] \quad \dots (29)$$

For the reverse reaction  $p+X \leftarrow \alpha+Y$  the Q-value of the reaction  $Y(\alpha,p)X$  is given by:

$$Q(\alpha,p) = [M_Y + M_{\alpha} - M_X - M_p] * 931.5 \quad \dots (30)$$

$$\text{or } Q(\alpha,p) = S.E_{\alpha} - S.E_p \quad \dots (31)$$

$$Q(\alpha,p) = \frac{M_X}{M_X + M_p} E_p - \frac{M_Y}{M_Y + M_{\alpha}} E_n \quad \dots (32)$$

Therefore,

$$E_p = \frac{M_X + M_p}{M_X} \left[ Q(\alpha,p) + \frac{M_Y}{M_Y + M_{\alpha}} E_n \right] \quad \dots (33)$$

$$\text{Since } Q(\alpha,p) = -\frac{M_Y}{M_Y + M_{\alpha}} E_{thr}(\alpha,p) \quad \dots (34)$$

Then

$$E_p = \frac{M_X + M_p}{M_X} \left[ \frac{M_Y}{M_Y + M_\alpha} E_\alpha - \frac{M_Y}{M_Y + M_\alpha} E_{thr}(\alpha, p) \right] \quad \dots (35)$$

$$E_p = \frac{M_X + M_p}{M_X} \frac{M_Y}{M_Y + M_\alpha} [E_\alpha - E_{thr}(\alpha, p)] \quad \dots (36)$$

## Data Reduction and Analysis

### a. Method Used to Obtain the Adopted Cross Sections

1. The sets of experimental cross sections data were collected for different authors and with different energy intervals. The cross sections with their corresponding errors for each value are re-arranged according to the energy interval 0.01 MeV for available different energy range for each author.
2. The normalization for the statistical distribution of cross sections errors to the corresponding cross section values for each author has been done.
3. The interpolation for the nearest data for each energy interval as a function of cross sections and their corresponding errors has been done.
4. The interpolated values were calculated to obtain the adopted cross section which is based on the weighted average calculation according to the following expressions [19].

$$\sigma_{w.a.} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{\sigma_i}{(\Delta\sigma_i)^2}}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{(\Delta\sigma_i)^2}} \quad \dots (37)$$

Where the standard deviation error is:

$$S.D. = \frac{1}{\sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{1}{(\Delta\sigma_i)^2}}} \quad \dots (38)$$

Where  $\sigma_i$  : is the cross section value.

$\Delta\sigma_i$  : is the corresponding error for each cross section value.

### b. Adopt.m program

The adopt.m program, which is written in the present work using Matlab program version 7.0, to calculate the adopted cross section by programming equation (37).

### c. Reverse.m program

The reverse.m program, which is written in the present work using Matlab program version 7.0, to calculate  $E_\alpha$  and  $E_p$  by programming

equation (29) and (36) respectively. Also this program is used to calculated  $\sigma(p,\alpha)$  and  $\sigma(\alpha,p)$  by programming equation (16).

#### 4. Results and Discussion

The experimental results in the international Atomic Energy Agency (IAEA) libraries (EXFOR, ENDF-B-VI, and ENDF-B-VII) leave little doubt that the hypothesis of compound nucleus formation gives an excellent account of many diverse types of nuclear reactions. Table (1) present the available data collected for Ni ( $A=58,60,61$ ) target elements, from (IAEA), concerning the measurements of  $(p,\alpha)$  and  $(\alpha,p)$  reactions and their products. The features of nuclear reactions induced by particles (protons or alpha) starting from threshold energy has been proceeded.

The compound nuclear processes arise because the former are two-stage processes in which the momentum is conveyed in first instance to the compound nucleus. The compound nucleus mechanism still accounts for a large part of the observable yield for many reactions. For  $(p,\alpha)$  and  $(\alpha,p)$  reactions in Ni isotopes of mass number ( $A=58,60,61$ ), the interaction cross sections are usually considerable less for the compound nucleus process. This is the reason for our interest in the present work for the considered reactions to be studied.

**Table-1: International libraries used for available measuring data collection for  $(p,\alpha)$  and  $(\alpha,p)$  reactions for Ni ( $A=58, 60, 61$ ) target elements.**

Target Element	Library		Product	
	$(p,\alpha)$	$(\alpha,p)$	$(p,\alpha)$	$(\alpha,p)$
$^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$	EXFOR ENDF-B-VI ENDF-B-VII	ENDF-B-VI ENDF-B-VII	$^{55}_{27}\text{Co}_{28}$	$^{61}_{27}\text{Cu}_{34}$
$^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$	EXFOR ENDF-B-VI ENDF-B-VII	ENDF-B-VI ENDF-B-VII	$^{57}_{27}\text{Co}_{30}$	$^{63}_{27}\text{Cu}_{36}$
$^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$	EXFOR ENDF-B-VI ENDF-B-VII	ENDF-B-VI ENDF-B-VII	$^{58}_{27}\text{Co}_{31}$	$^{64}_{27}\text{Cu}_{37}$

### a. Adopted Cross Sections of (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) Reactions

The ( $\alpha$ ,p) cross sections data for the target elements  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$ ,  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$  and  $^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$ , are not available in the EXFOR library concerning the measurement of ( $\alpha$ ,p) reactions. The (p, $\alpha$ ) cross sections data for the target elements  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$ ,  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$  and  $^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$  are available in the EXFOR library concerning the measurement of (p, $\alpha$ ) reactions, have been taken and plotted as shown in figures (1,2 and 3). These plots were analyzed using the Matlab-7.0 for selected energies given by different authors.

In order to calculate the cross sections of (p, $\alpha$ ) reactions for the maintained target elements, we adopt the cross sections for EXFOR library using the adopt.m program. It is important to note that the energy range of the reaction, taken from different authors, must be identical. For this reason, the determination of the energy range have been done in the present work by interpolated and recalculated the energy in steps of interval of 0.01 MeV starting from the threshold energy, ending with energy given for the incident alpha particle, in addition to the statistical treatments for cross section errors distribution have been made in order to obtain the adopted cross sections of a given reaction, which is based on the statistical variation treatment as a weighted average calculation according to equation (37).

### b. Adopted Cross Sections of (p, $\alpha$ ) Reactions and the Reciprocity Theory

The available data in the literature, taken from EXFOR library, concerning the measurement of the (p, $\alpha$ ) reaction cross sections for the target elements mentioned above were evaluated in the present work in order to calculate the adopted cross sections using adopt.m program, and then recalculated by using the reciprocity theory, using revers.m program to get the reverse reaction cross sections. The results for each (p, $\alpha$ ) reaction are discussed as follows:

#### 1. $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p,\alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$ Reaction

The sets of measured data for the cross sections of  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p,\alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  reaction are reported by Kaufman (1960) [9], Ewart and Blann (1964) [10], Brinkman et al.(1977) [11], and Levkovskij (1991)[12]. have been plotted, interpolated, and recalculated in steps of 0.01 MeV from threshold energy 7.11 MeV up to 49.85 MeV. The measured data and the calculated adopted cross sections results are drawn as a function of incident proton energy as shown in figures (1 and 4).

One peaks appear (one states); their calculated results are shown in table-2.

The results of the adopted cross sections of this reaction have been recalculated by using the reciprocity theory using reverse.m program to



obtain the reverse reaction  ${}^{55}_{27}\text{Co}({}_{28}^{58}\text{Ni}, p){}_{28}^{58}\text{Ni}$  cross sections at threshold energy 6.0641 MeV up to 51.13 MeV in fine steps 0.01 MeV and then plotted to compare with the  ${}^{58}_{28}\text{Ni}(p, \alpha){}_{27}^{55}\text{Co}$  cross sections as shown in figure (4). The result was found that both reactions have the same behavior, but the difference is in the energy range and cross sections which caused by the difference in the threshold energy and the spin for target  ${}^{58}_{28}\text{Ni}$  and the product  ${}^{55}_{27}\text{Co}$ .

## 2. ${}^{60}_{28}\text{Ni}(p, \alpha){}_{27}^{57}\text{Co}$ Reaction

The sets of measured data for the cross sections of  ${}^{60}_{28}\text{Ni}(p, \alpha){}_{27}^{57}\text{Co}$  reaction are reported by Kaufman (1960) [9], Tanaka et al.(1972) [13], and Levkovskij (1991) [12]. have been plotted, interpolated, and recalculated in steps of 0.01 MeV from threshold energy 6.8753 MeV up to 34.74 MeV. The measured data and the calculated adopted cross sections results are drawn as a function of incident proton energy as shown in figures (2 and 5). One peaks appear (one states); their calculated results are shown in table-2.

The results of the adopted cross sections of this reaction have been recalculated by using the reciprocity theory using reverse.m program, to obtain the reverse reaction  ${}^{57}_{27}\text{Co}(\alpha, p){}_{28}^{60}\text{Ni}$  cross sections at threshold energy 6.87 MeV up to 34.74 MeV. The results were found that the  ${}^{60}_{28}\text{Ni}(p, \alpha){}_{27}^{57}\text{Co}$  reaction cross sections and the reverse reaction  ${}^{57}_{27}\text{Co}(\alpha, p){}_{28}^{60}\text{Ni}$  cross sections have the same behavior, but the difference is in the energy range and the spin of the target  ${}^{60}_{28}\text{Ni}$  and the product  ${}^{57}_{27}\text{Co}$ . The reproduced of the comparison of both reactions are shown in figure (5).

## 3. ${}^{61}_{28}\text{Ni}(p, \alpha){}_{27}^{58}\text{Co}$ Reaction

The sets of measured data for the cross sections of  ${}^{61}_{28}\text{Ni}(p, \alpha){}_{27}^{58}\text{Co}$  reaction are reported by Tanaka et al.(1972) [13], Sudar et al.(1993) [14a], and Sudar et al.(1993) [14b]. have been plotted, interpolated, and recalculated in steps of 0.01 MeV from threshold energy 5.3 MeV up to 18.5 MeV. The measured data and the calculated adopted cross sections results are drawn as a function of incident proton energy as shown in figures (3 and 6).

Four peaks appear (four states); their calculated results are shown in table-2.

The results of the adopted cross sections of this reaction have been recalculated by using the reciprocity theory using reverse.m program, to obtain the reverse reaction  ${}^{58}_{27}\text{Co}(\alpha, p){}_{28}^{61}\text{Ni}$  cross sections at threshold energy 6.0968 MeV up to 19.98 MeV. The results were found that the  ${}^{61}_{28}\text{Ni}(p, \alpha){}_{27}^{58}\text{Co}$  reaction cross sections and the reverse reaction  ${}^{58}_{27}\text{Co}(\alpha, p){}_{28}^{61}\text{Ni}$  cross sections have the same behavior, but the difference is



in the energy range and the spin of the target  $^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$  and the product  $^{58}_{27}\text{Co}_{31}$ . The reproduced of the comparison of both reactions are shown in figure (6)

Table -2: The calculated width ( $\Gamma$ ), life time ( $\tau=\hbar/r$ ), and decay probability ( $1/\tau$ ) for (p, $\alpha$ ) reactions for Ni (58,60,61)						
Reaction	State Number	maximum cross section (mb) (at energy (MeV))	Half maximum cross section(mb)	FWHM $\Gamma$ (MeV)	Life time $\tau=\hbar/r \times 10^{-22}$ (s)	Decay probability $(1/\tau) \times 10^{22}$ ( $s^{-1}$ )
58Ni(p, $\alpha$ )55Co	1st	35.507(18)	17.754	12.25	0.5373	1.8611
60Ni(p, $\alpha$ )57Co	1st	40.989(13.45)	20.495	11.95	0.5508	1.8155
61Ni(p, $\alpha$ )58Co	1st	42.267(15.21)	21.134	...	...	...

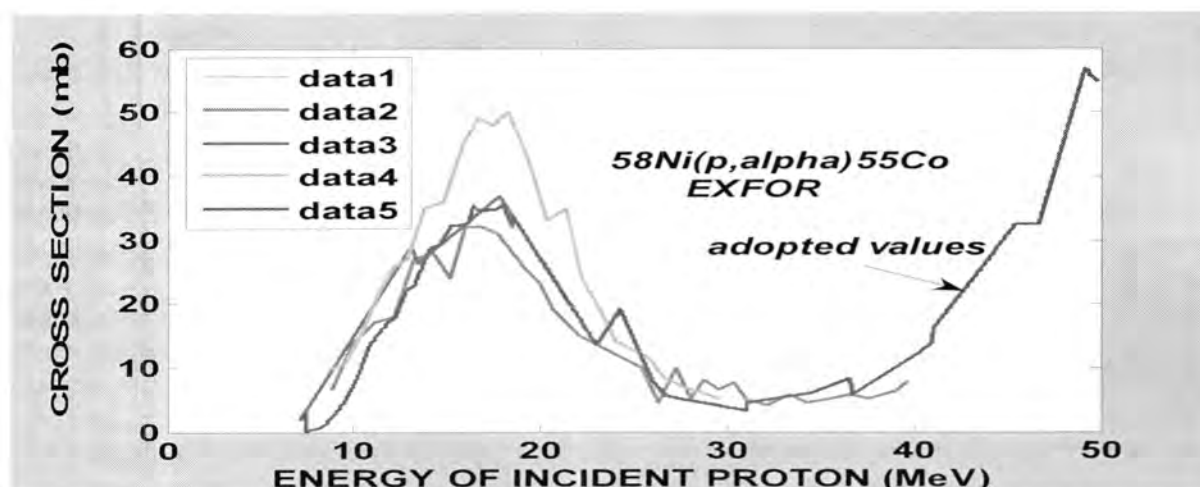
In analyzing the (p, $\alpha$ ) reactions we note the following:

**A-** The discrete nuclear states that are populated in ordinary decays have discrete separations, widths, and lifetimes. Thus if we were to calculate the cross sections at a given incident proton or alpha energy of a nuclear state, it is very unlikely that the overlap of the energy distributions of two different states could cause confusion as to the stationary state resulting from the decay.

When the widths of unstable states are small compared with their separation, the states are distinct and observable. And if the states are overlap and strongly mixed, these states do not have distinctly observable wave functions, as shown in figure (3).

Because of the instability of the compound nucleus results in an uncertainty in the energy of these states. The energy uncertainty is given by the width of the resonance and lifetime of the state as calculated in the present work for each state. Therefore, the resonance will have the character of the energy distribution of any decaying state of width  $r$ , lifetime  $\tau$ , and a maximum total cross section.

**B-** The (p, $\alpha$ ) reactions and their reverse ( $\alpha$ ,p) reactions show resonances, corresponds to the same excited level of the compound nucleus formation. It is clear to see that each resonance in the ( $\alpha$ ,p) reaction is higher by the same amount (close to threshold energy) than the corresponding resonance in the (p, $\alpha$ ) reaction, as shown in figure (3); but it is not appreciable in figure (4).



**Fig.-1: The adopted cross section of the  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p, \alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  reaction (present work) compared With EXFOR Library.**

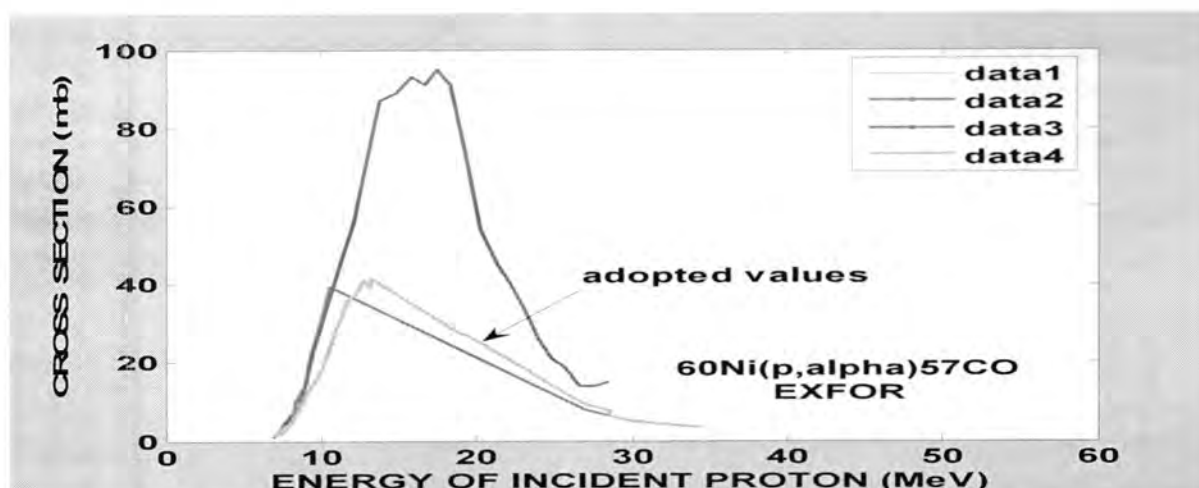
Data 1:[9] Kaufman S.(1960) .

Data 2:[10] Ewart H.A.and Blann M.(1964).

Data 3:[11] Brinkman G.A. et al.(1977).

Data 4:[12] Levkovskij V.N.(1991).

Data 5:Present Work(PW).



**Fig.-2: The adopted cross section of the  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p, \alpha)^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  reaction (present work) compared with EXFOR Library.**

Data 1:[9] Kaufman S.(1960) .

Data 2:[13] Tanaka S. et al.(1972).

Data 3:[12] Levkovskij V.N.(1991).

Data 4:Present Work(PW).

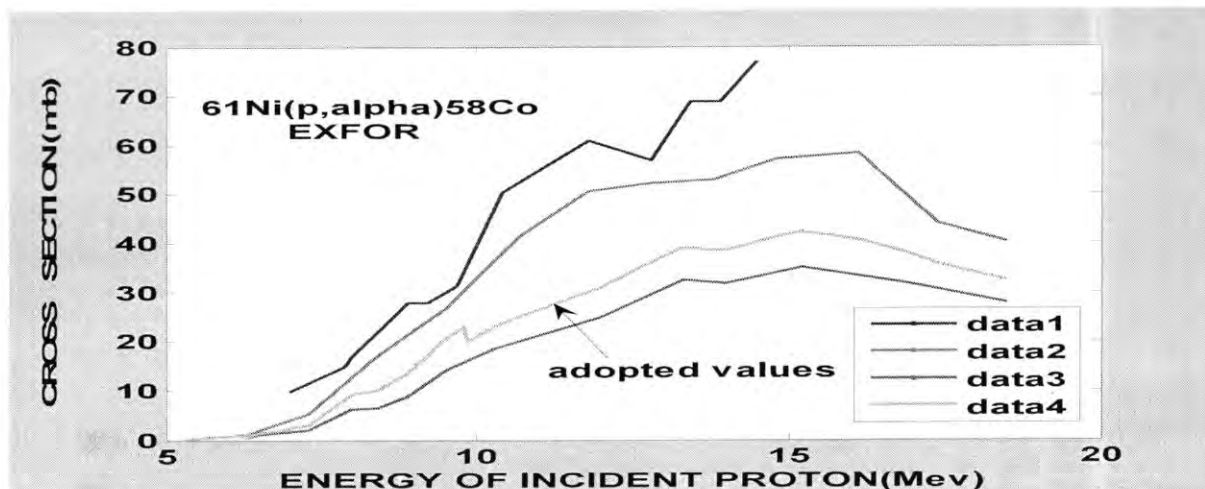


Fig.-3: The adopted cross section of the  $^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(p, \alpha)^{58}_{27}\text{Co}_{31}$  reactio(present work) compared with EXFOR Library.

Data 1:[13] Tanaka S.et al.(1972) .

Data 3:[14b] Sudar S. et al.(1993).

Data 2:[14a] Sudar S. et al.(1993).

Data 4:Present Work(PW).

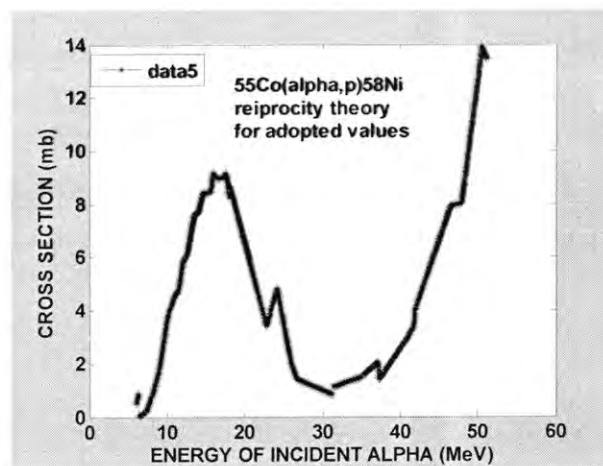
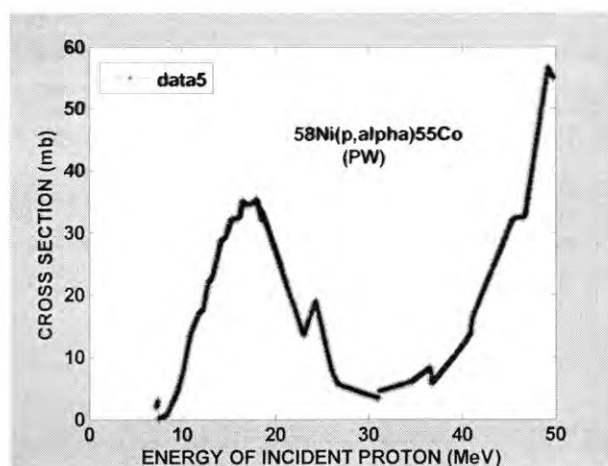


Fig.-4:The adopted cross section of  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p, \alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  reaction as a function of proton energy with threshold of 7.11 Mev compared with the cross section of  $^{55}_{27}\text{Co}_{28}(\alpha, p)^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$  reaction as afunction of alpha energy with threshold of 6.0641 Mev using reciprocity theory.

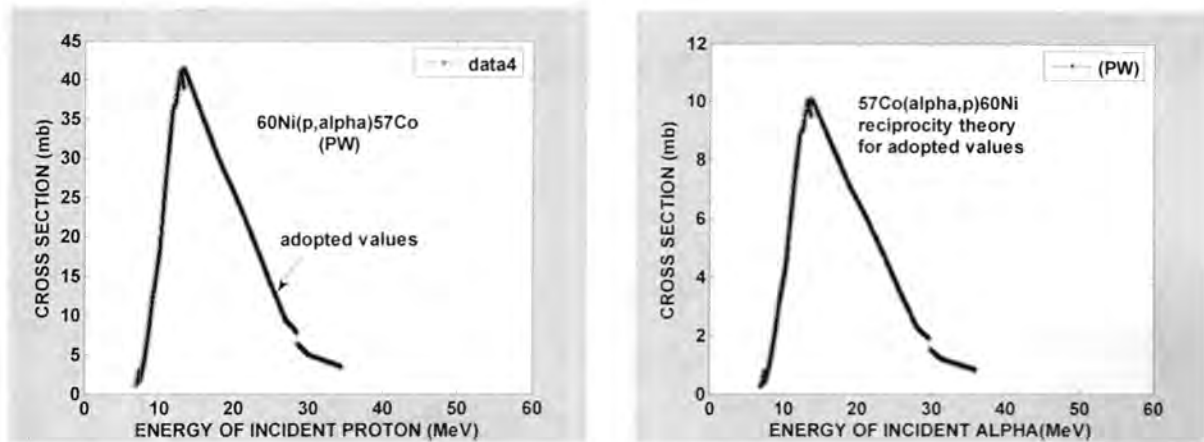


Figure -5: The adopted cross section of  ${}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p, \alpha){}^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  reaction as a function of proton energy with threshold of 6.80 Mev compared with the cross section of  ${}^{57}_{27}\text{Co}_{30}(\alpha, p){}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$  reaction as a function of alpha energy with threshold of 6.8753 Mev using reciprocity theory.

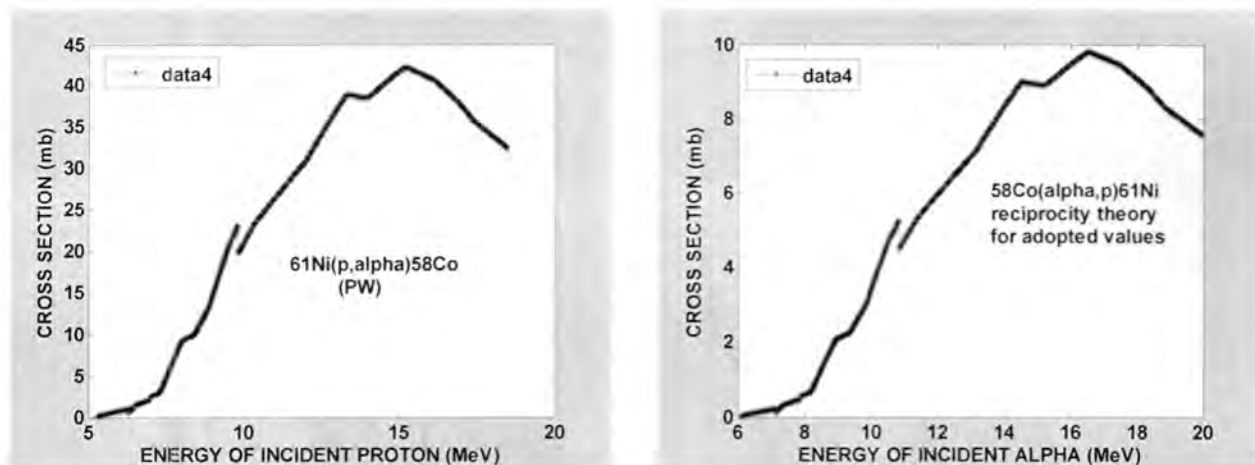


Fig.-6: The adopted cross section of  ${}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(p, \alpha){}^{58}_{27}\text{Co}_{31}$  reaction as a function of proton energy with threshold of 5.30 Mev compared with the cross section of  ${}^{58}_{27}\text{Co}_{31}(\alpha, p){}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$  reaction as a function of alpha energy with threshold of 6.0968 Mev using reciprocity theory.

### c. Evaluated Cross Sections of (p,α) and (α,p) Reactions

The evaluated cross sections of (p,α) and (α,p) reactions for the target elements ( ${}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$ ,  ${}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$ , and  ${}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$ ) were available in the big international library ENDF-B-VI and ENDF-B-VII respectively.

#### 1. Evaluated Cross Sections of (p,α) Reactions and the Reciprocity Theory

The evaluated ENDF library cross sections data of the following (p,α) reactions have been plotted, as a function of incident proton energy. Using reciprocity theory by using reverse.m program in order to obtain the cross sections of reverse (α,p) reactions and then plotted, as a function of incident alpha energy. The results plotted in figures (7,8 and 9) show that both

reactions have the same behavior but the difference is in the cross section range, energy range, threshold energy and the spin of the target and the product.

**a.  ${}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p, \alpha){}^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  Reaction**

Figure (7) shows the evaluated ENDF-B-VI,VII library cross section of  ${}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p, \alpha){}^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  reaction with threshold energy 1.358 MeV of incident proton up to 150 MeV. Figure (7) also shows the calculated reverse reaction  ${}^{55}_{27}\text{Co}_{28}(\alpha, p){}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$  cross sections with threshold energy 0.127 MeV of incident alpha up to 156.74 MeV.

**b.  ${}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p, \alpha){}^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  Reaction**

Figure (8) shows the evaluated ENDF-B-VI,VII library cross section of  ${}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p, \alpha){}^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  reaction with threshold energy 1.00 MeV of incident proton up to 150 MeV. Figure (8) also shows the calculated reverse reaction  ${}^{57}_{27}\text{Co}_{30}(\alpha, p){}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$  cross sections with threshold energy 1.1429 MeV of incident alpha up to 157.61 MeV.

**c.  ${}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(p, \alpha){}^{58}_{27}\text{Co}_{31}$  Reaction**

Figure (9) shows the evaluated ENDF-B-VI,VII library cross section of  ${}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(p, \alpha){}^{58}_{27}\text{Co}_{31}$  reaction with threshold energy 1.00 MeV of incident proton up to 150 MeV. Figure (9) also shows the calculated reverse reaction  ${}^{58}_{27}\text{Co}_{31}(\alpha, p){}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$  cross sections with threshold energy 1.574 MeV of incident alpha up to 157.28 MeV.

## 2. Evaluated Cross Sections of ( $\alpha$ ,p) Reactions and the Reciprocity Theory

The evaluated international libraries cross sections data of ( $\alpha$ ,p) reactions have been plotted in the present work as a function of incident alpha energy for Ni (A=58,60,61) target elements as shown in figures (10,11 and 12) respectively, using Matlab-7.0 program. The reciprocity theory has applied for each ( $\alpha$ ,p) reaction and separately for individual international libraries, by using reverse.m program. The details are as the following:

**a.  ${}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(\alpha, p){}^{61}_{29}\text{Cu}_{32}$  Reaction**

For  ${}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(\alpha, p){}^{61}_{29}\text{Cu}_{32}$  reaction, the evaluated cross sections data were available in ENDF-B-VI,VI, and ENDF-B-VI,VI libraries. These data have been plotted at threshold energy 3.3228 MeV, and recalculated by using the reciprocity theory to obtain the reverse reaction  ${}^{61}_{29}\text{Cu}_{32}(p, \alpha){}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$  cross sections at threshold energy 0.4849 MeV, and



then plotted as a function of incident proton energy, to compare with the  ${}^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(\alpha, p){}^{61}_{29}\text{Cu}_{32}$  reaction. The results of this study show that both reactions have the same behavior. The reproduced cross sections for this reaction and the results of reverse reactions shown in figure (10).

**b.  ${}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(\alpha, p){}^{63}_{29}\text{Cu}_{34}$  Reaction**

The evaluated cross sections data of  ${}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(\alpha, p){}^{63}_{29}\text{Cu}_{34}$  reaction measured and declared by ENDF-B-VI, VI, and ENDF-B-VI, VII libraries, These data have been plotted at threshold energy 4.007MeV, and recalculated by using the reciprocity theory to obtain the reverse reaction  ${}^{63}_{29}\text{Cu}_{34}(p, \alpha){}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$  cross section at threshold energy 0.6821 MeV, and then plotted as a function of incident proton energy, to compared with the  ${}^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(\alpha, p){}^{63}_{29}\text{Cu}_{34}$  reaction. The results of this study show that both reactions have the same behavior. The reproduced cross sections from each library are shown in figure (11).

**c.  ${}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(\alpha, p){}^{64}_{29}\text{Cu}_{35}$  Reaction**

The evaluated cross sections data of  ${}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(\alpha, p){}^{64}_{29}\text{Cu}_{35}$  reaction measured and declared by ENDF-B-VI, VI, and ENDF-B-VI, VII libraries. These data have been plotted at threshold energy 3.9011MeV, and recalculated by using the reciprocity theory to obtain the reverse reaction  ${}^{64}_{29}\text{Cu}_{35}(p, \alpha){}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$  cross sections at threshold energy 0.8961MeV, and then plotted the cross section as a function of incident

proton energy, to compared with the  ${}^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(\alpha, p){}^{64}_{29}\text{Cu}_{35}$  reaction. The results of this study show that both reactions have the same behavior. The reproduced cross sections from each library are shown in figure (12).

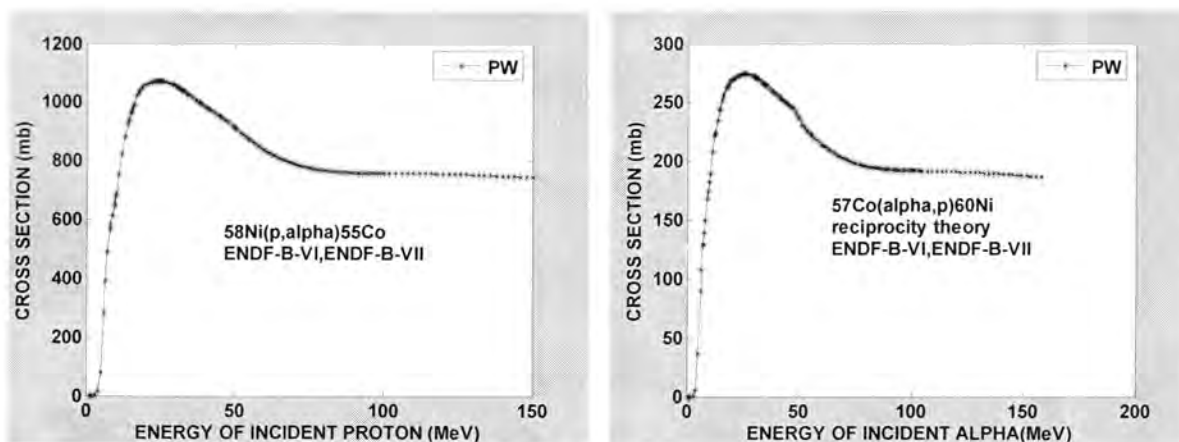


Fig.-7: The cross section of  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p, \alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  reaction with threshold of 1.358 Mev compared with the cross section of  $^{55}_{27}\text{Co}_{28}(\alpha, p)^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$  reaction with threshold of 0.127 Mev as calculated by the present work using reciprocity theory for  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p, \alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  as given by ENDF-B-VI, ENDF-B-VII library.

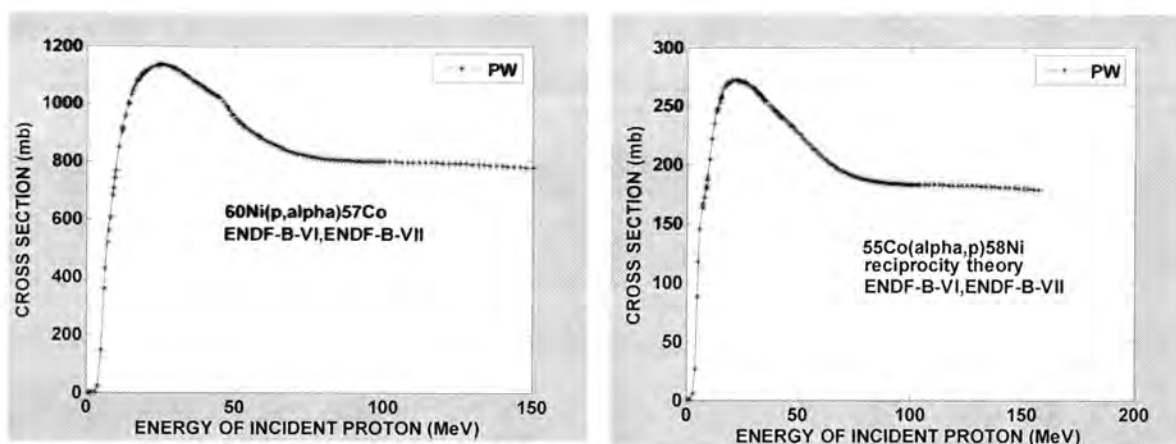


Fig.-8: The cross section of  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p, \alpha)^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  reaction with threshold of 1.00 Mev compared with the cross section of  $^{57}_{27}\text{Co}_{30}(\alpha, p)^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$  reaction with threshold of 1.1429 Mev as calculated by the present work using reciprocity theory for  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p, \alpha)^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  as given by ENDF-B-VI, ENDF-B-VII library.

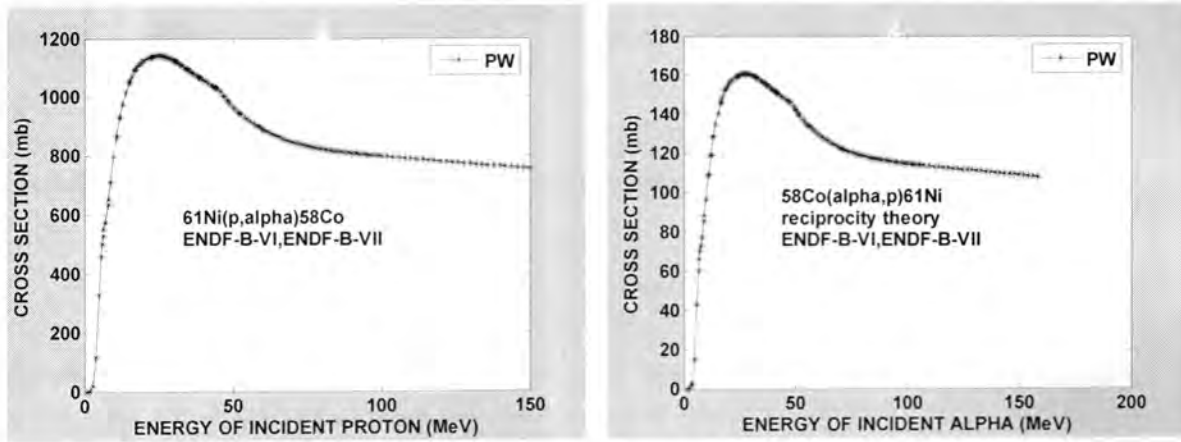


Fig.-9: The cross section of  $^{61}_{28}\text{Ni}(p, \alpha)^{58}_{27}\text{Co}$  reaction with threshold of 1.00 Mev compared with the cross section of  $^{58}_{27}\text{Co}(\alpha, p)^{61}_{28}\text{Ni}$  reaction with threshold of 1.574 Mev as calculated by the present work using reciprocity theory for  $^{61}_{28}\text{Ni}(p, \alpha)^{58}_{27}\text{Co}$  as given by ENDF-B-VI, ENDF-B-VII library.

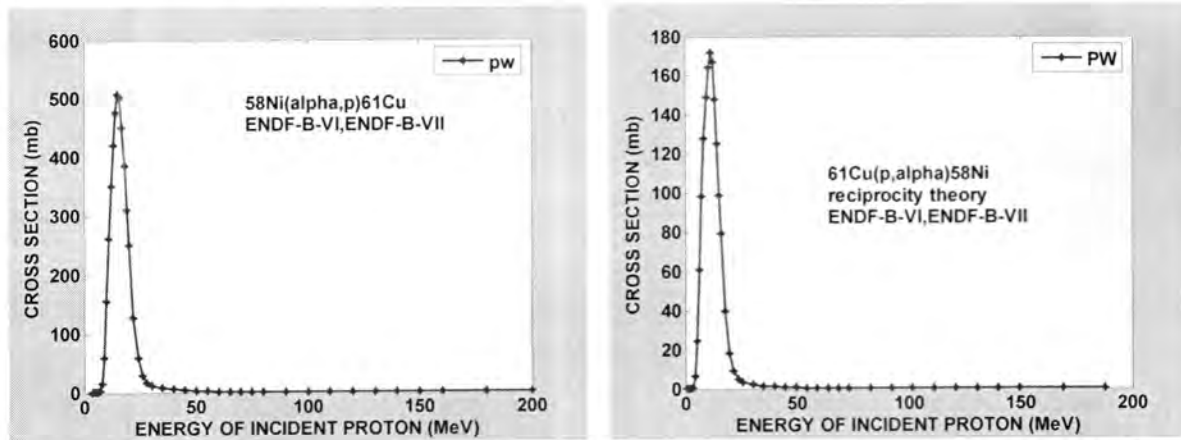


Fig.-10: The cross section of  $^{58}_{28}\text{Ni}(\alpha, p)^{61}_{29}\text{Cu}$  reaction with threshold of 3.3228 Mev compared with the cross section of  $^{61}_{29}\text{Cu}(p, \alpha)^{58}_{28}\text{Ni}$  reaction with threshold 0.4849 Mev as calculated by the present work using reciprocity theory for  $^{58}_{28}\text{Ni}(\alpha, p)^{61}_{29}\text{Cu}$  as given by ENDF-B-VI, ENDF-B-VII library.

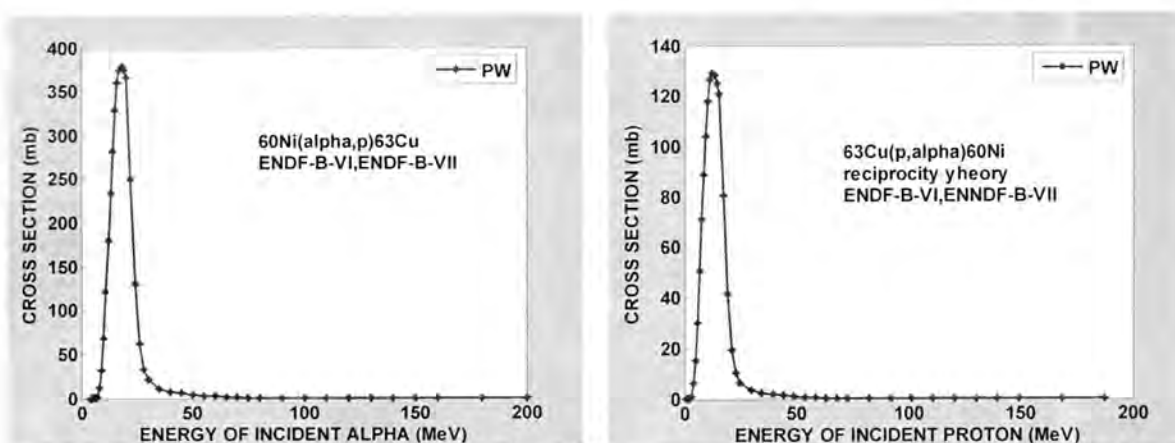


Fig.-11: The cross section of  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(\alpha, p)^{63}_{29}\text{Cu}_{34}$  reaction with threshold of 4.007 Mev compared with the cross section of  $^{63}_{29}\text{Cu}_{34}(p, \alpha)^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$  reaction with threshold 0.6821 Mev as calculated by the present work using reciprocity theory for  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(\alpha, p)^{63}_{29}\text{Cu}_{34}$  as given by ENDF-B-VI, ENDF-B-VII library.

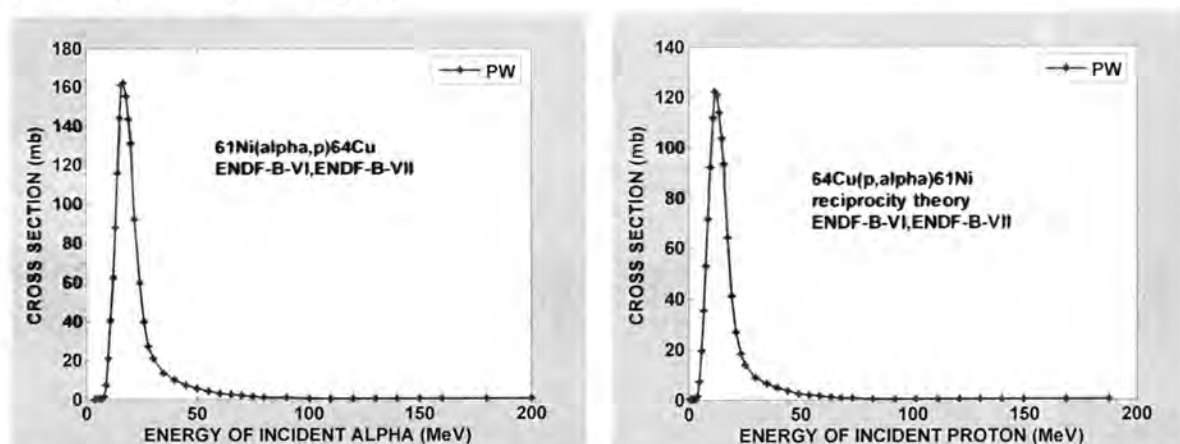


Fig.-12: The cross section of  $^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(\alpha, p)^{64}_{29}\text{Cu}_{35}$  reaction with threshold of 3.9011 Mev compared with the cross section of  $^{64}_{29}\text{Cu}_{35}(p, \alpha)^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$  reaction with threshold 0.8961 Mev as calculated by the present work using reciprocity theory for  $^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(\alpha, p)^{64}_{29}\text{Cu}_{35}$  as given by ENDF-B-VI, ENDF-B-VII library.

#### d. Empirical Formulae for Adopted Cross Sections

Using the adopted cross sections as an input data, a Matlab-7.0 computer program have been executed to obtain the fitting equations and the fitting parameters of the fit formula with lower chi squared value ( $x^2_{\min}$ ). To obtain a more suitable expression the energy region data have been excluded till an acceptable value of ( $x^2_{\min}$ ) has been reached. This indicates that such an expression is valid for a limited wide range of the proton-particle energy or alpha-particle energy, where the fitting formula selected for each reaction has been tried to fit these data and a more satisfactory formula has been obtained.

This procedure has been followed for all the (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) reactions as showing in figure (13) respectively within the scope of this work.

Two types of formalism have been considered in this study:

(1) Polynomial fit expression of the general form

$$y = A_0 + A_1X + A_2X^2 + A_3X^3 + \dots = \sum_{i=0}^N A_i X^i \quad \dots (39)$$

Where y is the cross section, X is the incident proton or alpha energy,  $A_0$ ,  $A_1$ ,  $A_3$ , ... are parameters which were fitted to the adopted data in an increasing order to obtain the best adequate expression. Which is the best fitting for  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p,\alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  with degree four;  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p,\alpha)^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  with degree five;  $^{58}_{28}\text{Ni}_{30}(p,\alpha)^{55}_{27}\text{Co}_{28}$  with seven;  $^{60}_{28}\text{Ni}_{32}(p,\alpha)^{57}_{27}\text{Co}_{30}$  with degree seven; and  $^{61}_{28}\text{Ni}_{33}(p,\alpha)^{58}_{27}\text{Co}_{31}$  with degree seven. Our trials were directed to fit the evaluated cross sections taken from ENDF-B-VI and ENDF-B-VII library since the EXFOR library has not been perform data to be adopted.

(2) Cubic spline interpolation of the general form

$$y = A_0 + A_1X + A_2X^2 + A_3X^3 = \sum_{i=0}^3 A_i X^i \quad \dots (40)$$

The calculation mechanism has been suggested for data at minimum value of CHISQ ( $\chi^2$ ) in the following expression [20]:

$$\chi^2 = \frac{1}{(N - m)} \sum_i \left( \frac{y_{\text{exp}}^i - y_{\text{cal}}^i}{\Delta y_{\text{exp}}^i} \right)^2 \quad \dots (41)$$

Where N is the number of data points, m is the number of parameters  $y_{\text{exp}}$ , is the weighted average cross section, and  $y_{\text{cal}}$  is the calculated cross section. As an adequate formula has been obtained for each studies isotope.

Our trials were directed toward establishing a unified expression obeyed by the studied natural elements. This is done by investigating the variation of cross sections with the proton or alpha energy, atomic number z and the asymmetry factor of the target elements as shown in table-3.

**Table-3: The asymmetry parameter for Ni(A=58, 60, 61) isotopes.**

Element	(N-Z) / A
$^{58}_{28}\text{Ni}_{30}$	0.034
$^{60}_{28}\text{Ni}_{32}$	0.066
$^{61}_{28}\text{Ni}_{33}$	0.081



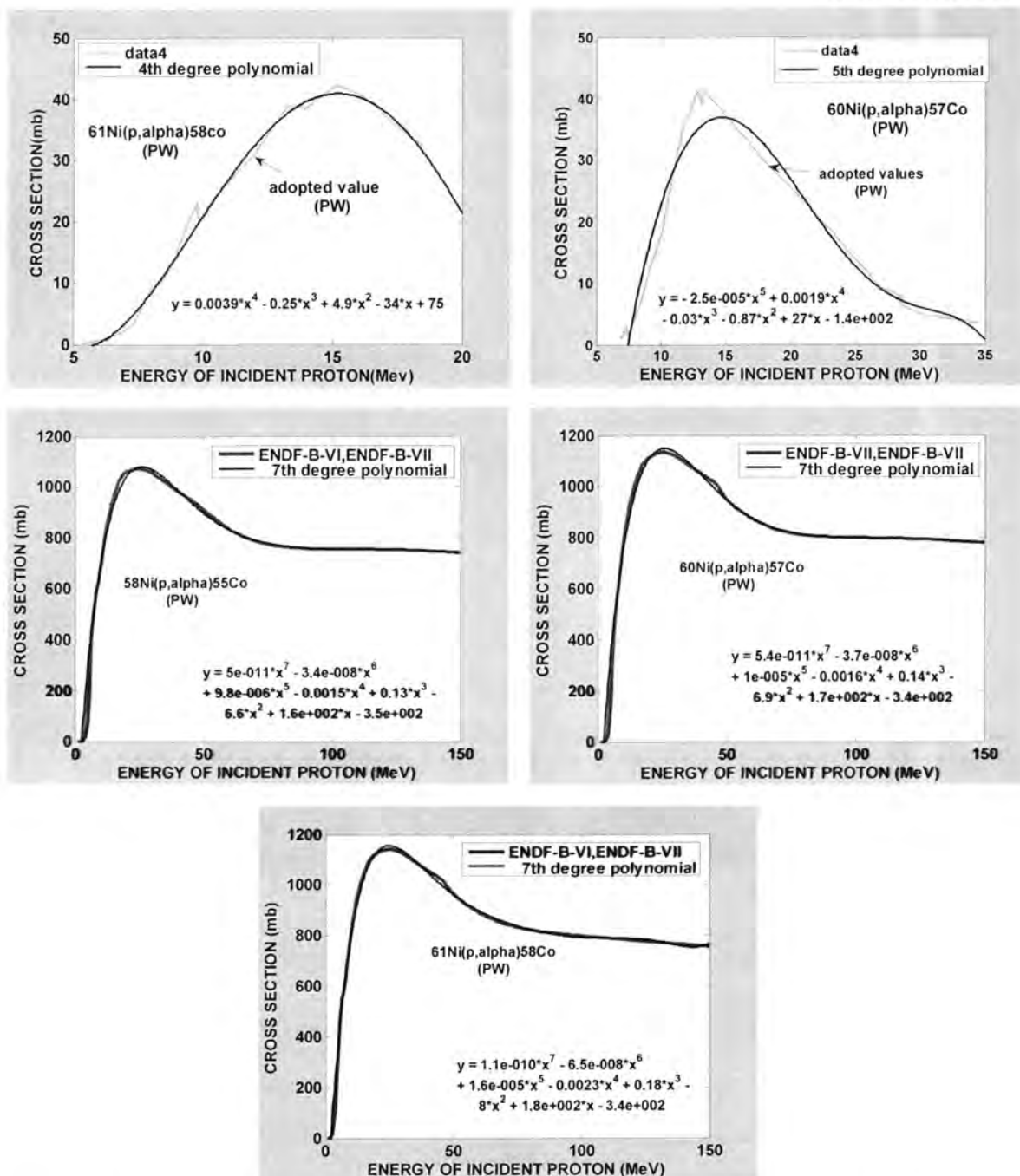


Fig.-13: The fitting equations for adopted EXFOR or ENDF cross sections for (p, $\alpha$ ) reactions under study in the present work.

Because the widths of nuclear states are either small compared with their separation or overlapped. We therefore, conclude that it is reasonable to speak of discrete quasibound stationary states because their separation is far greater than their width, and we also conclude that such nuclear states do not contribute to the density of final states because there is only one nuclear state that can be reached in a given decay process.

The alpha production by proton incident reactions, (p, $\alpha$ ) reactions, with medium nuclei have large cross sections for alpha production and they could have influence on safety design and operation of these facilities. Hence, accelerators using protons are used in such fields as physics, biology, proton therapy and medicines.

The reciprocity theory is a good theory for the calculation of reverse reactions to estimate the cross sections for the reactions that have no atomic mass for their products or to calculate the cross sections of the reactions that have no experimental data.

It is able to estimate a mathematical empirical formulae for (p, $\alpha$ ) and ( $\alpha$ ,p) reactions. Which could be used to predict the values of uncalculated cross sections.

## REFERENCES

- [1] Lilley J., "Nuclear Physics", John Wiley and Sons, :129-148, 300-304 (2002).
- [2] Krane K.S., "Introductory Nuclear Physics", John Wiley and Sons, :378-379 (1988).
- [3] Mehta M.K., Kailas S., and Sekharan K.K., "Total (p,n) Reaction Cross Section Study on  $^{51}_{23}\text{V}$  Over the Incident Energy Range 1.56 to 5.53 MeV", Pramana, 9(4) :419-434 (1977).
- [4] Peebles C.R., "Alternatives to the Americium-Beryllium Neutron Source for the Compensated Neutron Porosity Log", M.Sc. Thesis, North Carolina State University (2007).
- [5] Bohr N., "Neutron Capture and Nuclear Constitution", Nature, 137, 344 (1936).
- [6] Fernbach S., Serber R., and Taylor B., "Fernbach Theory", Phys.Rev., 75, 1352 (1949).
- [7] Weisskopf V.F., "Weisskopf Theory", 3, 423 (1957).
- [8] Feshbach H., "Feshbach Theory", Ann.Phys.(NY), 5, 357 (1958).
- [9] Kaufman S., "Reactions of Protons with Ni-58 and Ni-60", Physical Review, 117, 1532(1960).
- [10] Ewart H.A and Blann M., Private communication Name.Ewart(1964).).

- [11] Brinkman G.A., Helmer J., and Lindne L., " Nickel and copper foils as monitors for beam intensities", Radiochemical and Radio analytical Letters, 28, 9 (1977).
- [12] Levkovskij V.N., " Activation cross section nuclides of average masses(A=40-100) by protons and alpha-particles with average energies (E=10-50 MEV)", Levkovskij, Act.Cs.By Protons and Alphas, Moscow (1991).
- [13] Tanaka S., Furukawa M., and Chiba M., " Nuclear Reactions of Nickel with Protons up to 56 MeV", Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry, 34, 2419(1972).
- [14a,b] Sudar S., Szelecsenyi F., and Qaim S.M., " Excitation function and, isomeric cross-section for the Ni-61(p, $\alpha$ )Co-58", m,g process Physical Review, Part C, Nuclear Physics, 48, 3115 (1993).
- [15]. Macklin R.L. and Gibbons J.H., "Total neutron yields from light elements under proton and alpha bombardment", Journal: Phys.Rev., 165, 1147 (1968).
- [16]. Cattingham W.N. and Green Wood D.A., "An Introduction to Nuclear Physics", 2nd Editition, Cambridge, 236 (2004).
- [17]. Burcham W.E., "Nuclear Physics an Introduction", Second Edition, William Clowes and Sons, :344-395 (1973).
- [18]. Samuel S.M. Wong, "Introductory Nuclei Physics", Prentice-Hall, :331-381 (1990).
- [19]. Knole G.F., "Radiation Detection and Measurement", John Wiley and Sones, :90-92 (2000).
- [20]. Beigaid M., Tasadit A., Kadem F., and Amokrane H., Nucl. Instr. and Meth. B (2005).

## Partitions by Subgeometries of Projective Plane Over Finite Field of Order Sixteen.

Najm Abdulzahra Makhrib

Dept. of Math.- College of Science – Univ. of Al-Mustansiriya

Submitted : 16/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

الهدف الأساسي لهذا البحث هو لتصنيف تجزئة مستوى الإسقاط من الرتبة السادسة عشرة  $PG(2,16)$  إلى الهندسة الجزئية  $PG(2,2)$  وكذلك  $PG(2,4)$ . تناولنا مستويات الإسقاط  $PG(2,q)$  ذات عدد مربع من النقاط. و بصوره خاصة عندما  $q = 2^4$ .  $q^2 + q + 1$  أعداد غير أولي وصفنا الهندسة لهذه المسارات. قمنا بحساب الحجم لثاني اكبر قوس في مستوى الإسقاط  $PG(2,2^4)$ .

### ABSTRACT

The main goal of this paper is to classify partitions of projective plane of order sixteen  $PG(2,16)$  into subgeometries  $PG(2,2)$  and  $PG(2,4)$ . Projective planes  $PG(2,q)$  with a square number of points, in particular  $q = 2^4$ . when  $q^2 + q + 1$  is not a prime, the geometry of these orbits are described. The value for the size of second largest complete arc in projective plane  $PG(2,2^4)$  are computed.

### Notation

$GF(q)$	the finite field of $q = p^h$ elements, $p$ prime
$PG(2,q)$	Projective plane over $GF(q)$
$ X $	number of elements in the set $X$
$N$	the natural numbers $\{1,2,3, \dots\}$
$ \{m \in N   1 \leq m \leq n; (m,n) = 1\} $	$\varphi$
$Z_n$	cyclic group of order $n$
$\langle P \rangle$	the group generated by $P$ .
$o(t)$	order of the element $t$
$G \cong H$	the groups $G$ and $H$ are isomorphic
$m'(2,q)$	size of second largest complete arc in $PG(2,q)$

## INTRODUCTION

The subgeometry  $PG(2,2)$  of  $PG(2,4)$  has been classified see[3]. Cyclic projectivities have a further application in elucidating the structure of projective spaces over finite fields when the order of the field is not prime. Firstly, since  $GF(q)$  is a subfield of  $GF(q^k)$  for  $k$  in  $N$ , so  $PG(n,q)$  is naturally embedded in  $PG(n,q^k)$  once the coordinate system is fixed. Any  $PG(n,q)$  embedded in  $PG(n,q^k)$  is a subgeometry of  $PG(n,q^k)$ .

Let  $S$  be the set of such subgeometries, and let  $s(n,q,q^k) = |S|$ .

Every finite projective space  $PG(n,q)$  has a cyclic projectivity, that is a bijective incidence-preserving map  $T$  which permutes the points and hence the primes in a single cyclic;  $T$  is also known as a Singer cyclic. Thus  $T$  generates a cyclic group  $\langle T \rangle$  of order

$$\theta(2,q) = |PG(n,q)| = (q^{n+1} - 1)/(q - 1). \quad (1)$$

It has often been of interest to investigate orbits of subgroups of  $\langle T \rangle$ . For example, when  $q$  is square,

$$\theta(2,q) = q^2 + q + 1 = rs, \quad (2)$$

Where  $r = q - \sqrt{q} + 1$  and  $s = q + \sqrt{q} + 1$ . Then the orbits of  $\langle T^r \rangle$  have size  $s$  and are Baer subplanes  $PG(2,\sqrt{q})$ ; the orbits of  $\langle T^s \rangle$  have size  $r$  and are complete  $r$ -arcs with  $q > 4$ , that is sets of  $r$  points no three of which lie on a line and its not contained of  $(r+1)$ -arcs see[1], [2] and [4].

### Notation for small finite fields

$$GF(2) = \{0, 1 \mid 2 = 0\};$$

$$GF(4) = \{0, 1, \alpha, \alpha^2 \mid 2 = \alpha^2 + \alpha + 1 = \alpha^3 + 1 = 0\};$$

$$GF(16) = \{0, 1, \omega, \omega^2, \omega^3, \omega^4, \omega^5, \omega^6, \omega^7, \omega^8, \omega^9, \omega^{10}, \omega^{11}, \omega^{12}, \omega^{13}, \omega^{14} \mid 2 = \omega^4 + \omega + 1 = \omega^8 + \omega^2 + 1 = \omega^{14} + \omega^3 + 1 = \omega^{10} + \omega^5 + 1 = \omega^{13} + \omega^6 + 1 = \omega^9 + \omega^7 + 1 = \omega^{12} + \omega^{11} + 1 = \omega^{15} + 1 = 0\}.$$

### Background

**Lemma 1:** The number of subgeometries is as follows:

$$s(n,q,q^k) = q^{n(n+1)(k-1)/2} \prod_{l=2}^{n+1} [(q^{kl} - 1)/(q^l - 1)].$$

**Proof** see[4].

**Corollary 2:** The number  $s(n,q,q^k)$  is multiplicative in the sense that

$$s(n,q,q^k) s(n,q^k,q^{k^l}) = s(n,q,q^{k^l}).$$

**Corollary 3:** On the line  $PG(1,q^k)$ ,

$$1. s(1,q,q^k) = q^{k-1}(q^{2k} - 1)/(q^2 - 1);$$

$$2. s(1,q,q^2) = q(q^2 + 1).$$

**Corollary 4:** In the plane  $PG(2,q^2)$ ,

$$s(2,q,q^2) = q^3(q^2 + 1)(q^3 + 1).$$

**Corollary 5:** In particular,

$$s(2,2,4) = 360;$$

$$s(2,4,16) = 70720;$$



$$s(2,2,16) = 25459200.$$

**Lemma 6:** if  $r, s$  and  $x$  are positive integers with  $x > 1$ , then

$$N = \frac{(x^{rs}-1)(x-1)}{(x^r-1)(x^s-1)}$$

is an integer if and only if  $(r, s) = 1$ .

**Proof** see[4].

**Corollary 7:** The integer  $\theta(n, q)$  divides  $\theta(n, q^k)$  if and only if

$$(k, n+1) = 1.$$

**Corollary 8:** The integers  $\theta(2,2)$ ,  $\theta(2,4)$  divides  $\theta(2,2^4)$ .

**Lemma 9:** If  $F$  is an irreducible polynomial of degree  $r$  over  $GF(q)$  and  $(k, r) = 1$ , then  $F$  is irreducible over  $GF(q^k)$ .

**Proof** see[4].

**Example10 :** The polynomial  $F(X) = X^3 + X^2 + X + \alpha$  is an irreducible of degree 3 over  $GF(4)$  and  $(2,3) = 1$ , then  $F$  is irreducible over  $GF(4^2)$ .

**Lemma 11:** Let  $A, B, C$  be positive integers such that  $(A, B) = 1$ . Then there exists an integer  $m$  such that  $0 \leq m \leq C-1$  and  $(A + mB, C) = 1$ .

**Proof** see[4].

**Remark 12:** For the remainder, write

$$w = \theta(n, q^k) = (q^{k(n+1)} - 1)/(q^k - 1),$$

$$v = \theta(n, q) = (q^{n+1} - 1)/(q - 1),$$

$$z = (q^{k(n+1)} - 1)/(q^{n+1} - 1),$$

$$y = (q^k - 1)/(q - 1),$$

$$u = w/v = z/y.$$

**Theorem 13:** If  $(k, n+1) = 1$  and  $T$  is a projectivity of  $PG(n, q^k)$  which acts as a cyclic projectivity on some  $PG(n, q)$  embedded in  $PG(n, q^k)$ , then

1. there exists a cyclic projectivity  $L$  of  $PG(n, q^k)$  such that  $L^u = T$ ;
2. every orbit of  $T$  is a subgeometry  $PG(n, q)$ ;
3. if  $L_0$  is any cyclic projectivity of  $PG(n, q^k)$ , then the orbits of  $L_0^u$  are subgeometries  $PG(n, q)$ .

**Proof** see[4].

**Construction of  $PG(2, 16)$**

From the example 10, the polynomial

$$F(X) = X^3 + X^2 + X + \omega$$

is an irreducible of degree 3 over  $GF(16)$ , since  $F(X) \neq 0, \forall X \in GF(16)$ . So the projectivity  $T$  given by

$$T = C(X^3 + X^2 + X + \omega) = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \\ \omega & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

is cyclic on  $PG(2,16)$ . With  $P(i) = P(0)T^i, i = 0, \dots, 272$  and  $P(0) = (1,0,0)$ , also

$\theta(1,16) = 17, \theta(2,16) = 273$ ; hence we have 273 points, 273 lines, 17 points on each line and 17 lines passing through each point.

Hence, the lines of  $PG(2,16)$  is as follows:

Lines of  $PG(2,16)$ 

$L_1$	$L_2$	...	$L_{273}$
0	1	...	272
1	2	...	0
4	5	...	3
16	17	...	15
26	27	...	25
57	58	...	56
64	65	...	63
91	92	...	90
93	94	...	92
99	100	...	98
104	105	...	103
123	124	...	122
143	144	...	142
205	206	...	204
219	220	...	218
228	229	...	227
256	257	...	255

Such that  $P(i) = i, i = 0, \dots, 272$

For examples  $P(0) = 0 = (1,0,0), P(1) = 1 = (0,1,0), \dots, P(272) = 272 = (1,1,1)$ .

**Theorem 14:** The following are equivalent:

1. there exists a partition of  $PG(n, q^k)$  into subgeometries  $PG(n, q)$ ;
2.  $\theta(n, q)/\theta(n, q^k)$ ;
3.  $(k, n+1) = 1$ .

**Proof** see[4].

**Corollary 15:** The line  $PG(1, q^k)$  can be partitioned into sublines  $PG(1, q)$  if and only if  $(k, 2) = 1$ .

**Corollary 16:** The plane  $PG(2, q^k)$  can be partitioned into subplanes  $PG(2, q)$  if and only if  $(k, 3) = 1$ .

**Corollary 17:** The plane  $PG(2, q^2)$  can be partitioned into  $q^2 - q + 1$  subplanes  $PG(2, q)$ .

**Remark 18:** Let  $\theta(n, q, q^k) = \theta(n, q^k)/\theta(n, q)$ . Then, if  $(k, n+1) = 1$ , it has been shown that  $PG(n, q^k)$  can be partitioned into  $\theta(n, q, q^k)$  spaces  $PG(n, q)$ . Where

$$\theta(n, q, q^k) = (q^{k(n+1)} - 1)(q - 1)/[(q^k - 1)(q^{n+1} - 1)].$$

**Lemma 19:** The number  $\theta(n, q, q^k)$  is multiplicative in the sense that

$$\theta(n, q, q^k) \cdot \theta(n, q^k, q^{kl}) = \theta(n, q, q^{kl}).$$

**Corollary 20:**

1.  $\theta(2, 2, 4) = 3$ ,
2.  $\theta(2, 4, 16) = 13$ ,
3.  $\theta(2, 2, 16) = 39$ .

**Remark 21:** If  $(k, n+1) = 1$ , the number  $\sigma(n, q, q^k)$  of projectivities  $T$  which act cyclically on a  $PG(n, q)$  of  $PG(n, q^k)$  can be determined.

**Proof** see[4].

## Results and Discussion

### Construction of subplane $PG(2, 2)$

The plane of order sixteen consists of 39 disjoint planes of order two:  $w = 273$ ,  $v = 7$ ,  $u = 39$ . Since  $u = 3$ , a  $PG(2, 2)$  can be picked out by selecting multiples of 39. Hence, from the lines of  $PG(2, 16)$ , there is the following  $PG(2, 2)$ :

Lines of  $PG(2, 2)$

$L_1$	$L_2$	$L_3$	$L_4$	$L_5$	$L_6$	$L_7$
0	39	78	117	156	195	234
234	0	39	78	117	156	195
156	195	234	0	39	78	117

Adding 1, ..., 38 to each entry gives 39  $PG(2, 2)$ , when  $273j = 0, j \in N$ .

Every row in above table is consider line in  $PG(2, 2)$ , and generated by the following matrix:

$$H = T^{39} = \begin{bmatrix} \omega^{12} & \omega^5 & \omega^2 \\ \omega^3 & \omega^7 & \omega \\ \omega^2 & \omega^9 & \omega^{14} \end{bmatrix},$$

Such that,

$$H^2 = \begin{bmatrix} \omega^6 & \omega^8 & \omega^{10} \\ \omega^{11} & \omega^7 & \omega \\ \omega^2 & \omega^6 & \omega^{14} \end{bmatrix}, \quad H^3 = \begin{bmatrix} \omega^{14} & \omega^6 & \omega^8 \\ \omega^9 & \omega^6 & \omega^{14} \\ 1 & \omega^4 & \omega^8 \end{bmatrix}, \quad H^4 = \begin{bmatrix} \omega^4 & \omega^9 & \omega \\ \omega^2 & 1 & \omega^3 \\ \omega^4 & \omega^6 & \omega^{14} \end{bmatrix},$$

$$H^5 = \begin{bmatrix} \omega^8 & \omega^{12} & \omega^9 \\ \omega^{10} & \omega^{12} & \omega^8 \\ \omega^9 & \omega & \omega^9 \end{bmatrix}, \quad H^6 = \begin{bmatrix} \omega^{14} & \omega^5 & \omega^{12} \\ \omega^{13} & \omega^5 & \omega^{14} \\ 1 & \omega^2 & \omega^{12} \end{bmatrix}, \quad H^7 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} = I_3.$$

$$o(H) = 7, o(H^2) = 7, o(H^3) = 7, o(H^4) = 7, o(H^5) = 7, o(H^6) = 7.$$

Hence,

$$\langle H \rangle = \{I_3, H, H^2, H^3, H^4, H^5, H^6: H^7 = I_3\}.$$

So, this gives the following conclusion.

**Corollary 22:**

1.  $\langle H \rangle \cong Z_7$ ,
2.  $\langle H \rangle$  is subgroup of  $\langle T \rangle$ .

### Construction of subplane $PG(2, 4)$

The plane of order sixteen consists of 13 disjoint planes of order four:

$w = 273$ ,  $v = 21$ ,  $u = 13$ . Since  $u = 13$ , a  $PG(2, 4)$  can be picked out by selecting multiples of 13. Hence, from the lines of  $PG(2, 16)$ , there is the following  $PG(2, 4)$ :

The plane  $PG(2, 4)$ 

0	234	221	156	130
13	247	234	169	143
26	260	247	182	156
39	0	260	195	169
52	13	0	208	182
65	26	13	221	195
78	39	26	234	208
91	52	39	247	221
104	65	52	260	234
117	78	65	0	247
130	91	78	13	260
143	104	91	26	0
156	117	104	39	13
169	130	117	52	26
182	143	130	65	39
195	156	143	78	52
208	169	156	91	65
221	182	169	104	78
234	195	182	117	91
247	208	195	130	104
260	221	208	143	117

Adding  $1, \dots, 12$  to each entry gives 13  $PG(2, 4)$ , when  $273j = 0, j \in N$ .

Every column in above table is consider line in  $PG(2, 4)$ , and generated by the following matrix:

$$D = T^{13} = \begin{bmatrix} \omega^9 & 0 & \omega^5 \\ \omega^6 & \omega^6 & \omega^5 \\ \omega^6 & \omega^9 & \omega^9 \end{bmatrix},$$

Such that,

$$D^2 = \begin{bmatrix} \omega^5 & \omega^{14} & 0 \\ 0 & \omega^5 & \omega^{14} \\ 1 & \omega^{14} & \omega^{12} \end{bmatrix}, D^3 = \begin{bmatrix} \omega^{12} & \omega^5 & \omega^2 \\ \omega^3 & \omega^7 & \omega \\ \omega^2 & \omega^9 & \omega^{14} \end{bmatrix}, D^4 = \begin{bmatrix} \omega^{10} & 0 & \omega^{13} \\ \omega^{14} & \omega^9 & \omega^{13} \\ \omega^{14} & \omega^2 & \omega^{10} \end{bmatrix},$$

$$D^5 = \begin{bmatrix} 0 & \omega^7 & \omega^9 \\ \omega^{10} & \omega^9 & 1 \\ \omega & \omega^5 & \omega^7 \end{bmatrix}, D^6 = \begin{bmatrix} \omega^6 & \omega^8 & \omega^{10} \\ \omega^{11} & \omega^7 & \omega \\ \omega^2 & \omega^6 & \omega^{14} \end{bmatrix}, D^7 = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 1 \\ \omega & 1 & 0 \end{bmatrix},$$

$$D^8 = \begin{bmatrix} \omega^{14} & 1 & 0 \\ 0 & \omega^{14} & 1 \\ \omega & 1 & \omega^3 \end{bmatrix}, D^9 = \begin{bmatrix} \omega^{14} & \omega^6 & \omega^8 \\ \omega^9 & \omega^6 & \omega^{14} \\ 1 & \omega^4 & \omega^8 \end{bmatrix}, D^{10} = \begin{bmatrix} \omega^4 & \omega^7 & \omega^{14} \\ 1 & \omega^9 & \omega \\ \omega^2 & \omega^4 & \omega^3 \end{bmatrix},$$

$$\begin{aligned}
D^{11} &= \begin{bmatrix} \omega^5 & \omega^3 & 0 \\ 0 & \omega^5 & \omega^3 \\ \omega^4 & \omega^3 & \omega^{11} \end{bmatrix}, D^{12} = \begin{bmatrix} \omega^4 & \omega^9 & \omega \\ \omega^2 & 1 & \omega^3 \\ \omega^4 & \omega^6 & \omega^{14} \end{bmatrix}, D^{13} = \begin{bmatrix} \omega^{10} & \omega^5 & \omega^2 \\ \omega^3 & \omega^4 & \omega \\ \omega^2 & \omega^9 & 1 \end{bmatrix}, \\
D^{14} &= \begin{bmatrix} \omega^3 & 0 & \omega^3 \\ \omega^4 & 0 & \omega^3 \\ \omega^4 & \omega^7 & \omega^3 \end{bmatrix}, D^{15} = \begin{bmatrix} \omega^8 & \omega^{12} & \omega^9 \\ \omega^{10} & \omega^{12} & \omega^8 \\ \omega^9 & \omega & \omega^9 \end{bmatrix}, D^{16} = \begin{bmatrix} \omega^{13} & 0 & 1 \\ \omega & \omega^6 & 1 \\ \omega & \omega^4 & \omega^{13} \end{bmatrix}, \\
D^{17} &= \begin{bmatrix} \omega^{10} & \omega^9 & \omega \\ \omega^2 & \omega^8 & \omega^3 \\ \omega^4 & \omega^6 & \omega^{13} \end{bmatrix}, D^{18} = \begin{bmatrix} \omega^{14} & \omega^5 & \omega^{12} \\ \omega^{13} & \omega^5 & \omega^{14} \\ 1 & \omega^2 & \omega^{12} \end{bmatrix}, D^{19} = \begin{bmatrix} \omega^4 & \omega & \omega^3 \\ \omega^4 & \omega^7 & \omega^9 \\ \omega^{10} & \omega^{14} & 1 \end{bmatrix}, \\
D^{20} &= \begin{bmatrix} \omega^6 & \omega^2 & \omega^{14} \\ 1 & \omega^8 & \omega^{13} \\ \omega^{14} & \omega^6 & \omega^3 \end{bmatrix}, D^{21} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} = I_3.
\end{aligned}$$

Hence,

$$\langle D \rangle = \{I_3, D, D^2, \dots, D^{20}; D^{21} = I_3\}$$

So, this gives the following conclusion.

### Corollary 23:

1.  $\langle D \rangle \cong Z_{21}$ ,

2.  $\langle D \rangle$  is subgroup of  $\langle T \rangle$ .

### $n$ -arcs in $PG(2, 2^4)$

The orbits of  $G = \langle T^{21} \rangle$  have size 13 and are complete 13-arcs, the orbits of  $G$  are given as following:

$$k_1 = \{0, 21, 42, 63, 84, 105, 126, 147, 168, 189, 210, 231, 252\},$$

$$k_2 = \{1, 22, 43, 64, 85, 106, 127, 148, 169, 190, 211, 232, 253\},$$

$$k_3 = \{2, 23, 44, 65, 86, 107, 128, 149, 170, 191, 212, 233, 254\},$$

$$k_4 = \{3, 24, 45, 66, 87, 108, 129, 150, 171, 192, 213, 234, 255\},$$

$$k_5 = \{4, 25, 46, 67, 88, 109, 130, 151, 172, 193, 214, 235, 256\},$$

$$k_6 = \{5, 26, 47, 68, 89, 110, 131, 152, 173, 194, 215, 236, 257\},$$



$$k_7 = \{6, 27, 48, 69, 90, 111, 132, 153, 174, 195, 216, 237, 258\},$$

$$k_8 = \{7, 28, 49, 70, 91, 112, 133, 154, 175, 196, 217, 238, 259\},$$

$$k_9 = \{8, 29, 50, 71, 92, 113, 134, 155, 176, 197, 218, 239, 260\},$$

$$k_{10} = \{9, 30, 51, 72, 93, 114, 135, 156, 177, 198, 219, 240, 261\},$$

$$k_{11} = \{10, 31, 52, 73, 94, 115, 136, 157, 178, 199, 220, 241, 262\},$$

$$k_{12} = \{11, 32, 53, 74, 95, 116, 137, 158, 179, 200, 221, 242, 263\},$$

$$k_{13} = \{12, 33, 54, 75, 96, 117, 138, 159, 180, 201, 222, 243, 264\},$$

$$k_{14} = \{13, 34, 55, 76, 97, 118, 139, 160, 181, 202, 223, 244, 265\},$$

$$k_{15} = \{14, 35, 56, 77, 98, 119, 140, 161, 182, 203, 224, 245, 266\},$$

$$k_{16} = \{15, 36, 57, 78, 99, 120, 141, 162, 183, 204, 225, 246, 267\},$$

$$k_{17} = \{16, 37, 58, 79, 100, 121, 142, 163, 184, 205, 226, 247, 268\},$$

$$k_{18} = \{17, 38, 59, 80, 101, 122, 143, 164, 185, 206, 227, 248, 269\},$$

$$k_{19} = \{18, 39, 60, 81, 102, 123, 144, 165, 186, 207, 228, 249, 270\},$$

$$k_{20} = \{19, 40, 61, 82, 103, 124, 145, 166, 187, 208, 229, 250, 271\},$$

$$k_{21} = \{20, 41, 62, 83, 104, 125, 146, 167, 188, 209, 230, 251, 272\}.$$

Transformations can be carried out as follows:

$$k_1 \xrightarrow{T} k_2 \xrightarrow{T} k_3 \xrightarrow{T} k_4 \xrightarrow{T} k_5 \xrightarrow{T} k_6 \xrightarrow{T} \dots \xrightarrow{T} k_{21}$$

Hence, the  $k_i$ ,  $i = 1, \dots, 21$ , are projectively equivalent.

So, this gives the following conclusion.

**Corollary 24:**

1. There is a unique complete 13-arc in  $PG(2, 16)$ ,

2.  $m'(2, q) = 13$ ,

3.  $G = \langle T^{21} \rangle \cong Z_{13}$ ,

4.  $G$  is subgroup of  $\langle T \rangle$ .

### In Conclusions

- The main computing tool is the mathematical programming language GAP.
- The subplanes of the plane  $PG(2,16)$  are classified.
- In the plane  $PG(2,16)$  the important arcs are called complete and are those that cannot be increased to a larger arc.
- The second largest complete  $k$ -arcs in  $PG(2,16)$  are classified.
- Each of these arcs gives rise to an error-correcting code that corrects maximum possible number of errors for its length.

### REFERENCES

- [1] Al-seraji N.A.M, "The Geometry Of The Plane Of Order Seventeen And Its Application To Error-Correcting Codes" Ph.D. Thesis, University of Sussex, UK, (2010).
- [2] Hirschfeld J.W.P, Korchmáros G and Torres F," *Algebraic Curves over a Finite field*" Oxford University Press, Oxford, (2007).
- [3] Hirschfeld J.W.P,"*Cyclic Projectivities  $PG(n, q)$* " Trans. Amer. Math. Soc., 17, 201-211, (1976).
- [4] Hirschfeld J.W.P," *Projective Geometries Over Finite Fields " Second Edition*, Oxford University Press, Oxford, (1998).

## (Flat) Modules that are Fully Invariant in Their Pure-Injective (Cotorsion) Envelopes

Mehdi Sadik Abbas and Mohanad Farhan Hamid

Department of Mathematics-College of Science-University of Mustansiriyah

Department of Mathematics-College of Education-Misan University

Submitted : 27/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

في هذا البحث قدمنا مفهومين. يقال للمقاس  $M$  أنه شبه غامر بشكل نقي (شبه مرافق ملتو على الترتيب) إذا كان تام الاستقرار في غلافه الغامر النقي (إذا كان مسطحاً وتام الاستقرار في غلافه المرافق الملتوي على الترتيب). برهنا أن لكلا النوعين من المقاسات أعلاه حلقة التشاكلات الذاتية مقسومة على جذرها الجاكوبسن تكون منتظمة وغامرة ذاتياً. إذا كان  $M$  مقاساً شبه غامر بشكل نقي (شبه مرافق ملتو على الترتيب) فذلك يكون أي مجموع مباشر منته لنسخ من  $M$ . كل من المفهومين أعلاه أقوى من المفهوم المعروف للمقاسات شبه الغامرة النقية إلا أنهما غير مكافئين له. وهذا يحل سلباً سؤالاً لـ (ماو) و (دنگ) حول كون كل مقاس مسطح شبه غامر نقي مقاساً تام الاستقرار في غلافه المرافق الملتوي. ميزنا بعض الأنواع من الحلقات بدلالة المقاسات شبه الغامرة بشكل نقي. على سبيل المثال، الحلقة  $R$  تكون منتظمة إذا وفقط إذا كان كل مقاس شبه غامر بشكل نقي على  $R$  مقاساً شبه غامر، وتكون  $R$  شبه بسيطة نقية إذا وفقط إذا كان كل مقاس على  $R$  شبه غامر بشكل نقي.

### ABSTRACT

In this paper, we introduced two concepts. A module  $M$  is said to be purely quasi-injective (resp. quasi-cotorsion) if it is fully invariant in its pure-injective envelope (resp. if it is flat and fully invariant in its cotorsion envelope). Endomorphism rings of both of the above types of modules are proved to be regular and self injective modulo their Jacobson radicals. If  $M$  is a purely quasi-injective (resp. quasi-cotorsion) module, then so is any finite direct sum of copies of  $M$ . Each of the above concepts is stronger than the well-known concept of quasi-pure-injectivity, but not equivalent. This solves, negatively, a problem of Mao and Ding's of whether every flat quasi-pure-injective module is fully invariant in its cotorsion envelope. Certain types of rings are characterized in terms of purely quasi-injective modules. For example, a ring  $R$  is regular iff every purely quasi-injective  $R$ -module is quasi-injective, and is pure-semisimple iff every  $R$ -module is purely quasi-injective.

## INTRODUCTION

Let  $R$  be an associative ring with identity. Unless otherwise stated every module is a unitary right  $R$ -module. A submodule  $N$  of an  $R$ -module  $M$  is said to be a *pure submodule* if the mapping  $N \otimes U \rightarrow M \otimes U$  induced by the inclusion map  $N \rightarrow M$  is monic for any (finitely presented) left  $R$ -module  $U$ .  $U$  is said to be *flat* if the map  $N \otimes U \rightarrow M \otimes U$  induced by a monomorphism  $N \rightarrow M$  is monic for any  $R$ -modules  $N$  and  $M$ . A relation between flatness and purity is the following: if  $M$  is a flat module then any submodule  $N$  of  $M$  is a pure submodule iff  $M/N$  is flat (1) p. 227. Let  $M$  and  $N$  be two modules.  $M$  is said to be  *$N$ -pure-injective* (2) if any homomorphism  $\alpha$  from a pure submodule of  $N$  into  $M$  has an extension to a homomorphism from  $N$  into  $M$ .  $M$  is said to be *quasi-pure-injective* if it is  $M$ -pure-injective.  $M$  is called *pure-injective* if it is  $N$ -pure-injective for any module  $N$ .  $M$  is said to be *cotorsion* if  $\text{Ext}(F, M) = 0$  for every flat module  $F$ . This is equivalent to saying that  $M$  is  $F$ -pure-injective for every flat module  $F$  (2). Every module  $M$  has a pure-injective (resp. cotorsion) envelope (3) (resp. (4)), i.e. a minimal pure-injective module containing  $M$  as a pure submodule (resp. a cotorsion module  $C$  containing  $M$  such that  $C/M$  is flat and every homomorphism from  $M$  to a cotorsion module factors through the inclusion map  $M \rightarrow C$  and any endomorphism of  $C$  that is restricted to  $M$  is the identity must be an isomorphism). A pure-injective (resp. cotorsion) envelope of a module is unique up to an isomorphism and is denoted  $\text{PE}(M)$  (resp.  $C(M)$ ). Since  $C(M)/M$  is flat, hence if  $M$  is flat then so is  $C(M)$ . If  $\{M_i\}_{i=1, \dots, n}$  is a finite family of modules then  $\text{PE}(\bigoplus_i M_i) = \bigoplus_i \text{PE}(M_i)$  and  $C(\bigoplus_i M_i) = \bigoplus_i C(M_i)$  (5) p.134.

## Purely Quasi-Injective and Quasi-Cotorsion Modules

We begin by defining purely relative-injectivity and relative-cotorsionness, which are stronger than relative pure-injectivity.

**Definition.** Let  $M$  and  $N$  be two modules. Then:

1.  $M$  is said to be *purely  $N$ -injective* if for every homomorphism  $\alpha: N \rightarrow \text{PE}(M)$ ,  $\alpha(N) \subseteq M$ .
2. If  $N$  is flat,  $M$  is said to be  *$N$ -cotorsion* if for every homomorphism  $\alpha: N \rightarrow C(M)$ ,  $\alpha(N) \subseteq M$ .
3.  $M$  is *purely quasi-injective* if it is purely  $M$ -injective, and *quasi-cotorsion* if it is flat and  $M$ -cotorsion.

**Remark 1.** Let  $M$  and  $N$  be modules. Then,  $M$  is purely  $N$ -injective iff for every homomorphism  $\varphi: \text{PE}(N) \rightarrow \text{PE}(M)$  we have  $\varphi(N) \subseteq M$ . And if  $N$  is

flat then  $M$  is  $N$ -cotorsion iff for every homomorphism  $\varphi: C(N) \rightarrow C(M)$  we have  $\varphi(N) \subseteq M$ .

**Proof.** Let  $M$  be purely  $N$ -injective, and let  $\varphi: PE(N) \rightarrow PE(M)$  be a homomorphism. Then  $\varphi|_N: N \rightarrow PE(M)$  is a homomorphism which gives, by assumption, that  $\varphi(N) = \varphi|_N(N) \subseteq M$ . Conversely, let  $\alpha: N \rightarrow PE(M)$  be a homomorphism. Since  $PE(M)$  is  $PE(N)$ -pure-injective, this yields a homomorphism  $\varphi: PE(N) \rightarrow PE(M)$  which extends  $\alpha$ , and the hypothesis gives  $\alpha(N) = \varphi(N) \subseteq M$ . The second part is proved similarly.

In particular we have: *a module is purely quasi-injective iff it is fully invariant in its pure-injective envelope, and similarly a flat module is quasi-cotorsion iff it is fully invariant in its cotorsion envelope.*

The relation between the above concepts is not clear. However, if  $R$  is a commutative noetherian ring, then a flat  $R$ -module is cotorsion iff it is pure-injective (6). And hence pure-injective envelopes and cotorsion envelopes of flat  $R$ -modules coincide. Therefore, we have the following:

**Proposition 1.** *Let  $M$  and  $N$  be modules over a commutative noetherian ring and let  $N$  be flat. Then:*

1.  *$M$  is purely  $N$ -injective iff  $M$  is  $N$ -cotorsion.*
2.  *$N$  is purely quasi-injective iff it is quasi-cotorsion.*

The relations between the above concepts and that of quasi-pure-injectivity are given in the following proposition, of which the first part is given in (2) proposition 3.12, and the second part is similar.

**Proposition 2.** *Let  $M$  and  $N$  be modules. Then:*

1. *Provided that  $N$  is flat, if  $M$  is  $N$ -cotorsion then  $M$  is  $N$ -pure-injective.*
2. *If  $M$  is purely  $N$ -injective then  $M$  is  $N$ -pure-injective.*

**Corollary.** *If a module is purely quasi-injective or quasi-cotorsion then it is quasi-pure-injective.*

It is clear that a pure-injective (resp. a flat cotorsion) module is purely quasi-injective (resp. quasi-cotorsion). But the converse may not be true in general as in the following two examples:

**Example 1:** One may take a regular ring  $R$  which is not noetherian, hence there must be a quasi-injective  $R$ -module which is not injective (7). This serves, certainly, as a counter example to the above implications.



For the next example, recall that a module  $M$  is called *absolutely pure* (8) if it is a pure submodule of any module containing it.

**Example 2.** Consider the ring  $R = \mathbb{Q}^{\mathbb{N}}$ , with componentwise addition and multiplication, as an  $R$ -module. This ring is commutative regular, hence  $A = \mathbb{Q}^{(\mathbb{N})}$  is a pure two-sided essential ideal, so it must be fully invariant. Moreover,  $R$  is injective for,  $R \cong \prod_{i \in \mathbb{N}} R_i$  where  $R_i = \prod_{j \in \mathbb{N}} S_j$  and  $S_j = \mathbb{Q}$  for  $i=j$  and zero otherwise. So  $R$  is a product of simple (hence injective modules since  $R$  is commutative regular) and then it must be injective. Let  $N_{\mathbb{Z}} = \text{PE}(\mathbb{Z})$  which must be equal to  $C(\mathbb{Z})$  by (6) and which is a flat (since  $\mathbb{Q}$  is flat) and a pure-injective module but not quasi-injective. To see this, let  $E = E(N)$  (which can not be equal to  $N$ , for otherwise  $\mathbb{Q}$  would be pure in an injective module, i.e.  $\mathbb{Q}$  would be absolutely pure, hence injective (9)) and let  $f : \mathbb{Z} \rightarrow E$  be the  $\mathbb{Q}$ -homomorphism defined by  $f(1) = e$  for some  $e \in E - N$ . Injectivity of  $E$  yields a  $\mathbb{Q}$ -homomorphism  $g$  of  $E$  extending  $f$ . Now if  $N$  is quasi-injective then  $g(N) \subseteq N$  and hence  $f(\mathbb{Z}) \subseteq N$  a contradiction. Now consider the ring  $R \times \mathbb{Z}$  with componentwise addition and multiplication. Let  $M = R \times N$  be the  $R \times \mathbb{Z}$ -module with  $(r, z)(s, n) = (rs, zn) \forall (r, z) \in R \times \mathbb{Z}, (s, n) \in R \times N$

and componentwise addition. It is straightforward to prove that:

1.  $R \times N = \text{PE}(A \times N) = C(A \times N)$ .
2.  $A \times N$  is a flat  $R \times \mathbb{Z}$ -module.
3.  $A \times N$  is fully invariant in  $R \times N$  (hence it is purely quasi-injective and quasi-cotorsion) but neither pure-injective nor cotorsion nor quasi-injective.

**Theorem 1.** Let  $N_i (i \in I)$  and  $M$  be modules and  $N = \bigoplus_i N_i$ . Then the following statements are equivalent:

1.  $M$  is purely  $N$ -injective.
2.  $M$  is purely  $N_i$ -injective for all  $i \in I$ .

If  $N_i$  is flat for all  $i$ , then the following statements are equivalent:

- 1'.  $M$  is  $N$ -cotorsion
- 2'.  $M$  is  $N_i$ -cotorsion for all  $i$ .

**Proof.** (1) $\Rightarrow$ (2): Let  $\alpha_i : N_i \rightarrow \text{PE}(M)$  be a homomorphism for each  $i$ , then  $\alpha = \bigoplus \alpha_i : N \rightarrow \text{PE}(M)$  is a homomorphism such that, by assumption,  $\alpha(N) \subseteq M$ , hence  $\alpha_i(N_i) \subseteq M \forall i \in I$ . (2) $\Rightarrow$ (1): Let  $M$  be purely  $N_i$ -injective for every  $i \in I$ , and let  $\alpha : N \rightarrow \text{PE}(M)$  be a homomorphism. For each  $i \in I$  define  $\alpha_i : N_i \rightarrow \text{PE}(M)$  by:  $\alpha_i(x_i) = \alpha(\eta_i(x_i)) \forall x_i \in N_i$  where  $\eta_i : N_i \rightarrow N$  is the inclusion mapping for each  $i \in I$ . Then it is clear that  $\alpha = \bigoplus \alpha_i$ , and for any  $x \in N$ ,  $x = (x_i)_{i \in I}$ , with  $x_i \in N_i \forall i \in I$  and  $x_i = 0$  for all but finitely many  $i$ 's.

Then  $\alpha(x) = \alpha((x_i)_{i \in I}) = (\oplus \alpha_i)((x_i)_{i \in I}) = \oplus (\alpha_i(x_i))$ . But by hypothesis, each  $\alpha_i(x_i) \in M_i$ . Hence, the 'finite' sum  $\oplus \alpha_i(x_i) \in M$ . The equivalence of (1') and (2') is proved similarly.

**Corollary.** *A module  $M$  is purely  $N$ -injective (resp.  $N$ -cotorsion) iff  $M$  is purely  $N^{(I)}$ -injective (resp.  $N^{(I)}$ -cotorsion) for any index set  $I$  and any (flat) module  $N$ .*

From this corollary together with proposition 2, we get:

**Proposition 3.** *Let  $M$  and  $N$  be modules. If  $M$  is purely  $N$ -injective, then  $M$  is  $N^{(I)}$ -pure-injective for every index set  $I$ . Also, if  $N$  is flat and  $M$  is  $N$ -cotorsion, then  $M$  is  $N^{(I)}$ -pure-injective for every index set  $I$ .*

**Theorem 2.** *Let  $M_1, \dots, M_n$  and  $N$  be modules. Then the following statements are equivalent:*

1.  $M_1 \oplus \dots \oplus M_n$  is purely  $N$ -injective.
2.  $M_i$  is purely  $N$ -injective for each  $i$ .

*Similarly if  $N$  is flat, then the following statements are equivalent:*

- 1'.  $M_1 \oplus \dots \oplus M_n$  is  $N$ -cotorsion.
- 2'.  $M_i$  is  $N$ -cotorsion for each  $i$ .

**Proof.** Put  $M = M_1 \oplus \dots \oplus M_n$ ,  $P_i = \text{PE}(M_i)$  for each  $i = 1, \dots, n$ , so that  $P = \text{PE}(M) = P_1 \oplus \dots \oplus P_n$  and let  $\pi_i : P \rightarrow P_i$  be the natural projection for each  $i$ . (1)  $\Rightarrow$  (2):  $\forall i = 1, \dots, n$  let  $\alpha_i \in \text{Hom}(N, P_i)$  and put  $\alpha = \alpha_1 + \dots + \alpha_n$  which belongs to  $\text{Hom}(N, P)$ . Since  $M = M_1 \oplus \dots \oplus M_n$  is purely  $N$ -injective, then  $\alpha(N) \subseteq M$ , hence  $\pi_i(\alpha(N)) \subseteq \pi_i(M)$ , so  $\alpha_i(N) \subseteq M_i$ . (2)  $\Rightarrow$  (1): For any  $\alpha \in \text{Hom}(N, P)$  we have  $\alpha = \pi_1 \circ \alpha + \dots + \pi_n \circ \alpha$ . Put  $\alpha_i = \pi_i \circ \alpha \forall i$ , so that  $\alpha_i \in \text{Hom}(N, P_i) \forall i$ . Since  $M_i$  is purely  $N$ -injective  $\forall i$ , then  $\alpha_i(N) \subseteq M_i \forall i$  and  $\alpha(N) = (\alpha_1 + \dots + \alpha_n)(N) \subseteq M_1 \oplus \dots \oplus M_n$ . The other equivalence is proved similarly.

**Corollary.** *A direct summand of a purely quasi-injective (resp. quasi-cotorsion) module is purely quasi-injective (resp. quasi-cotorsion).*

Combining theorems 1 and 2, we get:

**Theorem 3.** 1. *Let  $M_1, \dots, M_n$  be (flat) modules, then  $M_1 \oplus \dots \oplus M_n$  is purely quasi-injective (resp. quasi-cotorsion) iff  $M_i$  is purely  $M_j$ -injective (resp.  $M_j$ -cotorsion) for each  $i, j \in \{1, \dots, n\}$ .*

2. A (flat) module  $M$  is purely quasi-injective (quasi-cotorsion) iff  $M^n$  is purely quasi-injective (quasi-cotorsion) for every positive integer  $n$ .

The following proposition can be proved by imitating the proof of its analogous statement for quasi-injective modules (see e.g. (1) p. 239):

**Proposition 4.** *Let  $M$  be a purely quasi-injective (resp. quasi-cotorsion) module and let  $\text{PE}(M) = \bigoplus_{i \in I} X_i$  (resp.  $C(M) = \bigoplus_{i \in I} X_i$ ) be a direct sum decomposition of  $\text{PE}(M)$  (resp. of  $C(M)$ ). Then  $M = \bigoplus_{i \in I} (M \cap X_i)$ .*

To study endomorphism rings of purely quasi-injective and quasi-cotorsion modules, we need two lemmas:

**Lemma 1 (2).** *Let  $M$  be a module with endomorphism ring  $S$ . If  $M$  is  $M^n$ -pure-injective for any index set  $I$ , then  $S$  is a cotorsion ring.*

**Lemma 2 (10).** *Let  $R$  be a cotorsion ring and  $J(R)$  its Jacobson radical. Then  $R/J(R)$  is a right self injective regular ring. Moreover, idempotents lift modulo any two-sided ideal  $I$  of  $R$ .*

**Theorem 4.** *Let  $M$  be a module with endomorphism ring  $S$ . If  $M$  is a purely quasi-injective or a quasi-cotorsion module, then  $S/J(S)$  is a regular self-injective ring and idempotents lift modulo any two-sided ideal of  $S$ .*

**Proof.** If  $M$  is a purely quasi-injective or a quasi-cotorsion module then, by proposition 3,  $M$  is  $M^n$ -pure-injective. So by lemma 1,  $S$  is cotorsion, and by lemma 2 the result follows.

Now we are ready to give an example showing that a quasi-pure-injective flat module need be neither fully invariant in its cotorsion envelope (i.e. quasi-cotorsion) nor fully invariant in its pure-injective envelope (i.e. purely quasi-injective):

**Example 3.** It is an easy matter to verify that the ring  $\mathbb{Z}$  of integers is a pure-simple  $\mathbb{Z}$ -module (i.e. it has no pure submodules except the trivial ones (11)). Hence, it must be quasi-pure-injective. But (the endomorphism ring of)  $\mathbb{Z}$  is neither regular nor self-injective modulo its Jacobson radical. Hence, by theorem 4, it is neither purely quasi-injective nor quasi-cotorsion.

### Rings Characterized by Purely Quasi-Injective Modules

One of the aims of studying modules is to study their ground ring. Regular, pure semisimple, noetherian and semisimple artinian rings are characterized here in terms of purely quasi-injective modules.

First, we need two lemmas, whose proofs are given in (12).

**Lemma 3:** *For a ring  $R$ , the following statements are equivalent:*

1.  $R$  is regular.
2. Every pure-injective  $R$ -module is quasi-injective.
3. Every pure-injective  $R$ -module is injective.

**Lemma 4:** *For a ring  $R$ , the following statements are equivalent:*

1.  $R$  is pure-semisimple.
2. Every  $R$ -module is quasi-pure-injective.

**Theorem 5.** *For a ring  $R$ , the following statements are equivalent:*

1.  $R$  is regular.
2. Every purely quasi-injective  $R$ -module is quasi-injective.

**Proof.**  $(1) \Rightarrow (2)$  is clear.  $(2) \Rightarrow (1)$ : Since any pure-injective module is purely quasi-injective, then by assumption, any pure-injective  $R$ -module is quasi-injective, and so, by lemma 3  $R$  is regular

**Theorem 6:** *For a ring  $R$ , the following statements are equivalent:*

1.  $R$  is pure-semisimple.
2. Every  $R$ -module is purely quasi-injective.

**Proof:**  $(1) \Rightarrow (2)$  is clear since any module over a pure-semisimple ring is pure-injective, hence purely quasi-injective.  $(2) \Rightarrow (1)$  Since purely quasi-injective modules are always quasi-pure-injective, then by assumption any  $R$ -module must be quasi-pure-injective, and by lemma 4,  $R$  is pure-semisimple.

The class of rings over which every quasi-injective module is injective is the same class of rings over which the direct sum of any two quasi-injective modules is quasi-injective. Analogously, we have the following:

**Proposition 5.** *For a ring  $R$ , the following statements are equivalent:*

1. Any purely quasi-injective  $R$ -module is pure-injective.
2. The direct sum of any two purely quasi-injective  $R$ -modules is purely quasi-injective.

**Proof.**  $(1) \Rightarrow (2)$  is clear.  $(2) \Rightarrow (1)$ : Let  $M$  be a purely quasi-injective  $R$ -module and let  $P = PE(M)$ . By assumption,  $M \oplus P$  is purely quasi-injective. So by theorem 1,  $M$  is purely  $P$ -injective and hence it is  $P$ -pure-injective by proposition 2. So there is a homomorphism  $\alpha: P \rightarrow M$  which extends the identity map of  $M$  (i.e.  $\alpha \circ \iota = 1_M$  where  $\iota: M \rightarrow P$  is the inclusion map). This means that  $M$  is a direct summand of  $P$  or pure-injective.



A ring  $R$  is semi-simple artinian iff every  $R$ -module is injective. The following theorem shows that: ‘any purely quasi-injective  $R$ -module is injective’ is enough to make  $R$  semi-simple artinian.

**Theorem 7.** *For a ring  $R$ , the following statements are equivalent:*

1.  $R$  is semi-simple artinian.
2. Every purely quasi-injective  $R$ -module is injective.

**Proof.** (1) $\Rightarrow$ (2) is trivial. (2) $\Rightarrow$ (1): Every purely quasi-injective  $R$ -module is injective, hence quasi-injective. So by theorem 5,  $R$  is regular. And any quasi-injective  $R$ -module is injective implies that  $R$  is noetherian (7). Hence  $R$  is semi-simple artinian.

C. Meggibon (9) proved that a ring  $R$  is noetherian iff any absolutely pure  $R$ -module is injective. Here, we generalize this result to pure-injective, quasi-injective and purely quasi-injective  $R$ -modules. But before this, we need a lemma:

**Lemma 5 (8).** *Let  $M_i$  be a module for every  $i \in I$ . Then  $\bigoplus_{i \in I} M_i$  is absolutely pure iff each  $M_i$  is absolutely pure.*

**Theorem 8.** *For a ring  $R$ , the following statements are equivalent:*

1.  $R$  is noetherian.
2. Any absolutely pure  $R$ -module is pure-injective.
3. Any absolutely pure  $R$ -module is purely quasi-injective.
4. Any absolutely pure  $R$ -module is quasi-injective.

**Proof.** (1) $\Rightarrow$ (2) is clear from (9). (2) $\Rightarrow$ (3) is immediate. (3) $\Rightarrow$ (4): Let  $M$  be an absolutely pure  $R$ -module, hence it is a pure submodule of its injective envelope  $E$ , so we must have  $E = PE(M)$  and by assumption  $M$  is fully invariant in  $E$ , or quasi-injective. (4) $\Rightarrow$ (1): We will prove that any absolutely pure  $R$ -module is injective and hence by (9),  $R$  must be noetherian. So let  $M$  be an absolutely pure  $R$ -module and let  $E$  be its injective envelope. Hence  $E$ , being injective is absolutely pure, and by lemma 5,  $M \oplus E$  is absolutely pure, hence quasi-injective by assumption. So  $M$  is  $E$ -injective by (13) p.8. Therefore there is a map  $\alpha: E \rightarrow M$  which extends the identity map of  $M$ . So  $M$  is a direct summand of  $E$  and hence it is injective.

## REFERENCES

1. Lam T. Y., “Lectures on Modules and Rings”, Springer-Verlag, New York, GTM 189, (1999).



2. Mao L. X., Ding N. Q., "Cotorsion modules and relative pure injectivity", J. Aust. Math. Soc. 81: 225-243, (2006).
3. Warfield R. J., "Purity and algebraic compactness for modules", Pacific J. Math., 28: 699-719, (1969).
4. Bican L., El Bashir R., Enochs E. E., "All modules have flat covers", Bull. London Math. Soc. 33: 385-390, (2001).
5. Enochs E. E., Jenda O., "Relative Homological Algebra, de Gruyter, Berlin (2000).
6. Enochs E. E., Garcia J. R., Oyonarte L., "Finitely generated cotorsion modules", Proc. Edinburgh Math. Soc. 44: 143-152, (2001).
7. Byrd K. A., "Rings whose quasi-injective modules are injective", Proc. Amer. Math. Soc. 33 (2): 235-240, June (1972).
8. Maddox B. H., "Absolutely pure modules", Proc. Amer. Math. Soc. 18: 155-158. MR # 248, (1967).
9. Meggibon C., "Absolutely pure modules", Proc. Amer. Math. Soc. 26: 561-566 (1978).
10. Asensio P. A. G., Herzog I., "Left cotorsion rings", Bulletin of London Math. Soc.: 36, 303-309, (2004).
11. Fieldhouse D. J., "Pure simple and indecomposable modules", Bulletin 13 (1): 71-78, (1970).
12. Abbas M. S., Hamid M. F., "On relative pure injective modules", AL-Mustansiriya J. Sci. 21 (6): 374-382, (2010).
13. Mohamed S. H., Müller B. J., "Continuous and Discrete Modules", London Math. Soc. lecture note in Math. series, Cambridge University press, (1990).

## Free intersection space (F-space)

Khaleel Kh.Asadullah

Department of Mathematics-College of Science-Al-Mustansiriyah University

Submitted : 10/01/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

في هذا العمل قدمنا مفهوم التقاطع الحر مع التعاريف الأساسية و بعض الخصائص لهذا الفضاء.

### ABSTRACT

In this work we introduce the concept of free intersection space with basic definitions and some properties for this space.

### INTRODUCTION

A topology on a set  $X$  is a collection  $T$  of subsets of  $X$ , called the open sets, satisfying:

1. Any union of elements of  $T$  belongs to  $T$ ,
2. Any finite intersection of elements of  $T$  belongs to  $T$ ,
3.  $\emptyset$  and  $X$  belong to  $T$ .

We say  $(X, T)$  is a topological space [1].

There is another structure called  $m$ - structure space defined as follows

Let  $X$  be a nonempty set a collection  $T$  of subsets of  $X$  is called minimal structure on  $X$  ( $m$ -structure) if  $\emptyset$  and  $X$  belong to  $T$ . [2]

Clear that every topological space is  $m$ - structure space. the above two structures play as principal structures for many others structures for example a bitopological space is two collections  $T_1$  and  $T_2$  of subsets of  $X$  such that  $(X, T_1)$  and  $(X, T_2)$  are topological spaces, a set  $A$  called quasi open if  $A = W \cup V$  where  $W$  belong to  $T_1$  and  $V$  belong to  $T_2$ . In all these structures the intersection of any collection of open sets not necessary open set this means in topological space the kernel of a set  $A = \bigcap \{ u \mid A \subseteq u, u \text{ open set} \}$  [3] is not necessary open set, so the quasi kernel of a set  $A = \bigcap \{ u \mid A \subseteq u, u \text{ quasi open set} \}$  [4] is not necessary quasi open set.

In this work we define a new concept (as we know) called a free intersection space as follows let  $X$  be a nonempty set a collection  $T$  of subsets of  $X$  is called a free intersection space on  $X$  (F-space) if

1.  $X$  belong to  $T$
2. Any intersection of element of  $T$  belong to  $T$

This idea comes from the fact (in group structure) the intersection of any collection of subgroups is a subgroup and the group itself a subgroup, more than the intersection of any collection of closed sets is closed set.

It is clear that the collection of closed sets (in topological space) is F-space and we show that the converse is not true in general.

The property (2) implies that the kernel belongs to  $T$ , so the kernel of a set or element will be important to define basic definitions in this structure.

### 1. Structure of F-space

**Definition(1.1)** Let  $X$  be a non-empty set a subcollection  $\mathfrak{T}$  of  $P(X)$  is called free intersection space (F-structure space) simply (F-Space) if  $\mathfrak{T}$  satisfies the following

- 1- $X$  belong to  $\mathfrak{T}$
- 2-Any intersection of element in  $\mathfrak{T}$  belong to  $\mathfrak{T}$ .

**Definition(1.2)** Each member in  $\mathfrak{T}$  is called F-open and the complement of F-open is called F-closed .

The following example (1.3.1) shows that the F-Space is not collection of closed sets (for some topological space), by other word the complement of it is sets not topology on  $X$ .

### Examples (1.3)

1-Let  $X=\{1,2,3,4,5\}$  and  $\mathfrak{T}=\{X,\{1\},\{1,2,3\},\{1,4\},\{1,5\}$ , then  $(X, \mathfrak{T})$  is F-space.

2-Let  $G$  be a group and  $\mathfrak{T}$  the set of all subgroups of  $G$ , then  $(G, \mathfrak{T})$  is F-Space called F-space induced by group.

3-Let  $M$  be an  $R$ -module and  $\mathfrak{T}$  be the set of all submodules of  $M$ , then  $(M, \mathfrak{T})$  is an F-space called F-space induced by module.

4-Let  $(X,T)$  be a topological space and  $\mathfrak{T}$  be the set of all closed sets in  $X$ , then  $(X, \mathfrak{T})$  is an F-space called F-space induced by topology.

**Definition(1.4)** Let  $(X, \mathfrak{T})$  be an F-space and  $A$  be a subset of  $X$ , then

- 1- The set of intersection of all F-open which contains  $A$  is called F-kernel

of  $A$  and is denoted by  $\ker(A)$ .

2- The union of all  $F$ -closed which is contained in  $A$  is called interior closure of  $A$  and denoted by  $Ic(A)$ .

3- The union of all  $F$ -open which is contained in  $A$  is called  $F$ -interior of  $A$  a

denoted by  $F\text{-Int}(A)$ .

**Remark(1.5)**

By definition of  $F$ -space and  $F$ -kernel The  $F$ -kernel of any set is  $F$ -open and it is smallest  $F$ -open contains  $A$  (that is any  $F$ -open contains  $A$  must contain  $\ker(A)$ ).

**Lemma(1.6)** Let  $(X, \mathfrak{F})$  be an  $F$ -space and  $A$  be a subset of  $X$ , then  $Ic(A)$  is  $F$ -closed.

**Proof:** since  $Ic(A) = \bigcup \{G_i : i \in \lambda\}$  such that  $G_i \subseteq A$  and  $G_i$  is  $F$ -closed  $\forall i \in \lambda$ , then  $Ic(A) = \bigcup \{(X - U_i) : i \in \lambda\}$  such that  $X - U_i = G_i$  and  $U_i$  is  $F$ -open and  $Ic(A) = X - (\bigcap U_i)$ , then  $\bigcap U_i$  is  $F$ -open by definition of  $F$ -space, then  $Ic(A)$  is  $F$ -closed. ■

This means  $Ic(A)$  is largest  $F$ -closed set contained in  $A$ .

**Theorem (1.7)** Let  $(X, \mathfrak{F})$  be an  $F$ -space and  $A, B$  are subsets of  $X$ , then

- 1-  $\ker(A) = A$  iff  $A$  is  $F$ -open.
- 2-  $Ic(A) = A$  iff  $A$  is  $F$ -closed.
- 3-  $Ic(X - A) = X - \ker(A)$
- 4-  $X - Ic(A) = \ker(X - A)$
- 5- if  $A \subseteq B$ , then  $\ker(A) \subseteq \ker(B)$
- 6-  $\ker(A \cap B) \subseteq \ker(A) \cap \ker(B)$
- 7-  $\ker(A) \cup \ker(B) \subseteq \ker(A \cup B)$

**Proof:**

1- Since  $\ker(A)$  is  $F$ -open, then  $A$  is  $F$ -open set.

**Conversely:** since  $A \subseteq A$  and  $A$  is  $F$ -open then by remark (1-5)  $\ker(A) \subseteq A$  but  $A \subseteq \ker(A)$  by the same remark, then  $\ker(A) = A$ .

2-since  $Ic(A)$  is  $F$ -closed, then  $A$  is  $F$ -closed .

**Conversely:** Since  $A \subseteq A$ , then  $A \subseteq Ic(A)$  , but  $Ic(A) \subseteq A$ , then  $Ic(A) = A$ .

$$\begin{aligned}
 3- X - \ker(A) &= X - \bigcap \{U_i : i \in \lambda, A \subseteq U_i, U_i \text{ is } F\text{-open}\} \\
 &= \bigcup \{X - U_i : i \in \lambda, A \subseteq U_i, U_i \text{ is } F\text{-open}\} \\
 &= \bigcup \{X - U_i : i \in \lambda, X - A \subseteq X - U_i, U_i \text{ is } F\text{-open}\} \\
 &= Ic(X - A)
 \end{aligned}$$

- 4-  $X\text{-Ic}(A) = X - \bigcup \{G_i : i \in \lambda, G_i \subseteq A, G_i \text{ is F-closed}\}$   
 $= \bigcap \{X - G_i : i \in \lambda, G_i \subseteq A, G_i \text{ is F-closed}\}$   
 $= \bigcap \{X - G_i : i \in \lambda, X - A \subseteq X - G_i, G_i \text{ is F-closed}\}$   
 $= \ker(X - A)$
- 5-  $\ker(B) = \bigcap \{U_i : i \in \lambda, U_i \text{ is F-open}\}$ , for any  $i \in \lambda$   $B \subseteq U_i$  (by def. of kernel)  
 Now  $A \subseteq B \subseteq U_i$  for any  $i \in \lambda$ , then  $A \subseteq \ker(B)$ , but  $\ker(B)$  is F-open set,  
 then  $\ker(A) \subseteq \ker(B)$  by (1-5)
- 6- Since  $A \cap B \subseteq A$  and  $A \cap B \subseteq B$ , then by (5)  $\ker(A \cap B) \subseteq \ker(A)$  and  
 $\ker(A \cap B) \subseteq \ker(B)$ , therefore  $\ker(A \cap B) \subseteq \ker(A) \cap \ker(B)$ .
- 7- Since  $A \subseteq A \cup B$  and  $B \subseteq A \cup B$ , then by (5)  $\ker(A) \subseteq \ker(A \cup B)$  and  
 $\ker(B) \subseteq \ker(A \cup B)$  therefore  $\ker(A) \cup \ker(B) \subseteq \ker(A \cup B)$ . ■

**Definition(1.8)** Let  $(X, \mathfrak{T})$  be F-space and  $A \subseteq X, y \in X$ ,

- 1-  $y$  is called F-interior element of  $A$  in case  $\ker(y) \subseteq A$ .
- 2-  $y$  is called F-external element of  $A$  in case  $\ker(y) \subseteq X - A$ .
- 3-  $y$  is called F-frontier element if  $\ker(y) \cap A \neq \emptyset$  and  $\ker(y) \cap (X - A) \neq \emptyset$   
 ( $y$  is not F-interior point of  $A$  and not F-external point of  $A$ ).
- 4-  $A$  is called locally F-open set if  $A$  is the union of F-open sets that is  
 $A = \bigcup \{U_i : U_i \text{ is F-open } i \in \lambda\}$ .
- 5-  $\ker(A) \cap \ker(X - A)$  is called open frontier of  $A$  and is denoted by  
 $\text{OFr}(A)$ .

**Theorem (1.9)** Let  $(X, \mathfrak{T})$  be F-space and  $A \subseteq X$ , the set  $A$  is locally F-open if and only if  $A = \bigcup \{\ker(x) : x \in A\}$ .

**Proof:** suppose  $A$  is locally F-open then  $A = \bigcup \{U_i : U_i \text{ is F-open } i \in \lambda\}$ .

Let  $x \in A$ , then  $x \in U_i$  for some  $i \in \lambda$ , that is  $\ker(x) \subseteq U_i$ .

Now  $A \subseteq \bigcup \{\ker(x) : x \in A\} \subseteq \bigcup \{U_i : U_i \text{ is F-open } i \in \lambda\} = A$ , then  
 $A = \bigcup \{\ker(x) : x \in A\}$ .

**Conversely :** Since  $\ker(A)$  is F-open set, then  $A$  is locally F-open. ■

The above theorem means that every element in any locally F-open set is F-interior element (i.e.  $F\text{-int}(A) = A$ ).



**Corollary(1.10)** Every F-open set is locally F-open.

**Proof:** Let  $A$  an F-open set. Since  $\{x\} \subseteq A$ , then  $\text{Ker}(x) \subseteq A$ , but  $A \subseteq \bigcup \{\text{Ker}(x) : x \in A\}$ , then  $A = \bigcup \{\text{Ker}(x) : x \in A\}$  and by theorem (1-9)  $A$  is locally F-open. ■

The converse of corollary (1-10) is not true in general to show that see the following example

**Example(1.11)** Let  $(Z_6, \mathfrak{I})$  be F-space induced by the group  $Z_6$ , then  $A = \{[0], [2], [3], [4]\}$  is locally F-open but  $A$  not F-open.

**Theorem(1.12)** Let  $(X, \mathfrak{I})$  be F-space and  $A \subseteq X$ , then  $A \cup \text{OFr}(A) = \text{Ker}(A)$ .

**Proof:**  $A \cup \text{OFr}(A) = A \cup (\text{Ker}(A) \cap \text{Ker}(X-A))$   
 $= (A \cup \text{Ker}(A)) \cap (A \cup \text{Ker}(X-A))$   
 $= \text{Ker}(A) \cap X = \text{Ker}(A)$ . ■

**Definition(1.13)** Let  $(X, \mathfrak{I})$  be F-space and  $A \subseteq X$ ,  $a \in X$

- 1-  $A$  is called F-dense set in case  $\text{Ker}(A) = X$ .
- 2-  $a$  is called center element in case  $\text{Ker}(a) = X$ .
- 3-  $a$  is called singular element in case  $\text{Ker}(a) = \{a\}$ .

**Remark(1.14)**

- 1- Every set have center element is F-dense ,  
 since  $X = \text{Ker}(a) \subseteq \text{Ker}(A)$ , then  $X = \text{Ker}(A)$ , but the converse is not true to show that in example(1.11)
- 2- If  $A$  is F-dense set, then  $\text{OFr}(A) = \text{Ker}(X-A)$ , since  $\text{Ker}(A) \cap \text{Ker}(X-A) = X \cap \text{Ker}(X-A) = \text{Ker}(X-A)$ .
- 3- if  $a$  is center element, then
  - a)  $a$  is not external element for any non empty set, since  $\text{Ker}(a) \cap A = X \cap A = A \neq \emptyset$
  - b)  $a$  is Frontier element for every non empty set, since  $\text{Ker}(a) \cap A = X \cap A = A \neq \emptyset$ .
 And  $\text{Ker}(a) \cap (X-A) = X \cap (X-A) = X-A \neq \emptyset$ .
- 4- If  $a$  is singular element, then  $a$  is external element of every non-empty set  
 contains  $a$ , since  $\text{Ker}(a) \cap A = \{a\} \cap A = \emptyset$  if  $a \notin A$ .

## 2.The continuity

In this section  $X$  and  $Y$  means F-space

**Definition(2.1)** A function  $f: X \rightarrow Y$  is called F-continuous at a point  $a$  in  $X$  if  $f(\text{Ker}(a)) \subseteq \text{Ker}(f(a))$  and  $f$  is called F-continuous on  $X$  if it is F-continuous on each  $a$  in  $X$ .

**Theorem(2.2)** let  $f: X \rightarrow Y$  be a function, then  $f$  is F-continuous if and only if for each locally F-open  $V$  in  $Y$   $f^{-1}(V)$  is locally F-open in  $X$ .

**Proof:** Suppose  $f$  is F-continuous. Let  $V$  be locally F-open in  $Y$  and  $a \in f^{-1}(V)$ , then  $f(a) \in V$ , Since  $V$  is locally F-open, then  $\text{Ker}(f(a)) \subseteq V$ . Now  $f$  is F-continuous, then  $f(\text{Ker}(a)) \subseteq \text{Ker}(f(a)) \subseteq V$ , then  $f^{-1}(f(\text{Ker}(a))) \subseteq f^{-1}(\text{Ker}(f(a))) \subseteq f^{-1}(V)$ , but  $\text{Ker}(a) \subseteq f^{-1}(f(\text{Ker}(a)))$ , thus  $\text{Ker}(a) \subseteq f^{-1}(V)$ , therefore  $f^{-1}(V)$  is locally F-open.

Conversely: Let  $a \in X$ , then  $f(a) \in Y$ , since  $\text{Ker}(f(a))$  is locally F-open, then  $f^{-1}(\text{Ker}(f(a)))$  is locally F-open. Now  $a \in f^{-1}(\text{Ker}(f(a)))$  is locally F-open, then  $\text{Ker}(a) \subseteq f^{-1}(\text{Ker}(f(a)))$ , thus  $f(\text{Ker}(a)) \subseteq f(f^{-1}(\text{Ker}(f(a)))) \subseteq \text{Ker}(f(a))$ , therefore  $f$  is F-continuous function. ■

**Definition(2.3)** A function  $f: X \rightarrow Y$  is called strongly F-continuous in case for each F-open  $V$  in  $Y$ ,  $f^{-1}(V)$  is F-open in  $X$ .

**Theorem(2.4)** Every strongly F-continuous function is F-continuous function.

**Proof:** Let  $f: X \rightarrow Y$  be strongly F-continuous and let  $V$  be locally F-open in  $Y$ , then  $V = \bigcup \{U_i : i \in \lambda\}$  where  $U_i$  is F-open for any  $i \in \lambda$ . now

$f^{-1}(V) = f^{-1}(\bigcup U_i) = \bigcup f^{-1}(U_i)$ , since  $f$  is strongly F-continuous, then  $f^{-1}(U_i)$  is F-open in  $X$  for any  $i \in \lambda$ , thus  $f^{-1}(V)$  is locally F-open in  $X$ , therefore  $f$  is F-continuous. ■

The converse of theorem(2.4) is not true to show that see the following example.

**Example(2.5)** Let  $X = Z_6$  and  $Y = Z_4$  and  $f: X \rightarrow Y$  defined by  $f([0]) = [0]$ ,  $f([1]) = [1]$ ,  $f([2]) = [2]$ ,  $f([3]) = [0]$ ,  $f([4]) = [2]$ ,  $f([5]) = [1]$ , then  $f$  is F-continuous but not strongly F-continuous.

**Theorem(2.6)** A function  $f: X \rightarrow Y$  is strongly F-continuous iff for every F-closed  $G$  in  $Y$ ,  $f^{-1}(G)$  is F-closed in  $X$ .

**Proof:** Let  $f$  be strongly F-continuous function and  $G$  is F-closed in  $Y$  then  $G = Y - U$  such that  $U$  is F-open in  $Y$ , thus  $f^{-1}(G) = f^{-1}(Y - U) = X - f^{-1}(U)$ .

since  $f$  is strongly F-continuous then

$f^{-1}(U)$  is F-open in  $X$  therefore  $f^{-1}(G) = X - f^{-1}(U)$  is F-closed in  $X$ . ■

**Conversely:** Let  $U$  be  $F$ -open in  $Y$ , thus  $f^{-1}(U) = f^{-1}(Y-G)$  such that  $G$  is  $F$ -closed, then  $Y-U$  is  $F$ -closed in  $Y$ , therefore  $f^{-1}(Y-U)$  is  $F$ -closed in  $X$ . hence  $f^{-1}(Y-U) = X - f^{-1}(U)$ ,  $f^{-1}(U)$  is  $F$ -open in  $X$  therefore  $f$  is strongly  $F$ -continuous. ■

**Example(2.7)** Every homomorphism group ( $R$ -module) is strongly  $F$ -continuous.

## REFERENCES

- (1) S. Willard, "General topology", Addisonwesley Inc. Mass, (1970).
- (2) H. Makai, "on generaling semi-open and preopen sets", Report for meeting on Topological space Theory and it is Applications, Yasushiro College of Technology, :13-18, (1996) .
- (3) Mohammad S. Sarsak, " Quasi Separation Axioms", Turk. J Mah, 30 : 25-3131, (2006).
- (4) Rajeswari R. Raja., "Some Weak Separation Axioms in Bitopological space" Int. Journal of Math. Analysis, 3(2) :87-93, (2008).

## Some Properties of 2-Coprobabilistic Normed Space

\*Faria Ali C. and \*\*Suad Naji Kadhim

\*Department of Mathematics- College of Science- Al-Mustansiriyah University

\*\*Department of Mathematics-College of Science-Baghdad University

Submitted : 05/04/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

الغرض الرئيسي من هذا البحث هو تقديم الفضاء المعياري 2- المرافق الاحتمالي ، الفضاء المواجه المرافق الاحتمالي للفضاء المعياري 2-المرافق الاحتمالي وإعطاء بعض الحقائق المتعلقة بهما.

### ABSTRACT

The primary purpose of this paper is to introduce the, 2-coprobabilistic normed space, coprobabilistic dual space of 2-coprobabilistic normed space and give some facts that are related of them.

### INTRODUCTION

The theory of probabilistic metric spaces was introduced in 1942 by Menger (1), the idea of Menger was to use distribution function instead of nonnegative real numbers as values of the metric. The concept of random normed spaces were introduced by Serstnev (2). In (3), Jebril and Hatamleh introduced the concept of random  $n$ -normed linear space as a generalization of  $n$ -normed space which introduced by Gunawan and Mashadi (4). In this paper we introduced a 2-coprobabilistic normed linear space depending on the idea of random  $n$ -normed linear space was introduced by Jebril and Hatamleh (3) and investigate their important properties. Then we shall introduce the definition of 2-coprobabilistic bounded linear functional. Thereafter we prove the set of all 2-coprobabilistic bounded linear functional is linear space.

### Some Results Of 2-Coprobabilistic Normed Space:-

In this section we give the definition of 2-coprobabilistic normed space and prove some basic concepts of it.

We start this section by giving a definition of 2-normed linear space.

Definition (2.1), (4):-

Let  $X$  to be a linear space over  $R$  ( field of real numbers ) of dimension  $d \geq 2$ . A function  $\|, \| : X \times X \longrightarrow R$  satisfy the following axioms:

( $N_1$ )  $\|x_1, x_2\| = 0$  if and only if  $x_1, x_2$  are linearly dependent.

( $N_2$ )  $\|x_1, x_2\| = \|x_2, x_1\|$

( $N_3$ )  $\|x_1, cx_2\| = |c| \|x_1, x_2\|$  for any  $c \in R$ .

( $N_4$ )  $\|x, y + z\| \leq \|x, y\| + \|x, z\|$

is said to be an 2-norm on  $X$  and the pair  $(X, \|, \|)$  is called an 2-normed space.

Definition (2.2), (4):-

Let  $(X, \|, \|)$  be a 2-normed linear space, a sequence  $\{x_n\}$  in  $X$  is said to be convergent to a point  $x \in X$  in case  $\lim_{n \rightarrow \infty} \|y, x_n - x\| = 0$  for each  $y \in X$ .

In this case,  $x$  is said to be the limit of the sequence  $\{x_n\}$  and we denote it by  $\lim x_n$ . Otherwise, the sequence is divergent.

Definition (2.3), (4):-

Let  $(X, \|, \|)$  be a 2-normed linear space, a sequence  $\{x_n\}$  in  $X$  is said to be Cauchy sequence in case  $\lim_{n \rightarrow \infty} \|y, x_{n+p} - x_n\| = 0$  for each  $y \in X$  and  $p=1, 2, \dots$ .

Definition (2.4), (4):-

A 2-normed linear space in which every Cauchy sequence is convergent is said to be complete.

Definition (2.5), (1):-

A nonascending probability distribution function  $\eta$  on  $R$  that is a left continuous nonascending real function on  $R$  with  $\eta(x) = 1$  for all  $x \leq 0$  and  $\eta(+\infty-) = 0$ .

Notes (2.6), (1):-

1-The family of all a nonascending probability distribution functions will be denoted by  $\nabla^+$

2- By setting  $F \leq G$  whenever  $F(x) \leq G(x)$ , for each  $x \in R$ , one introduces, natural ordering in  $\nabla^+$ .

3-If  $a \in R$ , then  $\varepsilon_a$  will be an element of  $\nabla^+$  defined by



$$\varepsilon_a(t) = \begin{cases} 1 & \text{if } t \leq a \\ 0 & \text{if } t > a \end{cases}$$

Definition (2.7), (1):-

Let  $X$  be a linear space over a field  $R$ , a mapping  $C^*$  from  $X$  into  $\nabla^+$  is said to be a coprobabilistic norm on  $X$  in case the following conditions hold:

(c- $N_1$ )  $C_x^* = \varepsilon_0$  if and only if  $x=0$

(c- $N_2$ ) If  $0 \neq c \in R$  then  $C_{cx}^*(t) = C_x^*\left(\frac{t}{|c|}\right)$

(c- $N_3$ )  $C_{x+x'}^*(s+t) \leq \max\{C_x^*(s), C_{x'}^*(t)\}$ , for each  $s, t \in R$ .

The pair  $(X, C^*)$  will be referred to a coprobabilistic normed linear space (briefly c-NLS).

Example (2.8), (1):-

Let  $(X, \|\cdot\|)$  be an normed space. For each  $x \in X$  and  $t \in R$ , a function

$$C_x^*(t) = \begin{cases} 1 & \text{if } t \leq \|x\| \\ 0 & \text{if } t > \|x\| \end{cases} \dots\dots\dots(2.1) \text{ is}$$

coprobabilistic normed linear space.

Now, we introduce the concept of 2-coprobabilistic normed linear space as a development of coprobabilistic normed linear space.

Definition (2.9)-

Let  $X$  be a linear space of dimension greater than or equal to 2 and a mapping  $C$  from  $X \times X$  into  $\nabla^+$  is said to be a 2-coprobabilistic norm on  $X$  in case the following conditions hold:

(2-c- $N_1$ )  $C_{(x_1, x_2)} = \varepsilon_0$  if and only if  $x_1, x_2$  are linearly dependent

(2-c- $N_2$ )  $C_{(x_1, x_2)} = C_{(x_2, x_1)}$

(2-c- $N_3$ ) If  $0 \neq c \in R$  then  $C_{(x_1, cx_2)}(t) = C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{|c|}\right)$

(2-c- $N_4$ )  $C_{(x, y+z)}(s+t) \leq \max\{C_{(x, y)}(s), C_{(x, z)}(t)\}$ , for each  $s, t \in R$ .

The pair  $(X, C)$  will be referred to a 2-coprobabilistic normed linear space (briefly 2-c-NLS).

In order to make definition (2.9) as clear as possible we will consider the following examples.

Example (2.10):-

Let  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$  be an 2-normed space. Defined

$$C_{(x_1, x_2)}(t) = \begin{cases} 1 & \text{if } t \leq 0 \\ \frac{\|x_1, x_2\|}{t + \|x_1, x_2\|} & \text{if } t > 0 \end{cases} \dots\dots\dots(2.2)$$

In order to prove  $(X, C)$  is a 2-c-NLS, we must verify the above four (2-c-N) conditions

(2-c- $N_1$ ) For all  $t \in \mathbb{R}$ , with  $t > 0$

$$C_{(x_1, x_2)}(t) = \varepsilon_0(t) \text{ if and only if } \frac{\|x_1, x_2\|}{t + \|x_1, x_2\|} = 0$$

if and only if  $\|x_1, x_2\| = 0$   
if and only if  $x_1, x_2$  are linearly dependent

(2-c- $N_2$ ) Since  $\|x_1, x_2\| = \|x_2, x_1\|$ , then  $C_{(x_1, x_2)} = C_{(x_2, x_1)}$

(2-c- $N_3$ ) For all  $t \in \mathbb{R}$  with  $t > 0$  and  $0 \neq c \in \mathbb{R}$

$$C_{(x_1, cx_2)}(t) = \frac{\|x_1, cx_2\|}{t + \|x_1, cx_2\|}$$

$$= \frac{\|x_1, x_2\|}{\frac{t}{|c|} + \|x_1, x_2\|} = C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{|c|}\right)$$

$$\text{Thus } C_{(x_1, cx_2)}(t) = C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{|c|}\right)$$

(2-c- $N_4$ ) To prove

$$C_{(x, y+z)}(s+t) \leq \max\{C_{(x, y)}(s), C_{(x, z)}(t)\} \dots\dots\dots(2.3)$$

For each  $s, t \in \mathbb{R}$  and for each  $x, y, z \in X$ , we consider the following cases:-

(1) If  $s + t \leq 0$  then one can recognize the following two cases

(i) If  $t \leq 0$  then either  $s \leq 0$  or  $s > 0$ .

If  $s \leq 0$  then the proof of ineq.(2.3) is trivial. On the other hand if  $s > 0$  then  $C_{(x, y+z)}(s+t) = 1$

$$C_{(x,y)}(s) = \frac{\|x,y\|}{s + \|x,y\|} \text{ and } C_{(x,z)}(t) = 1$$

Hence, ineq.(2.3) holds in this case.

(ii) If  $t > 0$  then  $s < 0$  and hence  $C_{(x,y+z)}(s+t) = 1$

$$C_{(x,y)}(s) = 1 \text{ and } C_{(x,z)}(t) = \frac{\|x,z\|}{t + \|x,z\|}$$

Thus ineq.(2.3) holds

(2) If  $s+t > 0$  then one can see the following two cases:-

(i) If  $t \leq 0$  then  $s > 0$  and hence  $C_{(x,z)}(t) = 1$

$$C_{(x,y+z)}(s+t) = \frac{\|x,y+z\|}{s+t + \|x,y+z\|} \text{ and } C_{(x,y)}(s) = \frac{\|x,y\|}{s + \|x,y\|}$$

Hence ineq.(2.3) holds

(ii) If  $t > 0$  then either  $s \leq 0$  or  $s > 0$ . If  $s \leq 0$ , then the proof of ineq.(2.3) is trivial. On the other hand, consider  $s > 0$ . If

$$C_{(x,y)}(s) \leq C_{(x,z)}(t) \text{ then } \|x,y\|t \leq s\|x,z\|$$

Hence,

$$\frac{\|x,y+z\|}{s+t + \|x,y+z\|} \leq \frac{\|x,z\|}{t + \|x,z\|}$$

Similarly,

$$\frac{\|x,y+z\|}{s+t + \|x,y+z\|} \leq \frac{\|x,y\|}{s + \|x,y\|}$$

Thus,

$$C_{(x,y+z)}(s+t) \leq \max\{C_{(x,y)}(s), C_{(x,z)}(t)\}$$

Example (2.11):-

Let  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$  be an 2-normed space. For each  $(x_1, x_2) \in X^2$  and  $t \in \mathbb{R}$ .  
Defined

$$C_{(x_1, x_2)}(t) = \begin{cases} 1 & \text{if } t \leq \|x_1, x_2\| \\ 0 & \text{if } t > \|x_1, x_2\| \end{cases} \dots\dots\dots(2.4)$$

In order to prove that  $(X, C)$  is a 2-c-NLS, we must verify the above four (2-c-N) conditions.

(2-c- $N_1$ ) It is easy to check that  $C_{(x_1, x_2)} = \varepsilon_0$

(2-c- $N_2$ ) Since  $\|x_1, x_2\| = \|x_2, x_1\|$  then  $C_{(x_1, x_2)} = C_{(x_2, x_1)}$

(2-c- $N_3$ ) If  $0 \neq c \in \mathbb{R}$  and  $t > 0$ , then one can get the following two cases:-

(i) If  $t \leq \|x_1, cx_2\|$  then  $C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{|c|}\right) = 1$ .

(ii) If  $t > \|x_1, cx_2\|$  then  $C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{|c|}\right) = 0$

(2-c- $N_4$ ) For each  $s, t \in \mathbb{R}$ , we must prove

$$C_{(x, y+z)}(s+t) \leq \max\{C_{(x, y)}(s), C_{(x, z)}(t)\} \dots \dots \dots (2.5)$$

To do this consider the following two cases

(i) If  $s+t \leq \|x, y+z\|$  then  $C_{(x, y+z)}(s+t) = 1$

$$\text{And } s+t \leq \|x, y\| + \|x, z\|$$

In this case one can recognize the following two cases.

(i) If  $s \leq \|x, y\|$  then either  $t \leq \|x, z\|$  or  $t > \|x, z\|$

If  $t \leq \|x, z\|$  the proof of ineq.(2.5) is trivial. On the other hand, if  $t > \|x, z\|$  then  $C_{(x, z)}(t) = 0$ . Hence, ineq.(2.5) holds in this case:-

(ii) If  $s > \|x, y\|$  then  $t < \|x, z\|$  and hence.

$$C_{(x, y)}(s) = 0 \text{ and } C_{(x, z)}(t) = 1. \text{ Thus ineq. (2.5) holds.}$$

(2) If  $s+t > \|x, y+z\|$  then  $C_{(x, y+z)}(s+t) = 0$ . On the other hand, if  $s+t \leq \|x, y\| + \|x, z\|$ . Thus ineq.(2.5) holds. If  $s+t > \|x, y\| + \|x, z\|$

Then one can see the following two cases:-

(i) If  $s \leq \|x, y\|$  then  $t > \|x, z\|$ . Hence ineq.(2.5) holds.

(ii) If  $s > \|x, y\|$  then either  $t \leq \|x, z\|$  or  $t > \|x, z\|$

$$\text{If } t \leq \|x, z\| \text{ then } C_{(x, z)}(t) = 1 \text{ and } C_{(x, y)}(s) = 0.$$

Thus ineq.(2.5) holds. If  $t > \|x, z\|$  then  $C_{(x, z)}(t) = 0$ . Hence ineq.(2.5) holds.

#### Definition (2.12):-

Let  $(X, C)$  be a 2-c-NLS, a sequence  $\{x_n\}$  in  $X$  is said to be convergent to a point  $x \in X$  in case  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_n - x)}(t) = 0$  for each  $t > 0$  and for each  $y \in X$ .

In this case,  $x$  is said to be the limit of the sequence  $\{x_n\}$  and we denote it by  $\lim x_n$ . Otherwise, the sequence is divergent.

#### Definition (2.13):-

Let  $(X, C)$  be a 2-c-NLS, a sequence  $\{x_n\}$  in  $X$  is said to be

Cauchy sequence in case  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) = 0$  for each  $t > 0, y \in X$  and  $p=1,2,\dots$

Definition (2.14):-

A 2-coprobilistic normed linear space in which every Cauchy sequence is convergent is said to be complete.

Theorem (2.15):-

Let  $(X,C)$  be a 2-c-NLS, for every  $t > 0, y \in X$  and  $\lambda \in (0,1)$ , a sequence  $\{x_n\}$  in  $X$  is convergent to  $x$ , if and only if there exists  $n_0 \in \mathbb{N}$  such that  $C_{(y, x_n - x)}(t) < \lambda$  for each  $n \geq n_0$

Proof:-

For each  $t > 0$ , a sequence  $\{x_n\}$  converges to  $x$ , in case

$\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_n - x)}(t) = 0$ . Then for each  $\lambda \in (0,1)$  there exists an integer

$n_0$  such that  $C_{(y, x_n - x)}(t) < \lambda$ , for each  $n \geq n_0$

Conversely, let  $t$  be a fixed,  $t > 0, y \in X$  and  $\lambda \in (0,1)$  then  $\exists n_0 \in \mathbb{N}$  such that  $C_{(y, x_n - x)}(t) < \lambda, \forall n \geq n_0$

Hence  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_n - x)}(t) = 0$ .

Theorem (2.16):-

Let  $(X,C)$  be a 2-c-NLS, for each  $t > 0$  and  $\lambda \in (0,1)$  a sequence  $\{x_n\}$  in  $X$  is a Cauchy sequence if and only if for each  $y \in X$  and  $p=1,2,\dots$ ,

$\exists n_0 \in \mathbb{N}$  such that  $C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) < \lambda, \forall n \geq n_0$

Proof:-

For each  $t > 0, y \in X$  and  $p=1,2,\dots$ ,  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) = 0$  then for

every  $\lambda \in (0,1)$  there exists an integer  $n_0$  such that  $C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) < \lambda$ ,

$\forall n \geq n_0$ . Conversely, fix  $t > 0, y \in X$  then for a given  $0 < \lambda < 1$  and

$p=1,2,\dots$ . There exists an integer  $n_0 \in \mathbb{N}$  such that

$C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) < \lambda, \forall n \geq n_0$  and hence  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) = 0$ .



Theorem (2.17):-

Let  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$  be a complete 2-normed space. Then the 2-c-NLS defined by eq.(2.2) is a complete 2-c-NLS.

Proof:-

Let  $\{x_n\}$  be a Cauchy sequence in  $X$ , then  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) = 0$  for each  $t > 0$ ,  $y \in X$  and  $p=1, 2, \dots$ , Then  $\lim_{n \rightarrow \infty} \|y, x_{n+p} - x_n\| = 0$ . Hence  $\{x_n\}$  be a Cauchy sequence in  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$ . Then  $\{x_n\}$  is a convergent sequence in  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$ . Therefore,  $\lim_{n \rightarrow \infty} \|y, x_n - x\| = 0$ , thus  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_n - x)}(t) = 0$  for each  $t > 0$  and  $y \in X$ . Thus  $\{x_n\}$  is a convergent sequence in  $(X, C)$ .

Theorem (2.18):-

Let  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$  be a complete 2-normed space. Then the 2-c-NLS defined by eq.(2.4) is a complete 2-c-NLS.

Proof:-

Let  $\{x_n\}$  be a Cauchy sequence in  $X$ , then  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_{n+p} - x_n)}(t) = 0$  for all  $t > 0$ ,  $y \in X$  and  $p=1, 2, \dots$ , so that for all  $t > 0$ , there exists  $n_0$  such that  $\|y, x_{n+p} - x_n\| < t$ ,  $\forall n \geq n_0$ . Therefore  $\{x_n\}$  is a Cauchy sequence in  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$  and since  $(X, \|\cdot, \cdot\|)$  is a complete 2-normed space, then  $\|y, x_n - x\| < t$ ,  $\forall t > 0$ . Hence,  $\lim_{n \rightarrow \infty} C_{(y, x_n - x)}(t) = 0$ ,  $\forall t > 0$ . Then  $\{x_n\}$  is a convergence sequence in  $(X, C)$ . Therefore  $(X, C)$  is a complete 2-c-NLS.

**3.Coprobabilistic Dual Space Of 2-Coprobabilistic Normed Linear Space:-**

In this section, we give a definitions of 2-coprobabilistic bounded linear functional, uniformly 2-coprobabilistic bounded and coprobabilistic dual space of 2-coprobabilistic normed linear space. Also some results related to them are discussed.

Definition (3.1):-

Let  $T : (X, C) \longrightarrow (R, C^*)$  be a linear functional where  $(X, C)$  be a 2-coprobabilistic normed linear space and  $C^*$  be the coprobabilistic norm defined in eq.(2.1).  $T$  is said to be 2-coprobabilistic bounded on  $X^2$

in case there exists a positive number  $M$  such that for all  $(x_1, x_2) \in X^2$  and  $s > 0$ ,

$$C^*_{T(x_1, x_2)}(s) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{s}{M}\right)$$

**Theorem (3.2):-**

Let  $T$  be a 2-coprobabilistic bounded linear functional on  $X^2$ . If  $x_1, x_2$  are linearly dependent then  $T(x_1, x_2) = 0$ .

**Proof:-**

Suppose  $x_1, x_2$  are linearly dependent. Since  $T$  is a 2-coprobabilistic bounded linear functional. Then there exists  $M > 0$  such

$$\text{that } C^*_{T(x_1, x_2)}(s) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{s}{M}\right), \forall (x_1, x_2) \in X^2 \text{ and } s > 0.$$

Then  $C^*_{T(x_1, x_2)}(s) \leq 0$ . Hence  $T(x_1, x_2) = 0$

Now, the question arises: can one generate a 2-norm from a 2-coprobabilistic norm?

To answer this question, see the following theorem this theorem based on the idea that appeared in (5).

**Theorem (3.3):-**

Let  $(X, C)$  be a 2-coprobabilistic normed space. Assume further that  $(2\text{-}c\text{-}N_5)$  for each  $t > 0$ ,  $C_{(x_1, x_2)}(t) < 1$  implies  $x_1, x_2$  are Linearly dependent. ....(3.1)

For each  $(x_1, x_2) \in X^2$ , define

$$\|x_1, x_2\|_\alpha = \inf \left\{ t : C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha \right\}, \text{ where } \alpha \in (0, 1). \text{ Then for each } \alpha \in (0, 1), \|\cdot, \cdot\|_\alpha \text{ is a 2-norm on } X \text{ and } \{\|\cdot, \cdot\|_\alpha : \alpha \in (0, 1)\}$$

Is an ascending family of 2-norm on  $X$ .

**Proof:-**

First we must prove that for each  $\alpha \in (0, 1)$ ,  $\|\cdot, \cdot\|_\alpha$  is a 2-norm on  $X$ . If  $\|x_1, x_2\|_\alpha = 0$  then for each  $t > 0$ ,  $C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha < 1$ .

Thus by using the condition (3.1) one can get  $x_1, x_2$  are linearly dependent.

Conversely, if  $x_1, x_2$  are linearly dependent then for each  $t > 0$ ,

$$C_{(x_1, x_2)}(t) = 0. \text{ Hence, for each } \alpha \in (0, 1), \|x_1, x_2\|_\alpha = 0.$$

Also, since  $C_{(x_1, x_2)} = C_{(x_2, x_1)}$  then  $\|x_1, x_2\|_\alpha = \|x_2, x_1\|_\alpha$ . Moreover, if  $c \neq 0$  then for each  $\alpha \in (0, 1)$ ,

$$\begin{aligned}\|x_1, cx_2\|_\alpha &= \inf \{ s : C_{(x_1, cx_2)}(s) \leq 1 - \alpha \} \\ &= \inf \{ |c|t : C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha \} \\ &= |c| \inf \{ t : C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha \}\end{aligned}$$

Where  $t = \frac{s}{|c|}$ . Therefore,  $\|x_1, cx_2\|_\alpha = |c| \|x_1, x_2\|_\alpha$

On the other hand,

$$\begin{aligned}\|x, y\|_\alpha + \|x, z\|_\alpha &= \inf \{ s : C_{(x, y)}(s) \leq 1 - \alpha \} \\ &+ \inf \{ t : C_{(x, z)}(t) \leq 1 - \alpha \} \geq \inf \{ s + t : C_{(x, y+z)}(s + t) \leq 1 - \alpha \}.\end{aligned}$$

Then for each  $\alpha \in (0, 1)$ ,  $\|\cdot, \cdot\|_\alpha$  is 2-norm on  $X$ . Second we must prove that

$\{\|\cdot, \cdot\|_\alpha : \alpha \in (0, 1)\}$  is an ascending family of 2-norm on  $X$ .

Let  $0 < \alpha_1 < \alpha_2$  then

$$\{t : C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha_2\} \subseteq \{t : C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha_1\}$$

Hence,  $\inf \{t : C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha_2\} \geq \inf \{t : C_{(x_1, x_2)}(t) \leq 1 - \alpha_1\}$

Thus,  $\{\|\cdot, \cdot\|_\alpha : \alpha \in (0, 1)\}$  is an ascending family of 2-norms on  $X$ .

#### Definition (3.4):-

Let  $T : (X, C) \longrightarrow (R, C^*)$  be a linear functional where  $(X, C)$  be a 2-coprobabilistic normed linear space satisfying the condition (2-c- $N_5$ ) and  $(R, C^*)$  be a coprobabilistic normed linear space where  $C^*$  defined in eq.(2.1).  $T$  is said to be uniformly 2-coprobabilistic bounded in case there exist  $M > 0$  such that

$$|T(x_1, x_2)| \geq M \|x_1, x_2\|_\alpha, \alpha \in (0, 1)$$

Where  $\{\|\cdot, \cdot\|_\alpha : \alpha \in (0, 1)\}$  is a ascending family of 2-norms.

#### Theorem (3.5):-

Let  $T : (X, C) \longrightarrow (R, C^*)$  be a linear functional where  $(X, C)$  be a 2-coprobabilistic normed linear space satisfying condition (2-c- $N_5$ ) and  $(R, C^*)$  be a coprobabilistic normed linear space where  $C^*$  defined in eq.(2.1). If  $T$  is 2-coprobabilistic bounded on  $X^2$  then it is uniformly 2-coprobabilistic bounded.

#### Proof:-

Suppose  $T$  is 2-coprobabilistic bounded. Then there exists  $M > 0$  such that  $\forall (x_1, x_2) \in X^2$  and  $s > 0$ ,  $C^*_{T(x_1, x_2)}(s) \leq C_{(x_1, x_2)}(\frac{s}{M})$ .

Then  $C^*_{T(x_1, x_2)}(s) \leq C_{(x_1, Mx_2)}(s)$

$\|x_1, Mx_2\|_\alpha > t$  then  $\text{Inf}\{s : C_{(x_1, Mx_2)}(s) \leq 1 - \alpha\} > t$ .

Hence,  $\exists s_0 > t$  such that  $C_{(x_1, Mx_2)}(s_0) \leq 1 - \alpha$ .

Therefore,  $\exists s_0 > t$  such that  $C^*_{T(x_1, x_2)}(s_0) \leq 1 - \alpha$ .

Then,  $|T(x_1, x_2)| \geq s_0 > t$ .

Hence,  $|T(x_1, x_2)| \geq \|x_1, Mx_2\|_\alpha$ .

Thus  $T$  is uniformly 2-coprobabilistic bounded.

Note (3.6):-

Let  $(X, C)$  be a 2-coprobabilistic normed linear space. We denote by  $\beta(X^2, R)$  the set of all 2-coprobabilistic bounded linear functionals on  $X^2$  and we call  $\beta$ , the coprobabilistic dual space of  $X^2$ .

Theorem (3.7):-

$\beta(X^2, R)$  is a linear space.

Proof:

Let  $T_1, T_2 \in \beta(X^2, R)$ , then there exist two positive numbers  $M_1$  and  $M_2$  such that for each  $(x_1, x_2) \in X^2$  and  $t > 0$

$$C^*_{T_1(x_1, x_2)}(t) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{M_1}\right) \text{ and}$$

$$C^*_{T_2(x_1, x_2)}(t) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{M_2}\right)$$

Thus for any two scalars  $\alpha$  and  $\lambda$  we have

$$\begin{aligned} & C^*_{(\alpha T_1 + \lambda T_2)(x_1, x_2)}(t) \\ & \leq \max\left\{C^*_{\alpha T_1(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{2}\right), C^*_{\lambda T_2(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{2}\right)\right\} \\ & \leq \max\left\{C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{2|\alpha|M_1}\right), C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{2|\lambda|M_2}\right)\right\} \end{aligned}$$

Choose  $M = \max\{2|\alpha|M_1, 2|\lambda|M_2\} + 1$ . Thus  $M \geq 2|\alpha|M_1$  and  $M \geq 2|\lambda|M_2$ .

This implies that  $\frac{t}{2|\alpha|M_1} \geq \frac{t}{M}$  and  $\frac{t}{2|\lambda|M_2} \geq \frac{t}{M}$  for each  $t > 0$

Hence,  $C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{2|\alpha|M_1}\right) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{M}\right)$  and

$$C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{2|\lambda|M_2}\right) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{M}\right).$$

Therefore,  $C^*_{(\alpha T_1 + \lambda T_2)(x_1, x_2)}(t) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{M}\right)$  for each  $t > 0$ . Then we have for each  $(x_1, x_2) \in X^2$  and  $t \in \mathbb{R}$ , there exists  $M > 0$  such that

$$C^*_{(\alpha T_1 + \lambda T_2)(x_1, x_2)}(t) \leq C_{(x_1, x_2)}\left(\frac{t}{M}\right)$$

This implies that  $\alpha T_1 + \lambda T_2 \in \beta(X^2, \mathbb{R})$ . Hence  $\beta(X^2, \mathbb{R})$  is a linear space.

## REFERENCE

- (1) Menger K., "Statistical metrics", Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 28 :535-537, (1942).
- (2) Serstnev N., "Random normed space", Problems of completeness kazan Gos Univ. Ucen Zap., 122 :3-20, (1962).
- (3) Jebril H. and Hatamleh R., " Random n-Normed linear space", Int. J. Open problems compt. Math., 2(3) :489-495, (2009).
- (4) Gunawan H. and Mashadi M., "On n-Normed space", Int, J.Math. Math. Sci., 27 :631-639, (2001).
- (5) Narayanan A. and Vijayabalaji S., "Fuzzy n-normed linear space", International Journal of Mathematics and Mathematical Sciences, 24 :3963-3977, (2005).



## The Degree of Best Approximation by the Linear Positive Operator in the Weight Spaces

Sahib K. AL- Saidy and Zainab Esa Abdul Naby

Al-Mustansiriyah University-College of Science-Department of Mathematics

Submitted : 14/03/2011

Accepted : 29/05/2011

### الخلاصة

في بحثنا هذا سوف نستخدم مؤثرات جديدة وهي  $L_n(f, q, r, 1, x)$ ,  $n \in N$  و  $S_n(f, x)$  وذلك لإيجاد أفضل تقريب للمؤثرات الخطية الموجبة في الفضاء (weighted spaces), معتمدين بذلك على استخدام نماذج معدل النعومة الوزنية في  $L_p(X)$ .

### ABSTRACT

In this paper we shall use new operators  $S_n(f, x)$ ,  $L_n(f, q, r, 1, x)$   $n \in N$ ,  $f \in L_p(X)$ , in order to find the best approximation of the linear positive operators in a weighted spaces of functions by using weighted averaged modulus of smoothness in  $L_p(X)$  spaces.

### INTRODUCTION

The Szasz - Mirakyan operators are important in approximation on theory. They have been studied intensively, in connection with different branches of analysis, such as numerical analysis [1].

Let  $R_0 = [0, \infty)$  and  $f \in C[0, \infty)$ . Szasz - Mirakyan operators denoted by

$$S_n(f, x) \text{ which are } S_n(f, x) = \sum_{k=0}^{\infty} q_{n,k}(x) f\left(\frac{k}{n}\right), \quad n \in N$$

$$\text{Where } q_{n,k}(x) = e^{-nx} \frac{(nx)^k}{k!} \quad (1.1)$$

In [1] was proved that  $S_n(f, x)$  defined by (1.1) is a positive linear operators from the space  $C_q$  into  $C_p$  proved that  $p > q > 0$  and  $n > q > \ln(p/q)$ .

Let  $N_0 = \{0, 1, 2, \dots\}$ , for a fixed,  $q \in N_0$   $x \in R_0 = [0, \infty)$  the weight function  $\omega_q(x)$  is given by [2]:

$$\omega_0(x) = 1, \quad \omega_q(x) = (1 + x^q)^{-1} \text{ if } q \geq 1 \quad (1.2)$$

Let  $C_q = \{f \in C[0, \infty) : \omega_q f \text{ is uniformly continuous and bounded on } [0, \infty)\}$ . Let  $m \in N, q \in R_0 = [0, \infty)$  be fixed numbers, and denote

$$C_q^m = \{f \in C_q : f^{(k)} \in C_q, k = 0, 1, 2, \dots, m\}.$$

Let  $B_q = \{f : f \text{ is real valued continuous functions on } f(x) \text{ on}$

$$R_0 = [0, \infty)\}, \text{ such that } w_q(x) x^k f^{(k)}(x), k = 0, 1, 2, \dots, q$$

Are continuous, and bounded on  $R_0$ , and  $f^{(q)}(x)$  is uniformly continuous on  $R_0$ . Then we denote by  $B_q$  the spaces of all continuous and bounded functions  $f$  on  $R_0$ . And we denote by,  $L_p(x)$ ,  $(1 \leq p < \infty)$  the spaces of all bounded Measurable functions  $f$  on  $X$ , for which [2]

$$\|f\|_p = \left[ \int_a^b |\omega_q(x) \cdot f(x)|^p \cdot d(x) \right]^{1/p} < \infty, q \in N_0 \quad (1.3)$$

The modulus of smoothness defined by [3]:

$$w_1(f, C_q, h)_p = \sup_{0 \leq h \leq x} \|\Delta_n f(x)\|_p, x \in R_0, q \in N_0 \quad (1.4)$$

Where  $\Delta_n f(x) = f(x+h) - f(x)$  For  $h, x \in R_0, f \in C_q$

Now let  $r \in N, q \in N, s > 0$ , be fixed numbers. For functions  $f \in B_q$  we defined the operators [4]:

$$L_n(f, q, r, s, x) = \frac{1}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \sum_{j=0}^q \frac{f^{(j)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^j}{j!}, x \in R_0, n \in N \quad (1.5)$$

$$\text{Where } g(t, r) = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{t^k}{(k+r)!}, t \in R_0, t \geq 0, \text{ and } g(n^s x, r) \neq 0 \quad (1.6)$$

### Basic Theorems

We shall give some properties of the above operators which we shall apply in the proofs of the main theorems.

**Lemma 2.1:** [4]

Let  $f \in B_q, q \in N_0, x \in R_0, n, r \in N$  and  $s > 0$ , then

$$A_n(f, r, s, x) = \frac{1}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} f\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \quad (2.1)$$

Clear that  $A_n(f, r, s, x)$  is a linear positive operator.

**Lemma 2.2:** [5]

Let  $q \in N_0, r \in N$  and  $s > 0$  be fixed numbers. Then there exists a positive constant  $M_3 \equiv M_3(q, r)$ , such that

$$\sup_{x \in R_0} \left\{ \omega_q(x) x^k A_n(1/\omega_{q-k}(t), r, s, x) \right\} \leq M_3, n \in N, k = 0, 1, 2, \dots, r \quad (2.2)$$

**Lemma 2.3:** [4]

For every fixed  $r \in N$  and for all  $n \in N$  and  $x \in R_0$ , then

$$A_n(1, r, s, x) = 1$$

$$A_n(t, r, s, x) = x + \frac{1}{n^s(r-1)! g(n^s x, r)} \quad (2.3)$$

$$A_n(t^2, r, s, x) = x^2 + \frac{x}{n^s} \left( 1 + \frac{1}{(r-1)! g(n^s x, r)} \right) + \left( \frac{r}{n^{2s}(r-1)! g(n^s x, r)} \right)$$

**Lemma 2.4:** [5]

Fix  $q \in N_0, r \in N$  and  $s > 0$ . Then there exist positive numbers  $\alpha_{q,j}$  depending only on  $j, q$  and  $\beta_{q,j}(r)$  depending only on  $r, j$  and  $q$ ,  $0 \leq j \leq q$ , such that

$$A_n(t^q, r, s, x) = \sum_{j=0}^q \frac{x^j}{n^{s(q-j)}} \left( \alpha_{q,j} + \frac{\beta_{q,j}(r)}{g(n^s x, r)} \right) \quad (2.4)$$

For all  $n \in N$  and  $x \in R_0$ , moreover  $\alpha_{0,0} = 1, \beta_{0,0}(r) = 0$  and

$$\alpha_{q,0} = \beta_{q,q}(r) = 0, \alpha_{q,q} = 1, \beta_{q,0}(r) = \frac{r^{q-1}}{(r-1)!} \text{ for } q \in N.$$

**Lemma 2.5:** [5]

Fix  $q \in N, r \in N$  and  $s > 0$ . Then for all  $x \in R_0$  and  $n \in N$

$$\text{We have } A_n((x-t)^q, r, s, x) = \sum_{j=1}^q \frac{x^{j-1}}{n^{s(q-j+1)}} \left( a_{q,j} + \frac{b_{q,j}}{g(n^s x, r)} \right) \quad (2.5)$$

Where  $a_{p,j}, b_{p,j}$  are numbers depending only on the parameters  $r, j$  and  $p$ .

### 3 - Main Results

Theorem 2.1 and 2.2 and corollary in this section show that operators  $L_n(f, q, r, 1, x), n \in N$ , give better degree of approximation of functions  $f \in B_q, q \in N$ , than  $S_n$  and the operators examined in (1.1) (1.5), (2.1) and (2.2).

**Lemma 3.1:**

Let  $q \in N_0, r \in N$  and  $s > 0$  be fixed numbers. Then there exists a positive constant  $M \equiv M(q, r)$  such that

$$\left\| A_n(1/\omega_q(t); r, s, x) \right\|_p \leq M \text{ where } n \in N, x \in R_0 \quad (3.1)$$

**Proof:**

The inequality (3.1) is obvious for  $q = 0$  by (1.2), (1.3) and (2.3).

Let  $q \in N$ , from (1.6) we get  $\frac{1}{g(t, r)} \leq r!$  for  $t \in R_0$  (3.2)

From (3.2), (1.2), (2.3), (2.4) and (2.1), we have

$$\begin{aligned} & \left[ \int_a^b \left| \omega_q(x) A_n(1/\omega_q(t), r, s, x) \right|^p dx \right]^{1/p} = \\ & \left[ \int_a^b \left| \omega_q(x) [1 + A_n(t^q, r, s, x)] \right|^p dx \right]^{1/p} \\ & = \left[ \int_a^b \left| \frac{1}{1+x^q} + \sum_{j=0}^q \frac{x^j}{n^{s(q-j)}(1+x^q)} \left( \alpha_{q,j} + \frac{\beta_{q,j}(r)}{g(n^s x, r)} \right) \right|^p dx \right]^{1/p} \\ & \leq \left[ \int_a^b \left| 1 + \sum_{j=0}^q \frac{x^j}{1+x^q} (\alpha_{q,j} + r! \beta_{q,j}(r)) \right|^p dx \right]^{1/p} \\ & \leq 1 + \left[ \int_a^b \left| \sum_{j=0}^q \frac{x^j}{1+x^q} (\alpha_{q,j} + r! \beta_{q,j}(r)) \right|^p dx \right]^{1/p} \\ & \leq M(q, r) \quad \square \end{aligned}$$

**Lemma 3.2:**

Let  $q \in N$ ,  $r \in N$  and  $s > 0$ . Then there exists a positive constant  $M \equiv M(f, q, r)$ , for all  $f \in B_q$  such that

$$\|L_n(f, q, r, s, x)\|_p \leq M \quad (3.3)$$

**Proof:**

First we suppose that  $f \in B_q$ ,  $q \in N$  from this using the elementary inequality,  $(a+b)^k \leq 2^{k-1}(a^k + b^k)$ ,  $a, b > 0$ ,  $k \in N_0$  we get

$$\begin{aligned} |x-t|^k |f^{(k)}(t)| & \leq 2^{k-1} |f^{(k)}(t)| \{x^k + t^k\} \\ & \leq M(f, q, k) \left\{ \frac{1}{\omega_q(t)} + \frac{x^k}{\omega_{q-k}(t)} \right\} \quad k = 0, 1, 2, \dots, q, x, t \in R_0 \end{aligned}$$

Where  $\omega_q(t) \neq 0$  and  $\omega_{q-k}(t) \neq 0$  this implies that

$$\left[ \int_a^b \left| \omega_q(x) L_n(f, q, r, s, x) \right|^p dx \right]^{1/p} \leq \left[ \left| M(f, q) \frac{\omega_q(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \left\{ \left( \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \right) \frac{1}{\omega_q((k+r)/n^s)} + \sum_{j=0}^q \frac{x^j}{\omega_{q-j}((k+r)/n^s)} \right\} \right|^p dx \right]^{1/p}$$

$$= M(f, q) \left[ \int_a^b \left| \omega_q(x) \left[ A_n(1/\omega_q(x), r, s, x) + \sum_{j=0}^q x^j A_n(1/\omega_{q-j}(t), r, s, x) \right] \right|^p dx \right]^{1/p}$$

From last equation and in view of (3.1) and (2.3), we get

$$\left[ \int_a^b \left| \omega_q(x) L_n(f, q, r, s, x) \right|^p dx \right]^{1/p} \leq M(f, q, r) \quad \square$$

### Theorem 3.1:

Let  $q \in N_0$ ,  $r \in N$  and  $s > 0$ , then there exists a positive constant  $M \equiv M(q, r, s)$  such that for every  $f \in B_{2q+1}$ , we have

$$\| L_n(f, 2q+1, r, s, x) - f(x) \|_p \leq M \tau_1(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n})_p, \quad n \in N, 1 \leq p < \infty$$

### Proof:

Suppose that  $f \in B_{2q+1}$ , this implies that  $f^{(2q+1)} \in C_0$ , let  $q \in N_0$  and using the modified of Taylor formula:

$$f(x) = \sum_{j=0}^{2q+1} \frac{f^{(j)}(\frac{k+r}{n^s}) (x - \frac{k+r}{n^s})^j}{j!} + \frac{(x - \frac{k+r}{n^s})^{2q+1}}{2q!} \left\{ \int_0^1 (1-t)^{2q} \left[ f^{(2q+1)}\left(\frac{k+r}{n^s} + t(x - \frac{k+r}{n^s})\right) - f^{(2q+1)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \right] dt \right\}$$

By definition of the modulus of continuity and (1.6), (1.5), we have

$$\left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+1}(x) (L_n(f, 2q+1, r, s, x) - f(x)) \right|^p dx \right]^{1/p}$$



$$\begin{aligned}
 &\leq \left[ \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+1}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \left[ \sum_{j=0}^{2q+1} \frac{f^{(j)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^j}{j!} - f(x) \right] \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 &\leq \left[ \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+1}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \left[ \frac{\left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^{2q+1}}{2q!} \right. \right. \right. \\
 &\quad \left. \left. \left. \int_0^1 (1-t)^{2q} w_1(f^{(2q+1)}, C_0, t(x - \frac{k+r}{n^s})) dt \right] \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 &\leq \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+1}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \left[ \frac{\left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^{2q+1}}{2q!} \right. \right. \\
 &\quad \left. \left. \int_0^1 (1-t)^{2q} \left[ f^{(2q+1)}\left(\frac{k+r}{n^s} + t\left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)\right) - f^{(2q+1)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \right] dt \right] \right|^p dx \right]^{1/p} \text{Th}
 \end{aligned}$$

us

We observe that

$$w_1(f^{(2q+1)}, C_0, t(x - \frac{k+r}{n^s})) \leq (1 + t(x - \frac{k+r}{n^s})n^s) w_1(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s})$$

From this, using the elementary inequality

$$(a+b)^k \leq 2^{k-1}(a^k + b^k) \quad a, b > 0, \quad k \in N_0, \quad \text{We have}$$

$$\begin{aligned}
 &w_1(f^{(2q+1)}, C_0, t(x - \frac{k+r}{n^s})) \\
 &\leq (1 + t(x - \frac{k+r}{n^s})n^s) w_1(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s}) \\
 &\leq \left[ \int_a^b \frac{\omega_{2q+1}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \left[ \left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^{2q+2} n^s + \left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^{2q+1} \right] \right. \\
 &\quad \left. w_1(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s}) \right]^p dx \Bigg]^{1/p} \\
 &\leq \left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+1}(x) \left[ n^s A_n((x-t)^{2q+2}, r, s, x) + 2^{2q} A_n((x-t)^{2q+2}, r, s, x) \right] \right. \right. \\
 &\quad \left. \left. w_1\left(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s}\right) \right| dx \right]^{1/p}
 \end{aligned}$$

$$\leq \left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+1}(x) \left[ n^s A_n \left( (x-t)^{2q+2}, r, s, x \right) + 2^{2q} A_n \left( t^{2q+1}, r, s, x \right) + 2^{2q} x^{2q+1} \right] \right. \right. \\ \left. \left. w_1 \left( f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s} \right) \right| dx \right]^{1/p} \quad \text{By}$$

(2.4), (1.2), (3.1) and (3.2) we get that

$$\left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+1}(x) \left( L_n(f, 2q+1, r, s, x) - f(x) \right) \right|^p dx \right]^{1/p} \\ \leq \left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+1}(x) \sum_{j=1}^{2q+2} \frac{x^{j-1}}{n^{s(2q-j+2)}} (a_{2q+2,j} + \frac{b_{2q+2,j}}{g(n^s x, r)}) + \right. \right. \\ \left. \left. 2^{2q} \sum_{j=0}^{2q+1} \frac{x^j}{n^{s(2q+1-j)}} (\alpha_{2q+1,j} + \frac{\beta_{2q+1,j}(r)}{g(n^s x, r)} + 2^{2q} x^{2q+1}) w_1(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s}) \right|^p dx \right]^{1/p} \\ \leq \left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+1}(x) \frac{x^j}{n^{s(2q+1-j)}} \right|^p dx \right]^{1/p} \left[ \int_a^b \sum_{j=1}^{2q+2} (a_{2q+2,j}) + r!(b_{2q+2,j}) + \right. \\ \left. 2^{2q} \sum_{j=1}^{2q+1} (\alpha_{2q+1} + r! \beta_{2q+1}(r) + 2^{2q}) w_1(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s}) \right]^p dx \Bigg]^{1/p} \\ \leq M_1(q, s) \left[ \int_a^b \sum_{j=1}^{2q+2} (a_{2q+2,j}) + r!(b_{2q+2,j}) + \right. \\ \left. 2^{2q} \sum_{j=1}^{2q+1} (\alpha_{2q+1} + r! \beta_{2q+1}(r) + 2^{2q}) \right]^p dx \Bigg]^{1/p} \cdot \left[ \int_a^b \left| w_1(f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s}) \right|^p dx \right]^{1/p} \\ \leq M_2(q, s) \left\| w_1 \left( f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s} \right) \right\|_p \\ \leq M_3(q, s, r) \cdot \tau_1 \left( f^{(2q+1)}, C_0, \frac{1}{n^s} \right)_p \quad \square$$

### Theorem 3.2:

Let  $q \in N_0$ ,  $r \in N$  and  $s > 0$ , then there exists a positive constant  $M \equiv M(q, r, s)$  such that for every  $f \in B_{2q+2}$ , we have got

$$\| L_n(f, 2q+2, r, s, x) - f(x) \|_p \leq \frac{M(q, r, s)}{n^s} \| f^{(2q+2)} \|_p, n \in N.$$

**Proof:**

Suppose that  $f \in B_{2q+2}$ , this implies that  $f^{(2q+2)} \in C_q$ , let  $q \in N_0$ .  
Using the modified Taylor formula.

$$f(x) = \sum_{j=0}^{2q+2} \frac{f^{(j)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^j}{j!} + \frac{\left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^{2q+2}}{(2q+1)!} \int_0^1 (1-t)^{2q+2} \left[ f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s} + t\left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)\right) - f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \right] dt$$

By definition of the modulus of smoothness of continuity and (1.5) and (1.6), we have that

$$\begin{aligned} & \|L_n(f, 2q+2, r, s, x) - f(x)\|_p = \\ & \left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+2}(x) (L_n(f, 2q+2, r, s, x) - f(x)) \right|^p dx \right]^{1/p} \\ & \leq \left[ \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+2}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \left[ \sum_{j=0}^{2q+2} \frac{f^{(j)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \left(x - \frac{k+r}{n^s}\right)^j}{j!} - f(x) \right] \right|^p dx \right]^{1/p} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & \leq \left[ \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+2}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \frac{(x - \frac{k+r}{n^s})^{2q+2}}{(2q+1)!} \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 & \int_0^1 (1-t)^{2q+2} \left[ f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s} + t(x - \frac{k+r}{n^s})\right) - f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \right] dt \right]^p dx \Bigg]^{1/p} \\
 & \leq \left[ \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+2}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \frac{(x - \frac{k+r}{n^s})^{2q+2}}{(2q+1)!} \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 & \left[ \int_a^b \int_0^1 (1-t)^{2q+2} \left[ f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s} + t(x - \frac{k+r}{n^s})\right) + f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \right] dt \right]^p dx \Bigg]^{1/p} \\
 & \leq \left[ \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+2}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \left( \frac{(x - \frac{k+r}{n^s})^{2q+2}}{(2q+1)!} \right) \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 & \left[ \int_a^b \left| f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) + t f^{(2q+2)}(x) - t f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) + \right. \right. \\
 & \quad \left. \left. f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \int_0^1 (1-t)^{2q+2} dt \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 & \leq \left[ \int_a^b \left| \frac{\omega_{2q+2}(x)}{g(n^s x, r)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(n^s x)^k}{(k+r)!} \left( \frac{(x - \frac{k+r}{n^s})^{2q+2}}{(2q+1)!} \right) \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 & \left[ \int_a^b \left| 2 f^{(2q+2)}\left(\frac{k+r}{n^s}\right) \right|^p dx \right]^{1/p} \\
 & = 2 \| f^{(2q+2)} \|_p \left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+2}(x) A_n \left( (x-t)^{2q+2}, r, s, x \right) \right|^p dx \right]^{1/p}
 \end{aligned}$$

From this, applying (1.2), (2.5) and (3.2), we immediately obtain

$$\leq \frac{2}{n^s} C(p) \| f^{(2q+2)} \|_p \left[ \int_a^b \left| \omega_{2q+2}(x) \sum_{j=1}^{2q+2} \frac{x^{j-1}}{n^{s(2q-j+2)}} \left( a_{q+2,j} + \frac{b_{q+2,j}}{g(n^s x, r)} \right) \right|^p dx \right]^{1/p}$$

$$\leq \frac{2M(q,r,s)}{n^s} C(p) \| f^{(2q+2)} \|_p$$

$$\leq \frac{M}{n^s} \| f^{(2q+2)} \|_p \quad \square$$

**Corollary:**

For every fixed  $q \in N, r \in N, s > 0$  and  $f \in B_q$ , we have

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \| L_n(f, q, r, s, x) - f(x) \|_p = 0 \quad \square$$

**In Conclusion**

- 1) We find the best approximation of functions  $f \in B_q, q \in N$  in weighted space by using the linear operator  $L_n(f, q, r, 1, x), n \in N$ .
- 2) We show that the operator  $L_n(f, q, r, 1, x), n \in N$  give a better degree of approximation of  $f \in B_q, q \in N$ , than  $S_n(f, x)$ .

**REFERENCE**

- 1- L. Rempulska, Z. Walczak "On Some Properties of Szasz-Mirakyan Operators in Holder Spaces", Turk J Math, 27 :435-446 (2003).
- 2- Abdul Wafi and SALMA KHATOON "THE VORONOVSKAYA THEOREM FOR GENERALIZED BASKAKOV-KANTOROVICH OPERATORS IN POLYNOMIAL WEIGHT SPACES" MATEMA BECHNK, 57:87-94 (2005).
- 3- B. Sendov, V. A. Popov, "The Averaged Moduli of Smoothness", Sofia (1983).
- 4- Z. Walczak, "On the Rate of Convergence for Some Linear Operators", Hiroshima Math. J. 35 :115-124(2005).
- 5- L. Rempulska, M. Skorupka, "On strong Approximation of Functions by Certain Linear Operators", Math. J.of Okayama(2004).



**عدد خاص**  
**بحوث المؤتمر العلمي السابع**  
**كلية العلوم - الجامعة المستنصرية**  
**للفترة 4-5 أيار لسنة 2011**

رئيس التحرير

أ. د. رضا ابراهيم البياتي

مدير التحرير

أ.م.د. إقبال خضر الجوفي

هيئة التحرير

- |      |                               |
|------|-------------------------------|
| عضوا | أ. د. إيمان طارق محمد العلوي  |
| عضوا | أ. م. د. رمزي رشيد علي العاني |
| عضوا | أ. د. انعام عبد الرحمن حسن    |
| عضوا | أ. م. د. أحمد سامي حسن        |
| عضوا | أ. م. د. ماجد محمد محمود      |
| عضوا | أ. م. د. بشار مكي نعمة        |
|      | أ. م. د. حسين كريم الوندائي   |

**الهيئة الاستشارية**

- |                              |                              |
|------------------------------|------------------------------|
| العميد                       | أ. م. د. يوسف كاظم عبدالأمير |
| معاون العميد للشؤون العلمية  | أ. م. د. حسن هاشم سلمان      |
| معاون العميد للشؤون الإدارية | أ. م. د. عامر صديق الملاح    |
| رئيس قسم الرياضيات           | أ. د. طارق صالح عبد الرزاق   |
| رئيس قسم علوم الحياة         | أ. د. عبدالأمير ناصر غلوب    |
| رئيس قسم الفيزياء            | أ. م. د. عبد الله احمد رشيد  |
| رئيس قسم علوم الحاسوب        | أ. م. د. سعد نجم باشخ        |
| مدير وحدة أبحاث البوليمر     | أ. م. د. طارق سهيل نجم       |
| قسم الكيمياء                 | أ. م. د. حامد جاسم جعفر      |

## 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 او 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 ان 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 المجالات.
7. يفضل قدر الامكان تسلسل البحث ليتضمن العناوين الرئيسية الاتية : المقدمة ، طرائق العمل ، النتائج والمناقشة ، 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

ت	الموضوع	رقم الصفحة
1-	تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس <i>Eucalyptus camaldulenses</i> في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام هالة مؤيد وثريا عبدالحسين ورغد عبداللطيف	12-1
2-	تأثير الاندول بيوترك أسد (IBA) في تجذير تركيبين وراثيين من قصب السكر <i>Sacchrum officinarum L</i> خارج الجسم الحي محمد احمد كريم وزينب عبد الجبار حسين الحسيني وعلي عبد الأمير مهدي الصالحي وصفاء عبد الرحيم	24-13
3-	تأثير الكلورهكسدين المثبط لبكتريا <i>Mutans Streptococci</i> على نمو وإنتاج الحامض لبكتريا <i>Lactobacilli</i> الفموية أبرار ناظم محمد وخليل مصطفى خماس وعباس صبري المزرقجي	36-25
4-	عزل وتشخيص بكتريا <i>Clostridium perfringens</i> من العينات السريرية و بيئة بعض مستشفيات بغداد والتحري عن عوامل ضراوتها منعم رضوان علي وسوسن ساجد محمد علي وأمانى عبد الوهاب عبد الرزاق	55-37
5-	إستخلاص وتنقية الكلوبيولين المناعي صنف G المشيمي عصام فاضل الجميلي وسيناء عبود مصطفى وفارس عبدالكريم	67-56
6-	عزل بكتريا <i>Enterococcus gallinarum</i> ذات مقاومة متعددة للمضادات الحيوية (MDR) من التهابات المجاري البولية مها مخلف كاظم ومحمد فرج المرجاني وكفاح احمد جاسم	77-68
7-	استخدام طريقتان مختلفتان لعزل أنواع بكتريا البروسيلا وتحديد أنماطها الحيوية السائدة وبعض من عوامل ضراوتها سوسن ساجد الجبوري وأمنة نعمة ثويني وأسماء عزت النعيمي	90-78
8-	تأثير اضافة الخميرة ومنقوع الشاي الاسود مع التربة في نمو نبات الريحان ( <i>Ocimum basilicum L.</i> ) وفاق امجد القيسي ورضية حسن علي وغفران عبد الهادي ابراهيم	99-91

116-100	تأثير المستخلصات الكحولية الخام لنباتي البصل والكراث على نمو بعض الفطريات الممرضة <i>Rhizopus</i> و <i>Aspergillus flavus</i> <i>oligosporium</i> انعام نوري علي وحسين علي سبتي وغنية عيال حمدان وخالد فالح	-9
128-117	دراسة تأثير درجة الحرارة والأس الهيدروجيني على إنتاج إنزيم Cellulases من الفطر <i>Trichoderma viride</i> . محمد ياسين خضير ومهند محمد نوري وهادي مهدي عبود	-10
135-129	التسحيح المجاهدي لتعيين تركيز ايونات النحاس في المحاليل باستخدام قطب ايون النحاس الانتقائي عدي احمد عبدالستار ونضال حميد كريم ومحمد خليل محمد	-11
151-136	تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية Cr(III) و Ni(II) و Co(II) مع مشتقات الثيازولدين بإستعمال نوعين من المجاميع (OH) و (No <sub>2</sub> ) سنان مدحت البياتي	-12
158-152	تحضير كاشف مناعي أنزيمي(مقترن) لمضاد البروتين الجنيني ألفا مع الانزيم اكتفاء مزهر عبد الحساوي ولي لوشوان	-13
167-159	دراسة تحليلية لاستجابة الاقطاب الانتقائية في تقدير تراكيز ايون الكلورايد في المواد الصيدلانية جهديا ابتسام عبد الحسين خضير ومروة مؤيد عبد الواحد ومحمد خليل محمد	-14
178-168	دراسة سرعة القطع لبعض مواد البوليمر باستخدام ليزر CO <sub>2</sub> احمد ناجي عبد	-15
186-179	تأثير مساحة المقطع للحزمة الالكترونية على قيم الزيف اللوني والكروي لقاذف الكتروني ندى عبد الفتاح محمد خطاب	-16

192-187	استكشاف الخواص البصرية لآغشية CuO المحضرة بطريقة الترسيب الكيميائي و تأثير تركيز المركب $CuCl_2$ عليها عبد الخالق ايوب سليمان	17-
209-193	دراسة التباين الزماني للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في العراق وليد اسمير جاسم الرجبو وشيماء حسين درويش	18-
220-210	دراسة تأثير سرعة جريان الرياح على المعدلات اليومية للتبخر حازم حمود حسين السليم وحسين خليل عبد الله الشمري	19-
229-221	تصنيف الغيوم فوق مدينة بغداد للأشهر المطيرة لسنة 1988 علي عبد عطية	20-
242-230	الاستخدام الموحد لبيانات الاستشعار عن بعد ونظم المعلومات الجغرافية في مراقبة التغيرات البيئية لاهوار العراق الجنوبية صباح نوري كاظم واسراء قحطان عبد الكريم وحسن حميد كاطع	21-
252-243	حساب فيض الحرارة المحسوسة وتغيرها مع الظروف الغير مستقرة والقريبة من التعادل في مدينة بغداد عقيل غازي مطر واحمد فتاح حسون وعماد خريبط راشد	22-
272-253	دراسة تأثير بعض العناصر الجوية على العواصف الغبارية لمناطق مختارة من العراق عماد خريبط راشد	23-



## تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة مؤيد وثريا عبدالحسين ورغد عبداللطيف

الجامعة المستنصرية-كلية العلوم-قسم علوم الحياة

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/15

### ABSTRACT

The aim of this study was to test the effect of volatile oil extracted from eucalyptus plants leaves on some gram-negative bacteria.

Results of the study have shown that eucalyptus oil extract had high inhibition effect against *K. pneumonia* and *S. marcescens* whereas *P. aeruginosa* bacteria were not inhibited in the volatile oil.

The study revealed that *K. pneumonia* bacteria was more sensitive than others to eucalyptus oil.

Its average MIC was 2900 ppm , MBC 3000 ppm. Then *S. marcescens* with MIC 5600 ppm , MBC 5700 ppm. But *Pseudomonas aeruginosa* bacteria was not Inhibited even with highest concentration of volatile oil with 9500 ppm.

### الخلاصة

اجريت هذه الدراسة على الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس وبيان تأثيره

في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي:

*Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumonia* و *Serratia marcescens*

اثبتت نتائج الدراسة ان لزيت اليوكالبتوس المستخلص ذو فعالية تثبيطية عالية ضد بكتريا *K. pneumonia* وبكتريا *S. marcescens* بينما اثبتت بكتريا *P. aeruginosa* مقاومة عالية تجاه الزيت الطيار. كما لوحظ ان بكتريا *K. pneumonia* كانت اكثر تحسسا وان التركيز المثبط الادنى MIC لها 2900 ppm والتركيز القاتل الادنى MBC هو 3000 ppm. اما بكتريا *S. marcescens* فكان الـ MIC هو 5600 ppm و MBC هو 5700 ppm بينما ظلت بكتريا *P. aeruginosa* ذات مقاومة عالية حتى وبعد استخدام تراكيز مرتفعة وصلت الى 9500 ppm.

### المقدمة

اتجهت انظار العالم في الاونة الاخيرة نحو النباتات الطبية في علاج الكثير من الامراض وحتى المستعصية منها نظرا لما تسببه الادوية المستعملة من اضرار عديدة على صحة الانسان. استعملت الزيوت الطيارة كعقاقير طبية منذ وقت طويل فامتلاكها للخواص المعقمة ادى الى

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد

استخدامها ضد البكتريا والفايروسات والفطريات (1) هذا فضلا عن كونها عوامل مضادة للاكسدة (2) واستخداماتها الواسعة في الدراسات الحديثة في علاج الامراض السرطانية (3) كما اظهرت الاهمية الاقتصادية للزيوت الطيارة لاستخدامها في مجالات عديدة طبية وغير طبية وخاصة في مجال الاغذية وحفظها كونها مثبطة للبكتريا المرضية التي تسبب تلف وفساد الاغذية (4) لذا فهي كانت ومازالت ذات مردود اقتصادي كبير ومهم.

اكّد (5) الى اهمية استخدام الزيوت الطيارة في علاج كثير من امراض الجهاز التنفسي كما في نبات اليوكالبتوس كما اشار (6) الى ان الزيت الطيار لنبات القرفة قد ساعد على خفض مستوى نسبة السكر في الدم لدى مرضى السكري كما واكد (7) الى الفعالية التثبيطية لمركب الاليسين المتواجد في الزيت الطيار لنبات الثوم ضد انواع من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام فضلا عن قابلية زيت الثوم على خفض نسبة الكولسترول في الدم.

كما اوضح (8) الى تأثير المستخلص الزيتي للنعناع واللافندر والقرفة في تثبيط البكتريا المسببة لالتهاب اللوزتين والحنجرة *Streptococcus pyogens* و بكتريا *Streptococcus pneumoniae*.

وقد بين (9) الى ان الزيت الطيار لنبات الاس له فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *Salmonella typhimurium* كما اثبت (10) تأثير الزيت الطيار لنبات *Foeniculum vulgarae* على بعض انواع البكتريا منها *Pseudomonas aeroginosa* وبكتريا *Klebsiella pneumoniae* كما لاحظ (11) ان الزيت المستخلص من نبات اللافندر له فعالية تثبيطية عالية ضد فطر *Aspergillus flavus*.

كما اظهرت الدراسة التي قام بها (12) الى ان الزيت الطيار المستخلص من نبات حشيشة الليمون *C.citratus* له فعالية تثبيطية عالية تجاه البكتريا السالبة *Pseudomonas aeroginosa* والبكتريا الموجبة *Staphylococcus aureus*.

ونظرا لانتشار زراعة اشجار اليوكالبتوس في العراق وبانواع عديدة وسهولة تكاثره ضمن الظروف العراقية ونظرا للاهمية الطبية للزيوت الطيارة ودورها الفعال في تثبيط العديد من الاحياء المجهرية اجريت هذه الدراسة لبيان تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في ثلاثة انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي *Klebsiella pneumoniae* و *erratia marcescens* و *Pseudomonas aerugenosa* وهي ذات مقاومة عالية لعدد كبير من المضادات الحيوية ومسؤولة عن كثير من الالتهابات التي تصيب الجلد والجهاز التنفسي والقناة البولية.

### المواد وطرائق العمل

تم الحصول على العينات النباتية من اشجار اليوكالبتوس *E.camaldulensis* المزروعة في حدائق الجامعة المستنصرية وتم تجفيفها تحت ظروف الجو الاعتيادية مع التقليب المستمر.

استخلص الزيت الطيار بطريقة التقطير المائي water distillation method باستخدام جهاز كلافنجر Clavenger وحسب الطريقة المتبعة من قبل (13) وجمع الزيت الطيار في عبوة معقمة ومعتمة وغلقت جيدا وحفظت في الثلاجة على درجة حرارة (4-6)°م لحين الاستعمال.

تم الحصول على العزلات البكتيرية من قسم علوم الحياة/الجامعة المستنصرية وهي *Serratia marcescens* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumonia*

تم تحضير العالق البكتيري بتركيز مختلفة وتقدير العدد الحي للبكتريا في هذه التراكيز حيث تم تحضير انابيب اختبار حاوية على 9 مل من المحلول الفسلجي Normal Saline نقل اليها 1 مل

من العالق البكتيري *P.aeruginosa* و *K.pneumonia* و *S.marcescens* وتم تحضير التخفيف العشرية

( $10^{-1}$  الى  $10^{-7}$ ) خلية/مل لكل نوع بكتيري وتم قياس العدد الحي للبكتريا في هذه التخفيف ومن ثم انتخاب اعداد الخلايا ( $1 \times 10^4$ ) خلية /مل لكل من بكتريا *S.marcescens* و *P.aeruginosa* واعداد الخلايا ( $1 \times 10^3$ ) خلية/مل لبكتريا *K.pneumonia*.

حضرت الاوساط الزرعية بتركيز مختلفة من الزيت الطيار ppm (9500-1500) وتم اتباع الطريقة الواردة في (10) حيث تم اخذ 20 مايكروليتر من الزيت الطيار ونقل الى 20 مل من الوسط الزرعي للحصول على تركيز 1000 ppm وعلى اساسها تم تحضير باقي التراكيز. وبعد ذلك تم وضع المزيج في دورق صغير سعة 25 مل ورج جيدا ثم صبت في الاطباق وترك ليبرد وحفظ في الثلاجة على

درجة حرارة 4°م. تم تلقح الاوساط الزرعية بالعالق البكتيري وتحديد لكل منها التركيز المثبط الادنى (MIC) والتركيز القاتل الادنى (MBC) حيث تم اخذ 0.1 مل من العوالق البكتيرية وتم نشرها على وسط الاكار المغذي المحضر بتركيز مختلفة ثم وضعت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25°م لمدة 24 ساعة بعد ذلك تم حساب المستعمرات في التراكيز المختلفة من الزيت وتحديد كلا من MIC و MBC لكل نوع بكتيري.

### النتائج والمناقشة

لقد تم في هذه الدراسة اختيار ثلاثة انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي من الانواع الشائعة والمسببة لالتهابات الجروح والحروق والجهاز التنفسي والقناة البولية وهي مقاومة للمضادات



تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد

الحيوية ومن الانواع الخطرة (14) ولقد تم تشخيص العزلات البكتيرية بالطرق المختبرية المعروفة في قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية.

في هذه الدراسة تم استخلاص الزيت الطيار من اوراق نبات اليوكالبتوس بواسطة التقطير المائي وهي من الطرق المعتمدة في استخلاص الزيوت الطيارة دون ان تتأثر مكوناتها الفعالة (13). بينت نتائج الدراسة في الجدول (1) استخدام التراكيز المختلفة للزيت الطيار لنبات اليوكالبتوس ابتداء من تركيز 1500 ppm وصولا الى التركيز 9500 ppm وقد اختلفت الانواع البكتيرية في حساسيتها للزيت الطيار فقد ابدى التركيز 2800 ppm تأثيرا مثبتا لنمو بكتريا *Klebsiella pneumoniae* وبذلك كان التركيز المثبط الأدنى MIC لبكتريا *K.pneumoniae* هو 2800 ppm وكان التركيز القاتل الأدنى MBC لها عند تركيز 3000 ppm والشكل (1) يوضح ذلك.

اما بكتريا *Serratia marcescens* فقد كان التركيز المثبط الأدنى لها هو 5600 ppm والتركيز القاتل MBC الأدنى لها فقد ظهر عند تركيز 5700 ppm والشكل (2) يبين ذلك. وفيما يتعلق ببكتريا *Pseudomonas aeruginosa* فقد ابدت مقاومة عالية ضد كل التراكيز المستخدمة من تركيز 1500 ppm وصولا الى التركيز 9500 ppm وبقيت مقاومة مع التركيز 9500 ppm ولم يتمكن من تثبيط نموها . ويعتقد ان هذه المقاومة لبكتريا *P. aeruginosa* تعود الى طبيعة الجدار الخلوي للبكتريا حيث يتألف الغلاف الخارجي لها من مادة LPS ودهون فوسفاتية وبعض البروتينات التي تعمل كحاجز يمنع هذه البكتريا حماية ضد الزيوت الطيارة التي لاتستطيع النفاذ الى داخلها (15).

تتفق نتائجنا في هذه الدراسة مع ماتوصل اليه (16) فيما يخص نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus globules* والتاثير الفعال لزيته الطيار في البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل *E.coli* و *K.pneumoniae* والبكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus* وذلك بسبب وجود المركبين الفينولينيين *thymol* & *carvacrol* في زيوتهما الطيارة.

كما جاءت هذه النتائج مطابقة لما توصل اليه (17) حول التاثير الفاعل لزيت اليوكالبتوس على الانواع المقاومة من البكتريا السالبة مثل *E.coli* و *Proteus* و *K.pneumoniae* واتفقت نتائجنا مع ما قام به (18) فيما يخص المستخلص الكحولي لنبات اليوكالبتوس وتأثيره على انواع من البكتريا السالبة مثل بكتريا *Salmonella sp* و *Shigella sp* و *E.coli* و *Klebsiella sp*

كما اشار (19) في دارسته الى ان الزيوت الطيارة لنبات النعناع والزعر والدارسين والكافور والهيل والقرنفل وغيرها ابدت كفاءة تثبيطية عالية تجاه عدد كبير من انواع البكتريا المدروسة ومنها بكتريا *K.pneumonia* وبكتريا *S.marcescens* وهذا يتفق مع ماتوصلنا اليه في دراستنا.

اما الجدول (2) فقد اشار الى اعداد الخلايا الحية البكتيرية (CFU) قبل التثبيط وبعده فلاحظ ان اعداد الخلايا البكتيرية قبل المعاملة بالزيت للعزلة البكتيرية من نوع *K.pneumonia* كان  $(1 \times 10^3)$  خلية/مل اما عدد الخلايا البكتيرية بعد المعاملة بالزيت فكان 8 خلية/مل عند تركيز ppm 2900 كما هو موضح في الشكل (1).

اما فيما يخص العزلة البكتيرية نوع *S. marcescens* فقد كان عدد الخلايا البكتيرية (CFU) قبل المعاملة بالزيت  $(1 \times 10^4)$  خلية/مل واصبح بعد المعاملة بالزيت (11) خلية/مل عند تركيز ppm 5600 والشكل (2) يوضح ذلك.

وظلت بكتريا *P.aeruginosa* محافظة على اعداد الخلايا دون اي تثبيط او قتل لخلاياها حتى مع استخدام اعلى التراكيز وهو ppm 9500 كما اشرنا الى ذلك سابقا والشكل (3) يوضح ذلك.

وان هذه النتائج تتفق مع ما اكد عليه (8) في دارسته التي تناولت تأثير زيت اليوكالبتوس مع مجموعة من الزيوت الطيارة التي استخدمت في التأثير على بعض الانواع البكتيرية السالبة ومنها بكتريا *Haemophilus influenzae* وبكتريا *E.coli*.

كما ان النتائج التي توصلنا اليها لم تتفق مع كل من (20 - 21) فيما توصلنا اليه من ان بكتريا *P.aeruginosa* كانت من اكثر الانواع تأثيرا بالزيت الطيار المستخلص من بذور نبات حبة الحلوة كما لم تتفق نتائجنا مع ماتوصل اليه (18) من ان زيت اليوكالبتوس تمكن من تثبيط النوع المقاوم *P.aeruginosa* وهذا مالم نتمكن من الحصول عليه في دراستنا حتى بالوصول الى تركيز ppm 9500 اما الجدول (3) فقد اشار الى متوسط قيم MIC و MBC.

ان فعالية الزيت الطيار لنبات اليوكالبتوس يمكن ارجاعها الى مركب Eucalyptol (cineole) وهو المركب الاساسي الذي يحويه الزيت الطيار وهو مركب تربيني مسؤول عن اعطاء النبات خواص قاتلة للحياة المجهرية بالاضافة الى مركبات اخرى عديدة (22).

وهذا يفسر الاستخدامات الواسعة لزيت اليوكالبتوس في الادوية المستخدمة لعلاج السعال وحالات البرد والانفلونزا و الالتهابات الجلدية والتهابات الجهاز التنفسي ويؤكد على خواصه المضادة للحياة المجهرية.



هالة وثرثا ورغد

جدول- 1: تأثير تراكيز مختلفة من زيت اليوكالبتوس في فحص البكتريا (ppm)

تركيز الزيت																					البكتريا	
9500	9000	8000	7500	7000	6500	6000	5700	5600	5500	5000	4500	4000	3500	3000	2900	2800	2700	2600	2500	2000		1500
														-	±	+	+	+	+	+	+	Klebsiella pneumonia
							-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Serratia marcescens
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Pseudomonas aeruginosa

(+) نمو ، (±) تثبيط ، (-) التركيز القاتل

جدول - 2: اعداد الخلايا الحية البكتيرية (CFU) قبل التثبيط وبعده

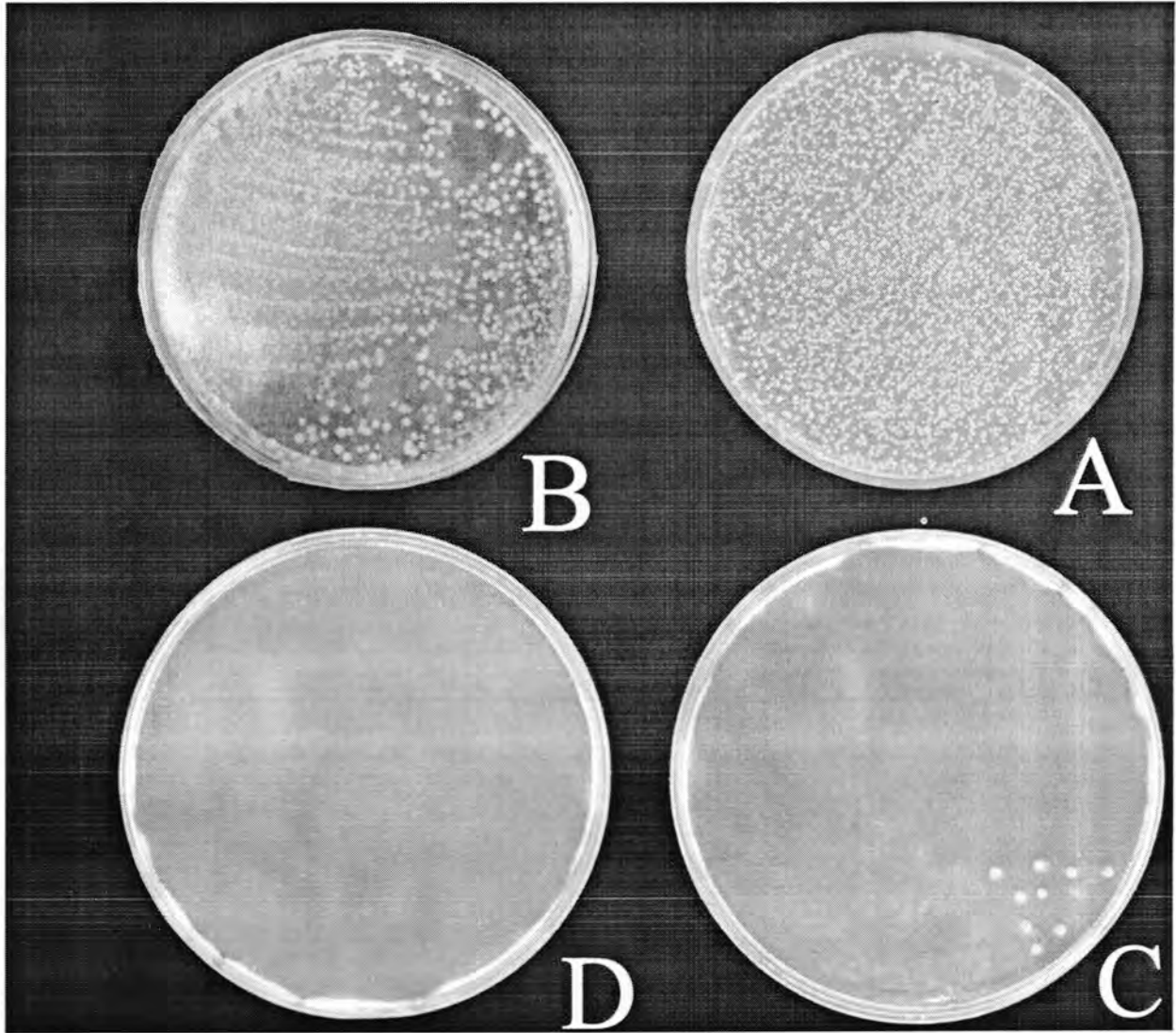
نوع العزلة البكتيرية	عدد الخلايا البكتيرية (CFU) قبل المعاملة بالزيت	عدد الخلايا البكتيرية (CFU) بعد المعاملة بالزيت
<i>K.pneumonia</i>	$1 \times 10^3$ خلية/مل	9 خلية/مل عند تركيز 2900 ppm
<i>S.marcescens</i>	$1 \times 10^4$ خلية/مل	11 خلية/مل عند تركيز 5600 ppm
<i>P.aeruginosa</i>	$1 \times 10^4$ خلية/مل	بقيت مقاومة الى تركيز 9500 ppm

جدول - 3: تأثير متوسط قيم MIC و MBC على العزلات البكتيرية

عزلات البكتريا	متوسط قيم MIC ppm	متوسط قيم MBC ppm
<i>K.pneumonia</i>	2900	3000
<i>S.marcescens</i>	5600	5700
<i>P.aeruginosa</i>	بقيت مقاومة الى تركيز 9500	بقيت مقاومة الى تركيز 9500

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد



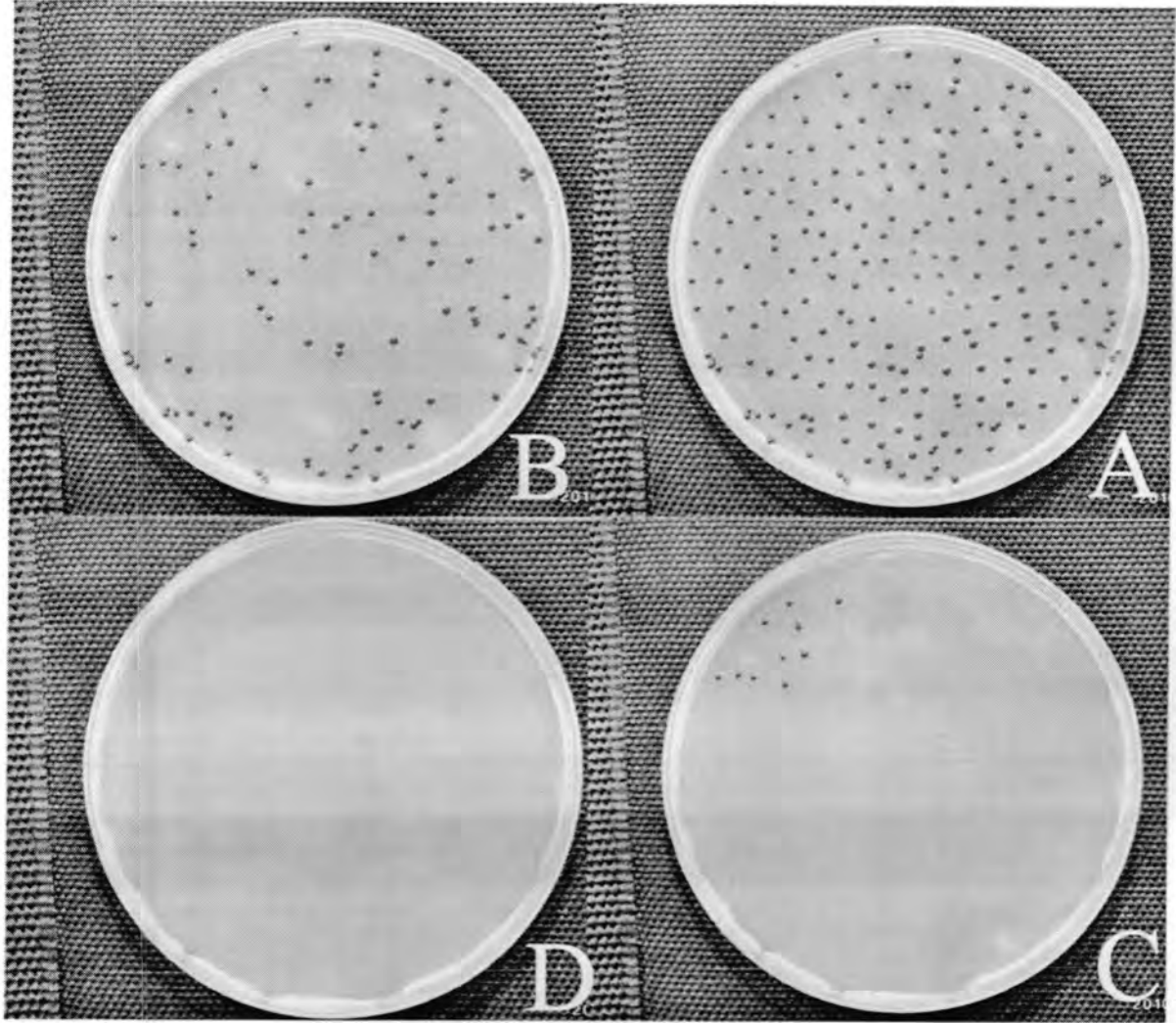
شكل -1 : تأثير تراكيز مختلفة من الزيت الطيار على نمو بكتريا *Klebsiella pneumonia*

-B تركيز 2800 ppm

-A قبل إضافة الزيت

-C تركيز 3000 ppm

-B تركيز 2900 ppm



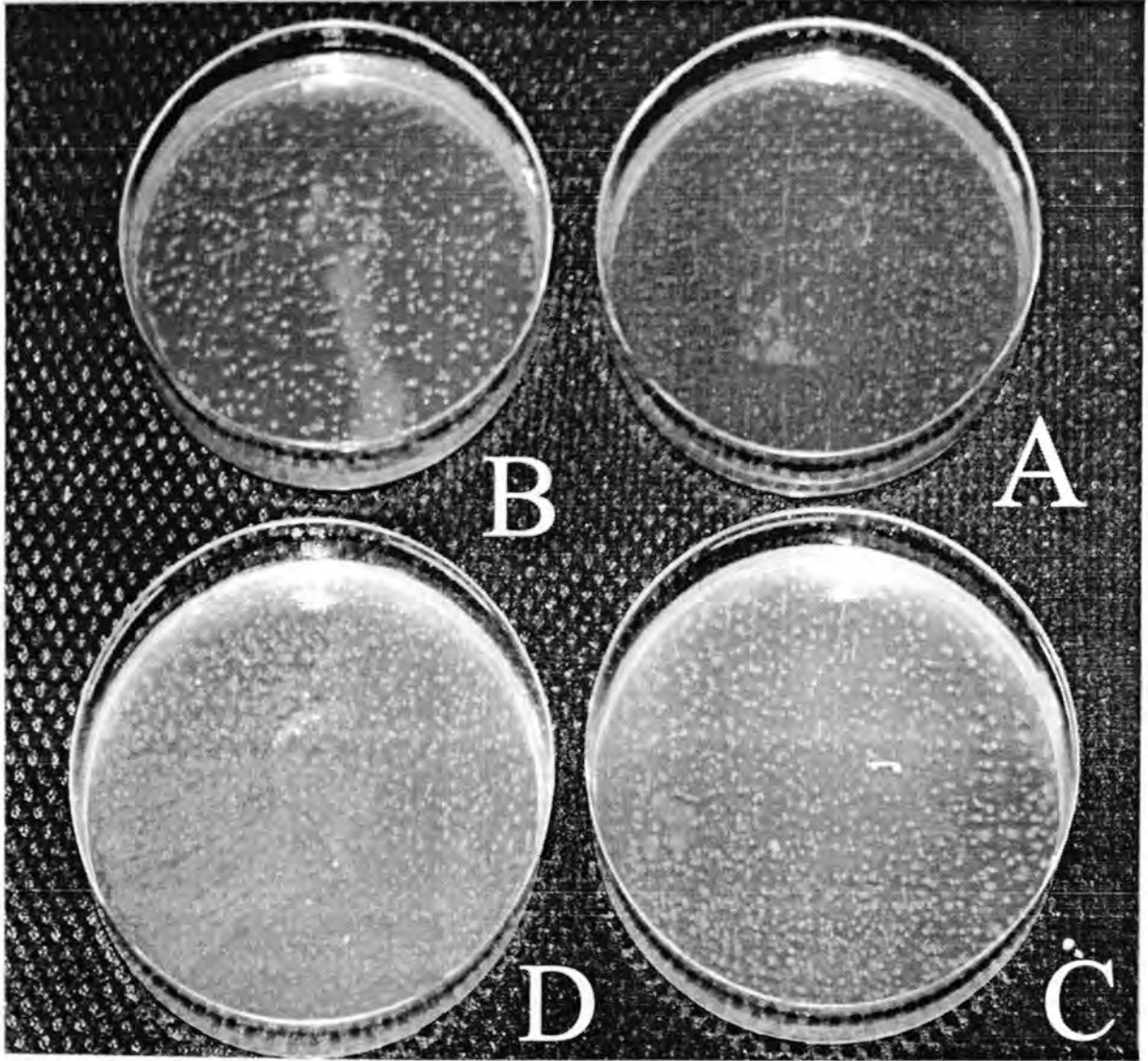
شكل 2- : تأثير تراكيز مختلفة من الزيت الطيار على نمو بكتريا *Serratia marcescens*

A- قبل إضافة الزيت      B- تركيز 5500 ppm

C- تركيز 5600 ppm      D- تركيز 5700 ppm

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد



شكل -3 : تأثير تراكيز مختلفة من الزيت الطيار على نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

A- قبل إضافة الزيت B- تركيز 1500 ppm

C- تركيز 2000 ppm D- تركيز 9500 ppm

#### المصادر

1. Burt,S. "Antibacterial properties and potential applications in Foods-a review". international J. of Food Microbiol (94):223-253 (2004).



2. Kordali ,S. , Kotan,R. , Mavi,A. , Cakir,A. , Ala,A. ,and Yildiri M,A. "Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of Tarkish *Artemisia absinthium* , *A.drancunculus* , *Artemisia santonicum* and *Artemisia spicigera* essential oils" J. of Agri cultural and Food chem (53) , (94) : 52-58 (2005).
3. Sylvestre,M. , Pichette,A. , Longtin,A. , Nagau,F. ,and Legault,d. "Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. From Guade loupe". J. of Ethnopharmacol. (103) : 99-102 (2006).
4. Zhao ,J. , and Agboola,S. "Functional properties of Australian Bush Foods". A-report for the rural Industries Research and Development corporation. RI RDC publication. No. 07/030 (2007).
5. Salari,M.H. , Amine,G. , Shirazi,M.H. , Hafezi,R. and Mohammady paer ,M. "Antibacterial effects of *Eucalyptus globules* leaf extract on pathogenic bacteria isolated From specimens of patients with respiratory tract disorders" J. Clinmicrobial infect 12(2): 194-196 (2006).
6. Kim,SH. , Hyun,SH. , and Choung ,SY. "Anti-diabtict effect of *Cinnamon* extracton blood glucose in db/db Mice". J. Ethnopharmacol. No. (104) :119-123 (2006).
7. Ellen Tatielman , M.D. and Albert ,E. "Health effects of Garlic" J. of the American academy of family physicians. 72 : 103-106 (2005).
8. Shigeharu,A.E. , Inouye,A.T. , Takizawab,D.A. and Hideyo,Y.G. "Anti bacterial activity of essential oil and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact". J. of Antimicrobial chemotherapy. 47 , Issue (5). (2001).
9. Gandaze,G.T. , Gonul,S.A. , and Karapinar,M. "Efficecy of *Myrtle* oil against *Salmonella typhimurium* on Fresh produce". Int.Journal. Food Microbiol 130 : 147-150 (2009).
10. الخفاجي ، منال عبداللطيف حسن. تأثير السماد النتروجيني والفوسفاتي في نمو بعض نباتات الجبة الحلوة *Foeniculum vulgare*. وحاصل الزيت الطيار ونوعيته وتأثيره في بعض المجهريات الممرضة. رسالة ماجستير ،كلية العلوم للبنات جامعة بغداد. (2002).
11. Cavanagh,H.M. and Wilkinson,J.M. "Biological activities of *lavender* essentialoil". J. of phytotherapy Research. No. (16): 301-308 (2002).
12. القيسي ،صفاء الدين احمد شنتر. تأثير عصير اللهانة والزيت الطيار لحشيشة الليمون في نمو بعض الاحياء المجهرية وفعاليتها والمعزولة من حالات مرضية. رسالة ماجستير .كلية التربية/ابن الهيثم/جامعة بغداد. (2003).

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد

13. European pharmacopoeia Fourthed. , Council of Europe , Strasbourg cedex , p: 202 (2002).
14. Todar,K. Bacteriology university of Wisconsin Madison (303). P.P. [http: //WWW.bact.wisc.edu/Bac](http://WWW.bact.wisc.edu/Bac).
15. Mann,C.M. , Cox, S.D.& Markham,T.L. "The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC6749 contributed to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)". Lett.Appl.microbiol. ,30:294-297. (2000).
16. Takahashi,T. , KOKubo,R. , Sakaino,M. "Anti Microbial activities of Eucalypts leaf extracts and Flavonoids From *Eucalyptus maculata*". Letter in Applied microbiology (39) : 60-64.(2004)
17. Trivedi ,N.A. and Hotchandani ,S.C. "A study of antimicrobial activity of oil of *Eucalyptus*". Indian Journal of pharmacology volume:36 Issue:2 page:93-94. (2004).
18. Sule,I.O. and Agbabiaka ,T.O. "Antibacterial Effect of some plant Extracts on selected Enterobacteriaceae". Department of microbiology ,university of Ilorin ,P.M.B.1525 ,Ilorin ,Nigeria corresponding E-mail. Is Email [ao.lawales@yahoo.co.uk](mailto:ao.lawales@yahoo.co.uk). Issued(17) November (2008).
19. El-Kady,I.A. , El-maraphy,S.S.M. & Mohamed,E.M. "Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices" Qat.univ.sci;13(1):63-69. (1993).
20. الزنري ، شيلان خيرالله جبار. تأثير بعض المستخلصات النباتية في الجهاز المناعي للفئران البيض Albino-mice اطروحة ماجستير كلية العلوم للبنات-جامعة بغداد. (2006).
21. Roberto,G. , Baratta,M.T. , beans,S.G. and Porman,H.J. "Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. Planat-med.66(8):687-693- (2000).
22. جاسم ، عبدالقادر محمد نوري. دراسة بعض مكونات اوراق نبات اليوكالبتوس وتأثير مستخلصاتها في نمو بعض الاحياء الدقيقة. قسم الكيمياء- كلية العلوم-الجامعة المستنصرية-بغداد-العراق المجلد 16 ، العدد (2) : 62-70 (2005).

تأثير الاندول بيوترك أسد (IBA) في تجذير تركيبين وراثيين من قصب السكر *Saccharum officinarum L* خارج الجسم الحي

<sup>1</sup>محمد احمد كريم و<sup>1</sup>زينب عبد الجبار حسين الحسيني و<sup>2</sup>علي عبد الأمير مهدي الصالحي

<sup>1</sup>صفاء عبد الرحيم

<sup>1</sup>وزارة العلوم والتكنولوجيا/دائرة البحوث الزراعية، ص.ب. 765 بغداد-العراق.

<sup>2</sup>معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية، جامعة بغداد

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/10

### ABSTRACT

Shoots of two sugarcane genotypes ( Co.J.64, Co.J.86) were rooted *in vitro* on MS medium supplemented with different concentration of IBA (0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mg/l). All cultures were incubated at  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  with 16 h/d light (1000 lux) for 60 days. Data of Rooting percentage and roots per plant, length, dry and fresh weights and shoots per plant, length, dry and fresh weights for vegetative growth were taken after 8 weeks.

Results showed that IBA concentrations were significantly effected in rooting percentage and rooting & vegetative growth. 0.1 mg/L Concentrate showed rooting percentage (65%) and highest mean in roots, fresh weight reached 2.15 root/ plant, 3.68 mg Respectively, While control treatments gave highest mean in length , and dry weight ( 1.25cm , 0.80 mg )Respectively. Based on vegetative growth, 0.3 mg/L showed highest mean in shoot, length, fresh and dry weight reached 13.40 shoot/plant ,3.23cm,755.30 mg, 87.00 mg Respectively. The genotype Co.J.64 was proved to be the best in length of roots, number of shoots and fresh, dry weight of shoots reached 0.98cm, 12.18 shoot/ plant, 612.32 mg and 72.35 mg Respectively., while no significant effects between Genotype in other characters .

### الخلاصة

زرعت نباتات تركيبين وراثيين من قصب السكر (Co.J.86 و Co.J.64) المكثرة بتقنية زراعة الانسجة في الوسط الغذائي MS المضاف إليه تراكيز مختلفة من الاندول بيوترك أسد (0.0، 0.1، 0.2، 0.3، 0.4 ملغم/لتر) لاختبارها في صفات النمو الخضري والجذري. حضنت الزروع تحت درجة حرارة  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  وإضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة/يوم. اخذت البيانات عن النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور وأطوالها والوزن الطري والجاف وعدد الأفرع وأطوالها والوزن الطري والجاف بعد 8 اسابيع من الزراعة.

محمد وزينب وعلي وصفاء

أظهرت النتائج أن تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA قد أثرت معنوياً في النسبة المئوية للتجذير وفي صفات النمو الجذري والخضري، حيث أعطى التركيز 0.1 ملغم /لتر نسبة تجذير 65% والذي لم يختلف معنوياً عن معاملة المقارنة وأعطى أعلى متوسط عدد جذور ووزن رطب بلغت 2.15 جذر/نبية و 3.68 ملغم على التوالي في حين أعطت معاملة المقارنة أعلى متوسط طول ووزن جاف بلغت 1.25 سم و 0.80 ملغم على التوالي والذي لم يختلف معنوياً عن تركيز 0.1 ملغم/لتر IBA. أما التأثير في صفات النمو الخضري فقد أعطى التركيز 0.3 أعلى متوسط في عدد الأفرع وأطوالها والوزن الرطب والجاف بلغت 13.40 فرع/نبية، 3.23 سم، 755.3 ملغم و 87.00 ملغم على التوالي. تفوق التركيب الوراثي Co.J.64 في صفة طول الجذور وعدد الأفرع ووزنها الرطب والجاف حيث بلغت 0.98 سم، 12.18 فرع/نبية، 612.32 ملغم و 72.35 ملغم على التوالي في حين لم يختلفا التركيبين الوراثيين في باقي الصفات المدروسة.

### المقدمة

يعد محصول قصب السكر *Saccharum officinarum L.* Sugarcane من المحاصيل الصناعية المهمة في العالم والذي يتميز بنموه الغزير وإنتاجه الوفير، وتعد مرحلة التجذير من المراحل المهمة والاساسية في الاكثار الخضري باستخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية حيث تفتقر أفرع قصب السكر الناتجة من مرحلة التضاعف الخضري الى الجذور ولأجل الحصول على نباتات كاملة يجب حثها على التجذير بنقلها الى اوساط غذائية حاوية على منظمات نمو خاصة بتكوين الجذور [1]. تلعب الأوكسينات المضافة الى الوسط الغذائي دوراً رئيسياً في نشوء وتطور الجذور [2] حيث درس العديد من الباحثين العوامل المؤثرة في تجذير الزروع المكثرة خارج الجسم الحي، اذ وجد ان قابلية التجذير تعتمد على نوع وتركيز الأوكسينات المضافة الى الوسط الغذائي [3 و 4] وقد أشارت الطرقي [5] في دراستها على محصول قصب السكر الى امكانية تجذير الأفرع الخضرية الناتجة من مرحلة التضاعف باستخدام نوعين من الاوكسينات IBA و NAA مع زيادة تركيز السكر الى 70 غم /لتر، اما Bajaz [6] فقد درس الاكثار الخضري واستحداث التغيرات الوراثية في محصول قصب السكر متطرقاً الى استخدام الأوكسينات في تجذير افرع قصب السكر. واعتمد الشمري [7] في تجذير افرع قصب السكر الناتجة من مرحلة الاخلاف الى ماتوصلت اليه الطرقي. أما Sabaz و Rashed [8] فقد وجدوا ان الوسط الغذائي MS بنصف القوة والمضاف اليه 1 ملغم / لتر IBA أعطى أعلى معدل لعدد الجذور وبلغ 41 جذر وطول 1.55 سم للصنف CP-77-400 وبلغ اقل معدل 10.5 جذر وطول 1.3 سم للصنف CPF-237 بعد 20 يوم من الزراعة في حين استخدم كل من Hussain و Kaiser [9] الوسط الغذائي MS بنصف قوة املاحه في تجذير ستة تراكيب وراثية من

قصب السكر حيث وجد ان التركيب الوراثي SPF213 اعطى اعلى معدل طول جذر وبلغ 3.20 سم في حين اعطى التركيب الوراثي CP77/400 طول جذر بلغ 0.43 سم بعد 30 يوم. كما وجد Kenia et al [10] ان الوسط الغذائي PM المتكون من املاح MS المضاف اليه 1mg/l Nicotinic acid , 1 mg/l Thiamine , 0.5 mg/l Pyridoxine , 100 mg/l Myo- inositol , 20 g/l Sucrose , 7 g/l Phytoaga. الافضل في تكوين الجذور للصنفين C105-73 و C86-12 بعد اسبوعين من الزراعة ووجد Patrick [11] ان 50 % من سيقان اصناف قصب السكر CO997 و Gadmus و Q77N/232 و Local (Lael) جذرت في الوسط الغذائي MS الخالي من الساييتو كائنين والاكسين. اما الحسيني [12] فوجدت ان إضافة IBA بتركيز 14.5 مايكرو مول إلى الوسط الغذائي MS بنصف القوة أعطت نسبة تجذير بلغت 100% لكل من الأصلين الكمثرى الأوربية والسفرجل مقارنة بـ 80% لأصل الكمثرى الأوربية وصفر للسفرجل في معاملة المقارنة.

ان هدف هذا البحث هو دراسة تأثير مستويات مختلفة من الاندول بيوتريك وتحديد أفضل المستويات المناسبة في تجذير سلاميات قصب السكر وذلك لإفتقار النباتات الناتجة من مرحلة التضاعف الخضري للجذور التي تعد اساسية جدا لادخال النباتات لاحقا في عمليات الأقامة والنقل إلى الحقل .

### المواد وطرائق العمل

استخدم تركيبين وراثيين من قصب السكر هما Co.J.64 و Co.J.86 تم تنشئتهما عن طريق زراعة القمم النامية الحاوية على المرسيم القمي بطول (0.5-0.7) سم بعد تعقيمها بالكحول الأيثلي 70% مدة خمس دقائق في الوسط الغذائي MS [13] لإنشاء وتضاعف الزروع كما مبين في الجدول (1).



تأثير الاندول بيوترك أسد (IBA) في تجذير تركيبين وراثيين من قصب السكر *Sacchrum officinarum L* خارج الجسم الحي

محمد وزينب وعلي وصفاء

جدول 1- : مكونات الوسط الغذائي المستخدم في إنشاء وتضاعف الزروعات للتركيبين الوراثيين Co.J.86 و Co.J.64 لقصب السكر

المادة	كميتها (ملغم/لتر)		
	وسط إنشاء الزروعات	وسط التضاعف	وسط التجذير
MS	قوة كاملة	قوة كاملة	قوة كاملة
Thiamine-HCl	0.4	0.4	0.4
Inositol	100	100	100
GA3	0.5	-	-
Kinetin	0.5	0.5	-
IAA	0.5	-	-
BA	-	0.5	-
IBA	-	-	0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4
Agar	8000	-	-

حضنت الزروعات مدة 4 اسابيع في وسط انشاء الزروعات و 8 اسابيع في وسط التضاعف تحت شدة اضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة/يوم بدرجة حرارة  $25 \pm 2$  °م.

اختيرت النموات المتجانسة ذات النمو الخضري الجيد وزرعت على وسط التجذير المتكون من وسط التضاعف الخضري نفسه مع استبدال Kinetin و BA بتركيزات مختلفة من الاندول بيوترك أسد IBA (0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ملغم/لتر). حضنت الزروعات تحت نفس الظروف السابقة. استخدمت 10 مكررات لكل تركيز ولكل تركيب وراثي واخذت القياسات عن النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور وأطوالها والوزن الطري والجاف وعدد الأفرع وأطوالها والوزن الرطب والجاف بعد 8 اسابيع من الزراعة. نفذت التجارب باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) بتجربة عاملية وب عشرة مكررات وحللت النتائج احصائياً حسب اختبار L.S.D وعند مستوى الاحتمال (0.05) [14] .

## النتائج والمناقشة

### النسبة المئوية للتجذير

أظهرت النتائج في الجدول (2) أن تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA أثرت معنوياً في متوسط النسبة المئوية للتجذير لتعطي نسبة تجذير 65% عند التركيز 0.1 ملغم/لتر الذي لم يختلف معنوياً عن معاملة المقارنة ، أما أقل متوسط نسبة تجذير بلغت 35% عند التركيزين 0.3 و 0.4 ملغم/لتر على التوالي . تفوق التركيب الوراثي Co.J.64 بإعطاء متوسط نسبة تجذير بلغت 64% في حين أعطى التركيب الوراثي Co.J.86 نسبة تجذير بلغت 36% .

جدول 2- : تأثير تراكيز IBA على النسبة المئوية لتجذير التراكيب الوراثية لقصب السكر .

تراكيز IBA ملغم/لتر	نسبة التجذير %		المتوسط
	Co.J.86	Co.J.64	
0.0	60	90	75
0.1	50	80	65
0.2	30	50	40
0.3	20	50	35
0.4	20	50	35
المتوسط	36	64	

أ.ف.م 5% للتراكيب الوراثية = 19 التراكيز = 30 التداخل = n.s

### تأثير IBA في صفات النمو الجذري

#### التأثير في عدد الجذور وأطوالها

أظهرت النتائج في الجدول (3) أن التراكيب الوراثية لم تختلف معنوياً في متوسط صفة عدد الجذور وأثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنوياً في صفة عدد الجذور حيث بلغ أعلى متوسط عدد الجذور 2.15 جذر/نبية عند التركيز 0.1 ملغم/لتر IBA ومعاملة المقارنة على التوالي اللذين اختلفا معنوياً عن التركيزين 0.2 و 0.4 ملغم/لتر IBA ولم يختلفا عن التركيز 0.3 ملغم/لتر ، وبلغ أقل متوسط عدد جذور 0.75 جذر/نبية عند التركيز 0.2 ملغم/لتر IBA ، أما التداخلات بين تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA والتراكيب الوراثية لم تؤثر معنوياً في هذه الصفة.

أما صفة طول الجذور فقد أثرت التراكيب الوراثية معنوياً في متوسط صفة طول الجذور حيث تفوق التركيب الوراثي Co.J.64 معنوياً وأعطى متوسط طول بلغ 0.98 سم في حين أعطى التركيب الوراثي Co.J.86 متوسط طول جذر بلغ 0.57 سم وأثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنوياً في صفة طول الجذور حيث أعطى التركيز 0.1 ملغم/لتر IBA ومعاملة المقارنة متوسط طول بلغ 1.10

تأثير الاندول بيوتريك أسد (IBA) في تجذير تركيبين وراثيين من قصب السكر *Sacchrum officinarum L* خارج الجسم الحي

محمد وزينب وعلي وصفاء

و 1.25 سم على التوالي واللذين اختلفا معنويا عن باقي التراكيز أما اقل متوسط طول بلغ 0.45 سم عند التركيز 0.4 ملغم/لتر. لم تؤثر التداخلات بين تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA والتراكيب الوراثية معنويا في صفة طول الجذور.

جدول 3- تأثير IBA والتراكيب الوراثية لقصب السكر في متوسط عدد الجذور وأطوالها

المتوسط	التراكيب الوراثية		المتوسط	التراكيب الوراثية		تراكيز IBA ملغم/لتر
	طول الجذر (سم/نبية)	Co.J.86		Co.J.64	عدد الجذور (جذر/نبية)	
1.25	1.20	1.30	2.15	1.6	2.7	0.0
1.10	0.70	1.50	2.15	1.7	2.6	0.1
0.55	0.35	0.75	0.75	0.9	0.6	0.2
0.53	0.35	0.70	1.00	0.8	1.2	0.3
0.45	0.25	0.65	0.85	0.6	1.1	0.4
	0.57	0.98		1.12	1.64	المتوسط

أ.ف.م 5% للتراكيب الوراثية = n.s التراكيز = 1.15 التداخل = n.s  
0.33 التراكيز = 0.53 التداخل = n.s

#### التأثير في الوزن الطري والجاف للجذور :

تشير نتائج الجدول (4) أن التراكيب الوراثية لم تختلف معنويا في متوسط صفة الوزن الطري للجذور وأثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنويا في صفة الوزن الطري حيث بلغ أعلى متوسط وزن طري 3.68 ملغم عند التركيز 0.1 ملغم/لتر IBA الذي لم يختلف معنويا عن معاملة المقارنة إذ بلغت 3.59 ملغم اللذين اختلفا معنويا عن باقي التراكيز، وبلغ اقل متوسط وزن طري 0.75 ملغم عند التركيز 0.4 ملغم/لتر IBA ، أما التداخلات بين تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA والتراكيب الوراثية لم تؤثر معنويا في هذه الصفة.

أما صفة الوزن الجاف فلم تؤثر التراكيب الوراثية معنويا في متوسط الوزن الجاف للجذور في حين أثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنويا في الوزن الجاف حيث أعطى التركيز 0.1 ملغم/لتر IBA ومعاملة المقارنة متوسط وزن جاف بلغ 0.67 و 0.80 ملغم اللذين اختلفا معنويا عن باقي التراكيز أما اقل متوسط وزن جاف بلغ 0.13 ملغم عند التركيزين 0.2 و 0.4 ملغم/لتر IBA. لم تؤثر التداخلات بين تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA والتراكيب الوراثية معنويا في الوزن الجاف للجذور.

جدول 4- : تأثير IBA للتراكيب الوراثية لقصب السكر في متوسط الوزن الطري والجاف

المتوسط	التراكيب الوراثية الوزن الجاف للجذور (ملغم/نبية)		المتوسط	التراكيب الوراثية الوزن الطري للجذور (ملغم/نبية)		تراكيز IBA ملغم/لتر
	Co.J.86	Co.J.64		Co.J.86	Co.J.64	
0.80	0.78	0.82	3.59	2.90	4.27	0.0
0.67	0.50	0.84	3.68	3.50	3.85	0.1
0.13	0.14	0.12	1.15	1.35	0.95	0.2
0.27	0.24	0.29	0.89	0.75	1.04	0.3
0.13	0.07	0.19	0.75	0.45	1.05	0.4
	0.35	0.45		1.79	2.23	المتوسط

أ.ف.م 5% للتراكيب الوراثية = n.s التراكيز = 2.06 التداخل = n.s

التراكيب الوراثية = n.s التراكيز = 0.45 التداخل = n.s

#### تأثير IBA في صفات النمو الخضري

##### التأثير في عدد النباتات وأطوالها

أظهرت النتائج في الجدول (5) أن التراكيب الوراثية أثرت معنوياً في متوسط صفة عدد النباتات حيث تفوق التركيب الوراثي Co.J.86 وأعطى متوسطاً بلغ 12.18 فرع/نبية في حين أعطى التركيب الوراثي Co.J.64 متوسطاً بلغ 10.38 فرع/نبية. أثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنوياً في صفة عدد الأفرع حيث بلغ أعلى متوسط عدد الجذور 13.40 فرع/نبية عند التركيز 0.3 ملغم/لتر IBA الذي لم يختلف معنوياً عن التركيزين 0.2 و 0.4 ملغم/لتر IBA واختلف عن التركيز 0.1 ملغم/لتر ومعاملة المقارنة ، وبلغ أقل متوسط عدد افرع 8.15 فرع/نبية عند معاملة المقارنة ، أما التداخلات بين تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA والتراكيب الوراثية لم تؤثر معنوياً في هذه الصفة.

أما صفة طول الأفرع فلم تؤثر التراكيب الوراثية معنوياً في متوسط طول الأفرع . أثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنوياً في طول الأفرع حيث أعطى التركيز 0.3 ملغم/لتر IBA متوسط طول بلغ 3.23 سم الذي لم يختلف معنوياً عن التركيز 0.1 ملغم/لتر ومعاملة المقارنة أما أقل متوسط طول بلغ 2.58 سم عند التركيز 0.2 ملغم/لتر. إما التداخلات بين تراكيز IBA والتراكيب الوراثية فقد أثرت معنوياً في متوسط هذه الصفة حيث أعطى التركيب الوراثي Co.J.64 المزروع في الوسط الغذائي الحاوي على 0.1 ملغم /لتر IBA أعلى متوسط بلغ 3.50 سم والذي لم يختلف معنوياً عن التركيب الوراثي Co.J.64 المزروع في الأوساط الغذائية الحاوية على 0.3 ملغم /لتر و 0.4 ملغم /لتر ووسط المقارنة وتفوق التركيب الوراثي Co.J.86 المزروع في الوسط الغذائي 0.3 ملغم/لتر ووسط المقارنة

تأثير الاندول بيوتريك أسد (IBA) في تجذير تركيبين وراثيين من قصب السكر *Saccharum officinarum* L خارج الجسم الحي

محمد وزينب وعلي وصفاء

وبشكل معنوي عن باقي التداخلات إما اقل متوسط طول فرع بلغ 2.60 سم للتركيب الوراثي Co.J.86 المزروع في الوسط الحاوي على 0.4 ملغم/لتر IBA .

جدول 5- : تأثير تراكيز IBA والتركيب الوراثية لقصب السكر في متوسط عدد الأفرع وأطولها

المتوسط	التركيب الوراثية		المتوسط	التركيب الوراثية		تراكيز IBA ملغم/لتر
	طول الأفرع (سم/نبية)	Co.J.86		عدد الأفرع (فرع/نبية)	Co.J.64	
3.20	3.10	3.30	8.15	9.00	7.30	0.0
3.15	2.80	3.50	9.55	10.40	8.70	0.1
2.58	2.90	2.25	12.25	12.40	12.10	0.2
3.23	3.30	3.15	13.40	15.10	11.70	0.3
2.75	2.60	2.90	13.05	14.00	12.10	0.4
	2.94	3.02		12.18	10.38	المتوسط

أ.ف.م 5% للتركيب الوراثية = 1.66 التراكيز = 2.62 التداخل = n.s التراكيب الوراثية = n.s  
التركيز = 0.42 التداخل = 0.59

تأثير IBA في الوزن الطري والجاف للنمو الخضري

أظهرت النتائج في الجدول (6) أن التركيب الوراثية أثرت معنويا في متوسط صفة الوزن الطري للأفرع حيث تفوق التركيب الوراثي Co.J.86 معنويا وأعطى متوسطا بلغ 612.32 ملغم في حين أعطى التركيب الوراثي Co.J.64 متوسطا بلغ 465.4 ملغم. أثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنويا في صفة الوزن الطري للأفرع حيث بلغ أعلى متوسط وزن 755.30 ملغم عند التركيز 0.3 ملغم/بتر IBA الذي اختلف معنويا عن باقي التراكيز، وبلغ اقل متوسط وزن طري 415.80 ملغم عند معاملة المقارنة، أما التداخلات بين تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA والتركيب الوراثية لم تؤثر معنويا في هذه الصفة.

وأثرت التركيب الوراثية معنويا في متوسط الوزن الجاف للأفرع حيث تفوق التركيب الوراثي Co.J.86 وبشكل معنوي وأعطى متوسطا بلغ 72.35 ملغم في حين أعطى التركيب الوراثي Co.J.64 متوسطا بلغ 59.04 ملغم. أثرت تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA معنويا في الوزن الجاف للأفرع حيث بلغ أعلى متوسط وزن 87.00 ملغم عند التركيز 0.3 ملغم/بتر IBA الذي لم يختلف معنويا عن التركيز 0.2 ملغم/لتر واختلف عن باقي التراكيز معنويا، وبلغ اقل متوسط وزن طري 54.93 ملغم عند معاملة المقارنة، أما التداخلات بين تراكيز الاندول بيوتريك أسد IBA والتركيب الوراثية لم تؤثر معنويا في هذه الصفة.



جدول 6- : تأثير تراكيز IBA والتراكيب الوراثية لقصب السكر في متوسط الوزن الطري والجاف للنمو الخضري

تراكيز IBA ملغم/لتر	التراكيب الوراثية		المتوسط	الوزن الطري (ملغم/ نبيتة)		المتوسط
	Co.J.86	Co.J.64		Co.J.86	Co.J.64	
0.0	346.50	485.10	415.80	63.25	46.60	54.93
0.1	376.80	552.60	464.70	73.30	52.10	62.70
0.2	487.50	662.80	575.15	78.50	57.10	67.80
0.3	703.00	807.60	755.30	86.60	87.40	87.00
0.4	413.20	553.2	483.35	60.10	52.00	56.05
المتوسط	465.40	612.32		72.35	59.04	

أ.ف.م 5% للتراكيب الوراثية = 84.86 التراكيز = 134.17 التداخل n.s= التراكيب الوراثية = 11.12  
التراكيز = 17.59 التداخل n.s=

يتضح من النتائج وجود اختلافات معنوية بين التراكيب الوراثية في الصفات المدروسة وقد يعود السبب في ذلك الى طبيعة الاستجابة بحسب التوليفة الوراثية للتركيبين قيد البحث. أن تأثير التراكيز المختلفة للاندول بيوتريك أسد IBA ربما يعود ذلك إلى أن محتوى العقل من الاوكسينات كان منخفضا مع زيادة محتواها من المثبطات لذا فان معاملة العقل بالا وكسينات الصناعية تؤدي إلى زيادة نسبة التجذير [15] وقد ذكر [16] إن معاملة العقل بالا وكسينات الصناعية تؤدي إلى سرعة نقل وتجميع السكريات الذائبة في قواعد العقل مما يؤدي إلى تحسين نسبة تجذير العقل فضلا عن تحفيز عدد من الإنزيمات التي لها دور مهم في عملية نشوء الجذور العرضية وفقا لما ذكره [17].

أما تأثير IBA في تحسين صفات النمو الخضري قد يكون عن طريق زيادته للمجموع الجذري للعقل كذلك إنتاجه وامتصاصه للعناصر الضرورية التي تنتقل إلى الأعلى وتؤدي إلى نمو البراعم وتفتحها مما يؤدي إلى إنتاج نمو خضري جيد، أو قد يكون على أساس أن الاوكسينات تلعب دورا في عملية انقسام الخلايا واتساعها نتيجة التحكم في بناء البروتينات والأنزيمات الخاصة بعملية اتساع الخلايا ومن ثم زيادة استطالة الخلايا وتحسين النمو الخضري [18]. تماشت هذه النتائج مع [19، 20] في دراستهم كلا على حدة حول إكثار العقل الساقية للليمون يوريكا (*Eureka lemon*) من أن تراكيز IBA سببت زيادة معنوية بصفات النمو الخضري أي معدل طول النموات الخضرية ومعدل عدد الأوراق بالمقارنة مع معاملة السيطره، كما تماشت مع [21] في دراسته لإكثار العقل شبه الخشبية لصنف الزيتون "بعشيقه" ومع [22] من أن تراكيز IBA أعطت زيادة معنوية بصفات النمو الخضري عدد الأفرع الخضرية و

تأثير الاندول بيوترك أسد (IBA) في تجنير تركيبين وراثيين من قصب السكر *Sacchrum officinarum L* خارج الجسم الحي

محمد وزينب وعلي وصفاء

المساحة الورقية و معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري بالمقارنة مع السيطره للعقل الساقية لصنفي الزيتون أشرسى وخستاوي.

## المصادر

1. سلمان، محمد عباس. اساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي - جامعة بغداد - العراق. (1988)
2. Marino, G. Multiplication radicaizon in vitro delpero cv. Williams . Riv. Ortoflorofutt 168:95-106. (1984)
3. باشي، عمار زكي امين. اكنار اصل التفاح عماره باستخدام الزراعة النسيجية. رسالة ماجستير - كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل - جمهورية العراق. (1988)
- 4-Caboni, E. and M. G. Tonelli.. Effect of 1,2-benzisoxazole-3-acetic acid on adventitious shoot regenerated and in vitro rooting in apple. Plant Cell Reports , 18(12)985-988. (1999)
5. الطرفي، زينب شنيور مهدي. استجابة ثلاثة اصناف من قصب السكر في زراعة الانسجة رسالة ماجستير ، كلية القائد للتربية للبنات ، جامعة الكوفة . العراق . (2000)
- 6-Bajaj, Y. P. S.. Micropropagation and Induction of somaclonal variation in sugar cane. Biot. Centre Panjab, Agricul. India, pp. 1-10. (1996)
7. الشمري، إبراهيم عبد الله حمزة. استجابة ثلاثة اصناف من قصب السكر لاستحداث الكالس وتقويمها لتحمل الملوحة. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد - العراق. (2001)
- 8- Sabaz, A and , H., Rashed. Effect of Cytokinins on Shoot Multiplication in Three Elite Sugarcane Varieties. Pak. J.Bot., 41(4): 1658- 1658. (2009).
- 9- Kaiser, L.C and M., Hussain. Micropropagation of sugarcane through apical bud and axillary . International Journal of Agriculture & Biology. Pakistan. 06/- 2-257-259. .( 2004)
- 10- Kenia, T.; A.E. Gil; C.Yanaysi; S.Natacha; D.F.Alejandro; F.Aleines; C.Yamilet and Merardo. Development of a system for rapid plant regeneration

from in vitro Sugarcane ( *Saccharum officinarum* L.) meristematic tissue. P. Biotechnologia Aplicada. 23: 22-24. (2006)

11- Patrick, S.M. Micropropagation of Elite Sugarcane Planting Materials from Callus Culture in Vitro. Journal & Proceeding of Royal Society of New South Wales. Vol. 140, P. 79-86. (2007)

12- الحسيني ، زينب عبد الجبار حسين . الاكثار و التطعيم لاشجار الكمثرى خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد - العراق. (2001)

13- Murashige, T. and F., Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497. (1962)

14- الساهوكي، مدحت و وهيب، كريمة محمد. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد - العراق. (1990)

15- De Andres, E. F.; J. Alegre ; J. L. Tenorio ; M. Manzanares ;F. J. Sanchez and L.Ayerbe. Vegetative propagation of (*Colutea arborescens* L.) a multipurpose leguminous shrub of semi arid climates. Agroforestry systems., 46: 113-121. (1999).

16- Hartmann, H. T.; D. E. Kester and F. T. Davis. Plant propagation, principles and practices, Fifth edition. Prentices-Hall, Inc., EngleWood Cliffs, New Jersey. U.S.A. (1990)

17- Nanda, K. K. and U. K. Anand. Seasonal changes in auxin effects on rooting of stem cuttings of *Populus nigra* and its relationship with mobilization of starch. PlantPhysiol., 23: 99-107. (1970)

18- العاني، طارق علي. فسلجة نمو النبات وتكوينه. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد. (1991)

19-AL- Saadoon, H.S. Effect of Indole Buteric Acid on Rooting and sprouting behaviour of stem cuttings of some Citrus species and cultivars, Mesopotamia J. Agric 26(1):25-29. .(1994)

تأثير الاتنول بيوترك أسد (IBA) في تجذير تركيبين وراثيين من قصب السكر *Sacchrum officinarum L* خارج الجسم الحي

محمد وزينب وعلي وصفاء

20-El-Shazly, S. M. and M. B. El-Sabroun and H. A. Kassem. Root formation on the stem cuttings of Eureka Lemon and El-Soukari Loquat as affected by root-promoting chemicals and mist. Alex. J. Agric. Res., 39(3): 559-569. (1994)

21- العلاف ، أياد هاني إسماعيل. تأثير الموعد وتراكيز IBA في تجذير العقل شبه الخشبية للزيتون صنف بعشيقية المأخوذة من قاعدة ووسط الفرع. رسالة ماجستير. كلية الزراعة والغابات /جامعة الموصل (2002) .

22- الشاوش، فتحي احمد محمد وسهيل عليوي عبد الحسين. تأثير موقع العقلة والمعاملة بـ IBA في النمو والصفات الخضرية لشتلات الزيتون *Olea europaea L* . مجلة العلوم الزراعية العراقية مجلد 35 العدد. 43-52. (2004).



## تأثير الكلورهكسدين المثبط لبكتريا *Mutans Streptococci* على نمو وإنتاج الحامض لبكتريا *Lactobacilli* الفموية

\*أبرار ناطق محمد زكي و \*\* خليل مصطفى خماس و \*\*\* عباس صبري المزرقجي

\* و \*\* كلية العلوم/الجامعة المستنصرية

\*\*\* كلية طب الأسنان/جامعة بغداد

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/30

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

### ABSTRACT

Dental caries disease is one of the diseases which is caused by *Mutans Streptococci* and *Lactobacilli* bacteria.

Stimulating saliva were taken from 50 patients of (5-15years) and (20-40years) of both gender in order to isolate and identified *Mutans Streptococci* bacteria and *Lactobacilli* bacteria, biochemical and microscobical tests were made to identify these bacteria. The sensitivity of isolated and diagnosed bacteria was tested on the different concentration of chlorhexidine gluconate which by using the tubes method in order to determine the minimum inhibitor concentration MIC of each bacteria. The results have shown that the MIC value of chlorhexidine against *Mutans Streptococci* is (0.5-1)  $\mu\text{g/ml}$  and for *Lactobacilli* is limited between (6-8)  $\mu\text{g/ml}$ .

The effect of the minimum inhibitor concentration of chlorhexidine gluconate of *Mutans Streptococci* bacteria was studied to examine the growth and acid production of *Lactobacilli*. the result have shown significant differences for the decrease of the numbers of bacterial cells; the acid production was reduced into 0.20 of chlorhexidine. the rate of percentage to inhibit *Lactobacilli* bacteria by using 1  $\mu\text{g/ml}$  of chlorhexidine is 36.66 %.

It is concluded that in spite of the obvious reduction in the number of *Lactobacilli* to the concentration of chlorhexidine gluconate , the remain unaffected bacteria were able to grow, ferment sugar and produce acid. This fact is support the role of this bacterium in deep and progression caries lesion.

### الخلاصة

يعد مرض تسوس الأسنان من الأمراض التي تسببها بكتريا *Mutans Streptococci* وبكتريا

العصيات اللبنية *Lactobacilli*.

أخذت 50 عينة من اللعاب المحفز من فئتين عمرية الأولى (5-15) سنة والثانية (20-40) سنة، لعزل وتشخيص بكتريا *Mutans Streptococci* وبكتريا العصيات اللبنية، اتبعت لتشخيصها فحوصات مجهرية وكيموحيوية. اختبرت حساسية العزلات لكلتا المجموعتين للتركيزات المختلفة من الكلورهكسدين كلكونيت بطريقة الأنابيب لتحديد التركيز المثبط الأدنى لكل منهما، بينت النتائج إن قيمة MIC



أبرار وخليل وعباس

للكلورهكسدين ضد *Mutans Streptococci*  $\mu\text{g } \mu\text{ml}$  (1-0.5) ولبكتريا العصيات اللبنية  $\mu\text{g } \mu\text{ml}$  (8-6).

تم دراسة تأثير التركيز المثبط الأدنى للكلورهكسدين كلونيت لبكتريا *Mutans Streptococci* في نمو وإنتاج الحامض لبكتريا العصيات اللبنية وأظهرت النتائج وجود فروق معنوية لانخفاض أعداد الخلايا البكتيرية وانخفاض إنتاجها للحامض بمقدار 0.20. وكان معدل النسبة المئوية لتثبيط بكتريا العصيات اللبنية باستخدام  $\mu\text{g } \mu\text{ml}$  من الكلورهكسدين هو 36.66%. نستنتج من ذلك أنه بالرغم من الانخفاض الواضح لأعداد بكتريا العصيات اللبنية المعرضة لتركيز من الكلورهكسدين ، إلا أن الأعداد المتبقية استمرت بالنمو وتخمر السكريات وإنتاج الحامض ، هذا يدعم دور بكتريا العصيات اللبنية في التسوس المتقدم والعميق.

### المقدمة

تسوس الأسنان هو الإزالة البطيئة لمكون السن ناتج من خسارة بلورات الـ hydroxyapatite المكونة لمينا السن (1) .

وتعد بكتريا *Mutans Streptococci* من أكثر الأنواع ارتباطاً بتسوس الأسنان (2). توجد هذه البكتريا في اللويحة الجرثومية ، وتلتصق بسطح الأسنان لإنتاجها محفظة كبيرة من الكلوكان أو الفركتان التي تعتمد على المصدر الكربوني النامية فيه وتصنع المحفظة بواسطة أنزيمات على الغشاء الساييتوبلازمي ، وتنقل إلى خارج الخلية ، الكلوكان والفركتان يساعدان البكتريا على الالتصاق بسطح الأسنان ونفوذ المواد خلال اللويحة، ويعد احتياطي الطاقة ويعطي حماية للخلية (3).

تعد بكتريا العصيات اللبنية *Lactobacilli* غازية ثانية لعملية التسوس (2). توجد بنسبة قليلة داخل الفم في حالته الطبيعية تزداد بزيادة الحموضة في الفم ، عند هضم السكريات يتحول السكر إلى حامض بعملية التخمر السكري بواسطة بكتريا الفم ومنها بكتريا *Mutans Streptococci* الذي يوفر بيئة ملائمة لنمو وتكاثر بكتريا العصيات اللبنية التي تكون متحملة ومنتجة للحامض مما يسبب سحب الكالسيوم والفوسفات من مينا السن وتكوين التجاويف فيها (4).

للقاية من تسوس الأسنان وللوقاية من التسوس على البكتريا المسببة له استخدمت عدة مركبات كيميائية ومواد طبيعية ومستخلصات نباتية ، من هذه المركبات هي فلوريد الصوديوم والكلورهكسدين وهي الأكثر شيوعاً باستخدامها لمكافحة التسوس (5). يستخدم الكلورهكسدين كمضمة للفم يعمل على اختزال اللويحة الجرثومية وكمضاد لالتهابات اللثة لكونه يعمل ضد مدى واسع من البكتريا والفطريات ويتداخل مع التصاق البكتريا بالأسنان ويرتبط الكلورهكسدين بسطح الفم ويفرز ببطء إلى اللعاب (3). بما أن بكتريا MS هي المسؤولة عن المراحل الأولى لنشوء التسوس ، وإن بكتريا العصيات اللبنية تأخذ دورها بعد ذلك

لتكون مسؤولة عن حالات التسوس المتقدم والتسوس المفتوح (2). لذلك تركزت أغلب الدراسات حول تأثير استخدام محاليل المضمضة ومعاجين الأسنان على حساسية بكتريا MS لها لذلك جاءت هذه الدراسة بغية معرفة مدى تأثير التراكيز المثبطة لبكتريا *Mutans Streptococci* للكورهكسدين على العصيات اللبنية التي تعد غازية ثانية للتسوس .

## المواد وطرائق العمل

### جمع العينات

جمعت 50 عينة من اللعاب المحفز لبعض الأشخاص المصابين بتسوس الأسنان للفئتين العمرية 5-15 سنة و 20-40 سنة في الساعات الأولى من الصباح مع التأكد من عدم تناول الغذاء لمدة لا تقل عن ساعة و التأكد من عدم استعمال معجون الأسنان بعد آخر وجبة تناولها ، تم جمع العينات بعد إعطاء الشخص علك ماء لحث إفراز اللعاب و بعد 5 دقائق من ذلك يوضع اللعاب في أنابيب بلاستيكية صغيرة معقمة مع مراعاة عدم وضع البلغم مع اللعاب ومزجت العينات بجهاز المازج الدوار (vortex) لتجانس توزيع البكتريا فيها.

### عزل البكتريا

أتبعت الخطوات الواردة عن كل من (6) و (7) في عزل البكتريا حيث أجريت سلسلة تخافيف عشرية بالمحلول الملحي الفسلجي على اللعاب و اخذ 1 مل لكل من التخفيف العشري الثاني و الثالث وزرع بمكررين على وسطي Rogosa agar و MRS agar بطريقة الصب في الأطباق وحضنت الأطباق هوائياً لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 37° م وذلك لعزل بكتريا الـ *Lactobacilli* ومن التخافيف نفسها أخذ 0.1 مل وزرع بمكررين على وسطي Mitis Salivarius agar و TYCSB agar بطريقة النشر وحضنت لاهوائياً باستخدام anaerobic jar وباستخدام الحاضنة لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 37° م وذلك لعزل بكتريا الـ *Mutans Streptococci*. انتخبت المستعمرات النامية على الأوساط الصلبة ونقلت إلى وسطي MRS وسط مرق الصويا Trypton Soy broth لتنمية الـ *Lactobacilli* و *Mutans Streptococci* على التوالي وذلك لغرض تشخيصها.

### تشخيص بكتريا *Lactobacillus*

أتبعت الخطوات الواردة عن كل من (8) و (9) لغرض تشخيص بكتريا *Lactobacillus* وتضمنت إجراء فحوصات التصبيغ بصبغة كرام و تصبيغ الأبواغ spores وفحصت تحت المجهر الضوئي ومن الفحوصات الأخرى فحص تخمر الكاربوهيدرات وفحص الكتاليز و الاوكسيديز وإنتاج

أبرار وخليل وعباس

الأمونيا من الأرجنين وإنتاج CO<sub>2</sub> من تخمر الكلوكوز وإنتاج الجيلاتينيز Gelatinase test وإنتاج الحموضة والخثرة في وسط حليب اللتموس.

### تشخيص بكتريا *Mutans Streptococci*

شخصت بالاعتماد على ما جاء به (8) من فحوصات التصبيغ بصيغة كرام وفحوصات تخمر الكاربوهيدرات والكتاليز والاكسيديز و الحساسية للاوبتوجين Optochin وتحلل الدم وتم التأكد منها بفحص Api 20 Strep.

### تحديد التركيز المثبط الأدنى للكلورهكسدين لبكتريا *Lactobacilli*

نشطت بكتريا *Lactobacilli* على وسط أكار الركوزا بطريقة الصب بالأطباق وحضنت بالحاضنة بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة بعدها نقلت مستعمرة من البكتريا النامية على أكار الركوزا ووضعها في وسط MRS السائل وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة حضرت تراكيز الكلورهكسدين المطلوبة باستخدام ماء مقطر معقم والتي بلغت  $\mu\text{g/ml}$  (12-0.25). زرعت الأنابيب الحاوية على 10 مل من الوسط MRS السائل pH الوسط 6.7 الحاوي على التركيز المطلوب من الكلورهكسدين بالإضافة إلى أنبوتي السيطرة الموجبة والسالبة بلقاح 1% من البكتريا التي عددها  $1.5 \times 10^8$  خلية /مل وبمكررين وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة بالحاضنة ولوحظ بعدها العكورة وحسب MIC للعزلات L1 L2 L3 L6 L7 L10 L11 L13 L17 L25 L28 L34 L36 L39 L37. تم تحديد MIC وفقاً لما ورد عن (10) و (11).

### تحديد التركيز المثبط الأدنى للكلورهكسدين لبكتريا *Mutans Streptococci*

نشطت بكتريا *Mutans Streptococci* على وسط أكار الصويا بطريقة النشر على الأطباق وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة بالحاضنة بعدها نقلت مستعمرة من البكتريا النامية على أكار الصويا ووضعها في وسط مرق الصويا وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة. وكانت تراكيز الكلورهكسدين  $\mu\text{g/ml}$  (12-0.25). زرعت الأنابيب الحاوية على 10 مل من وسط مولر هنتون السائل pH الوسط 6.7 الحاوي على التركيز المطلوب من الكلورهكسدين بالإضافة إلى أنبوتي السيطرة الموجبة والسالبة بلقاح 1% من البكتريا التي عددها  $1.5 \times 10^8$  خلية /مل وبمكررين وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة ولوحظ بعدها العكورة وحسب MIC للعزلات M1-M17. تم تحديد MIC وفقاً لما ورد عن (10) و (11).

## تأثير التركيز المثبط من الكلور هكسدين لبكتريا *Mutans Streptococci* في نمو وإنتاج الحامض لبكتريا العصيات اللبنية

حضر الوسط الزرعي MRS السائل لتنشيط البكتريا ودراسة تأثير MIC الكلور هكسدين لبكتريا MS على *Lactobacilli* ولقياس التغير بالأس الهيدروجيني له وحضر وسط أكار الركوزا لحساب العدد الحي لبكتريا *Lactobacilli* بطريقة الصب بالأطباق. حضر تركيز  $\mu\text{g/ml}$  من الكلور هكسدين وأجريت التجربة على 20 عذلة لعدة أنواع من بكتريا *Lactobacilli* وهذه العزلات هي (L1 L2 L3 L5 L9 L16 L17 L22 L25 L26 L27 L28 L29 L31 L34 L35 L36 L37 L39 L41).

## التحليلات الإحصائية

تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS (1999) حيث استخدم اختبار t لدراسة تأثير التركيز المثبط الأدنى للكلور هكسدين لبكتريا MS في معدل نمو عزلات العصيات اللبنية.

## حساب النسبة المئوية

حسبت النسبة المئوية للتنشيط حسب ما جاء به (12) :-

عدد الخلايا/مل في معاملة السيطرة - عدد الخلايا بعد إضافة المثبط

$$\text{نسبة التنشيط} = \frac{\text{عدد الخلايا/مل في معاملة السيطرة}}{100} \times 100$$

عدد الخلايا/مل في معاملة السيطرة

## النتائج والمناقشة

### عزل بكتريا العصيات اللبنية *Lactobacilli*

تم الحصول على 42 عذلة تعود لبكتريا العصيات اللبنية المعزولة من لعاب بعض الأشخاص المصابين بتسوس الأسنان وظهرت المستعمرات بأشكال مختلفة دائرية ونجمية وبيضوية وذلك بسبب موقع المستعمرة عند الصب بعضها داخل الوسط والآخر فوقه وبعضها جانبي الموقع وعند أخذها وزرعها بالنشر ظهرت بيضاء محدبة صغيرة ملساء على وسط SL agar وكانت على وسط MRS agar خضراء محدبة صغيرة ملساء .

تم توزيع العزلات حسب أنواعها كما في الجدول (1) الذي يبين أعداد ونسب كل نوع من أنواع بكتريا العصيات اللبنية المشخصة والمعزولة من اللعاب ؛ كان النوع *L.plantarum* أكثر الأنواع عدداً

أبرار و خليل وعباس

ونسبة إذ كان العدد 17 عزلة وبنسبة 40.47 % من الأنواع المعزولة وذلك مطابق لما ظهر عند (13) إن أعلى نسبة مئوية كانت للنوعين *L.plantarum* و *L.rhamnosus* بنسبة 96.74 % و 96.34 % على التوالي من مجموع 246 عينة لعاب .

جدول 1- : توزيع عزلات بكتريا العصيات اللبنية حسب الأنواع المشخصة

أنواع بكتريا العصيات اللبنية (%) <sup>*</sup>						عدد العزلات	عدد العينات
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. salivarius</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. rhamnosus</i>		
1 (2.83)	2 (4.76)	8 (19.04)	7 (16.66)	17 (40.47)	7 (16.66)	42	50

<sup>\*</sup> تم استخراج النسبة المئوية لوجود هذه البكتريا من مجموع عدد العزلات

#### عزل بكتريا *Mutans Streptococci*

تم الحصول على 17 عزلة تعود لبكتريا MS المعزولة من لعاب بعض الأشخاص المصابين بتسوس الأسنان وظهرت المستعمرات زرقاء ناعمة صغيرة ملساء والأخرى مجمدة تحوي على قطرة من متعدد السكريد الخارجي أو بدون قطرة على وسط Mitis-Salivarius Bacitracin agar (الحاوي على صبغة التريبان الزرقاء) بينما كانت بيضاء أو صفراء على وسط TYCSB agar وتمت مشاهدتها تحت المجهر التشريحي dissecting microscope.

تم توزيع العزلات حسب أنواعها كما في الجدول (2) الذي يبين أعداد ونسب كل نوع من أنواع بكتريا MS المشخصة والمعزولة من اللعاب فقد كان النوع *S.sobrinus* يمثل نسبة أعلى من *S.mutans* وذلك لـ 17 عزلة وإن غياب أنواع هذه البكتريا من عدد من الأشخاص قد يكون بسبب قلة أعدادها فقد توجد في التخفيف العشري الأول أو قد لا توجد في النموذج.

جدول 2- : توزيع عزلات بكتريا *Mutans Streptococci* حسب الأنواع المشخصة

أنواع بكتريا <i>Mutans Streptococci</i> (%) <sup>*</sup>		عدد العزلات	عدد العينات
<i>S.sobrinus</i>	<i>S.mutans</i>		
11 (64.70)	6 (35.29)	17	50

<sup>\*</sup> تم استخراج النسبة المئوية لتواجد هذه البكتريا من مجموع عدد العزلات

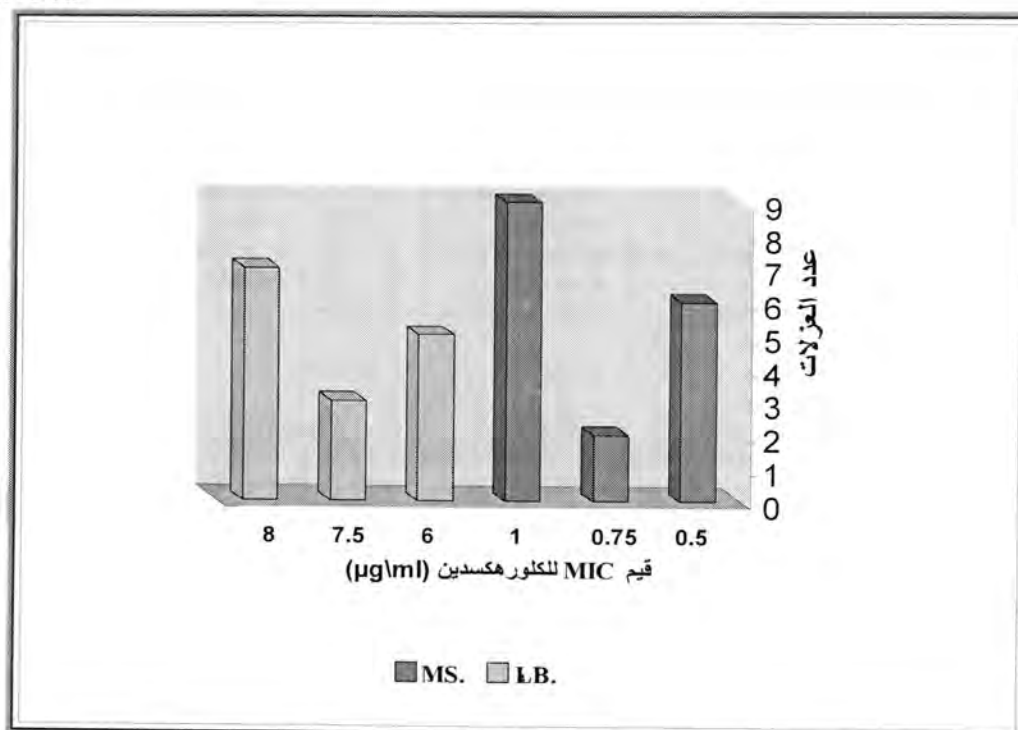


## تحديد التركيز المثبط الأدنى للكلورهكسدين لبكتريا العصيات اللبنية وبكتريا *Mutans Streptococci*

تم تحديد MIC لخمس عشرة عذلة من عزلات بكتريا العصيات اللبنية بواقع عزلتين *L. rhamnosus* وخمس عزلات *L. plantarum* وثلاث عزلات *L. fermentum* وثلاث عزلات *L. salivarius* وعذلة *L. casei* وعذلة *L. acidophilus* والعزلات هي (LB1 LB2 LB3 LB6 LB7 LB10 LB11 LB13 LB17 LB25 LB28 LB34 LB36 LB39 LB37) بينت النتائج إن للكلورهكسدين فعالية ضد بكتريا العصيات اللبنية فقد انحصر التركيز المثبط الأدنى للعزلات بين 8g/ml (6g/ml - 8g/ml) في pH 6.7 وجاء هذا مطابقاً لنتائج (14) فقد كان MIC لديه 8g/ml ، كذلك كان مقارباً لنتائج (13) إذ كان MIC بين 5g/ml (5g/ml - 7.5g/ml) وكان ذلك لثلاث عشرة عذلة ، إن سبب الاختلاف البسيط قد يرجع لاستخدامه الكلورهكسدين دايكلوكونيت وليس الكلورهكسدين كلوكونيت المستخدم في بحثنا.

حدد MIC لسبع عشرة عذلة من بكتريا *Mutans Streptococci* وكان ذلك بواقع ست عزلات *S. mutans* وأحدى عشرة عذلة *S. sobrinus* وبينت النتائج إن للكلورهكسدين فعالية أكبر ضد *Mutans Streptococci* من العصيات اللبنية فقد كان MIC محصوراً بين 0.5g/ml (0.5g/ml - 1g/ml) واتفقت هذه النتيجة مع (15) إذ كان MIC لديها بين 0.25g/ml (0.25g/ml - 4g/ml) لعدد من الضروب المصلية لبكتريا *S. mutans* وفي دراسة عراقية مشابهة (16) كانت النتائج متراوحة بين 0.7g/ml (0.7g/ml - 4g/ml) لأنواع *S. mutans* و *S. sobrinus* واتفقت مع نتائج Jarvinen *e al.* (17) فكان MIC لعزلات *S. mutans* (0.25g/ml - 1g/ml) وان 90 % من هذه العزلات ثبتت بتركيز 1g/ml واتفقت مع نتائج (14) و (18) فقد كان MIC لبكتريا *S. mutans* (0.25g/ml - 1g/ml).

نلاحظ في الشكل (1) توزيع عزلات بكتريا MS و LB على التراكيز المثبطة لها من الكلورهكسدين ، نلاحظ أن MIC لأكثر أعداد بكتريا MS هو 1g/ml . بينما لأكثر أعداد بكتريا العصيات اللبنية هو 8g/ml ، إن سبب التفاوت بتأثير الكلورهكسدين على هاتين المجموعتين قد يعود إلى وجود غلاف صلب يتكون من حامض التيكويك *teichoic acid* وحامض التيكويك الدهني *lipoteichoic acids* والكلايكان الدهني *lipoglycans* أو الكلايكان الحامضي *acidic glycans* (19) و (20). أو لوجود طبقة "S" وهي طبقة بروتينية لها تركيب يدعى *crystalline* وهو المسؤول عن كراهية سطح بكتريا العصيات اللبنية للماء (*hypophobicity*) التي تجعلها متحملة لتغير البيئة (21) .



شكل -1: توزيع عزلات بكتريا العصيات اللبنية و MS حسب قيم التركيز المثبط الأدنى من الكلورهكسدين

تأثير تركيز الكلورهكسدين المثبط لبكتريا *Mutans Streptococci* في نمو وإنتاج الحامض لبكتريا العصيات اللبنية

تمت دراسة تأثير أعلى قيمة من MIC للكلورهكسدين ضد بكتريا *Mutans Streptococci* وهو  $1 \text{ g } \mu \text{ ml}^{-1}$  على نمو وإنتاج الحامض لعشرين عزلة لبكتريا العصيات اللبنية بواقع ثلاث عزلات *L. rhamnosus* وسبع عزلات *L. plantarum* وثلاث عزلات *L. fermentum* وخمس عزلات *L. salivarius* وعزلتين *L. casei* والعزلات هي LB1 LB2 LB3 LB5 LB9 LB16 LB17 LB22 LB25 LB26 LB27 LB28 LB29 LB31 LB34 LB35 LB36 LB37 LB39 LB41 أظهرت النتائج انخفاضاً بأعداد البكتريا ، كان الفرق معنوياً (  $P < 0.000$  ) كما في الجدول (3) وفي الشكل (2) .

جدول -3: خلاصة التحليل الإحصائي باستخدام اختبار t لمقارنة أعداد بكتريا العصيات اللبنية

مستوى المعنوية P	قيمة t	عدد العزلات	معدل عدد الخلايا $10^{10} \times$		البكتريا
			إضافة $1 \mu \text{ g } \mu \text{ ml}^{-1}$ CHX	السيطرة	
0.000	6.22	20	9.2	13.6	Lactobacilli

تم حساب معدل النسبة بالاعتماد على المعادلة المذكورة آنفا بالمقارنة مع أنبوب السيطرة بعد 24 ساعة حضان بدرجة حرارة 37°م فقد كانت 36.66 % وظهرت أعلى قيمة للتثبيط 71.42 % في العزلة LB9 وأقل قيمة 7.69 % في العزلة LB28 في حين تشابهت بعض العزلات بقيمة نسبة التثبيط فقد كانت للعزلات LB17 و LB29 و LB5 و LB35 و LB36 و LB41 و LB31 25 % كما في الجدول (4).

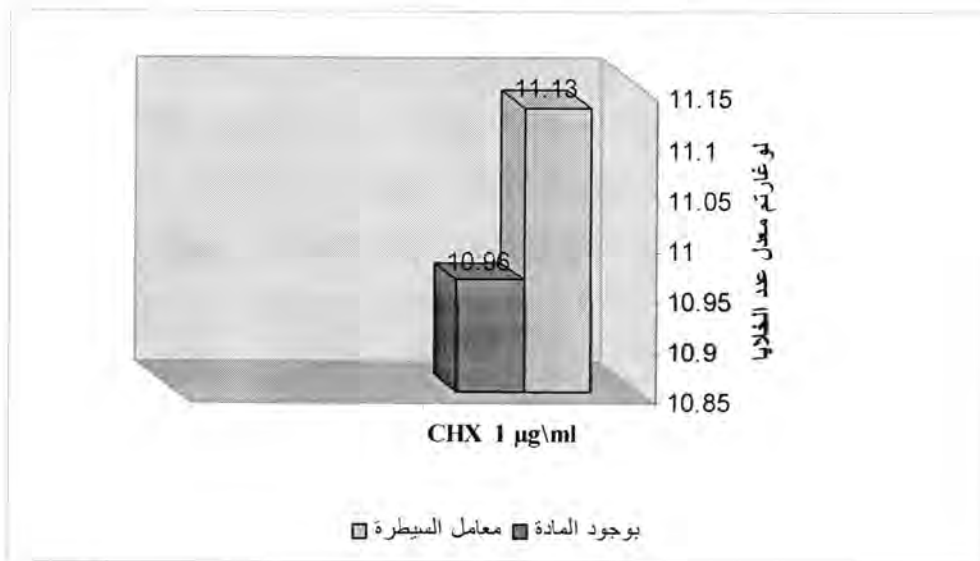
جدول -4: تأثير التركيز المثبط الأدنى من الكلوروكسدين لبكتريا MS في أعداد بكتريا العصيات اللبنية

النسبة المئوية للتثبيط (%)	أعداد البكتريا $\times 10^{10}$ (خلية/مل) بعد 24 ساعة حضان		نوعها	رقم العزلة
	السيطرة	بإضافة CHX 1µg/ml		
16.66	12	10	<i>L. salivarius</i>	LB17
18.18	11	9	<i>L. salivarius</i>	LB34
21.42	14	11	<i>L. fermentum</i>	LB25
7.69	13	12	<i>L. casei</i>	LB28
41.66	24	14	<i>L. plantarum</i>	LB3
42.85	21	12	<i>L. casei</i>	LB35
63.63	11	4	<i>L. rhamnosus</i>	LB1
71.42	21	6	<i>L. plantarum</i>	LB9
62.5	8	3	<i>L. fermentum</i>	LB27
60	5	2	<i>L. salivarius</i>	LB22
50	8	4	<i>L. rhamnosus</i>	LB39
25	12	9	<i>L. plantarum</i>	LB41
11.76	17	15	<i>L. salivarius</i>	LB37
16.66	12	10	<i>L. plantarum</i>	LB29
25	20	15	<i>L. plantarum</i>	LB31
54.54	11	5	<i>L. plantarum</i>	LB2
42.85	7	4	<i>L. fermentum</i>	LB36
30	10	7	<i>L. rhamnosus</i>	LB26
28.57	14	10	<i>L. salivarius</i>	LB16
42.85	21	12	<i>L. plantarum</i>	LB5

أثر التركيز على إنتاج البكتريا للحامض فقد ظهر ارتفاع في قيمة الأس الهيدروجيني للوسط من 4.45 إلى 4.65 وقد كان الفرق بين معدل pH 0.20 ، أي إن التغير بالأس الهيدروجيني قليل مما يبقى pH حامضي وقادر على إزالة المعادن من طبقة الميناء وإنشاء التسوس .

أبرار وخليل وعباس

إن معدل النسبة المئوية 36.66 % لا تمثل اختزالاً كلياً لأعداد بكتريا العصيات اللبنية مما يعني وجود 63.34 % غير مثبط مما يسبب إزالة المعادن من طبقة الميناء وإنشاء التسوس. إن بكتريا MS هي المسؤولة عن المراحل الأولى لنشوء التسوس فضلاً عن مسؤوليتها عن التقدم بتوسيع التسوس ، إن بكتريا العصيات اللبنية تأخذ دورها بعد ذلك لتكون مسؤولة عن حالات التسوس المتقدم والتسوس المفتوح (2). يستخدم الكلورهكسدين كمضمضة للفم يعمل على اختزال اللويحة الجرثومية وكمضاد لالتهابات اللثة لكونه يعمل ضد مدى واسع من البكتريا والفطريات ويتداخل مع التصاق البكتريا بالأسنان ويرتبط الكلورهكسدين بسطح الفم ويفرز ببطء إلى اللعاب (3).



شكل 2- تأثير التركيز الأدنى للكلورهكسدين لبكتريا MS على أعداد بكتريا العصيات اللبنية

### المصادر

1. Nisengard, R.J. and Newman, M.G. "Oral Microbiology and Immunology". 2<sup>nd</sup> ed. W.B. Saunders Company. USA : 324-387. (1994).
2. Tanzer, J.M. , Livingston, J. and Thompson, A.M. "Microbiology of primary dental caries in humans". J Dent Educ. 65(10):1028-1037. (2001) .
3. Samaranayake, L. "Essential Microbiology for Dentistry". 3<sup>rd</sup> ed. Churchill. Livingstone. Elsevier . (2006).
4. Winston, A.E. , Sindy, B.S.C. and Bhaskar, D.D.S. "Caries prevention in the 21<sup>st</sup> Century" . JADA. 129 : 1579-1587 . (1998) .

5. Stookey, G. and Beiswanger, B. "Topical Fluoride Therapy" . in : Harris, N and Christen, A.: "primary preventive dentistry".(1995). 4<sup>th</sup> ed. UK. (1995).
6. Hartemink, R., Domenech, V.R. and Rombouts, F.M. "LAMVAB- a new selective medium for the isolation of lactobacilli from faeces". J. Microbiol. Methods. 29: 77-84. (1997).
7. Svanberg, M . and Krasse, B. "Comparative recovery of mutans streptococci on two selective media" . Caries. Res. 24:36-38 . (1990) .
8. Brown, A.F. "Benson's Microbiological applications". Laboratory Manual in General Microbiology .9th ed . McGraw-Hill. New York. USA. (2005).
9. de Man , J.C. , Rogosa, M. and Sharpe, M.E. "A medium for the cultivation of lactobacilli" . J. Appl. Bacteriol . 23(1) :130-135 . (1960)
10. Sidhu, M.S. , Langsrud, S. and Holck, A. "Disinfectant and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from the food industry". MDR. 7:73-83. (2001).
11. Lim, K. S. , Huh, C.S. and Baek, Y.J. "Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria". J. DS. 76:2168-2174. (1993).
12. Suskovic, J. , Brick, B. , Matosic, S. and Maric, R. "*Lactobacillus acidophilus* M92 as potential probiotics strain" .J. MS. 52(8):430-435. (1997).
13. المزرقجي، عباس صبري عبد الرزاق. "تواجد العصيات اللبنية في الفم عند الأطفال واستجابتها للمطهر الكلوروكسيدين" . رسالة ماجستير . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية. (1992).
14. Botelho, M.G. "The minimum inhibitory concentration of oral antibacterial agents against cariogenic organisms". Microbiol. 103(404):31-41. (2000).
15. Grönroos, L. , Mättö, J. , Saarea, M. , Luoma , A.R., Luoma, H. , Jousimies-Somer, H. , Pyhälä, L. , Asikainen, S. and Alaluusua, S. "Chlorhexidine Susceptibilities of Mutans Streptococcal Serotypes and Ribotypes". ASM . Antimicrobial agents and chemotherapy. 39(4): 894-898.(1995) .



أبرار وخنيل وعباس

16. لمزرقجي، عباس صبري عبد الرزاق. "دراسة مايكروبيولوجية وبايوكيميائية حول قابلية بكتريا *Mutans Streptococci* للالتصاق على سطوح الأسنان". رسالة دكتوراه. كلية العلوم . الجامعة المستنصرية. (1998).
17. Jarvinen, H. , Tenovu, J. and Huovinen', P. "In Vitro Susceptibility of *Streptococcus mutans* to Chlorhexidine and Six Other Antimicrobial Agents". ASM. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 37 (5): p. 1158-1159. (1993).
18. Fani, M.M. , Kohanteb, J. and Dayaghi, M. "Inhibitory activity of garlic (*Allium sativum*) extract on multidrug-resistant *Streptococcus mutans*". Official publication of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry. 25(4): 164-168. (2007).
19. Navarre, W.W. and Schneewind, O. "Surface proteins of gram-positive bacteria and mechanisms of their targeting to the cell wall envelope". Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63( 1): 174-229. (1999).
20. Neuhaus, F.C. and Baddiley, J. "A continuum of anionic charge: Structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria". Microbiol. Mol. Biol. Rev. 67(4): 686-723. (2003).
21. Vadillo-Rodriguez, V. , Busscher, H.J. , van der Mei, H.C. , de Vries, J. and Norde, W. "Role of *Lactobacillus* cell surface hydrophobicity as probed by AFM in adhesion to surfaces at low and high ionic strength". Colloids Surf B Biointerfaces. 41(1):33-41. (2005).

عزل وتشخيص بكتريا *Clostridium perfringens* من العينات السريرية و بيئة بعض

مستشفيات بغداد والتحري عن عوامل ضراوتها

\*منعم رضوان علي \*سوسن ساجد محمد علي \*\* امانى عبد الوهاب عبد الرزاق

\* قسم علوم الحياة/ كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

\*\* قسم العلوم التطبيقية / فرع التقانات الكيميائية الاحيائية /الجامعة التكنولوجية

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/30 تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

## ABSTRACT

In this study (414) samples were collected from different hospitals in Baghdad during the period January till August in 2006. They distributed as: 113 samples from wounds of operations, explosions, gun shoots, traffic accidents, diabetic patients; other samples (85) from different types of burns; while the rest (219 ) were taken from various hospitals environments including (scales, operation rooms instruments and furniture's, patient beds, wall and floor of hospital halls). For the primary isolation of *C. perfringens* two liquid medias were used represented by Proteose peptones Yeast extract broth (PPY) and Neomycin blood agar under anaerobic conditions using(gas pak). According to this (63) isolates belong to anaerobic bacteria were isolated. The isolates were identified using microscopical , morphological , biochemical tests , followed diagnosis by (api 20A)system, In addition to these results, the reverse CAMP test which is aspesific characteristic test to this bacteria was used .The result reveled that (26) isolates belonged to *C. perfringens* distributed as one isolate from burn, six from wounds, while 19 which represent the highest percentage were from hospital environment. production of some virulent factors were also determined for the identify isolates of *C. perfringens* for this porpuse Lipase production medium and Protease Production Medium was used to detect the production of lipase, and protease consequently. All isolates gave negative result for the first test while 17 isolates were protease poducer among 26 isolates(65.38%). Sheep blood agar media were used to detect the ability of the bacteria for blood hemolysis, while DNase media were used for deoxyribonuclease detection, beside that the Alkaline phosphatase medium was used to detect Alkaline phosphatase production All isolates showed their ability to produce the above virulent factors whean the percentage reached 84.61%, 96.2%, 92.3% rsepectively .

منعم وسوسن وأماني

### الخلاصة

جمعت خلال الدراسة (414) عينة من عدد من مستشفيات بغداد للفترة الواقعة ما بين كانون الثاني - أيلول عام (2006) موزعة ما بين (113) عينة من الجروح (جروح العمليات، التفجيرات، الاطلاقات النارية، حوادث النقل و مرضى السكري) و (82) عينة من الحروق المختلفة، (219) عينة أخذت من مواقع بيئية مختلفة للمستشفيات والتي شملت (موازين الأطفال، الأدوات والأجهزة داخل صالات العمليات، أثاث صالات العمليات، أسرة المرضى داخل ردهات المستشفيات، الجدران والأرضيات داخل ردهات المستشفيات).

استخدم للعزل الاولي لبكتريا *Clostridium perfringens* عدد من الأوساط الزراعية السائلة منها خلاصة الخميرة والبيتون، مرق الثايوكلايكوليت فضلا عن اكار الدم الحاوي على النيومايسين، وتحت ظروف لا هوائية باستخدام عدة تحرير الغازات (Gas pak). عزلت في هذه الطريقة (63) عزلة تعود لبكتريا لا هوائية ثم أخضعت العزلات للفحوصات المظهرية والمجهريه والكيموحيوية فضلاً عن التشخيص بنظام (api 20 A) مع اعتماد فحص كامب المتعكس (Revrse CAMP test) وهو من الفحوص التشخيصية لهذه البكتريا. لقد كانت محصلة العزل النهائية (26) عزلة تعود لبكتريا *C. perfringens* موزعة، بين عزلة واحدة من الحروق و (6) عزلات من الجروح بينما ظهرت أعلى نسبة عزل من بيئة المستشفيات بواقع (19) عزلة. درست بعض عوامل الضراوة للعزلات المحلية لبكتريا *C. perfringens*، اذ استخدم وسط اكار التحري عن الانزيم المحلل للدهون ووسط اكار التحري عن الانزيم المحلل للبروتين للكشف عن قدرة البكتريا على انتاج انزيمي اللايباز والبروتياز على التوالي وكانت جميع العزلات سالبة الانتاجية للانزيم الاول فيما كانت (17) عزلة منتجة لانزيم البروتياز من مجموع 26 (65.38%)، كما استخدم وسط اكار دم الخروف للكشف عن قابلية البكتريا على تحلل الدم، واستخدم كذلك وسط الدناز الخاص للكشف عن انزيم الديوكسي رايبونيوكليز، ووسط الكشف عن انزيم الفوسفاتيز القاعدي، وكانت لمعظم العزلات القابلية على انتاج عوامل الضراوة اعلاه بنسبة (92.3 و 96.2%) على التوالي.

### المقدمة

عزلت بكتريا *Clostridium perfringens* لأول مرة عام (1892) من قبل الباحثين Welch and Nutall من ساق مصابة بالكانكرينه الغازية (Gas gangrene) وسميت في حينها بـ *Bacillus aerogenes capsulatus* (1). تمتاز بكتريا

*C. perfringens* بكونها موجبة لصبغة كرام، لا هوائية، لكن لها القدرة على تحمل (5%) من الاوكسجين سيما في الأوساط الغنية بالدم . تظهر تحت المجهر الضوئي بشكل عصيات كبيرة (Giant bacilli) منتفخة ذات نهايات مستطيلة بشكل منفردة او ثنائية، وتتراوح أبعادها ما بين (2.4-0.6) مايكروميتر عرضاً و (9.0-1.3) مايكروميتر طولاً (2,3). غالباً ما تكون مكبسلة داخل الأنسجة، وتمتاز ابواغها بكونها بيضوية الشكل ذات موقع شبه طرفي اعرض من الخلايا، وتميل لان تصطبغ بصبغة كرام السالبة، ونادراً ما تشاهد الابواغ في الأوساط الزرعية لاحتياجها إلى أوساط زرعيه خاصة (3).

تعد الاصابة ببكتريا *C. perfringens* مشكلة جدية وواسعة تهدد الصحة العامة كونها واسعة الانتشار في الطبيعة ولها القدرة على مقاومة الظروف البيئية الصعبة ، فضلاً عن كونها إحدى المسببات المرضية الرئيسية للكانكرينا الغازية والمسؤولة عن احداث العديد من الامراض مثل اصابات الجروح والحروق، والتهابات النسيج الخلوي اللاهوائي، والتهابات الرحم والاسهال المرتبط بتناول مضادات الحياة ، ومنها سلالات مسببة لحالات التسمم الغذائي (3).

نظراً لقدرة بكتريا *C. perfringens* على احداث مدى واسع من الأمراض الخطيرة والمميتة سواء في الانسان او في الحيوانات ولندرة وجود دراسة مسبقة معمقة (3) في القطر حول تواجدها وانتشارها في الجروح والحروق وبيئة المستشفيات لذلك جاءت هذه الدراسة لتهدف الى عزل وتشخيص بكتريا *C. perfringens* من العينات السريرية ومن بيئة المستشفيات ثم تحديد نسب وجودها في محيط الجرحي سيما صالات العمليات فضلاً عن تواجدها في الجروح والحروق. لذلك كان لا بد من اعتماد اختبارات كيموحيوية متنوعة للتأكد من هويتها واستخدام اختبار كامب المتعاكس (Reverse CAMP test) كفحص تشخيصي دقيق وسريع للبكتريا . كما وهدفت الدراسة أيضاً التحري عن عدد من عوامل الضراوة المنتجة من قبل البكتريا التي تسهل أحداث أمراضيتها.

### المواد وطرائق العمل

**جمع العينات:** جمعت خلال الدراسة (414) عينة من نماذج الحروق والجروح لمرضى راقدين في بعض مستشفيات بغداد فضلاً عن نماذج من بيئتها وذلك للفترة الواقعة ما بين شهر كانون الثاني - أيلول عام (2006). شملت المستشفيات: مستشفى الكندي التعليمي، مستشفى مدينة الطب، مستشفى حماية الأطفال، مستشفى العلوية ومستشفى الكرامة.

أخذت العينات بواسطة قطيلة قطنية الجاهزة المعقمة، وتضمنت اخذ عينات من الجروح والحروق المختلفة مثل جروح العمليات، جروح الاطلاقات النارية، جروح التفجيرات، جروح المرضى المصابين بمرض السكري وجروح حوادث النقل. أما عينات بيئة المستشفيات فشملت مسحات من

منعم وسوسن واماني

موازين الأطفال، وأسرة المرضى داخل الردهات، ومن أثاث صالات العمليات، من الأدوات والأجهزة داخل حالات العمليات فضلاً عن عينات الجدران والأرضيات داخل الردهات .  
العزل الاولي لبكتريا *C. perfringens*: زرعت النماذج بظروف هوائية ولا هوائية لغرض العزل البكتيري. استخدم للزرع الهوائي وسطي اكار الدم و اكار الماكونكي اذ زرعت العينات مباشرة بطريقة التخطيط على الوسطين المذكورين ثم حضنت هوائياً لمدة (24) ساعة بدرجة حرارة (37) م° .  
اما الزرع اللاهوائي فأستخدم له وسطي مرق خلاصة الخميرة والبيتون (PPY) والثايوكلايكوليت فضلاً عن وسط الدم المضاف له النيومايسين بتركيز نهائي (100) مايكروغرام/مليتر بعدها حضنت النماذج بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24-48) ساعة، ووفرت الظروف اللاهوائية باستخدام الحاوية اللاهوائية (Anaerobic jar) ، واكياس توليد الغاز (Gas pak) التي تعمل على اختزال الاوكسجين في جو الحاوية وبالتالي توفير الظروف اللاهوائية اللازمة لنمو البكتريا . بعد فترة انتهاء الحضانة اللاهوائية نقل من النمو الظاهر الى وسط اكار الدم والكلوكوز ثم حضنت الاوساط الملقحة بنفس الظروف اللاهوائية لمدة (24) ساعة بدرجة حرارة (37) م° لملاحظة تحلل الدم الظاهر ثم أعيد الزرع على الوسط الاخير نفسه لاغراض التنقية فضلاً عن استخدام الوسط المذكور مع تبديل درجة الحضانة الى 45 م° لدراسة صفات المستعمرات النامية عند هذه الدرجة (3).

#### تشخيص العزلات البكتيرية:

##### \*الفحوصات المظهرية

تضمنت دراسة صفات المستعمرات النموذجية من الشكل، القوام ، الحجم على الأوساط الصلبة المستخدمة في العزل فضلاً عن إجراء مسحات للبكتريا على شريحة نظيفة ثم صبغت بصبغة كرام لملاحظة شكل و تجمعات الخلايا فيما استخدم اخضر الملاكايت لمشاهدة شكل وموقع البوغ داخل الخلية حسب ما ورد في (3).

##### \*الاختبارات الكيموحيوية

شخصت البكتريا اعتماداً على عدد من الاختبارات الكيموحيوية شملت اختبار أنتاج الكاتاليز ، أنتاج الاوكسيديز ، تخمر السكريات ، الحركة وتوليد غاز كبريتيد الهيدروجين ، اختبار اختزال النترات ، اختبار تحلل النشأ واختبار تفاعل حليب اللثموس وكما ورد في (4, 5).

##### • اختبار كامب المتعكس (Reverse CAMP test)

اعتمدت الطريقة المتبعة في (6) وكالاتي:



- زرعت عزلات بكتريا *C.perfringens* قيد الدراسة في وسط الثايوكلايكوليت السائل المحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة وحضنت لا هوائياً بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة.
- نقل ملء ناقل من المزرعة أعلاه، وزرعت على وسط أكار دم الخراف (Sheep Blood agar) بشكل خطوط أفقية بواقع أربع عزلات لكل طبق.
- نميت عزلة *Streptococcus agalactiae* نوع B (عزلة قياسية من مختبر الصحة المركزي) في وسط أكار الدم، واستخدمت كعزلة دالة .
- نقل جزء من المستعمرة أعلاه لبكتريا *S.agalactiae*، وزرعت بشكل خطوط عمودية بحيث تتكون زاوية قائمة مع الخط الأفقي لمزرعة *C.perfringens*، مع مراعاة عدم حدوث تماس بين الخطين وترك مسافة بينها بمقدار (1-2) مليلتر.
- حضنت الأطباق الملقحة لا هوائياً بدرجة حرارة (37) م° لمدة (18-24) ساعة، بعد انتهاء فترة الحضانة قرأت النتائج بالشكل الآتي :

❖ **النتيجة الموجبة :** استدل عليها بتكوين شكل هلال بين خطي بكتريا *C.perfringens* وعزلة *S.agalactiae* .

❖ **النتيجة السالبة :** يستدل عليها بغياب أي تحلل دموي نوع B، وغياب الشكل الهلالي الناتج من تآزر (Synergistic) التحلل الدموي نوع B لكلا العزلتين .

❖ **النتيجة التوافقية :** استدل عليها بظهور شكل هلال ضعيف بين عزلة بكتريا *C.perfringens* وعزلة *S.agalactiae*

**التشخيص بأستعمال نظام (api 20 A)**

بعد الحصول على نتائج الفحوصات الكيموحيوية التشخيصية التأكيدية المنطبقة على النوع البكتيري، استخدمت عدة التشخيص (api 20 A) الخاصة بالبكتريا اللاهوائية. تم اعتماد تعليمات الشركة المجهزة لعدة التشخيص من حيث كمية اللقاح البكتيري وأنواع الكواشف المضافة. وتم الاستلال على النتائج باعتماد دليل مجهز مع العدة.

**التحري عن بعض عوامل ضراوة بكتريا *C.perfringens***

للتحري عن عدد من عوامل ضراوة بكتريا *C.perfringens* وشملت:

• **وسط الكشف عن الانزيم المحلل للدهون (Lipase production medium)**

زرعت مستعمرة نقية من البكتريا على وسط انتاج الانزيم المحلل للدهون (Lipase production medium) ثم حضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة وبظروف لا هوائية . تظهر النتيجة الموجبة بشكل منطقة شفافة حول المستعمرة دلالة على انتاجها لانزيم (Lipase).

عزل وتشخيص بكتريا *Clostridium perfringens* من العينات السريرية و بيئة بعض مستشفيات بغداد والتحري عن عوامل ضراوتها

منعم وسوسن وأمانى

• وسط التحري عن الانزيم المحلل للبروتين (Protease detection media)

لقت انايب حاوية على مرق نقيع القلب والدماع لمستعمرة مفردة للعزلة تحت الاختبار ، وحضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (18) ساعة وبظروف لاهوائية . نقل بعدها (20) مايكروليتر من العالق الى حفر عملت في وسط اكار التحري عن الانزيم المحلل للبروتين (Protease production medium) . حضنت الاطباق بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة بظروف لا هوائية ، وعدت النتيجة موجبة عند ظهور هالة حول الحفرة وتم قياس قطر المنطقة المتحللة بالمليتر (5).

• وسط الكشف عن انزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline phosphatase medium)

اعتمدت طريقة الموصوفة من (8) اذ زرعت مستعمرة نقية مفردة على وسط الكشف عن انزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline phosphatase medium) وحضن لا هوائياً بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة، مررت بعدها الاطباق على بخار الامونيا المتصاعد من فوهة قنينة حاوية على (25%) من محلول الامونيل ، ودل تغير لون المستعمرات الى اللون الوردي على النتيجة الموجبة .

• وسط اكار الدناز (DNase Agar)

زرعت مستعمرة مفردة نقية على وسط اكار الدناز (DNase agar) ، ثم حضنت الاطباق لا هوائياً بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة. عدت النتيجة موجبة عند ظهور هالة شفافة حول المستعمرات المولدة لانزيم (DNase). (7)

• وسط اكار دم الخراف (Sheep Blood agar)

حضر اكار الدم الاساس حسب تعليمات الشركة المصنعة ثم عقم بالمؤصدة بعدها ترك ليبرد ثم اضيف اليه من دم الاغنام (طازج غير متخثر) بنسبة (5%) مزج جيداً، وصب في اطباق معقمة ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° قرأت النتيجة الموجبة بوجود منطقة منع نمو (تثبيط) حول النمو البكتيري (6).

## النتائج والمناقشة

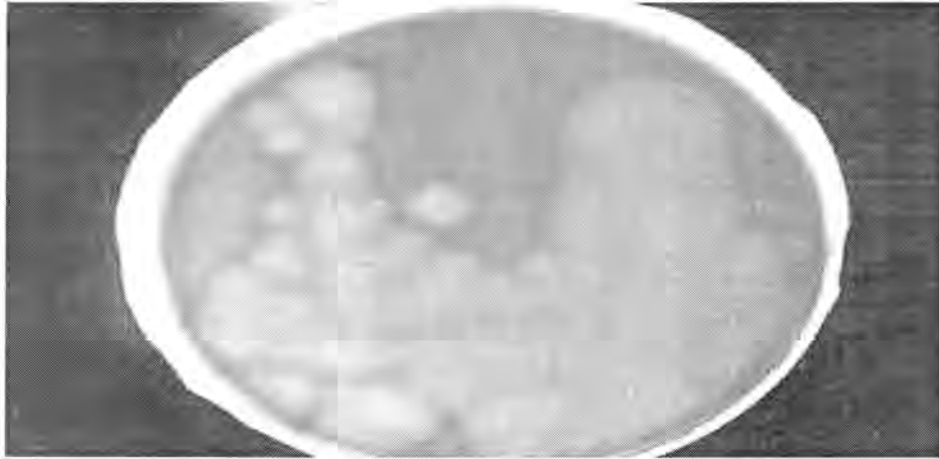
توزعت العينات بعد الزرع الأولي إلى عينات سالبة للزرع البكتريولوجي وأخرى موجبة له ، من مجموع (414) عينة كانت هنالك (234) عينة وبنسبة (56.52) % خالية من النمو بالمقابل اظهرت (180) عينة (وبنسبة 43.47) % نمواً واضحاً. أهملت جميع العينات التي نمت هوائياً والبالغ عددها (127) عينة (وبنسبة 70.55) % من المجموع الكلي للعينات ذات النمو البكتيري ، ليتم التركيز فقط على البكتريا اللاهوائية البالغ عددها (63) عذلة (و بنسبة 29.45) %.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان طريقة الزرع غير المباشر للعينات على وسطي نقيع خلاصة الخميرة والبيتون ووسط الثايوكلايكوليت السائل ثم إعادة زرعها مرة ثانية على الاوساط الصلبة كانت الافضل في زيادة فرصة عزل البكتريا اللاهوائية ، ويمكن ان يعود السبب الى قلة اعداد هذه البكتريا في العينات المأخوذة ، عليه تستخدم اوساط سائلة غنية اولاً لتشجيع نموها . أشار عدد من الباحثين إلى أن سبب اعتماد وسط الثايوكلايكوليت للزرع الأولي للبكتريا اللاهوائية ، كونه يضم في تركيبه الـ Sodium thioglycolate , L-cystine وهي من العوامل المختزلة للأوكسجين والتي تضمن الظروف اللاهوائية للوسط وبذلك تكون ملائمة للبكتريا اللاهوائية ، فضلاً عن لزوجة وسط الثايوكلايكوليت السائل التي تمنع حصول البكتريا السريع على الأوكسجين (9) ، اتبعت خطوة العزل بالأوساط السائلة بالتنمية على الصلب منها واستخدم لهذا الغرض وسط اكار الدم المدعم بالنيومايسين، ليمنع نمو الفطريات .

اظهرت نتائج الفحص المجهرى وجود (39) عذلة بشكل عصيات كبيرة موجبة لصبغة كرام من مجموع (53) عذلة وبنسبة (73.58) % والتي كانت قادرة على النمو اللاهوائي ، كان بينها (26) عذلة اظهرت الصفات المظهرية لبكتريا *C.perfringens* المتميزة بكونها تظهر على شكل عصيات سمكية، موجبة لصبغة كرام ذات نهايات مستوية، وتجمعات منفردة او مزدوجة، وغالباً ما تكون بشكل حرف (L) كما في الشكل (1) وهذه الصفات تنطبق على بكتريا *C.perfringens* (10) ، فيما لم يظهر الفحص المجهرى وجود السبورات كونها لا تستطيع انتاج السبورات الا على اوساط زرعية خاصة وهذه صفة مميزة لبكتريا *C.perfringens* (1).

عند الزرع على وسط اكار الدم والكلوكوز مع حضانة (37) م° لمدة (24) ساعة لوحظ ان هنالك مستعمرات محدبة، ملساء، دائرية الشكل، بنية اللون محاطة بمنطقة تحليل أولهما داخلية من نوع التحلل الكامل (نوع بيتا) ، وثانية خارجية واسعة ذات تحليل جزئي من نوع الفا كما في الشكل (1) ، وتتطابق صفات هذه المستعمرات مع الصفات التي تعود *C.perfringens* (11).

منعم وسوسن وأماتي



شكل 1- شكل مستعمرات *C.perfringens* على وسط اكارالدم والكلوكوز محضونة بدرجة  
حرارة (37)°م لمدة (24) ساعة

من جانب اخر ظهرت المستعمرات على وسط اكار الدم والكلوكوز بعد حضنها بدرجة حرارة  
(45)°م بشكل مستعمرات كبيرة الحجم، دائرية وكننت سريعة النمو مما يعطيها مظهراً مشابهاً للبكتريا  
المتحركة على الوسط الزرعي ، تتفق نتيجة هذه الدراسة مع عدد من الباحثين اللذين اشاروا الى  
سرعة نمو بكتريا *C.perfringens* عند حضنها بدرجة حرارة تتراوح بين (43-47)°م مولدة الى  
جانب نموها المنتشر تحلاً كاملاً من نوع (β) ، فيما اشار اخرون الى ان بكتريا  
*C.perfringens* غير متحركة ، ولكن بسبب سرعة انتشار نموها على وسط اكار الدم سوف  
يشبه نموها البكتريا المتحركة، وتعد بذلك صفة تشخيصية لهذه البكتريا تميزها عن باقي انواع جنس  
*Clostridium* (2,12).

اظهرت الدراسة الحالية ايضاً قدرة العزلات المشخصة مبدئياً بكونها بكتريا *C.perfringens*  
من النمو في الظروف الهوائية عند زرعها في اوساط سائلة مضافاً اليها عوامل مختزلة مثل وسط  
الثايوكلايكوليت السائل وبهذا الصدد وردت اشارات حول كون بكتريا *C.perfringens* لا تتطلب  
ظروفاً لا هوائية مطلقة في نموها (13).

اعتمدت عدد من الاختبارات الكيموحيوية التأكيدية لتمييز بكتريا *C.perfringens* عن بقية  
انواع جنس *Clostridium* فضلاً عن تمييزها عن بقية الانواع البكتيرية الاخرى. اظهرت جميع  
العزلات المشكوك بكونها *C.perfringens* والبالغ عددها (26) عزلة بكونها غير منتجة لانزيمي  
الكاتليز والاوكسيديز وذلك لعدم قدرة العزلات على تكوين الفقاعات الهوائية الغازية او تغيير لون  
كاشف الاوكسيديز الى البنفسجي على التوالي ، وهذه تعد من الصفات التشخيصية المهمة المعتمدة  
لجميع البكتريا اللاهوائية وبضمنها بكتريا *C.perfringens* كما اشار الى ذلك (11) فيما اظهرت

جميع العزلات قدرتها على تخمير السكريات (الدكستروز ، السكروز ، الكلوكوز ، المالتوز ، اللاكتوز والفركتوز) بعد زرعها على وسط تخمر السكريات بسبب تغير لون الوسط الى الاصفر وتكوين غاز في انبوبة درهم وفي الوقت نفسه كانت جميعها غير مخمرة لسكر المانيتول والسالساين. جاءت هذه النتائج موافقة مع ما اشار اليه مجموعة باحثون (14) عند تشخيصهم لبكتريا *C.perfringens* . فيما يخص فحص الحركة ف لوحظ ان العزلات المشخصة مبدئياً على انها *C.perfringens* كانت غير متحركة ، وذلك لعدم قدرته على الانتشار حول مكان الطعن ، وتعد هذه صفة تشخيصية مهمة تميز بكتريا *C.perfringens* عن بقية انواع جنس Clostridium (3).

اختلفت العزلات في قابليتها على توليد كبريتيد الهيدروجين ( $H_2S$ )، اذ بينت غالبية العزلات وبواقع (21) عزلة من مجموع (26) عزلة ونسبة (80.76%) مشخصة مبدئياً على انها *C.perfringens* كانت مولدة لكبريتيد الهيدروجين ، ويتفاعل الاخير مع الحديد الموجود بالوسط لتوليد كبريتيد الحديدوز الاسود اللون ، بينما كانت (5) عزلات من مجموع (26) عزلة ونسبة (19.24%) غير مولدة لكبريتيد الهيدروجين .

كما اظهرت العزلات قدرتها على اختزال النترات الى نترت نتيجة لتغير لون الوسط السائل الى اللون الاحمر عند اضافة الكاشف (10) ، بينما لم تظهر اي عزلة حلقة حمراء على سطح وسط ماء الببتون دلالة على عدم قدرتها على انتاج الاندول ، فيما استطاعت جميع العزلات من تحليل الجيلاتين ، اذ ظهرت النتيجة الموجبة بفقدان القوام الصلب لوسط الجيلاتين نتيجة لانتاج انزيم الـ Gelatinase محولاً اياه الى الشكل السائل سيما عند ابقاء الوسط في درجة -4م° اذ حافظ على طبيعته السائلة (11).

اظهرت (23) عزلة من مجموع (26) عزلة وبسبة (88.46%) مشخصة مبدئياً *C.perfringens* قابلية تحليل النشا بظهور هالة شفافة حول المستعمرات بعد اضافة اليود الى الوسط ، بينما كانت (3) عزلات بنسبة (11.54%) سالبة للفحص كان بينها عزلتين مصدرهما بيئة المستشفيات كما في الجدول (1) ، وجاءت هذه النتيجة موافقة لنتيجة (15).

من بين الاختبارات المهمة التي تميز بكتريا *C.perfringens* هو اختبار تفاعل حليب اللثموس ، اذ اظهرت جميع العزلات قابليتها على احداث ظاهرة التخمير العاصف. تنتج الظاهرة من تخمر سكر اللاكتوز مولداً حامض اللبنيك (Lactic acid) الذي يعمل على ترسيب الـ (Casein) محدثاً تجبناً من جهة ومن جهة اخرى يزيد من حامضية الحليب فيغير لون الكاشف الى اللون الوردي ، ولكثرة كمية الغاز الناتج من التخمير سوف يرتفع الراسب دافعاً شمع البرافين الى اعلى انبوبة الاختبار وتتفق هذه النتيجة مع (3) .



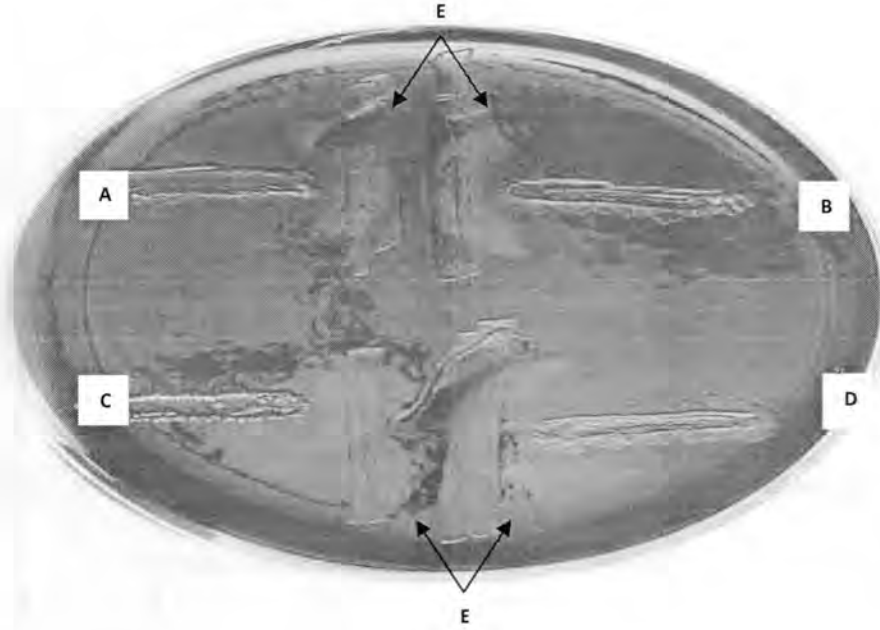
منعم وسوسن وأماني

فيما يخص اختبار كامب المتعكس (Reverse CAMP) فقد اخضعت العزلات البكتيرية المشخصة على انها *C.perfringens* لهذا الفحص وسجلت النتيجة الموجبة عند تكون الشكل الهاللي بين خط نمو بكتريا *Streptococcus agalactiae* وخط النمو المتعارض لبكتريا *C.perfringens* المختبرة ، اذ يسبب عامل كامب (CAMP factor) تحللاً للسيراميد (Ceramide) الموجود في غشاء كريات الدم الحمراء المعاملة بذيضان الفا العائد لبكتريا *C.perfringens* ، مسبباً تكون محيط واسع بشكل هلال بين نوعي البكتريا كما في الشكل (3). بينت النتائج ايجابية (24) عزلة من مجمل (26) عزلة بنسبة (92.39 %) (الجدول 1) ، وجاءت نتيجة الدراسة الحالية متوافقة مع ما اورده عدد من الباحثين حول قابلية عزلات بكتريا *C.perfringens* المدروسة اظهار النتائج الموجبة ، واعتماد اختبار كامب المتعكس كفحص تشخيصي تأكيدى للبكتريا (16).

هنالك بعض العزلات المشخصة مبدئياً على انها بكتريا *C.perfringens* قد سجلت نتائج متباينة بهذا الفحص ، اذ ظهرت بشكل محيط ضيق للتحلل الدموي بين نوعي البكتريا ، وفسرت هذه النتيجة بأحتمالية كون عزلات بكتريا *C.perfringens* ذات انتاجية ضعيفة لذيفان الفا ، اقل من النسبة المتلى لانزيم عامل (CAMP factor) المنتج من بكتريا *S.agalactiae* ، وأشار العديد من الباحثين الى ظهور النتيجة المتباينة بنسبة واطئة عند اختبار عزلات بكتريا *C.perfringens* (6,17).

بعد الحصول على نتائج التشخيص الاولى الخاصة بالصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية ، استعملت عدة التشخيص (api 20 A) لغرض التشخيص النهائي لعزلات البكتريا اللاهوائية وبضمنها بكتريا *C.perfringens*.

لقد تم الحصول على 26 عزلة مؤكدة على انها *C.perfringens* وتعد هذه النسبة واطئة قياساً مع دراسات سابقة سجل فيها عزل البكتريا بواقع (61) عزلة من مجموع (435) عزلة بنسبة (14.0%) من عينات الجروح وبيئة المستشفيات ، ربما يعود السبب في اختلاف نسبة العزل الى وقت اجراء العزل ، اذ تمت الدراسة المشار اليها وقت الحرب ، ومن المعروف عن بكتريا *C.perfringens* سعة انتشارها في اوقات الحروب ، كما اشار لذلك باحثون اخرون الى ان البكتريا المسببة للكانكرينا الغازية تكون من اكثر الحالات المشاهدة شيوعاً واكثرها تعقيداً في الجروح المرافقة للعمليات العسكرية (18,19).



شكل 2- التحري عن بكتريا *C.perfringens* بأختبار كامب المتعكس ( Reverse CAMP test) على وسط اكار دم الخروف

A : عزلة *C.perfringens* B<sub>1</sub>      B : عزلة *C.perfringens* W<sub>3</sub>

C : عزلة *C.perfringens* M<sub>6</sub>      D : عزلة *C.perfringens*

E : عزلة *S.agalactiae*

H<sub>22</sub>

توزيع عزلات الدراسة حسب مصادرها:

وزعت عزلات بكتريا *C.perfringens* البالغ عددها (26) عزلة حسب مصادر عزلها كما في الجدول (2)، وفيه يتضح انه تم عزل عزلة واحدة من مجموع (82) عينة لحروق مختلفة ونسبة (3.8 %) من العدد الكلي للعزلات البالغ عددها (26) عزلة ، وتصبح النسبة (0.2%) من مجمل العدد الكلي للعينات البالغة (414) عينة . تعد هذه النسبة واطئة نسبياً عند مقارنتها بنسبة العزل من الجروح ، اذ جمعت (6) عزلات من مجموع (113) عينة جروح من مصادر مختلفة اي بنسبة عزل (23.1 %) من العدد الكلي للعزلات البالغ عددها (26) عزلة (بنسبة 1.4 %) من المجموع الكلي للعينات (414) عينة . تتفق نتائج الدراسة الحالية نسبياً مع ما جاء به الباحثون Varaiya وجماعته من ان بكتريا *C.perfringens* وجدت في (39) عينة من مجموع (580) مسحة لجروح مختلفة ، بينما شكلت نسبة عزل هذا النوع حوالي (81.3 %) من مجمل الانواع المعزولة من مسحات الجروح العائدة لجنس *Clostridium* (20).

عزل وتشخيص بكتريا *Clostridium perfringens* من العينات السريرية و بيئة بعض مستشفيات بغداد والتحري عن عوامل ضراوتها

منعم وسوسن واماني

جدول -1: اعداد ونسب عزلات بكتريا *C.perfringens* موزعة حسب مصادر جمعها المختلفة

مصدر العزل	عدد العينات	اعداد البكتريا	نسبة عزلها من العينات المأخوذة منها (%)	نسبة عزل البكتريا من العدد الكلي للعزلات	نسبة عزل البكتريا من العدد الكلي للعينات
الحروق	82	1	1.2	3.8	0.24
الجروح	113	6	5.3	23.1	1.45
بيئة المستشفيات	219	19	8.6	73.1	4.59
المجموع الكلي	414	26	-	100	6.28

جاءت نتائج الدراسة مغايرة لنتيجة عدد من الباحثين الذين استطاعوا من عزل البكتريا بنسبة (41.6 %) من مجموع (72) جرحاً لمرضى يتوقع اصابتهم بالكانكرينا الغازية (21). فيما اشار عدد اخر من الباحثين الى ان السبب الرئيسي لعزل بكتريا *C.perfringens* من الجروح والحروق هو نتيجة تلوثها من التربة الحاوية على البكتريا او سبوراتها (22).

لوحظ خلال هذه الدراسة ان جرحى التفجيرات هم الاكثر عرضة للاصابة بالكانكرينا الغازية مقارنة بجروح الاشخاص المصابين بمرض السكري تليه جروح العمليات الجراحية ، يعود السبب في ذلك الى تأخر الاسعاف الطبي لهؤلاء الاشخاص وعدم تلقيهم العلاج بالسرعة الممكنة وغالباً ما يؤول الامر الى بتر العضو المصاب ، وفي بعض الاحيان تنتهي بهم الحالة بالوفاة . من جانب اخر فان الجروح الناتجة من اختراق الشظايا والاطلاقات النارية تكون نافذة الى العمق ، وهذا بدوره يهيئ البيئة اللاهوائية المثالية لنمو وتكاثر بكتريا *C.perfringens* (23).

بلغت نسبة عزل البكتريا من المستشفيات اعلى نسبتها بواقع (19)عزلة من مجموع (26) عزلة بنسبة (8.6 %) وبواقع (4.5 %) من نسب العزل الكلي كما في الجدول (2).

يوضح الجدول (3) النسب والمواقع المختلفة لعزل بكتريا *C.perfringens* من بيئة المستشفيات، ويلاحظ ان اعلى نسبة عزل كانت من عينات الجدران والارضية داخل الردهات ، اذ عزلت (9)عزلات من مجموع (19)عزلة (بنسبة 47.36 %) من بيئة المستشفيات ، يليها اثاث صالات العمليات بواقع (5)عزلات من مجموع (19)عزلة (بنسبة 26.31 %) ، بينما كانت نسبة العزل من اسرة المرضى (3)عزلات من مجموع (19)عزلة ( بنسبة 15.78 %) ، جاء بعدها عزلة واحدة من مجموع (19)عزلة ( بنسبة 5.26 %) لكلاً من الادوات والاجهزة داخل العمليات ومن

موازين الاطفال والتي تمثل اوطئ نسبة عزل، وبذلك يصبح المجموع (19) عزلة تابعة لبكتريا *C.perfringens* عزلت من بيئة المستشفيات. جاءت النتائج مقارنة لنتائج اخرى اذ بلغت العينات الموجبة لبكتريا *C.perfringens* اقصاها من عينات جدران وارضية المستشفيات تلتها العينات المأخوذة من ردهة وصالة العمليات الجراحية واخيرا عينات اسرة المرضى وادوات واجهزة العمليات (4) .

بالرجوع الى جدول (2) يظهر ان النسبة الاعلى لعزل بكتريا *C.perfringens* كانت في بيئة المستشفيات مقارنة بالعينات المأخوذة من المرضى، وتعد هذه النتيجة انذاراً خطيراً بتلوث عالي ببكتريا *C.perfringens*، كون سبوراتها تبقى حية لفترات زمنية طويلة وهذا ما اكده (24)، قد يعزى سبب ذلك الى عدم اتباع بعض افراد الكادر الطبي والمرافقين للمرضى لشروط النظافة والوقاية الصحيين، اذ لوحظ ان ترك باب صالة العمليات مفتوحاً اثناء العملية له اثر في زيادة التلوث، وبهذا الصدد اشار الباحثان Castle and Ajemia الى ان نسبة العزل العالية من ارضية الردهات واثاث صالات العمليات يعود الى صعوبة استقرار البكتريا المنقولة بالهواء على الجدران والنوافذ العمودية، لذا تكون السطوح الافقية اكثر تلوثاً من السطوح العمودية (25).

جدول 2- : مصادر بكتريا *C.perfringens* من بيئة المستشفيات

المصدر	عدد العينات	عدد البكتريا المعزولة	النسبة المئوية للعزل %	النسبة المئوية للعزل من عدد البكتريا المعزولة %	النسبة المئوية للعزل من عدد العينات الكلية %
الجدران والارضية	41	9	21.95	47.36	4.1
اثاث صالة العمليات	63	5	7.93	26.31	2.28
أسرة المرضى	51	3	5.88	15.78	1.36
الادوات الاجهزة	62	1	1.61	5.26	0.45
موازين الاطفال	2	1	50	5.26	0.45
المجموع	219	19	-	-	-

التحري عن بعض عوامل الضراوة لبكتريا *C.perfringens* :

منعم وسوسن واماني

تنتج بكتريا *C.perfringens* العديد من عوامل الضراوة ، اذ تمتاز بقدرتها على انتاج  
(15)عامل ضراوة فعال يشترك في امراضية البكتريا (1) وفي الدراسة الحالية تم التحري عن بعض  
هذه العوامل وحسب مايلي :

#### انتاج الانزيم المحلل للدهون and lipase production :

لم تظهر اي من العزلات القدرة على انتاج الانزيم المحلل للدهون (اللايبيز) ، اذ لم تظهر اي منطقة  
شفافة حول المستعمرات النامية على وسط انتاج الانزيم المحلل للدهون ، وجاءت هذه النتيجة موافقة  
لنتيجة (27) .

انتاج الانزيم المحلل للبروتين (البروتييز): تم الكشف عن انزيم البروتييز المحلل للبروتينات الذي  
تفرزه بعض عزلات بكتريا *C.perfringens* في وسط التحري عن انزيم البروتييز ، يظهر الجدول  
(3) قابلية العزلات قيد الدراسة على انتاج انزيم البروتييز ، اذ اظهرت (17)عزلة نتيجة موجبة  
لفحص انتاج البروتييز من مجموع (26)عزلة مختبرة بنسبة (65.38 %) وكانت جميعها من  
العزلات التي مصدرها بيئة المستشفيات ومن جانب اخر لم تكن اي من العزلات السريرية (المعزولة  
من الجروح والحروق) منتجة للانزيم ، وقد يعود السبب في ذلك الى كون العزلات السالبة في  
فحص انتاج الانزيم تعود الى النمطين (A او C)، وبهذا الصدد اشار الباحثون الى عدم انتاج  
النمطين المصليين (A او C) لانزيم البروتييز المعروف بذيفان لمبدا (28).

انتاج انزيم الديوكسي رايبونيوكليز (ذيفان نيو): تم الكشف عن انزيم الديوكسي رايبونيوكليز  
المحلل للدنا الموجود كمادة اساس في وسط اكار الدناز عن طريق ملاحظة النتيجة الموجبة  
المتمثلة بأخفاء لون الصبغة الزرقاء في الوسط وتحولها الى عديمة اللون سيما حول المستعمرات  
بسبب تكون معقد الصبغة مع الحامض النووي (DNA-Dye complex). يظهر الجدول (3)  
أعداد ونسب بكتريا *C.perfringens* المنتجة لانزيم الديوكسي رايبونيوكليز من المصادر المختلفة  
، اذ بينت النتائج قدرة العزلات المحلية على انتاج الانزيم من (25)عزلة من مجموع (26)عزلة  
مختبرة بنسبة (96.2 %). جاءت نتائج الدراسة الحالية مقارنة لنتائج حسين (19) اذ اعطت جميع  
العزلات فحصاً موجباً لتوليد انزيم الديوكسي رايبونيوكليز .

انتاج الهيموليسين: تم الكشف عن انتاج الهيموليسين وقد استخدم لهذا الغرض وسط اكار دم  
الخراف (Sheep blood agar) ، اذ ظهرت النتيجة الموجبة بشكل مناطق تحلل شفافة حول  
مزرع العزلة المنتجة للهيموليسين بفعل تحلل كريات الدم الحمراء في الوسط .



جاءت هذه النتائج مشابهة تقريباً لنتائج عدد من الباحثين ان سبب فقدان البكتريا المزروعة على وسط اكار دم الخراف لقدرة تحليل الدم هو نتيجة حدوث طفرة في الجين المشفر لذيفان الفا (cpa) والموقع الجيني المشفر لذيفان ثيتا (Pfo). (29) انزيم الفوسفاتيز القاعدي:

اظهرت النتائج ان معظم عزلات بكتريا *C.perfringens* منتجة لانزيم الفوسفاتيز القاعدي بواقع (24) عزلة من مجموع (26) عزلة (بنسبة 92.3 %) الجدول (3). يحصل تغير لون المستعمرات النامية في وسط Phenol phthalein phosphate agar من اللون الوردي الى الارجواني بعد امرار الاطباق المزروعة على بخار الامونيا ، ويعود ذلك الى تحرر الفينولفثالين بفعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي.

جاءت الدراسة الحالية مقارنة لنتائج Eisgruber وجماعته اذ لاحظوا ان معظم عزلات بكتريا *C.perfringens* مولدة لانزيم الفوسفاتيز القاعدي بنسبة (95.1 %) (8) .

جدول -3 : اعداد ونسب بكتريا *C.perfringens* المنتجة لعدد من عوامل الضراوة موزعة

حسب مصدر عزلها

المصدر	عدد العزلات الكلي	انتاج انزيم البروتيز		انتاج انزيم الدناز		انتاج انزيم الفوسفاتيز القاعدي	
		المنتجة	غير المنتجة	المنتجة	غير المنتجة	المنتجة	غير المنتجة
الجروح	1	-	1	1	-	1	-
الحروق	6	-	6	6	-	6	-
بيئة المستشفيات	19	17	2	18	1	17	2
المجموع الكلي (%)	26(100%)	17(65.38%)	9(34.62%)	25(96.2%)	1(3.8%)	24(92.3%)	2(7.7%)

أجراء دراسات مسحية لبكتريا *C. perfringens* تشمل عزلها من مصادر حيوانية مختلفة فضلاً عن عزلها من الإنسان ومن البيئات المختلفة. نظراً لخطورة إصابات هذه البكتريا من المؤمل أجراء دراسة مستقبلية باستخدام الطرائق الجزيئية المعتمدة على المادة الوراثية للتحري عن بكتريا *C.perfringens* وذيفاناتها المختلفة، وذلك لامتياز هذه الطرائق بحساسيتها وخصوصيتها العاليتين فضلاً عن سرعتها ودقتها معاً في التحري عن البكتريا وذيفاناتها وعدم اشتراطها وجود بكتريا حية ليتم عزلها وتشخيصها . فضلاً عن

منعم وسوسن واماني

## المصادر

1. Hatheway, C.L. Toxigenic clostridia. Clin Microbiol. Rev. 3:66-98. (1990).
2. Dennison, A.C.; Vanmetre, O.C.; Morley, P.S.; Callan, R.J.; Plampin, E.C. and Ellis, R.P. Comparison of the odds of isolation, genotypes, and in Vero production of major toxins by *Clostridium perfringens* obtained from the gastrointestinal tract of dairy cows with hemorrhagic bowel syndrome or left-displaced abomasums. JAVAMA. 227(1): 132-138. (2005).
3. Brooks, G.F.; Butel, J.S. and Mores, S.A. Jawetz Melnick and Adel Berg's, Medical Microbiology. 22 editions, Lange Medical Books/McGraw Hill. U.S.A. (2001).
4. Atlas, R.M.; Parks, L.C. and Brown, A.E. laboratory Manual of Experimental Microbiology. Mosby company .Missouri. U.S.A. (1995).
5. Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M. and Schreckenberger, P.C. Color Plates and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4<sup>th</sup> ed. J.B. Lippincot Company, Philadelphia. (1992).
6. Hansen, M.V. and Elliott, L.P. New presumptive identification test for *Clostridium perfringens*: Reverse CAMP test. J. Clinic. Microbiol. 12(4): 617-619. (1980).
7. Harley, J.P. and Prescott, L.M. laboratory exercises in Microbiology .3<sup>rd</sup> ed. McGraw Hill. U.S.A. (1996).
8. Eisgruber, H.; Geppert, P.; Sperner, B. and Stolle, A. Evaluation of different methods for the detection of *Clostridium perfringens* phosphatases. Int J Food Microbiol. ,82(1):81-86. (2003) .
9. Valls, J.S.; Nacente, R.B. and Coll, M.S. Hand book of Microbiological culture media. 5<sup>th</sup>ed. Scharlan chemie, S.A. Spain. (1999).

10. Cato, E.P.; George, W.L. and Finegold, S.M. Genus *Clostridium* Prazmoski :1880, 23.in Berge's Manual of systematic bacteriology. Edited by P.H.A. Sneath, N.S.; Mair, N.S.; Sharpe, M.E. and Holt, J.G. Williams & Wilkins. Baltimore, USA. 1179-1182. (1986).
11. Quinn, P.J.; Carter, M.E; Markey, B. and Carter, G.R. *Clostridium* species. In Cinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing. London.191-208. (1994).
12. Bryant, A.E. and Stevens, D.L. Phospholipase-C and perfringolysin O from *Clostridium perfringens* up regulate endothelial cell-leukocyte adherence molecule-1 intracellular leukocyte adherence molecule-1 expression and induce interleukin-8 synthesis in cultured human umbilical van endothelial cells. J.Infect. and immune. 64(1):358-362. (1996).
13. Rood, J.I. Virulance genes of *Clostridium perfringens*. Annu. Rev. microbiol. 52:333-360. (1998).
14. Yanagase, Y.; Santiago, L.; Sanchez, F. ; Cabral, J. ; Ogonuki, H. and Franco ,C. P. A Case Study of Gas Gangrene at the Jose R. Reyes Memorial Hospital: Causative Agent -*Clostridium perfringens* . J Microbiol. Infect. Dis . 11(2):124-130. (1982).
15. ALvardo, J.S.G; Rodriguez, M.A. and Labbe, R.G. Influence of elevated temperature on starch Hydrolysis by enterotoxin-positive and enterotoxin Negative strain of *Clostridium perfringens* type A. J.Appl. and Environ. Microbiol. 5(1): 326-330. (1992).
16. Scheven, M. Detection of *Clostridium perfringens* in mixed infection patient samples using a modified reverse CAMP test. Z Gesamte Hyg, 37 (2): 90-91. (1991).
17. Gubash, S.M. Synergistic hemolysis phenomenon shown by an Alpha-toxin producing *Clostridium perfringens* and *Streptococcal* CAMP factor in presumptive *Streptococcal* grouping. J. Clin. Microbiol., 8: 480-488. (1978).
18. Privitera, A.; Edwards, D.P. and Cunningham, C. Retroperitoneal gas gangrene complicating elective inguinal hernia repair.J R Army Med Corps, 147 (3): 309-310. (2001) .



منعم وسوسن واماتي

19. حسين , جيهان خضر . عزل وتشخيص وخواص بكتريا مطثيات الموات الغازي من الجروح الملوثة ومن الردهات وصلات العمليات في بعض المستشفيات . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد . (1987) .
20. Varaiya, A., Mathur, M. and Behesania, A. Bacteriological studies of gas-gangrene and related infection. Indian J. of Medic. Microbiol. 21(3): 202-204. (2003).
21. Roggentin, P.; Hobrecht, R.; Tirpitz, D.; Rothe, B. and Schauer R. Application of sialidase antibodies for the diagnosis of clostridial infections. J.Clin Chim Acta., 196 (2-3): 97-106. (1991).
22. Dela Cruz, W.P.; Gozum, M.M.; Lineberry, S.F.; Stassen, S.D.; Daughtry, M.; Stassen, N.A.; Jones. M.S. and Johnson, O.L. Rapid detection of enterotoxigenic clostridium perfringens by real-time fluorescence resonance energy transfer PCR. J Food Prot, 69 (6): 1347-1353. (2006).
23. Roggentin, P.; Hobrecht, R.; Tirpitz, D.; Rothe, B. and Schauer R. Application of sialidase antibodies for the diagnosis of clostridial infections. J.Clin Chim Acta., 196 (2-3): 97-106. (1991).
24. Johansson, A. *Clostridium perfringens* the causal agent of necrotic enteritis in poultry. Msc.Thesis. University of Agricultural sciences, Uppsala, Sweden. (2006).
25. Castl, M. and Ajemian, E. Hospital Infection Control. Principle and Practice , 2<sup>nd</sup> ed. John Wily & Sons, New York, Chichester, Brisbane , Tornto. Singapore. (1987) .
26. Dupuy, B.; Daube, G.; Popoff, M.R. and Cole, S.T. *Clostridium perfringens* urease genes are plasmid born. J. infect. and immun. 65(6): 2313-2320. (1997).
27. عيسى , مي طالب فليح . دراسة على سم الفا المنتج من قبل *Clostridium perfringens* المعزولة من التربة المحلية . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد . (1995) .

28. Rood, J.I. and Cole, S.T. Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens*. Microbiological Reviews. 55(4): 621-648. (1991).
29. O'Brien, D.K. and Melville, S.B. Effect of *Clostridium perfringens* alpha-toxin (PLC) and perfringolysin O (PFO) on cytotoxicity to macrophages, on Escape from the phagosomes of macrophages, and persistence of *Clostridium perfringens* in Host tissues. Infection and immunity. 72(9): 5204-5215.(2004).



## إستخلاص وتنقية الكلوبولين المناعي صنف G المشيمي

عصام فاضل الجميلي<sup>1</sup> وسيناء عبود مصطفى الحمّامي<sup>2</sup> وفارس عبدالكريم الطريحي<sup>3</sup>

<sup>1</sup> فرع التقنية الاحيائية ، معهد الهندسة الوراثية والتقنية الاحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد

<sup>2</sup> مركز الرازي للبحوث وإنتاج العدد الطبية ، وزارة الصناعة والمعادن

<sup>3</sup> مركز بحوث الأدوية البيطرية، وزارة الصناعة والمعادن

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/27

## ABSTRACT

Immunoglobulin G has been extracted from placenta by using ammonium sulphate salt in saturation percentage ranged between 0-30%, then immunoglobulin were separated by using ion exchange chromatography with the use of DEAE-Cellulose exchange and to complete separation and purification, gel filtration chromatography technique has been used with Sephadex G-200 column for purification of IgG.

The molecular weights of the extracted immunoglobulins was identified with the use of Sephacryl S-200 column, and it was found that the molecular weight of IgG which was extracted serum from human blood was found to be 150 KD.

The extracted immunoglobulins concentration was also determined with Bradford and Absolute methods were the concentration was about 9.5 and 2.8mg/ml respectively. The radial immunodiffusion test was done during all the stages of extraction, separation and purification to insurance degree of purity of immunoglobulins after every stage.

## الخلاصة

أستخلص الكلوبولين المناعي صنف G من المشيمة بطريقة الترسيب بكبريتات الأمونيوم بنسبة إشباع (0-30%) . بعدها فصلت الكلوبولينات المناعية باعتماد تقنية كروماتوغرافيا التبادل الأيوني باستعمال مبادل ثنائي أثيل امينو اثيل سليلوز (DEAE-Cellulose) . وإلتام عملية التنقية استعملت كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي هلام Sephadex G-200 لتنقية الكلوبولين المستخلص. أكدت النقاوة الكلوبولين المناعي المستخلص بطريقة الترحيل الكهربائي باستعمال هلام الاكريل امايد المتعدد عند ظروف غير ماسخة للبروتين. تم تعيين الوزن الجزيئي للكلوبولين المناعي صنف G المشيمي باستعمال عمود Sephacryl S-200 ووجد أن وزنه الجزيئي يبلغ 150 كيلو دالتن. قدر تركيز الكلوبولين المستخلص باستخدام الطريقتي برادفورد والمطلقة فكان 3.2 و 2.8 مليغرام / مليلتر على

عصام وسيناء وفارس

التوالي . كما أجري فحص الانتشار المناعي الشعاعي خلال جميع مراحل الاستخلاص والفصل والتنقية للتأكد من درجة نقاوة البروتين بعد كل مرحلة .

## المقدمة

دخلت الكلوبولينات المناعية ضمن مجال العلاج الحيوي (Biotherapeutic) إذ وجد ان استعمال الكلوبولينات المناعية المأخوذة عن طريق الحقن الوريدي ( Intravenous Immunoglobulin) أدت إلى تراجع أعراض الأمراض وزيادة في الاستجابة للمضادات الحيوية لدى المرضى المستخدمين لهذا العلاج ونظراً لتزايد أهمية الكلوبولينات المناعية فقد تم الاهتمام بطرائق استخلاصها وتنقيتها من المصادر المعروفة . وتعد بلازما الدم والحليب واللبأ والمشيمة من أهم المصادر لهذه البروتينات (1).

يمتاز الكلوبولين المناعي صنف G بدخوله في تفاعلات التلازن والترسيب مع أضداده النوعية . لذا استغلت هذه التفاعلات في إنتاج عدد تشخيصية تستعمل في المختبرات للكشف عن تغير مستويات الكلوبولينات المناعية مثل فحص الانتشار المناعي الشعاعي وفحص كومب وغيرها (2). نظراً للحاجة الملحة لهذه الأضداد ومستضداتها النوعية بشكل عالي النقاوة وعالي الفعالية فقد حدث تطور كبير في تقنيات فصل وتنقية الكلوبولينات المناعية وبدأت الشركات المختصة بإنتاج أعمدة فصل جاهزة لهذا الغرض دخلت الكلوبولينات المناعية ضمن مجال العلاج الحيوي (3) ، ومن الامثلة على هذه الطرائق اعمدة الكروماتوغرافي بأنواعها المختلفة وتحسين نوعيات الهلام والمبادلات المستخدمة في الفصل والتنقية . إن محدودية النماذج المستخدمة وبطيء عملية الفصل من محددات استخدام هذه التقنية في تنقية الأضداد (4). تبلغ نقاوة الكلوبولين المناعي صنف G المنقى بهذه الطرائق حوالي 40-50% حيث تعد الكلوبولينات من نوع  $C_3$  ,  $C_4$  من اهم الملوثات التي تتواجد معه . هدفت الدراسة الحالية استخلاص وتنقية الكلوبولينات المناعية صنف G من المشيمة.

## المواد وطرائق العمل

تم الحصول على المشيمة طازجة من ولادة حديثة طبيعية خالية من الأمراض وحفظت بدرجة -20م لحين الاستخدام. (استخدمت مشيمة واحدة لإجراء جميع التجارب اللازمة) .

### تحضير المستخلص البروتيني الخام من المشيمة

تم استخدام الطريقة المتبعة من قبل مركز الرازي للبحوث في تحضير المستخلص البروتيني الخام من المشيمة .والتي كانت مقارنة من حيث المبادئ الأساسية للطريقة المتبعة من قبل معهد

Meruex الفرنسي . (5) حيث أجريت بعض التحويلات بسبب عدم توفر نفس نوعية الأجهزة والمستخدمة من قبل المعهد المذكور . غسلت المشيمة بالماء المقطر البارد عدة مرات . ثم أزيل الساقط المحفظي Recidue capsularie و الغشاء السلوي Amniotic membrane و قطعت إلى قطع صغيرة ثم غسلت باستخدام دارئ الفوسفات الملحي (ج) البارد ووضعت في الخلط الكهربائي لغرض المجانسة . وخلطت جيدا .

نقلت المشيمة إلى وعاء وأضيف لها دارئ الستريت الفوسفاتي (ب) بنسبة 1:1 (حجم / حجم) وترك الخليط في الثلاجة لمدة 3 ساعات . تم ترشيح الخليط بواسطة قطعة قماش رقيقة (ململ) وحفظ الراشح في الثلاجة . غسل الراسب عدة مرات بمحلول دارئ الستريت الفوسفاتي (ب) وكررت العملية أعلاه عدة مرات . ثم جمعت الرواشح وأجريت عملية النذب المركزي عليها بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 20 دقيقة . بعدها حفظ الرائق بدرجة حرارة - 20 م لحين إجراء التجارب اللاحقة عليه .

#### الكشف عن الكلوبولينات المناعية صنف G بطريقة الانتشار المناعي الشعاعي

تم استعمال عدة Radial Immunodiffusion Plates للكشف عن وجود الكلوبولينات المناعية صنف G المشيمية وذلك عن وجود هالة حول الحفر التي اجري الفحص فيها دلالة على حدوث ترسب للمعدن المناعي المتكون بين الضد IgG والمستضد Anti-IgG .

ترسيب الكلوبولينات المناعية صنف G المستخلصة من المشيمة بواسطة كبريتات الأمونيوم الصلبة

تم اتباع الطريقة الموصوفة من قبل Hudson and Hay (6) في ترسيب الكلوبولينات المناعية من المشيمة . تم استعملت ثلاث نسب إشباع من كبريتات الامونيوم تراوحت بين (0-30% و 30-50% و 50-70%) . أذيب الراسب بأقل كمية من دارئ الفوسفات الملحي ذو الرقم الهيدروجيني 7.2 وتركيز 0.2 مولار . تم ازالة كبريتات الامونيوم من الرائق عن طريق الديليزة ضد الماء المقطر بإجراء عدة تبديلات ولمدة 18 ساعة بدرجة حرارة 4°م .

#### فصل وتنقية الكلوبولين المناعي صنف G من المشيمة بطريقة كروماتوغرافيا التبادل الأيوني

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Hudson and Hay (6) . في فصل الكلوبولين المناعي صنف G المشيمي وذلك باستعمال المبادل DEAE Cellulose ، بأبعاد العمود 25 × 3 سم ومحلول الموازنة 0.02 مولار دارئ الفوسفات برقم هيدروجيني 8.0 . وجمعت الأجزاء المنفصلة بواقع 3 مليلتر / أنبوب وبسرعة جريان 60 مليلتر في الدقيقة . استردت بعدها البروتينات المرتبطة بالمبادل باستعمال تدرج ملحي خطي من محلول كلوريد البوتاسيوم بتركيز 1 مولار في دارئ الفوسفات إذ تم تخفيف هذا المحلول بدارئ الفوسفات بتركيز 0.02 مولار ( pH = 8.0 ) للحصول على 50 مليلتر لكل



عصام وسيناء وفارس

من التراكيز الاتية : 0.9 و 0.7 و 0.5 و 0.4 و 0.3 و 0.2 و 0.1 . مolar . قدرت الامتصاصية للأجزاء المنفصلة عند طول موجي 280 نانوميتر . جمعت محتويات الأنابيب التي أظهرت أعلى امتصاصية وتم فحص كل قمة ناتجة من الفصل بالمبادل بواسطة فحص الانتشار المناعي الشعاعي لمعرفة موقع الكلوبولين المناعي صنف G ومدى نقاوته . تم تركيز قمم الكلوبولين المناعي صنف G باستعمال السكروز وحفظت النماذج بدرجة - 20 ° م لحين إجراء التجارب اللاحقة .

### تنقية الكلوبولين المناعي صنف G المستخلص من المشيمة بطريقة الترشيح الهلامي

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Hudson and Hay (6) في تنقية الكلوبولين المناعي صنف G وذلك باستعمال هلام Sephadex G200 بأبعاد عمود 25 × 3 سم، بسرعة 30 مليلتر/ساعة وقيست امتصاصية المحلول المنفصل بواسطة المطياف الضوئي عند طول موجي 280 نانوميتر . تم استرداد النموذج بواسطة محلول دارئ الفوسفات بتركيز 0.2 مolar ورقم هيدروجيني 7.2 بسرعة جريان 30 مليلتر / ساعة . جمع المحلول النافذ خلال الهلام على شكل أجزاء حجم كل جزء 3 مليلتر / أنبوب .

فحص نقاوة الكلوبولين المناعي صنف G (المستخلص من المشيمة) بطريقة الترحيل الكهربائي في هلام الاكريل امايد المتعدد عند ظروف غير ماسخة للبروتين

تم التأكد من نقاوة الكلوبولين المناعي صنف G بطريقة الترحيل الكهربائي في هلام الاكريل امايد المتعدد عند ظروف غير ماسخة للبروتين وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل Blacksher (7) . باستعمال هلام الاكريل امايد بتركيز 7.5 % .

### تعيين الوزن الجزيئي للكلوبولين المناعي صنف G المستخلص من المشيمة

عين الوزن الجزيئي للكلوبولين المناعي G من المصل باعتماد تقنية الترشيح الهلامي باستعمال هلام Sephacryl S-200 ومحلول دارئ الفوسفات بتركيز 0.2 مolar برقم هيدروجيني 7.2 . استعملت خمسة بروتينات قياسية هي : Thyroglobuline (660000) ، Ferritin (440000) ، Catalase ، Aldolase (158000) و BSA (67000) . لتقدير الوزن الجزيئي للكلوبولين المناعي G المحضر بتركيز 3 ملليغرام / مليلتر مذابه في محلول دارئ الفوسفات 0.2 مolar برقم هيدروجيني 7.2 . تم تعيين الوزن الجزيئي للكلوبولين المناعي من المنحنى القياسي برسم العلاقة بين نسبة حجم الاسترداد لكل بروتين القياسي والعلاقة بين نسبة حجم الاسترداد لكل بروتين قياسي إلى حجم الاسترداد والدكستران الازرق (Ve/Vo) مقابل لوغاريتم الوزن الجزيئي .

قياس تركيز البروتين

تم اعتماد طريقتان لتقدير تركيز الكلوبولين المناعي المستخلص والمنقى هما

- 1- طريقة برادفورد *Bradford* (8)
- 2- الطريقة المطلقة الموصوفة من قبل Whitaker and Granium (9)

### النتائج والمناقشة

تم اجراء عمليات الاستخلاص والتنقية من مشيمة طبيعية خالية من الامراض . حيث تم التأكد من سلامة الام والطفل من الالتهابات. وقد تم اتباع المبادئ المستخدمة من قبل معهد Merieux الفرنسي في تنظيف وتقطيع المشيمة ثم هرسها وخلطها مع الدارئ للحصول على المستخلص البروتيني (5). تعد المشيمة من النواتج المهملة في المستشفيات . لكنها اعتبرت حديثاً من المصادر المستحدثة في الحصول على البروتينات مثل الالبومين والكاتاليز والكلوبولين المناعي صنف G . باعتباره الكلوبولين المناعي الوحيد القادر على اختراق المشيمة. وقد وجد الباحثون في معهد Merieux ان استخدام التقنيات الحديثة قد تمكن من الحصول على 0.4 غرام من الكلوبولين المناعي صنف G لكل كيلو غرام من المشيمة (5).

تم استخدام ثلاث نسب إشباع من ملح كبريتات الامونيوم الصلب لتركيز وترسيب الكلوبولين المناعي صنف G من مستخلص بروتينات المشيمة. حيث تمت اضافة كمية معلومة من الملح الى المستخلص لرفع نسبة الاشباع من 0-30 % .أخذ الراسب ورفعت نسبة الاشباع للرائق من 30 - 50% ثم من 50 - 70 % . جمعت الرواسب المتكونة وتم فحصها بطريقة الانتشار المناعي الشعاعي . وظهر أن الكلوبولين المناعي صنف G قد ترسب بنسبة الاشباع التي بلغت (0 - 30%) في حين لم يظهر لهذا البروتين اثر ضمن الترسبات التي نتجت عن نسب الاشباع الاخرى .

إنفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من Hudson and Hay (6) و Tijssen (10) كما أن عدم ظهور الكلوبولين المناعي صنف G ضمن نسبة الاشباع (30-50 %) كما حدث في نموذج المصل يعزى الى ان مستوى هذا الكلوبولين في النموذج المشيمي قليل جداً ولهذا فان أي بقايا له قد تكون غير محسوسة ضمن نسبة الاشباع 30-50% .

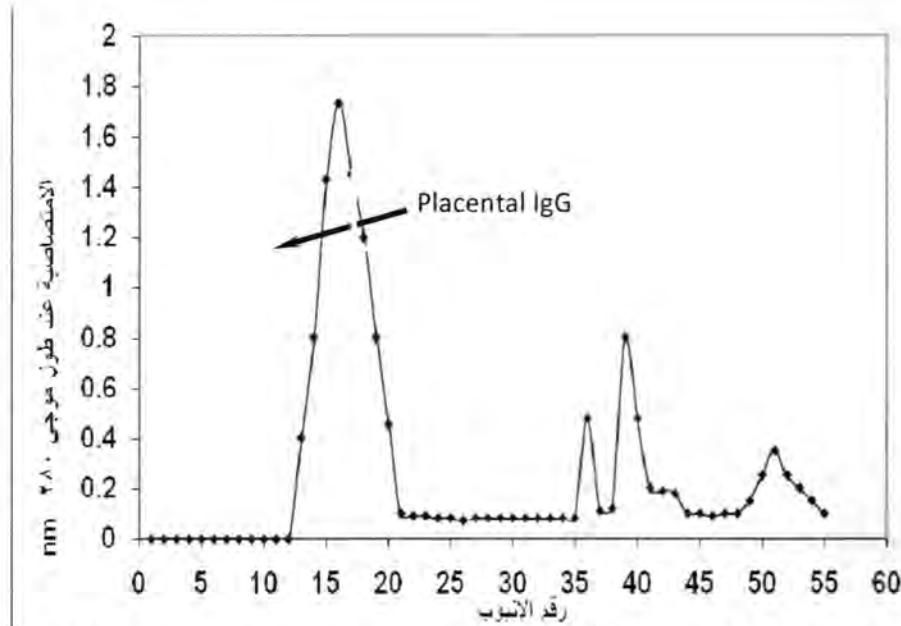


عصام وسيناء وفارس

## فصل وتنقية الكلوبولين المناعي صنف G (المستخلص من الشيمة ) بطريقة التبادل الايوني باستخدام مبادل DEAE - Cellulose

تم إمرار النموذج المستخلص من الشيمة والذي تم ترسيبه بنسبة اشباع ( 0- 30 %) من كبريتات الامونيوم على عمود المبادل DEAE- Cellulose .

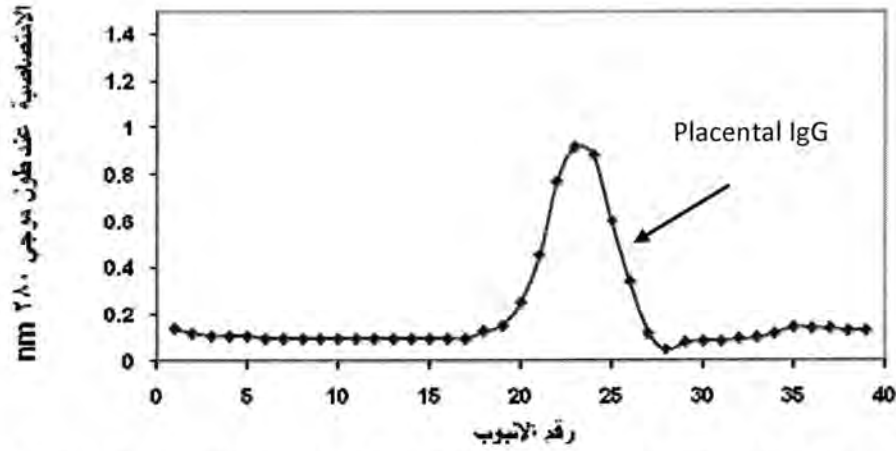
يلاحظ من الشكل (1) ظهور اربعة قمم . ظهرت القمة الاولى عند غسل العمود بحوالي 100 مليلتر من محلول دارئ الفوسفات بتركيز 0.02 مولار ورقم هيدروجيني 8.0 (محلول الموازنة ) . وقد تمثلت هذه القمة بالاناييب (13-20) حيث كانت حادة وبعيدة عن باقي القمم الاخرى مما يدل على إزاحة البروتينات الغيرمرتبطة وبشكل نقي . وقد دل فحص الانتشار المناعي الشعاعي على ان هذه القمة تمثل الكلوبولين المناعي صنف G . وقد تم الحصول على باقي القمم بغسل العمود بحوالي 50 مليلتر من كل تركيز من المحاليل الملحية المتدرجة التي تراوحت ما بين ( 0.1-0.9 ) مولار والتي تمثلت بالاناييب (35-37) و(49-55) و(38-41) . وعند فحص محتوياتها بطريقة الانتشار المناعي الشعاعي وجد انها خالية من الكلوبولين المناعي صنف G.



شكل-1: كروماتوغرافيا التبادل الايوني لفصل الكلوبولينات المناعية صنف G من المشيمة باستخدام عمود (DEAE- Cellulose) بأبعاد (25×3) سم والذي تم موازنته بدارئ الفوسفات بتركيز 0.02 مولار ورقم هيدروجيني 8.0 . تم استرداد البروتينات بتركيز ملحية متدرجة من محلول كلوريد البوتاسيوم من (0 - 1) مولار (50 مليلتر من كل تركيز) وسرعة جريان 30 مليلتر/دقيقة

يتضح من الشكل (2) ظهور قمة واحدة للكلوبولين المناعي صنف G المستخلص من المشيمة بعد إمراره على عمود Sephadex G-200 محصوره بين الانبوبة 21 و 26 ، تتفق هذه النتائج مع ما

ذكره Hudson and Hay (6) بان الكلوبولين المناعي صنف G يستغرق زمناً أطول وحجماً أكبر للاسترداد على العكس من الكلوبولين المناعي صنف M .



شكل 2- : كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي لتنقية الكلوبولين المناعي صنف G المستخلص من المشيمة باستخدام عمود Sephadex G-200 بأبعاد (25×3) سم الذي تمت موازنته بدارء الفوسفات بتركيز 0.2 مولار ورقم هيدروجيني 7.2

يتضح من الشكل (3) نمط الترحيل الكهربائي للكلوبولينات المنقاة (من المشيمة) . تحت ظروف غير ماسخة للبروتين . إذ ظهرت حزمة بروتينية واحدة لكل نموذج منقى من نماذج الكلوبولينات المناعية المستخلصة مما يشير الى نقاوتها . يمكن استخدام هذه الطريقة لرصد التغيرات غير الطبيعية الحاصلة في تركيب ووظيفة وتركيز مكونات المصل والادرار كالأضداد . وعن طريق إرفاق تقنية الترحيل الكهربائي بتقنية الانتشار المناعي يمكن الكشف عن الأضداد عند وضع المصل المضاد في الهلام والسماح له بالانتشار فتظهر خطوط ترسبية دلالة على تفاعل الأضداد مع المصل المضاد . ان عدداً كبيراً من البروتينات والأحماض النووية تمتلك قيم متقاربة من نسبة الشحنة/الكتلة . لكنها تختلف في حجمها وشكلها لذا فان عملية الترحيل الكهربائي لهذه البروتينات سوف يعطي نتائج قليلة وقد لا يعطي نتائج اطلاقاً . ولتلافي هذه المشكلة يتم اضافة مادة Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) التي ترتبط بالبروتينات وتعطي لكل جزيئة شحنة سالبة . بذلك تبقى طريقة الفصل معتمدة فقط على الحجم والشكل (11 و 12).

يتم الاستفادة من هذه التقنية طبياً في تقييم الاستجابة للعلاجات المستخدمة في العديد من الحالات المرضية والمؤثرة على الجهاز المناعي ، حيث يتم فيها تشخيص الارتفاع في مستويات الكلوبولينات المناعية قبل العلاج وبعد استخدام العلاج لملاحظة مدى فعالية هذا العلاج المستخدم وتأثيراته . كما يستخدم الترحيل الكهربائي المناعي في تشخيص مرض Multiple Myeloma الذي يكون تأثيره مباشراً على نخاع العظم (13).

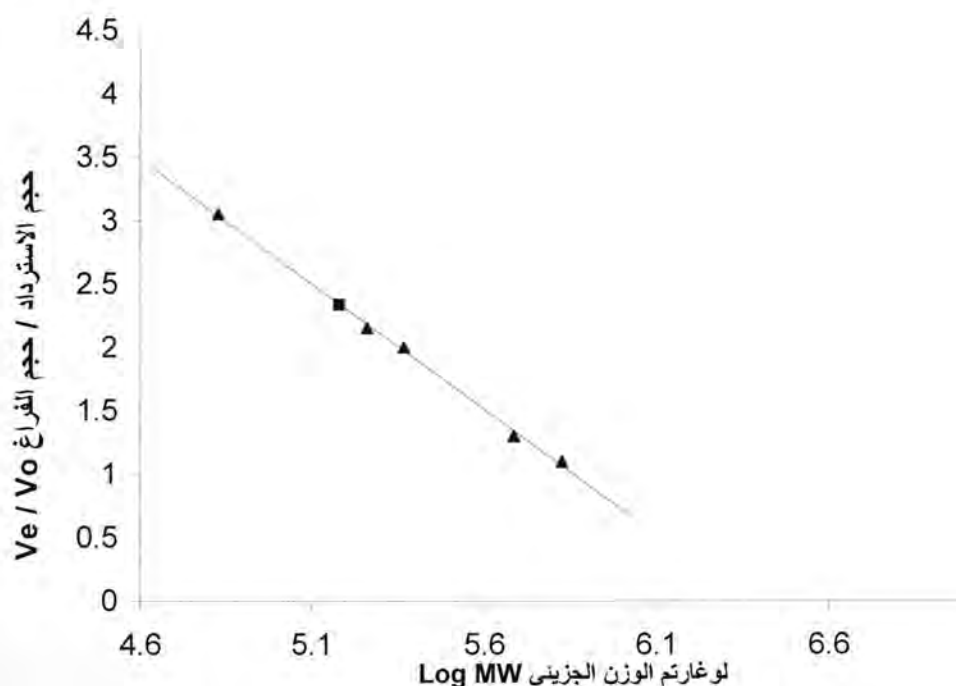
عصام وسيناء وفارس



شكل-3 : نمط الترحيل الكهربائي في هلام الاكريل امايد المتعدد تحت غير ماسخة للكلوبيولين المناعي صنف G المستخلص من المشيمة

تم اتباع طريقة الترشيح الهلامي باستخدام عمود Sephacryl S-200 ، يتضح من الشكل (4) المنحني القياسي للوغارتم الوزن الجزيئي مقابل نسبة ( حجم الاسترداد / حجم الفراغ )  $V_e / V_o$  للبروتينات القياسية المستخدمة في التجربة. إما الكلوبيولين المناعي صنف G المشيمي فقد تم تحديد وزنه الجزيئي بهذه الطريقة فكان يبلغ 150 كيلو دالتن . وهذا يتفق مع العديد من البحوث التي قدرت الوزن الجزيئي لهذا الصنف بـ 150 كيلو دالتن. (15 و 16) . كما وظهرت عدة بحوث ان الوزن الجزيئي لهذا الكلوبيولين المناعي يبلغ 160 كيلو دالتن(16).

إن هذا الاختلاف او الزيادة في الوزن الجزيئي للصنف G يعود الى احتساب الاوزان الجزيئية للاواصر ثنائية الكبريتيد التي تتواجد في الكلوبيولين المناعي . والتي يختلف عددها باختلاف الصنف الثانوي الموجود. مما يجعل منطقة المفصل اكبر حجماً وبالتالي يتغير الوزن الجزيئي للجزيئة .



شكل 4 : تعيين الوزن الجزيئي للكلوبيولين المناعي صنف G (المستخلص من المشيمة)

بكروماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستخدام عمود Sephacryl S-200

تم تعيين تركيز الكلوبيولين المناعي صنف G المستخلص من المشيمة بطريقتين الأولى تمت بالاعتماد على المنحني القياسي لبروتين البومين مصل الأبقار (Bovin Serum Albumin) وذلك باستخدام طريقة برادفورد . يلاحظ أن تركيز الكلوبيولين المناعي صنف G المشيمي والذي تم قياسه أيضاً بهذه الطريقة كان مساوياً إلى 3.2 مليغرام/مليتر . قد وجد Goldsby (16) أن تركيز الكلوبيولين المناعي صنف G في المصل يتراوح ما بين (0.5 - 9.0) مليغرام/مليتر . حيث يختلف التركيز باختلاف الصنف الثانوي الموجود.

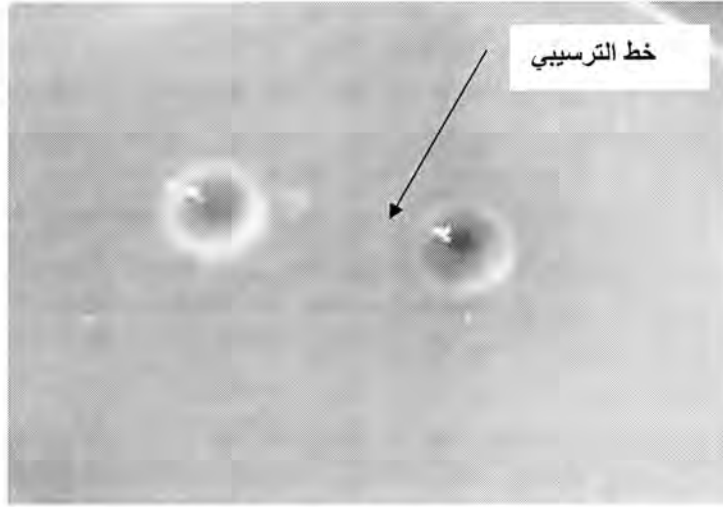
تم استخدام الطريقة المطلقة ثانياً في قياس تركيز البروتينات فوجد أن النتائج كانت مقاربة للنتائج التي تم التوصل إليها بطريقة برادفورد حيث كان تركيز الكلوبيولين المناعي صنف G المشيمي 2.8 مليغرام/مليتر . وجد العديد من الباحثين أن مستويات الكلوبيولين المناعي صنف G تتغير بشكل كبير من شخص لآخر . كما وتظهر بعض التغيرات الطفيفة في مستوياتها عند قياسها عدة مرات للشخص نفسه . هذا التغير يعكس الموازنة ما بين عمليات التخليق والهدم داخل الجسم (17). كما اظهرت العديد من الدراسات أن مستويات الكلوبيولينات المناعية بصورة عامة تتغير وذلك لعدة عوامل أهمها العرق (Race) والعمر (Age) والجنس (Sex) والبيئة (Environment) . (18,19)

عصام وسيناء وفارس

كما وجد White وجماعته (19) في دراسة أجريت على مجاميع بشرية طبيعية فأظهرت النتيجة ان البيئة كانت ذات تأثير كبير على مستويات الكلوبولينات المناعية خصوصاً الكلوبولينات المناعية صنف M و G و A. فقد وجد أن في البيئات المختلفة يتواجد مستضدات مختلفة يتعرض لها الافراد الموجودون في كل بيئة . وهذا يحدد مستويات الكلوبولينات المناعية في الافراد ولهذا فمن المتوقع ان الشعوب التي تتعرض إلى بيئات مختلفة يمتلك أفرادها مستويات مختلفة من الكلوبولينات المناعية. هذه القيم كانت أعلى بقليل من المستويات التي سجلتها نفس المجموعة من الباحثين في سلطنة عمان عام 1999 حيث كان مستوى الكلوبولين المناعي صنف G مساوياً الى 14.63 غم/لتر ومستوى الكلوبولين المناعي صنف M كان مساوياً الى 1.14 غم/لتر. وبمقارنة مستويات الكلوبولينات المناعية لدى الافارقة مع مستويات الكلوبولينات المناعية لدى الاوربيين فقد وجد ان المستويات لدى الافارقة اعلى. حيث بلغت لدى الافارقة 19.4 غم/لتر ولدى الاميركيين بلغ مستوى الكلوبولين المناعي صنف G 0.05 غم/لتر . وبلغ المستوى لدى الالمان 11.0 غم/لتر. كما بينت نفس الدراسة ان مستويات الكلوبولينات المناعية الثانوية للصنف G تشهد تغيراً مماثلاً حسب نفس الظروف من العمر والبيئة والجنس(19).

يتضح من الشكل (5) اختبار الانتشار المناعي المزدوج الذي تم اجراؤه ما بين الاضداد المستخلصة والمنقاة وما بين المستضدات التي تم تحفيزها في الارانب عن طريق حقنها بالاضداد ضمن جدول تمنيعي خاص . تدل هذه التجربة على محافظة الاضداد على الفعالية المناعية بعد انتهاء عمليات الفصل والتنقية. تعد هذه التقنية من اكثر التقنيات شيوعاً للتقدير الكمي والنوعي للكلوبولينات المناعية صنف G (18) . إذ يمكن تقدير تركيز الكلوبولين المناعي من سمك الخط الترسيبي المتكون. كما وتستخدم هذه الطريقة لتقدير نقاوة الكلوبولينات المناعية حيث ان ظهور اكثر من خط ترسيبي يشير الى وجود اكثر من مستضد او اكثر من ضد . وتسمى هذه الطريقة بطريقة اوتكرلوني (Ouchterlony Method) ويظهر الخط الترسيبي عند نقطة التوازن في نسبة الضد / المستضد وعادة يكون هذا الخط ضيق وكثيف وطويل وحاد الاطراف اذا كان الضد والمستضد بتركيز ملائم لحدوث التفاعل. وعندما يكون تركيز الضد او المستضد قليلاً جداً او عالياً جداً فان نتيجة التفاعل لا تظهر .





شكل 5- : تمثل الانتشار المناعي المزدوج حيث يظهر خط ترسيبي ينتج عن تفاعل الكلوبيولين

المناعي صنف G المستخلص من المشيمة مع المصل المضاد له.

وإذا كان التركيز الابتدائي للضد أو المستضد يقع ضمن نسبة التوازن فإن الحزمة أو الخط الترسيبي سوف يبقى مستقرًا في مكانه الذي يظهر فيه . أما في حالة وجود زيادة في تركيز احد مكونات النظام (المستضد أو الضد) . فإن الحزمة المتكونة سوف تنتقل بعيداً عن مصدر المستضد المركز . وتكون المسافة أقل في حالة استخدام محلول مخفف من المستضد مقابل نسب ثابت من المصل (20).

### المصادر

1. Abedon, S.T. Basic Principles of Specific Immunity and Immunization, (Chapter 17). Ohio State University. Mansfield, USA. (1999)
2. Djuro, J. and Lim, YP ., Analytical and Preparative Methods for Purification of Antibodies, Food technol. Biotechnol. 39(3)215-226 , Rhode Island Hospital-Brown University , Providence , R.I., USA. (2001)
3. Wilkinson, D. Immunochemical Techniques Inspire Development Of New Antibody Purification Methods . The scientist. Inc.UK.(2000).
4. Wallman, S .Principles Of Downstream Processing. Pennsylvania State University. USA. NHCTC.(1997).
5. Grellet, S ; Martins, E.A.L ; Goncalves V.M ; Lopes A.P.Y ; Raw A and Cresspo J.C.An Associated Process For The Purification Of Immunoglobulin G , Catalase , Suproxide Disomulase and Albumin From Heamolysed Human Placenta Blood .Portland Press ltd. France.(2001).
6. Hudson, L. and Hay F.C. Practical Immunology p.281: 311.Blackwell scientific Publication. Oxford. London.UK.(1989).
7. Blacksher,P.J. Systems for polyacrylamide gel electrophoresis .in. Method in Enzymology .ed. Jakoby,W.B.vol.104:237-256.,Academic Press-New York.USA(1984)

عصام وسيناء وفارس

8. Bradford. M.W. A rapid and Sensitive Method For The Quantities of Protein Utilization, The principle Protein- Dye Binding . Analytical Biochemistry, 72:248-254.(1976).
9. Whitaker, J.R and Granum, P.E . An Absolute Method For Protein Determination Based On Difference In Adsorbance At 235 And 280 nm .Analytical Biochem .109:156-159.(1980).
- 10.Tijssen, P. Practical Theory of Enzyme Immuno Assay. Elsevier. University Of Quebec. Canada.(1985).
- 11.Rybicki, E and Purves, M. SDS Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). University Of Cape Town .(2002).
- 12.Qinwei, S ; Jackowski G . One Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis .in . Gel Electrophoresis Of Proteins . ed.Hams B.D.(1998).
- 13.Flores, J.O. Immunoelectrophoresis. Gale Encyclopedia of Medicine. Gale Group.USA.(2002).
- 14.Haurowitz, F. Special Structure And Function Of Proteins. Encyclopaedia Britanica Article .UK.(2004).
- 15.Wallman, S. Principles Of Downstream Processing. Pennsylvania State University. USA. NHCTC.(1997).
- 16.Goldsby, R.A.; Thomas J.K.; Barbara, A. O. and Janis K. Immunology .3ed Edition:W.H.Freeman and Company.New York , USA.(2003).
- 17.Hatagima, A. Causal Analysis Of The Variability Of IgA , IgG And IgM Immunoglobulin Levels . Wayne State University ProQuest Information and Learning Company.(1999).
- 18.18.Maddison, SE and Reimer, CB. Normative Values Of Serum Immunoglobulins By Single Radial Immunodiffusion. Clinical Chemistry, Vol. 22, 594-601.(1976).
- 19.19.White, A.G ; Al Ryami H.A ; Kuchipudi P and Daar A.S. Immunoglobulins , Immunoglobulin G Subclasses And Complement In Adult Omanis .Ann Saudi Med 17(1):39-42 .(1997).
- 20.Kwapinski, J.B.G. Methodology Of Immuonochemical and Immunological Research. John Wiley & Sons, Inc.(1972).

## عزل بكتريا *Enterococcus gallinarum* ذات مقاومة متعددة للمضادات الحيوية (MDR) من التهابات المجاري البولية

مها مخلف كاظم<sup>1</sup> و د. محمد فرج المرجاني<sup>2</sup> و د. كفاح احمد جاسم<sup>3</sup>

1 و 2 قسم علوم الحياة/ كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

3 مختبر الصحة العامة المركزي بغداد - العراق

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/31 تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

### ABSTRACT

Two isolates of *Enterococcus gallinarum* were collected from 150 urine samples from patients with UTIs and 2 Isolates from 50 stool samples during the period 1/10/2010 to 1/12/2010.

Sensitivity of isolates was tested against 12 Antibiotics. Results revealed that urine isolates were sensitive to Vancomycin and resistant to all other antibiotics, while the stool isolates showed variable in their sensitivity for antibiotics. Vancomycin , Imipinem , Ampicillin , Erythromycin and Tetracyclin were found to be the most effective agents against the isolates.

On the other hand the results showed that 2 isolates were able to produce Metallo  $\beta$  -lactamases (M $\beta$ LS), and none of these isolates were able to produce Extended Spectrum  $\beta$  - lactamases.

Results showed that the *E. gallinarum* isolates not produce enterocin when testing the inhibitory activity against gram positive bacteria such as *E. faecalis* and *Staphylococcus aureus* and gram negative bacteria *Klebsiella pneumonia* and *E. coli*.

The results of conjugation between *E. faecalis* (donor isolate) and *E. gallinarum* (recipient isolate) revealed that transconjugant cells carried multiple antibiotic resistant. in conclusion, Multi Drug Resistant *Enterococcus gallinarum* increased gradually. Continued surveillance is required to prevent further spread of these serious resistances.

### الخلاصة

تم الحصول على عزلتين لبكتريا *Enterococcus gallinarum* من 150 عينة أدرار من مرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية ، وعزلتين من 50 عينة براز من أشخاص أصحاء للمدة من 2010/ 10 / 3 ولغاية 2010/ 12/ 20.

تم اختبار حساسية العزلات تجاه 12 مضادا حيويا ، وقد أظهرت العزلتين المرضية حساسية لمضاد الفانكوميسين ومقاومة لجميع المضادات المستعملة الأخرى ، أما العزلتين من الأصحاء فقد

مها ومحمد وكفاح

تباينت مقاومتها للمضادات أذ كانت مضادات الفانكوميسين والأمبنيوم والأرثرومايسين و الأمبسلين و التتراسايكلين هي الأكثر فعالية تجاهها.

أختبرت قابلية العزلات على إنتاج أنزيمات البييتالاكتاميز المعدنية وواسعة الطيف وانتاج الانزيم الحال للدم , وقد أظهرت عزلتها الأدرار قابليتها على انتاج أنزيمات البييتالاكتاميز المعدنية وكانت جميع العزلات الأربعة منتجة للانزيم الحال للدم , بالمقابل كانت جميع العزلات غير منتجة لأنزيمات البييتالاكتاميز واسعة الطيف.

تم التحري عن إنتاج الانتروسين عن طريق اختبار الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا *Enterococcus gallinarum* تجاه بكتريا الاختبار الموجبة لصبغة غرام *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* والسالبة لصبغة غرام *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* , لم تظهر هناك فعالية تثبيطية لبكتريا *Enterococcus gallinarum* تجاه أي من عزلات الاختبار أعلاه.

أظهرت نتائج الاقتران نجاح الاقتران بين العزلة المانحة *Enterococcus faecalis* والعزلة المستلمة *Enterococcus gallinarum* وقد أظهرت الخلايا المقترنة مقاومتها لعدد من المضادات الحيوية .

### المقدمة

تصنف بكتريا *Enterococcus gallinarum* ضمن عائلة *Enterococcaceae* وهي تعد جزء من النبيت الطبيعي (Normal microflora) للإنسان (1) ، والحيوانات كالبائث والطيور والحشرات (2) ، فضلا عن أماكن عزلها من اللحوم بأنواعها ومنتجات الألبان والحليب الخام (3) ، تكون خلاياها مكورة موجبة لصبغة كرام ذات قطر 0.5 - 1 مايكروميتر تترتب بشكل مكورات مفردة او أزواج او سلاسل قصيرة او مكورات عصوية (4).

تسبب بكتريا *Enterococcus gallinarum* أصابات للمرضى الراقدين في المستشفيات لمدة طويلة ، الذين يعانون من أمراض صحية خطيرة ومزمنة و الذين يتلقون العلاج الطويل بالمضادات الحيوية مثل مرضى وحدة العناية المركزة و المرضى الذين يعانون من ضعف المناعة (Immunocompromised patients) وبالأخص المرضى الذين لديهم عجز كلوي و المصابين بالاورام السرطانية والذين اجريت لهم عمليات زرع الاعضاء ،وهي تسبب التهاب شغاف القلب والتجرثم الدموي والتهابات المجاري البولية (1).



تمتلك المكورات المعوية مقاومة ذاتية ( Intrinsic Resistance ) للعديد من المضادات الحيوية الشائعة الاستعمال والتي تسمح لها على المدى البعيد باكتساب جينات تشفر لمستوى عالٍ من المقاومة للمضادات الحيوية من مجموعة Aminoglycosides و  $\beta$ -Lactam و Quinolones و Erythromycin و Tetracyclin و Chloramphenicol ، وموخرًا عزلت أنواع مقاومة لمضاد الـ Vancomycin والمسؤولة عن الاخماج الحاصلة في المستشفيات ( 5 ) و ( 6 )، فضلا عن امتلاكها المقاومة المكتسبة (Acquired Resistance) من جراء العناصر الوراثية المتحركة مثل البلازميدات والجينات القافزة (Transposones) و تبادل القطع الكروموسومية او حصول طفرات، قد تحصل عند تماسها مع البكتيريا المعوية المتواجدة معها في أسفل القناة الهضمية للإنسان والحيوان وخاصة تلك الانواع التي تحمل جينات تشفر للمقاومة للمضادات الحيوية والتي لها القابلية على الانتقال بآليات مختلفة او أدت الى اكتسابها لجينات المقاومة من أجناس أخرى وخاصة *Staphylococcus* (7). تعد الدراسات المحلية عن النوع *Enterococcus gallinarum* قليلة جدا ان لم تكن معدومة لذا جاءت هذه الدراسة لتهدف الى إجراء دراسة أولية عن هذه البكتيريا ومعرفة مقاومتها لمضادات الحياة وأمتلاكها لبعض عوامل الضراوة.

### المواد وطرائق العمل

#### • العزلات البكتيرية :

تم جمع 150 عينة أدرار من مرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية ، و 50 عينة براز من أشخاص أصحاء للمدة من 3 / 10 / 2010 ولغاية 20 / 12 / 2010 لغرض التحري عن بكتيريا *Enterococcus gallinarum* . بعد زرع العينات تم تشخيص العزلات اعتمادا على الفحوصات المظهرية والكيموحيوية التي وردت في (8) وأستعمال Rapid API 32S وقرأت النتائج بأستعمال جهاز mini API في التشخيص النهائي للعزلات.

#### \* اختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية :

أختبرت حساسية العزلات للمضادات الحيوية بطريقة الاقراص باستخدام وسط آكار مولر هنتون علماً إن أقراص المضادات الحياتية المستخدمة هي :

Ampicillin (AM 10 $\mu$ g) , Vancomycin (VA 30 $\mu$ g , Rifampicin ( RA 5  $\mu$ g ) , Oxytetracycline ( T 30  $\mu$ g) , Erythromycin (E 15 $\mu$ g) , Cefipeme (FEP 30  $\mu$ g) , Streptomycin ( S 10 $\mu$ g) , Oxacillin (OX 1  $\mu$ g) , Imipenem ( IMP 10 $\mu$ g) , Azlocillin ( AZL 75  $\mu$ g ) , Ofloxacin ( OFX 5  $\mu$ g) and Mecillinum ( MEC 10  $\mu$ g).



### - إختبار التحري عن إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBLs)

استعملت طريقة الأقراص المتاخمة (Disc approximation) للتحري عن أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف وحسب ما ورد في (9).

- أختبار قابلية العزلات على إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز المعدنية :-  
أعتمدت طريقة Yong وجماعته (10) لأختبار قابلية العزلات على إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز المعدنية، أذ تم تحضير عالق بكتيري (10<sup>6</sup> خلية/مل) لكل عزلة تحت الاختبار ثم فرشت على وسط مولر هنتون الصلب، بعدها وضع قرصين لمضاد الامينيم (10 مايكروغرام/قرص) على سطح الاكار . نقل (10) مايكروليتر من محلول EDTA (المحضر بتركيز 0.5 مولر) الى أحد قرصي مضاد الأمينيم ، وبعد الحضان ب 37 °م لمدة 18 ساعة تم مقارنة مناطق التثبيط حول قرص الامينيم لوحده و الامينيم مع EDTA.

- الكشف عن قابلية العزلات على إنتاج الانتروسين  
لغرض التحري عن قابلية العزلات على إنتاج الانتروسين أتبعنا طريقة اقراص الاكار (Cup agar) وحسب الطريقة المذكورة في (11) .

- الكشف عن قابلية العزلات على إنتاج الهيموليسين  
أختبرت قابلية العزلات البكتيرية على إنتاج الانزيم الحال للدم بزرع وسط اكار الدم الاساس المحضر بلقاح عزلات بكتريا *E. gallinarum* بطريقة التخطيط والطعن في الوسط الزرع، حضنت الاطباق في درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة، لوحظ بعدها تكون مناطق تحلل شفافة حول المستعمرات البكتيرية دلالة على ايجابية الفحص (8).

- الاقتران البكتيري  
أجريت تجارب الاقتران البكتيري بين بكتريا *E. faecalis* ( المقاومة للفانكوميسين والمعزولة في دراسة اخرى للباحث نفسه) كعزله واهبة والعزلة *E. gallinarum* الحساسة للفانكوميسين كعزله

مستلمة لأختبار قابلية بكتريا *E. gallinarum* على الاقتران مع الأنواع الأخرى ومعرفة الصفات التي من الممكن ان تنتقل لها ، وأجريت تجارب الاقتران على الوسط الصلب حسب طريقة (12).

### النتائج والمناقشة

تم الحصول على عزلتين لبكتريا *Enterococcus gallinarum* من 150 عينة أدرار من مرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية ، وعزلتين من 50 عينة براز من أشخاص أصحاء للمدة من 3 / 10 / 2010 ولغاية 20 / 12 / 2010 ( جدول 1).

جدول - 1 : الاعداد والنسب المئوية لعزلات بكتريا *Enterococcus gallinarum* قيد الدراسة

مصدر العزل	عدد العينات	عدد العزلات	نسبة عزلها من العينات المعتمدة لكل مصدر %
التهابات المجاري البولية	150	2	1.33
براز أصحاء	50	2	4

أظهرت نتائج التشخيص باستعمال Rapid API 32S قابلية عزلات بكتريا *Enterococcus gallinarum* على تخمير ألمانيتول والكلوكوز والأرايبنوز والرافينوز ، وغير مخمرة للسوربيتول وبذلك يتميز هذا النوع عن الأنواع الأخرى التي تعود لجنس *Enterococcus* ، وهو متحرك غير منتج للصبغة الصفراء (8) .

بلغت نسبة عزل بكتريا *Enterococcus gallinarum* من عينات الأدرار في دراستنا الحالية (1.33%) ، نسبة العزل هذه تتفق مع ما توصل له (1) و (13) من نسبة عزل قليلة لهذا النوع البكتيري من الحالات السريرية .

أظهرت العزلتين المرضية حساسية لمضاد الفانكوميسين ومقاومة لجميع المضادات المستعملة الأخرى ، أما العزلتين من الأصحاء فقد تباينت مقاومتها للمضادات إذ كانت مضادات الفانكوميسين والأمينيم والأثرثروميسين و الأمبسلين و الأوكسي تتراسايكلين هي الأكثر فعالية تجاهها ( جدول 2).

## جدول - 2 : حساسية عزلات الدراسة للمضادات الحيوية المستعملة.

### المضادات المستعملة

العزلة	AM	VA	RA	T	E	FEP	S	OX	IMP	AZL	OFX	MEC
Egu1	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Egu2	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Egs3	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Egs4	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R

R = مقاومة S = حساسة / رموز المضادات وتراكيزها مفصلة في طرائق العمل

*Enterococcus gallinarum* = Egu1 من الأدرار

*Enterococcus gallinarum* = Egu2 من الأدرار

*Enterococcus gallinarum* = Egs3 من براز الأصحاء

*Enterococcus gallinarum* = Egs4 من براز الأصحاء

أشار ( 14 ) الى وجود مقاومة في انواع من بكتريا *Enterococcus* لمضادي Imipenem و Ampicillin بشكل واسع في السنوات الاخيرة لحدوث طفرة نقطية (Point Mutation) في الموقع الفعال للحامض الاميني Pro 520 Ser و Tyr 605 His في البروتينات المرتبطة بالبنسلين من نوع PBP4 مما قاد الى قلة كفاءة ارتباط المضاد الحيوي مع هذه البروتينات . وتعود مقاومتها لمضاد Erythromycin لامتلاكها جينات محمولة على بلازميدات او جينات قافزة تنتشر بين الأنواع المختلفة ( 15 ).

أظهرت جميع عزلات الدراسة مقاومة متعددة للمضادات الحيوية ، فقد قاومت 7 الى 11 مضادا حيويا . أشار ( 16 ) ان العديد من الأنواع البكتيرية ومن ضمنها التي تعود لجنس *Enterococcus* قد طورت آليات للمقاومة المتعددة للمضادات الحيوية مما جعلها إحدى مسببات الاخماج الحاصلة بالمستشفيات اذ عزلت نسبة عالية من هذه البكتريا تمتلك صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية وخاصة المضادات الحيوية المستعملة للبكتريا الموجبة لصبغة غرام.

ويكمن الخطر في العزلات التي أكتسبت مقاومة متعددة للمضادات الحيوية في تحديد الدواء الامثل للعلاج وخاصة العلاج الخلطي الذي يتضمن اكثر من نوع من المضادات الحيوية . أختبرت قابلية العزلات على أنتاج أنزيمات البييتالاكتاميز المعدنية وواسعة الطيف وانتاج الانزيم الحال للدم ، وقد أظهرت عزلتي الأدرار قابليتها على انتاج أنزيمات البييتالاكتاميز المعدنية وكانت جميع العزلات الأربعة منتجة للانزيم الحال للدم ، بالمقابل كانت جميع العزلات غير منتجة لأنزيمات البييتالاكتاميز واسعة الطيف.



عزلت بكتريا *Enterococcus* منتجة لأنزيمات البيبتالاكتاميز لأول مرة سنة 1981 وكانت من عينات الأدرار ، بعدها عزلت مثل تلك السلالات في مختلف دول العالم، وقد وجد ان الجين *blaZ* في بكتريا *Enterococcus* مماثل لجين *blaZ* في بكتريا *S.aureus* وهو محمول على بلازميد اقتراني (8).

تم التحري عن انتاج الانتروسين عن طريق اختبار الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا *Enterococcus gallinarum* تجاه بكتريا الاختبار الموجبة لصبغة غرام *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* والسالبة لصبغة غرام *Eschrechia coli* و *Klebsiella pneumonia*. لم تظهر هناك فعالية تثبيطية لبكتريا *Enterococcus gallinarum* تجاه أي من عزلات الاختبار أعلاه.

أظهرت نتائج الاقتران حدوث اقتران بين عذلة من بكتريا *E.faecalis* المقاومة لمضاد الفانكوميسين كعذلة واهبة مع العذلة *E. gallinarum* كعذلة مستلمة بطريقة الاقتران على الوسط الصلب ، وقد لوحظ انتقال صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية الى الخلايا الاقترانية ومن بينها مضاد الفانكوميسين .

تعد عملية الاقتران البكتيري احدى الطرائق الشائعة لانتقال الجينات بين انواع جنس المكورات المعوية المختلفة ، او قد تنتقل الجينات الى اجناس اخرى من البكتريا قد تكون موجبة او سالبة لملون غرام (17).

وجد ( 18 ) في دراسة له اجراها في الدنمارك على حيوانات مختبرية ان جين *vanA* يتوسط المقاومة للكلايكوبيبتات ويكون منتشرا بين سلالات المكورات المعوية ومرتبطة وراثيا مع جين المقاومة للماكروليدات *erm B* وهذه الجينات محمولة على بلازميد اقتراني كبير الحجم. كما وجد ان بكتريا *E.faecalis* والمعزولة من البراز حاوية على بلازميد اقتراني يحمل جينات تشفر للمقاومة لمضادي Vancomycin و Erythromycin ( 19 ) ، وأكد (20) على قابلية النوع *E. gallinarum* على اكتساب جين مقاومة الفانكوميسين بعملية الاقتران البكتيري من بكتريا *E.faecalis*.

مها ومحمد وكفاح

### المصادر

- 1) Dargere, S. ; Vergnaud, M. ; Verdon, R. ; Saloux, E. ; Leclercq, R. and Claude Bazin ,C. *Enterococcus gallinarum* Endocarditis Occurring on Native Heart Valves . J. of Clinic. Microbiol, 40( 6) : 2308-2310, (2002).
- 2) Hayes, J.R. ; English, L.L. ; Cartev, P.J. ; Proescholdt, T. and Lec, K.Y. Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from retail meats. Appl. Environ. Microbiol. 69(12) : 7153–7160 ,(2003).
- 3) Hickey,R.M. ; Twomey,D.P. ; Ross,R.P. and Hill,C. Production of enterolysin A by a raw milk enterococcal isolate exhibiting multiple virulence factors.Microbiol.,149:655- 664, (2003).
- 4) Forbes, B.A. ; Sahm, D. F.and Weissfeld, A. S. Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. 11<sup>th</sup> edition, Mosby, Company Baltimore. USA , (2002).
- 5) De-Niederhausven, S. Sabia, C. ; Messi, P. ; Guerrieri, E. ; Manicardi, G. and Bondi, M. Glucopeptide resistance transferability from vancomycin-resistant enterococci of human and animal source to *Listeria* spp. Lett. Appl. Microbiol. 39(6): 483–490 , (2004).
- 6) Novais, C. ; Coque, T.M. ; Ferrerira, I.T . ; Sousa, J.C and Peixe, L. Environmental contamination with vancomycin–resistance enterococci from hospital sewage in Protagal. Appl. Environ. Microbiol. 71(6): 3364-3368,(2005).
- 7) Corso, A., Faccone, D., Galletti, P., Togneri, A., Lopardo, H., Melano, R., Rodriguez, V., Rodriguez, M. & Galas, M. First report of VanA *Enterococcus gallinarum* dissemination within an intensive care unit in Argentina. *Int J Antimicrob Agents* 25, 51–56,(2005).
- 8) Gillespie ,S.H. and Hawkey , P.M. Principles and Practice of Clinical Bacteriology , Second Edition , John Wiley & Sons Ltd ,(2006).
- 9) Jarlier,V.;Nicolas,M.H.;Fournier,G. and Philippon,A.Extended Spectrum Beta Lactamase Confering transferable resistance.Rev.Infect.Dis.4:867-878,(1988).
- 10) Yong, D.; Lee, K.; Yum, K.; Shin, H.; Rossolini, G. and Chong Y . Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo-β-Lactamase-



Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J. of Clinic. Microbiol., 40(10):3798-3801, (2002).

11) القصاب، عبد الجبار عمر والخفاجي، زهرة محمود. تأثير الظروف المختلفة على الفعالية التثبيطية للعصيات اللبنية المعوية تجاه البكتريا المعوية المسببة للإسهال. مجلة العلوم الزراعية العراقية. Vol (123) no (7): 18-26, (1992).

12) Shiono, A. and Ike, Y. Isolation of *Enterococcus faecalis* clinical isolates that efficiently adhere to human carcinoma T24 cells and inhibition of adhesion by fibrenoctin and types in treatment. Infect. Immun. 67(4): 1585-1592, (1999).

13) Reid, K. C., Cockerill, F. R. and Patel, R. Clinical and epidemiological features of *Enterococcus casseliflavus/flavescens* and *Enterococcus gallinarum* bacteremia: a report of 20 cases. Clin. Infect. Dis. 32:1540-1546, (2001).

14) Seiji. O. ; Muratani, T. and Matsumoto, T. Mechanisms of resistance to imipenem and ampicillin in *Enterococcus faecalis* Antimicrob. Agent. Chemother. 4 (7) : 2954-2958, (2005).

15) Murray, B-E. Diversity among multi - drugs resistance enterococci. Emerg. Infect. Dis. 4 (1) : 37 - 47, (1998).

16) Franz, C. M . A . ; Muscholl-Silberborn, A . B . ; Yousif, N . M . K . ; Vancannety, M. ; Swings, J. and Holzapfel, W. H. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among *Enterococcus* isolated from food. Appl. Environ. Microbiol. 67(9): 4385-4389, (2001).

17) Hirt, H. ; Manias, D.A. ; Bryon, E.M. ; Klein, J.R. ; Marklund, J.K. ; Staddon, J.H. ; Paustian, M.L. ; Kapur, V. and Dunny, G.M. Characterization of the pheromone response of the *Enterococcus faecalis* conjugation plasmid pCF10 : Complete sequence and comparative analysis of the transcriptional and phenotypic responses of pCF10 containing cell to pheromone induction. J. Bacteriol. 187(3): 1044-1054, (2005).

18) Bager, F. ; Arestrup, F.M. ; Mandsen, M. and Wegener, C. Glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from broilers and pigs following discontinued use of a voparcin . Microb. Drug . Resist. 5:53-56, (1999).

سها ومحمد وكفاح

19) Del-Campo, R. ; Tenorio, C ; Jimmez-Diaz, R. ; Rabio , C. ; Gomezlus, R. ; Baquero, F. and Torres, C . Bacteriocin production in vancomycin resistant and vancomycin-susceptible *Enterococcus* isolates in different origins. Antimicrob. Agent. Chemother. 45(3): 905-912,(2001).

20) Camargo,I.L.B.;Barth,K.;Pilger,K.;Seligman,B.G.S.;Machado,A.R.L. and Darini,A.L.C. *Enterococcus gallinarum* carrying the Van a gene cluster :first report in Brazil, Braz.J.Med.Biol.Res..37(11):1669-1671.(2004).

## استخدام طريقتان مختلفتان لعزل أنواع بكتريا البروسيلا وتحديد أنماطها الحيوية السائدة وبعض من عوامل ضراوتها

سوسن ساجد الجبوري\* وأمنة نعمة ثويني\*\* وأسماء عزت النعيمي\*\*\*

\*قسم علوم الحياة - كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

\*\*معهد الهندسة الوراثية / جامعة بغداد

\*\*\*قسم العلوم - كلية التربية الأساسية / الجامعة المستنصرية

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/27

### ABSTRACT

In this study, 15 isolates of *Brucella* spp were obtained out of 200 infaceted cases (7.5%) . The isolation process were done using two different methods , the first one included addition 5 ml of the collected blood samples directly two Castaneda bi – physic broth in the present of 5-10% CO<sub>2</sub> , followed by culturing on Blood and *Brucella* agar in case of turbidity appearance. In the second method , the blood samples were initially subjected to 2% citrated saline then vey were washed 3 times with sterile distilled water before the step of culturing on the above media . the second method characterized by reducing the time of bacterial growth . All the isolates gave a positive agglutination result using *Brucella* positive serum . *Brucella* biotyping tests showed that 4 isolates out of 15 (26.6%) had the ability to grow in present of 5-10 % CO<sub>2</sub>, 8 isolates (53.3%) had the ability to produce hydrogen sulphide . All the isolates were growing on media containing basic fuchsin dye while the results were varied with thionin dye. All isolates appeared the smooth phase in which no agglutination happened with acriflavine solution . The results indicated that *B. abortus* spread more than *B. melitensis* as 9,6 isolates out of 15 (60,40%) respectively .For the first species, biovar 3,6 were more spread as 4 isolates for each followed by biovar 5(one isolate ),while for *B.melitensis* only biovar 2,3were detected as 4 and 2 isolates respectively. All the isolates gave negative results for all detected virulence factors including , hemolysin production , lecithinase , DNase and thermonuclease.

### الخلاصة

أمكن في هذه الدراسة عزل 15 عذلة من بكتريا البروسيلا من مجموع 200 إصابة (7.5%) وتمت عملية العزل بطريقتين تضمنت الأولى إضافة 5 مليلتر من الدم المسحوب من المرضى مباشرة إلى

سوسن وأمنة وأسماء

الوسط كاستينيدا ثنائي الطور السائل (Castaneda bi – physic broth) بوجود 5-10 % من غاز  $CO_2$  المتبوع بالزراعة على وسطي أكار البروسيلا والدم في حالة ظهور عكورة في الوسط الأول. فيما تضمنت طريقة العزل الثانية إضافة خطوة قبل المباشرة بالزرع على الأوساط الزرعية أعلاه إذ عرضت عينة الدم المسحوبة لمحلول 2% السترات الملحي تلاه 3 مرات عملية غسل بالماء المقطر للخلايا المرسبة. لقد كانت الطريقة الثانية أكثر سرعة في إظهار نمو البكتريا على الأوساط الزرعية. أظهرت جميع العزلات تالزنا ايجابيا مع المصل الموجب عال العيارية للبروسيلا. فيما بينت نتائج تنميط العزلات بأن هناك 4 من مجموع 15 (26.6%) لها قابلية النمو عند توفير غاز  $CO_2$  و 8 عزلات (53.3%) لها قدرة إنتاج كبريتيد الهيدروجين، وتمكنت كل العزلات من النمو في الوسط الحاوي صبغة الفوكسين القاعدي في الوقت الذي تباينت نتائج النمو بوجود صبغة الثايونين. كما وكانت جميع العزلات في الطور الأملس إذ لم تظهر تالزنا مع محلول الاكريفلافين. أكدت الدراسة سيادة النوع *Brucella abortus* على النوع *Brucella melitensis* بواقع 9، 6 عزلات من مجموع 15 (60%) على التوالي، وكان biovar 6، 3 للنوع الأول اوسع انتشارا بواقع 4 عزلات لكلا منهما تالهما biovar 5 بواقع عزلة واحدة. أما النوع *B. melitensis* فتوزع بين biovar 2، 3 بواقع 4، 2 عزلة على التوالي. أبدت جميع العزلات سالبيتها لمعظم عوامل الضراوة متمثلة بأنزيمات الهيمولايسين، ولليستيز، والانزيم المحلل للدنا الحراري وغير الحراري.

## المقدمة

يعد مرض البروسيلوسز او داء البروسيلات (Brucellosis) أو حمى مالطا (Malta fever) الذي تسببه البروسيلا من الأمراض الخطيرة واسعة الانتشار في أجزاء عديدة من العالم إذ لا يوجد بلد تقريبا إلا وسجلت فيه حالات من الإصابة سيما في أقطار البحر المتوسط والشرق الأوسط، ويعد من أهم الأمراض المشتركة التي تصيب الإنسان والحيوان على حد سواء مؤديا إلى حدوث خسائر اقتصادية كبيرة في الثروة الحيوانية فضلا عن تأثيره على الصحة العامة للإنسان كونه مرضا متعدد الإصابة في الأجهزة الجسمية (Multisystematic disease) (1,2). ينتقل المرض من الحيوان إلى الإنسان بطرائق عدة منها التماس المباشر مع الحيوان المصاب أو مع مخلفاته أو نتيجة استهلاك الحليب غير المبستر ومشتقاته الملوثة فضلا عن اللحوم الملوثة ونادرا ما ينتقل المرض من إنسان مصاب إلى سليم إلا في حالات كنقل الدم، الاتصال الجنسي فضلا عن إصابة الأطفال حديثي الولادة إذ تكتسب الإصابة عبر المشيمة (3). يضم جنس البروسيلا سبعة أنواع اعتمادا على التباين الاستضادي (antigenic variation) والمضيف الأولي (primary host)، ويعد النوعان *B. abortus* و *B. melitensis* هما الأكثر شيوعا (4). تحتاج عملية عزل البروسيلا من دم

المصاب إلى سحب عينة دم تضاف مباشرة إلى أوساط أغنائية سائلة مع توفر غاز ثاني اوكسيد الكربون نسبة 5-10% وحضانة بدرجة 37م° لمدة لأقل من ثلاثة أيام ، ويستعمل لهذا الغرض عدة أوساط مثل وسط كاستينيدا ثنائي الطور أو وسط التريتوز السائل أو وسط مصل- كلوكوز السائل وفي حال ظهور عكورة ونمو في الوسط يتم الزرعة على اوساط صلبة يأتي في مقدمتها وسط اكار البروسيلا (5). تظهر مستعمرات البروسيلا بعدة أشكال أو أطوار فهناك المستعمرات الملساء (أو الطور الأملس) وكذلك المستعمرات الخشنة والمتوسطة والمخاطية ويمكن التمييز بين هذه الأنواع من المستعمرات باستعمال فحص الاكريفلافين على الشريحة الزجاجية إذ يبدي كل نوع من الأنواع الأربعة تلافنا مختلفا عن الآخر (5). تمتاز بكتريا البروسيلا بأمراضيتها الشديدة للإنسان ، وتبدأ الإصابة بطورها الحاد بعد حضانة ما بين 5- 60يوما وبأعراض سريرية عديدة أهمها الحمى التي ترتفع ليلا فضلا عن إلام المفاصل والعضلات وغيرها ، وفي حال عدم علاجها بالمضادات فيمكن أن تتحول الإصابة للطور المزمن (6). يعد متعدد السكريد الشحمي هو عامل الضراوة الأهم فيها (7). لقد هدفت هذه الدراسة إلى عزل بكتريا البروسيلا بطريقتين مختلفتين ، ثم تحديد أهم الأنماط الحيوية السائدة في العراق فضلا عن التحري على وجود عدد من عوامل الضراوة من غير متعدد السكريد الشحمي .

### المواد وطرائق العمل

• **جمع عينات الدراسة :** جمعت 250 عينة دم من مرض مشتبه بإصابتهم بمرض البروسيلوسز من بعض مستشفيات بغداد للفترة من نيسان - تشرين ثاني 2004 في الإعراض البادية على المرضى منها الحمى، الم الرأس ، الخمول، التعرق ، التهاب المفاصل والظهر. سحب لهذا الغرض 3 ملليتر من دم المريض ثم نبذ بالمنبذة بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة فصل بعدها المصل في أنبوبة نظيفة .

• **فحص التحري عن الإصابة بالبروسيلوسز :** أجريت لهذا الغرض الفحصين المصليين التاليين

- 1 - فحص الروزينكال : مزج 0.03 ملليتر من مصل المرضى مع كمية مماثلة من العدة التشخيصية الخاصة متمثلة بالمستضد المتكون من عالق مركز من بكتريا *Brucella abortus* S99 المقتولة حراريا وبوجود 0.05% فينول . مزجت القطرتان ولوحظ حصول تلزن من عدمه كدلالة على ايجابية الفحص (8).

- 2- فحص 2- مركابتوايثانول (2 mercaptoethanol) : اجري كفحص تأكدي على نماذج مصول المرضى الذين أعطوا نتيجة موجبة في الفحص السابق وباعتماد عدة تشخيصية خاصة . عد الفحص موجب عند حصول تلزن مع كاشفي 1,2 الخاصة بالاختبار وكدليل على كون الإصابة مستمرة بالمريض.



سوسن وأمنة وأسماء

• **عزل البكتريا :** اعتمادا على ايجابية الفحوص أعلاه ، أعيد سحب 10 مليلتر من المرضى المصابين ، وجرى عزل البكتريا بطريقتين مختلفة . اعتمد في الأولى حقن 4-5 مليلتر من الدم المسحوب مباشرة في حاوية فيها وسط كاستينيدا ثنائي الطور ثم حضنت بدرجة 37<sup>0</sup>م مع توفير 5-10 % غاز CO<sub>2</sub> . في حالة ظهور عكورة بعد 3-4 أيام ، سحب 2-3 قطرات من المزروع لتلقيح وسطي أكار البروسيلا و أكار الدم . رقت الإطباق للتحري عن نمو البكتريا . في طريقة العزل الثانية ، أجريت بعض الخطوات الإضافية والتي سبقت خطوة الزراعة على وسط الكاستينيدا ثنائي الطور وفيها عرض 4-5 مليلتر من الدم المسحوب إلى محلول 2% سترات ملحي ثم نبذ الخليط لمدة نصف ساعة بسرعة 2500دورة / الدقيقة أعيدت خطوة الغسل لثلاث مرات متتالية . اتبعت بعدها الخطوات نفسها المذكورة في الطريقة الأولى (7) .

• **تشخيص البكتريا :** أجريت عدد من الفحوص المورفولوجية والبايوكيميائية (9) لتشخيص العزلات التي تمكنت من النمو على وسط اكارالبروسيلا في الخطوة السابقة ، ومن ضمن هذه الفحوص التصبيغ بصبغة كرام وصبغة زيل - نيلسن المحورة (modified ziehl- Neelsen stain) .

• **التشخيص المصلي لبكتريا البروسيلا :** اعتمدت طريقة Alton وجماعته (5) وفيها وضعت قطرة من مصل البروسيلا الموجب (Brucella positive serum) وأخرى من مصل البروسيلا السالب (Brucella negative serum) على شريحة زجاجية كلا على حدا . مزجت مستعمرة نقية من البكتريا مع كل قطرة ثم لوحظ حصول تلازن مع المصل الموجب دون السالب كدليل على كون المستعمرة هي بروسىلا .

• **اختبارات التتميط الحيوي :** حددت الأنماط الحيوية للبكتريا حسب (10) ، واعتمد فيها عدد من الفحوص منها اختبار إنتاج كبريتيد الهيدروجين ، إنتاج إنزيم اليوريز ، الحاجة لتوفير غاز CO<sub>2</sub> ، النمو بوجود بتركيز مختلفة الصبغتين الفوكسين القاعدي والثايونين وأخيرا فحص تحديد النمط الحيوي باستعمال المصل الأحادي الخاص بالنوعين *B.abortus* و *B.melitensis* .

• **اختبار تمييز طور مستعمرات البكتريا :** حدد طور مستعمرات البكتريا سواء كانت مستعمرات خشنة ، ملساء ، مخاطية أو متوسطة باستعمال اختبار التلازن مع محلول الاكريفلافين (Acriflavine test) إذ دل ظهور تلازن سريع إلى كون المستعمرات في الطور الخشن إما عدم حدوثه فانه دليل على أنها بالطور الأملس إما التلازن القليل فدليل كونها في الطور المتوسط وأخيرا يدل ظهور التلازن بشكل خيوط على أنها بالطور المخاطي (5) .

• **التحري عن عوامل الضراوة :** أجريت عدد من اختبارات التحري عن بعض عوامل الضراوة وشملت الكشف عن إنتاج الهيمو لايسين على وسط اكار الدم (9) ، إنتاج انزيم اللستينز بوسط مح البيض

(Egg-yolk agar) ، التحري عن إنتاج الإنزيم المحلل للدنا (DNase) باستخدام وسط أكار الدناز (DNase agar) وفحص انزيم الثرمونوكليز (Thermo nucleases) (12).

### النتائج والمناقشة

أوضحت نتائج الدراسة الحالية إلى ارتفاع نسبة الإصابة بمرض البروسيلوسز إذ سجلت ورود 200 حالة موجبة من مجموع 250 (80%) بعد إجراء فحص الروزبنكال ، ولقد سجل تشابه الأعراض المرضية لدى المصابين متمثلة بارتفاع الحمى (حرارة ما بين 37.5 - 40م°) سيما في الليل عند جميع المرضى يصاحبها قشعريرة كما وكانت الام المفاصل والركبة والتعرق الشديد من الاعراض الملازمة لاغلبهم حسب ما ورد في الاستبيان الذي اعطي لكل مريض . اشار عدد من الباحثين (13) الى حدوث اعراض اخرى مثل التهاب المفاصل الحاد والام الظهر وتضخم الكبد والطحال عند 104 مصاب بالبروسيلوسز شملتهم الدراسة سيما في الطور الحاد للمرض اما اعراض الإصابة المزمنة فتتمثل بالحمى عضلي ، انزعاج اثناء الحركة وصعوبة المشي وحمى متقطعة (14). سجلت الدراسة الحالة ورود حالة واحدة لالتهاب شعاف القلب بعد تشخيصها عن طريق الفحص بالايكو (Echocardiographic examination) غليه يمكن القول ان المرض متعدد الاصابة للاجهزة الجسمية .تعد طريقة الفحص بالروزبنكال من الطرق المعتمدة للكشف عن الاصابة كما وانها توفر مسحا اوليا لاعداد المصابين لحساسيته العالية اذ انه يكشف حتى عن المستوى الواطئ من الاجسام المضادة . يوضح جدول (1) توزيع المصابين حسب الفئات العمرية والجنس اذ سجلت ورود 116 حالة اصابة للاناث (58%) مقابل 84 للذكور (42%) ، وتراوح اعمارهم من 7-62 سنة حسب ما ورد في الاستبيان وكانت الفئة العمرية من 20-29 هي الاكثر تسجيلا للاصابة تلتها الفئة 30-39 ولكلا الجنسين وهذا طبيعي كون هاتين الفئتين تمثل فئة الشباب وفيها يكثر تناول الاطعمة خارج المنزل . جاءت نتائج الدراسة الحالية متوافقة مع دراسات اخرى (15) اجريت في المملكة العربية السعودية .

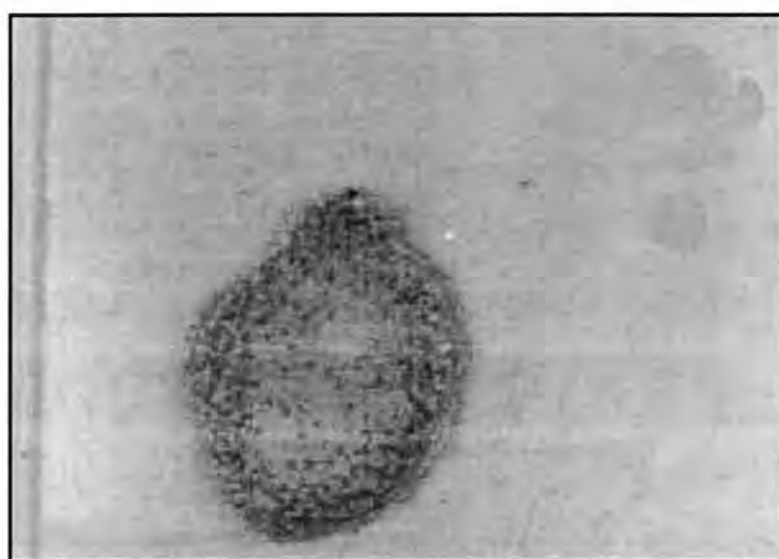
جدول 1- توزيع العينات حسب العمر والجنس

العدد الكلي %		الجنس				الفئة العمرية بالسنوات
		الذكور		الإناث		
				نتيجة موجبة	المفحوصة	
(نتيجة موجبة)		نتيجة موجبة	المفحوصة	نتيجة موجبة	المفحوصة	
0.5	1	1	2	0	4	9-0
7	14	6	9	8	10	19-10
51.5	103	40	61	63	65	29-20
31.5	63	29	30	34	38	39-30

سوسن وأمنة وأسماء

8	16	7	14	9	10	49-40
0.5	1	1	3	0	1	59-50
1	2	0	1	2	2	69-60
80	200	84**	120	116*	130	المجموع
		29.5		29.4		:متوسط العمر
		%42		%58		النتيجة الموجبة لفحص الروزينكال

\*أكبر عمر من المصابات كان 62 سنة. \*\*أصغر عمر من المصابين كان 7 سنوات.  
عند اجراء فحص 2-مركابتوايثانول ظهرت نتائج تشير لوجود حالات اصابة بالطور الحاد واخرى بالمزمن اذ انه حدث تلزن مع كاشف 1 (Reagent 1) في 160 حالة (80%) وهذا يدل على احتمالية ان الاصابة بطورها الحاد او لوجود بقايا لاجسام مضادة صنف M سيما بعد شفاء المرض ، وفي الوقت الذي حدث تلزن مع كاشفي 1 او 2 (Reagent 1+ Reagent 2) في 40 حالة (20%) وهذا دليل الاصابة بطورها المزمن (شكل 2) نتيجة وجود الاجسام المضادة صنف M او صنف G اذ ترتفع مستويات وتركيز الاجسام المضادة سيما G خلال ثلاث اسابيع بعد بداية الاصابة الحادة مسجلة اعلى مستوياتها خلال 6-8 اسابيع (6).



شكل 1- : فحص 2- مركابتوايثانول لعينة مصل لشخص مصاب بالطور المزمن للمرض.

لغرض عزل البكتريا من دم الاشخاص المصابين ، اعتمدت عينات الدم لهذا الغرض وذلك لصعوبة الحصول على عينات من الغدد اللعابية او نقي العظم او من السائل المفصلي الزلالي فضلا عن سائل النخاع الشوكي . استخدم لهذا الغرض وسط كاستينيديا ثنائي الطور وهو من الاوساط شائعة الاستعمال في مرحلة العزل الاولى مع توفير نسبة 5-10 % غاز  $CO_2$  . امكن في هذه الطريقة الحصول على 15 عزلة من مجموع 200 حالة (7.5%) كان منها 14 حالة مصدرها الاصابة بالطور الحاد للمرض من اصل 160 عينة (8.7%) في الوقت الذي عزلت واحدة فقط من الطور المزمن من اصل 40 (2.5). يوضح جدول (2) توزيع عزلات الدراسة المعزولة من الدم حسب نتائج تلزنها في فحص الـ روزينكال ومقارنتها مع النتائج السالبة .

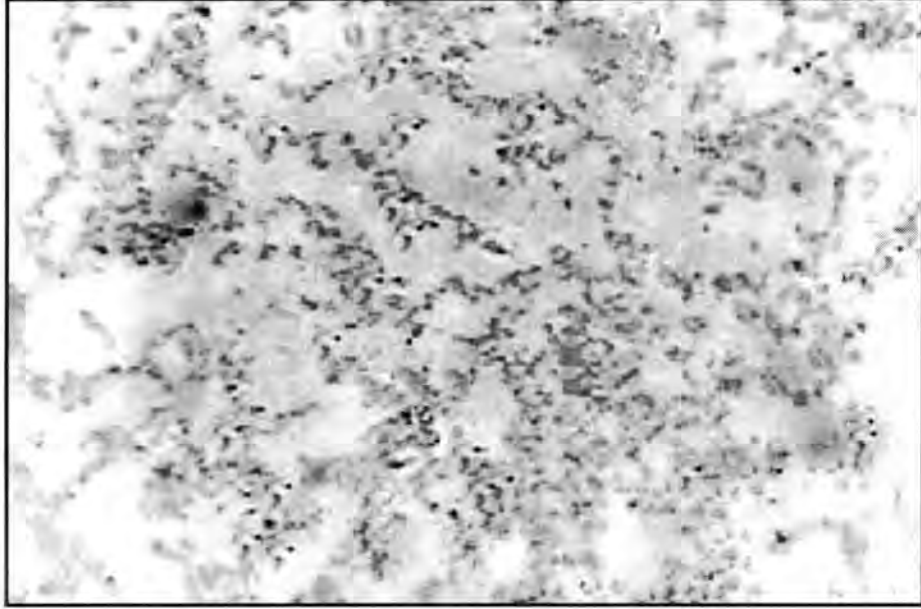
جدول-2: توزيع بكتريا البروسيلا المعزولة من الدم حسب نتائج تلزنها في فحص الـ روزينكال.

%	العدد الكلي	فحص الـ روزينكال			عزل البكتريا من الدم
		تلزن واضح +++	تلزن ناعم ++	تلزن بسيط +	
7.5	15	10	2	3	نتيجة عزل موجبة
92.5	185	83	65	37	نتيجة عزل سالبة
	200	93	67	40	العدد الكلي للاصابة
		46.5	32.5	20	%

لم يختلف العدد عن 15 عزلة عند اضافة خطوة غسل عينة الدم قبل الزراعة على كاستينيديا ثنائي الطور غيران الفارق كان هو سرعة ظهور النمو في الوسط الزراعي اذ استغرق الامر 1-2 يوم للنمو بدل 3-4 ايام عند استخدام الوسط الزراعي بشكل مباشر . قد يرجع قصير المدة الزمنية للعزل في الطريقة الثانية الى تحرر البكتريا من خلايا متعددة الانوية (polymorphonuclear cells) وازالة الاجسام المضادة المثبطة (16). اما بخصوص نتائج الزرع الموجبة القليلة مقارنة مع نتائج الفحوص المصلية لا سيما بالطور الحاد كون ان البكتريا في طورها المزمن تميل للاستقرار بالانسجة وداخل الخلايا (16) فقد يرجع السبب لصعوبة عزل البكتريا من الدم لقصر فترة تواجدها فيه او يعود الى ان المرض بدا والكورسات العلاجية بالمضادات الحيوية وهذا تبين من الاستبيان اذ ظهر ان حوالي 150 شخص قد تعاطوا المضادات من مجموع 200 . هذا الفرق وارد في اغلب البحوث اذ بين عدد من الباحثين (17) ان نتيجة العزل البكتيري بلغت 6.25% في الوقت الذي كان نتيجة الفحوص المصلية 87.9 % . في دراسة اخرى اجريت في ايران (1) اوضحوا فيها ان نسبة العزل بلغت 16% مقارنة مع الفحوص

سوسن وأمنة وأسماء

المصلية التي كانت 100% اما نتائج التنمية على وسط البروسيلا اكار فقد ظهرت المستعمرات صغيرة. مستديرة ، ذات حافة واضحة ، شفافة عسلية اللون ولماعة وعند صبغها بصبغة كرام ظهرت الخلايا ذات شكل عصري اقرب الى الكروي سالبة بصبغة كرام كما وانها ظهرت بلون احمر عند صبغها بصبغة زيل - نيلسن المحورة(شكل 2).



شكل-2:مسحة بكتيرية مصبوعة بصبغة زيل - نيلسن المحورة .

اظهرت الفحوصات البايوكيميائية تطابقا مع جنس البروسيلا كقدرتها على انتاج انزيمي الكاتليز والاكسيز وسالبيتها لانتاج الاندول والمثيل الاحمر والفوكس - بروسكاور واستهلاك السترات غير انها كانت قادرة على اختزال النترات الى نترت . للتأكد من التشخيص وبشكل نهائي اجري الفحص المصلي باستخدام مصل البروسيلا الموجب عال العيارية، وقد اعطت العزلات الخمسة عشر تلازنا واضحا هنا فيما لم تعط تلازن مع مصل البروسيلا السالب مما يؤكد ان العزلات جميعها تعود لجنس البروسيلا حصرا.حاليا تستخدم التقنيات الحديثة لتشخيص جنس البروسيلا سيما التفاعل السلسلي للبوليميرز (PCR) الى جانب التشخيص بـ ELISA (18) فيما استخدم باحثون (2) الاختبارات المظهرية والجزيئية باعتماد تقنية PCR-RFLP وباستخدام جينات تشفير بروتينات الغشاء الخارجي (outer membrane) لتشخيص 102 عزلة مصدرها احد عشر نوعا من اللبائن البحرية.يبين جدول (3)نتائج التنميط للعزلات قيد الدراسة وفيها ظهرت 9 عزلات من اصل 15 (60%) بانها تعود الى النوع *B.abortus* مقابل 6 عزلات (40%) للنوع *B. melitensis* . وان الانماط الحيوية biovar 6,3 الى *B.abortus* هي الاكثر انتشارا بواقع 4عزلات لكليهما مقابل عزلة واحدة للنمط biovar 5 في الوقت الذي توزعت فيه عزلات *B.melitensis* على نمطين هما biovar 3,2 بواقع 4,2عزلة على التوالي. تباينت نتائج هذه الانماط من حيث الحاجة



الى توفير غاز CO<sub>2</sub> [4 عزلات من اصل 15 (26.6%) ] او قابلية انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين [8 عزلات (53.3%) ] ، وزمن تغير لون كاشف وسط اليوريا من الوردي الفاتح الى الغامق خلال فترة ساعتين الى اربعة . كما وظهرت جميع الانماط المعزولة قدرة على النمو بوجود الصبغتين الفيوكسين القاعدي والثايونين بتركيزين هما 1:50000 و 1:100000 ولكن ادى زيادة التركيز الى 1:25000 السثبيط جميع العزلات باستثناء 4 من *B. abortus* جميعها من نمط 3 biovar . كما اظهر اختبار التلازن مع المصل الاحادي الخاص بكل من *B. melitensis* و *B. abortus* ان عزلتين فقط من مجموع 15 (13.3%) قد تلازنت مع كلا النوعين في آن واحد ، وان عذلة واحدة (6.6%) قد تلازنت فقط مع المصل الاحادي لـ *B. melitensis* مقابل 12 عذلة المتبقية (80%) تلازنت مع المصل الاحادي لـ *B. abortus* . اشارت الثويني في دراستها (19) بحصولها على 8 عزلات للنوع *B. abortus* للانماط الحيوية (3،4،6) و 15 عذلة للنوع *B. melitensis* للانماط الحيوية (2،3) من مجموع 100 نموذج يشكون من مرض البروسيلوسز في بغداد . في دراسة اخرى (20) اشار فيها الباحث الى ازدياد الاصابة بالـ *B. abortus* في اليمن فيما اكد الباحثون في المملكة العربية السعودية (21) الى تفوق النوع *B. melitensis* من نتائج الدراسة الحالية ظهور جميع المستعمرات وبكلا النوعين بالطور الاملس وذلك من خلال عدم ظهور تلازن مع محلول الاكريفلافين وبعد الاخير من المحاليل الملحية التي لها قدرة على احدث تلازن مع مستعمرات البروسيليا في طورها الخشن وليس الاملس (5) . اما بخصوص عوامل الضراوة فقد بينت نتائج الدراسة سالبية جميع العزلات لمعظم اختبارات عوامل الضراوة متمثلة بالانزيم الحال لكريات الدم الحمراء (الهيمولايسين) بعدم ظهور هالة شفاقة حول المستعمرات والانزيم المحلل لمادة اللستين (الستينز) بعدم ظهور هالة مترسبة حول المستعمرات على وسط مح البيض ، فضلا عن سالبية فحص انتاج الانزيم المحلل للدنا (Dnase) اذ لم تتحلل منطقة حول النمو بعد تغطيته بمحلول اعيارية حامض الهيدروكلوريك وكذلك الامر مع فحص الثرمونيوكليز . ان هذه النتيجة هي المتوقعة لجنس البروسيليا كون ضراوتها تمكن في قابليتها على البقاء متطفلة ومتضاعفة داخل الخلايا الملتهمة بشكل اختياري من خلال تثبيطها لالية اندماج الجسم الحال (lysosome) مع الجسم الملتهم (phayosome) (6) . يمكن القول ان عامل الامراضية الحقيقي في البكتريا هو متعدد السكريد الشحمي الحاوي على سلسلة جانبية o-chain الذي تم تنقيته واختبار امراضيته للفئران المختبرية في دراسة لاحقة (22) .

استخدام طريقتان مختلفتان لعزل أنواع بكتريا البروسيلا وتحديد أنماطها الحيوية السائدة وبعض من عوامل ضراوتها

سوسن وأمنة وأسماء

جدول- 3 :الأنماط الحيوية لبكتريا البروسيلا المعزولة من الدم و نتائج اختباراتها التشخيصية والمصلية.

رقم العزلة	النوع	النمط الحيوي	الحاجة لتوفير غاز CO <sub>2</sub>	انتاج H <sub>2</sub> S	تحلل اليوريا	النمو بوجود الصبغات المثبطة للنمو						التلازن مع المصل الاحادي الخاص	
						Basic fuchsin		Thionin					
						M**	A*	C	B	C	B	A	
1	<i>B.abortus</i>	الثالث	+	+	2-1 ساعة	+	+	+	+	+	+	-	+
2	<i>B.abortus</i>	السادس	-	+	2-1 ساعة	-	+	+	+	+	+	-	+
3	<i>B.abortus</i>	الثالث	+	+	2-1 ساعة	+	+	+	+	+	+	-	+
4	<i>B.abortus</i>	السادس	-	+	2-1 ساعة	-	+	+	+	+	+	-	+
5	<i>B.abortus</i>	السادس	-	+	2-1 ساعة	-	+	+	+	+	+	-	+
6	<i>B.abortus</i>	السادس	-	+	2-1 ساعة	-	+	+	+	+	+	-	+
7	<i>B.abortus</i>	الثالث	+	+	2-1 ساعة	+	+	+	+	+	+	-	+
8	<i>B.abortus</i>	الخامس	-	-	2-1 ساعة	-	+	+	+	+	+	-	+
9	<i>B.abortus</i>	الثالث	+	+	2-1 ساعة	+	+	+	+	+	+	-	+
10	<i>B.melitensis</i>	الثاني	-	-	V <sup>d</sup>	-	+	+	+	+	+	-	+
11	<i>B.melitensis</i> ***	الثالث	-	-	V <sup>d</sup>	-	+	+	+	+	+	-	+
12	<i>B.melitensis</i>	الثاني	-	-	V <sup>d</sup>	-	+	+	+	+	+	-	+
13	<i>B.melitensis</i>	الثاني	-	-	V <sup>d</sup>	-	+	+	+	+	+	-	+
14	<i>B.melitensis</i>	الثاني	-	-	V <sup>d</sup>	-	+	+	+	+	+	-	+
15	<i>B.melitensis</i>	الثالث	-	-	V <sup>d</sup>	-	+	+	+	+	+	-	+

A : C: B تركيز الصبغة 1: 25000 , 1: 50000 , 1: 100000 , على التوالي

V<sup>d</sup> : مختلف Variable (لايتجاوز مدة 24 ساعة).

A\*: المصل الأحادي الخاص بالبروسيلا المجهضة *B.abortus* Mono specific antiserum of

M\*\*: المصل الأحادي الخاص بالبروسيلا المائطية *B. melitensis* Mono specific antiserum of

\*\*\*: *B.melitensis* (biovar3) العزلة الوحيدة التي تم عزلها من دم مريض مصاب بالطور

المزمن للمرض

### المصادر

1. Hajia, M. and Rabbar, M. "Isolation of *Brucella* From Blood Culture of Hospitalized Brucellosis Patients". Iran J.C Linic Infect . Dis . 1(2):5-10. (2006).

2. Dawson, C. E; Stubberfield, E. J.; Prrett, L.; king, A.C .; whatmore ,A.M.; Stack,J.A.and Macmillan ,A.P."Phenptypic and molecular characterization of Brucella isolates from marine mammals ".BMC Microbial .8(1):224.(2008).
3. HPA center for in fections ."Guidelines for action in the event of a Deliberate release ". Brucellosis . 2-19 .(2007).
4. Osterman , B . and Moriyon , I. "International committee on systematic of prokaryotes submmotte on the taxonomy of Brucella " Internat .J. systemat . Evolutionary Microbio . 56 : 1173-1175. (2006).
5. Alton ,G.G.; Jones, L.N; Angus , R.D. and verger . J.M. " Techniques for the Brucellosis Laborotory" . Institute of National DELA research Agronomique, Paris.(1988).
6. Brooks ,G.F.; Butel ,J.S. and Morse , S.A. "Jawetz,Melnick and Adelbergs.Medical Microbio Logy". 22 Ed. Lange Medical Books / McGrow Hill. Medical publishing Division. NewYork.C hicago. London . Toronto.Sydney.(2005).
7. AL-Nnaimi , A.E."study of some aspects , serological and genetic from alocal isolates of Brucella spp" . PhD. Thes is . AL- Mustansiriya university.(2007).
8. Morgan, W.J."The serological diagnosis of bovine Brucellosis .Vet. Rec. 80:612-620 .(1967).
9. Macfaddin , J.F."Biochemical tests for identification of medical bacteria" .3rd Ed. William and Wilkins. Baltimore . London .(1985).
10. Koneman , E.W.; Allen , S.D.;Jawe , W.M. and Sachereckebar ,P.C."Color Aatls and text book Diagnostic microbiology" . 4th Ed . J.B. Lippin company.Washingtone. Philadelaphia .P: 334-338. (1992).
11. Lanyi . B. "CLassical and rapid identification method for medically important bacteria " .V19. Academic press limited. (1987).

سوسن وأمنة وأسماء

12. Devriese , L.A. and Van-Kerckhove , A."Acomparision of methods and the viability of deoxy ribonuclease test for the charsterization of staphylococci isolated from animals " . J. Appl . Bact . 46: 385-393.(1979).
13. Dubost , J.; Soubrier , M.; Ristori , J.M.; Cantagrel , A. and Bussiere, J.L."Dose reactive arthritis caused by Brucella exist? ".Prese . Med . 26(5) :207-210 .(1997).
14. Malavolta , N.; Frigato , M.; Zanardi , M.; Gnudi ,S.and Fini , M. "Brucella spondylitis with paravetebreal abscess due to B.melitensis infection . A case report" . Drugs . Exp . Clin . Res . 28 (3) : 95-98 .(2002).
15. Malik , G.M. "A clinical study of Brucellosis in a dults in the Asir region of southern Arabia . Am.J. Trop . Med . Hyg . 56(4) : 375-377. (1997).
16. Lamontagne , J. ; Forest , A. ; Marazzo , E.; Moreno , E. and Paramithiotis , E. "Intracellular adaptation of Brucella abortus". J . Proteome. Res. Feb.13. (2009).
17. Gandare , B ; Zheludkov , M.M and chernysheva , M.I." Evaluation of the effectiveness of laboratory diagneistic methods for Brucellosis". Microbiol . Epidemiol . Immunobiol . 4 :55-58 .(1994).
18. البياتي ، سحر احمد عبد الحسين."تقييم كفاءة اختبارات PCR، الاليزا ، والزرع الجرثومي في تشخيص داء البروسيلا وتحري التعدد المظهري في DNA عزلات البروسيلا المحلية" . اطروحة دكتوراه . معهد الهندسة الوراثية ، جامعة بغداد . (2008)
19. الثويني. امنة نعمة، وشنشل ، ريم زهير والعباسي ، عبد الرضاموسى . " دراسة في مدى انتشار داء البروسيلا عند الانسان والحيوانات في بعض مناطق بغداد " . المجلة العراقية للعلوم. 42 :22-27.(2001).

20. Refai, M. "Incidence and control of brucellosis in the near East region " . Vet . Microbiol . 90 (1-4) :81-110. (2002).
21. Shaalan ,A.A . ;Memish , Z .A . ; Alomori , A. ; Khan , M.Y. ; Almuneef , M. and ALalola, S. " Brucellosis in children . A clinical observation in 115 cases " . Int . J.Infect . Dis . 6 (3) : 182- 186 .(2002).
22. Al-Niame,A.I.;Thwane,A.N.and AL-Jubori,S.S."Studing the histopathoLogical and Physical effects of parcially purified lipopolysaccharides for B.abortu biovar 6 on Lab. Mice . accepted for publication ".



تأثير اضافة الخميرة ومنقوع الشاي الاسود مع التربة في نمو نبات الريحان  
(*Ocimum basilicum* L.)

وفاق امجد القيسي ورضية حسن علي وغفران عبد الهادي ابراهيم

قسم علوم الحياة-كلية التربية ابن الهيثم-جامعة بغداد

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/3

### ABSTRACT

The study was designed to investigate the influence of application of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and macerated black tea to soil in two concentration of yeast (3,6) gm/ kg soil and the tea (50,100) gm/ kg on growth of (*Ocimum basilicum*).

The results showed that all application used increased the percentage of germination, plant height, branches number, stem diameter, roots diameter, dry weight and absolute growth of plants, in comparison with control groups.

### الخلاصة

اجريت تجربة لدراسة تأثير مزج الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* ومنقوع الشاي الاسود مع التربة بالتركيزين 3 و 6 غم من الخميرة لكل كغم تربة و 50 و 100 غم لكل كغم تربة من الشاي في نمو نبات الريحان *Ocimum basilicum* ، اظهرت النتائج زيادة نسبة الانبات وارتفاع النبات وعدد الافرع وقطر الساق وقطر الجذور والوزن الجاف ومعدل النمو المطلق للنباتات المعاملة مقارنة مع نباتات السيطرة.

### المقدمة

يعود نبات الريحان الى جنس *Ocimum* التابع للعائلة الشفوية Labiatae ونبات الريحان تسميات متعددة منها ثغر، حبق، حوت، حمام، ريحان، الملك، ريحان سليمان (1) وهو نبات عشبي قائم شبه شجيري صغير الساق واوراقه بسيطة خضراء عطرية الرائحة، متقابلة، حادة القمة (2) وهو ذو فوائد طبية عديدة منها مسكن للمغص ومخفض للسعال ويجلب النوم واوراقه الطازجة تنعش المعدة وتنشط الهضم وتثير الشهية ويستخدم لعلاج البواسير وتنفع اوراقه لمعالجة الامراض الجلدية. ان نبات الريحان مضاد فعال للجراثيم ويستخدم الزيت المستخرج من اوراقه لعلاج الزكام ومطهر لالتهابات اللثة ومضاد للتشنجات ويستخدم ايضا لعلاج الروماتيزم وصناعياً يستخدم لصناعة العطور ومستحضرات التجميل

وفاق ورضية وغفران

ومعاجين الاسنان (3،4) وقد اثبتت الدراسات الحديثة ان زيت الريحان يسكن الشقيقة ويساعد على خفض ضغط الدم والكوليسترول والسكر وهو مضاد للارق ويخفف اعباء القلب (5).

ان الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* من عائلة Saccharomycetaceae من الفطريات الكيسية Ascomycota (6) الخمائر واسعة الانتشار في الطبيعة وتتواجد على المواد الحاوية على السكريات ولها القدرة على التخمير Fermentation و انتاج الكحولات والاحماض العضوية، ان خلية الخميرة احادية بيضوية الشكل صغيرة الحجم تتكاثر بالتبرعم (7).

تعد الخميرة ذات اهمية اقتصادية بسبب ما تملكه من قدرات انزيمية هائلة من Zymas الذي يعمل على تحلل السكر الى  $CO_2$  والكحول الايثلي وتحتوي الخميرة ايضا على المشتقات الايضية مثل الدهون والبروتينات والاحماض الامينية مثل Glycin، Valine، Alanine، Glutamic acid، Leucine، Aspartic acid، Serine وعناصر معدنية مثل الحديد، البوتاسيوم، المغنسيوم، الكالسيوم، الفسفور وغيرها كذلك تحتوي الخميرة على الاحماض النووية مثل Adenine، Guanine، Lytosine، Thymine، Uracil وايضا تحتوي على الفيتامينات مثل Vitamin B1, B2, B6 و Biotin و Pantothenic (6،8).

ان الشاي *Camellia sinensis* وهو اكثر المشروبات الشعبية ويستعمله اكثر من نصف سكان العالم والشاي الاسود يمر بمرحلتين التجفيف والتخمير ويحتوي على مركبات كيميائية تعطيه طعمه المتميز مثل Theobromine و Theophyllin وايضا Caffeine الذي يعطي للشاي تأثيره المنبه وايضا يحتوي على Theaflavine الذي يقوي القلب، ويحتوي ايضا على زيوت طيارة وانزيمات مؤكسدة بالاضافة الى عدد من الاحماض الامينية وفيتامينات مثل A, C, H, K, B1, B2 يستعمل الشاي كمنبه ومنشط وابعاد الكسل والنوم ويزيد في ادرار البول وله تأثيراً قابضاً يوصف للمصابين بالاسهال ويوصف للمصابين بالتسمم حيث يزيد من نشاط القلب وزيادة القدرة على التنفس (5،9،10)، اشارت البحوث الحديثة ان المواد الفينولية Polyphenolic compounds خلال عمليات التخمير تتحول الى Theaflavin و Thearubigins وهي مواد مضادة للسرطان (11،12).

### المواد وطرائق العمل

زرعت بذور الريحان في اصص بلاستيكية ذات قطر 20 سم ووزن 2 كغم وبواقع 15 بذرة في كل اصيص وكانت المعاملات كالآتي :

- 1- معاملة السيطرة تركت بدون معاملة.
- 2- تربة اضيف اليها الخميرة 3 غم/كغم تربة. تم وزن الخميرة ثم خلطت مع التربة قبل الزراعة.
- 3- تربة اضيفت اليها الخميرة 6 غم/كغم تربة وبنفس الطريقة السابقة.

4- تربة اضيف اليها منقوع الشاي الاسود 50 غم / كغم تربة، تم تنقيع الشاي في ماء الحنفية مدة 24 ساعة ثم خلطت مع التربة قبل الزراعة.

5- تربة اضيف اليها منقوع الشاي الاسود 100 غم/ كغم تربة وبنفس الطريقة السابقة.

زرعت بذور الريحان بتاريخ 2010/3/9 وقد كان تاريخ الموعد الاول D1 2010/5/4 اما الموعد الثاني D2 فقد كانت بتاريخ 2010/6/5 اما تصميم فكان وفق التصميم تام التعشبة CRD وبثلاث مكررات لكل معاملة، وقد تم خف النباتات الى 10 نبات لكل اصبعي. الصفات المدروسة:

$$1- \text{نسبة الانبات } \% = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

تم القياس في اليوم الخامس للنبات.

2- ارتفاع النبات (سم) : تم قياس ارتفاع النبات من سطح التربة ولغاية اعلى نقطة في الفرع الرئيسي للنبات بالمسطرة في الموعد الثاني D2 .

3- عدد الافرع : تم حساب عدد الافرع للنبات في نفس الموعد.

4- قطر الساق (ملم) : تم قياس قطر الساق الرئيسي بواسطة Verner caliper .

5- قطر الجذور (ملم) : تم حساب قطر الجذور من خلال قياس طول وحجم جذور النباتات في نفس الموعد وفق معادلة (Schenk and Barber 1980).... (13)

$$D = \sqrt[2]{V(L\pi)}$$

D = قطر الجذور (ملم)

V = حجم الجذور مقاسا بالمليمتر المكعب

L = طول الجذور ومقاسا بالمليمتر

$\pi$  = النسبة الثابتة (3.14)

6- الوزن الطري والوزن الجاف (غم): تم اخذ الوزن الطري للنباتات في الموعد الاول والثاني D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> بواسطة الميزان الحساس ثم جففت النباتات بدرجة حرارة 80° م لحين ثبات الوزن وبعد ذلك وزنت النباتات مرة ثانية في الميزان الحساس لمعرفة الوزن الجاف للنباتات.

7- معدل النمو المطلق (AGR) Absolute Growth Rate ملغم /غم وزن جاف/يوم وحسب المعادلة التالية (Hunt 1978)..... (14)

وفاى ورضية وغفران

$$AGR = \frac{W_2 - W_1}{T_2 - T_1}$$

$W_1$  = الوزن الجاف للجزء الخضري عند الموعد  $D_1$

$W_2$  = الوزن الجاف للجزء الخضري عند الموعد  $D_2$

$T_1$  = زمن الموعد الاول مقاسا باليوم

$T_2$  = زمن الموعد الثاني مقاسا باليوم

8- كفاءة المعاملة % تم حساب كفاءة المعاملة التي استخدمت في التجربة حسب المعادلة التالية:

$$\text{كفاءة المعاملة \%} = \frac{\text{الوزن الجاف للنبات المعامل} - \text{الوزن الجاف لنبات السيطرة}}{\text{الوزن الجاف لنبات السيطرة}} \times 100$$

تم اجراء التحليل الاحصائي ومقارنة المتوسطات باستخدام اقل فرق معنوي LSD على مستوى احتمال 0.05.

### النتائج والمناقشة

يشير جدول (1) الى ان نسبة الانبات للبذور ازدادت معنوياً في نبات الريحان عند معاملة التربة بالخميرة ومنقوع الشاي الاسود بالتركيزين المذكورة اعلاه فقد بلغت الزيادة في نسبة الانبات بنسبة مقدارها 8% و 13% في معاملي الخميرة وبنسبة مقدارها 27% و 30% لمنقوع الشاي الاسود على التوالي ان اضافة كل من الخميرة ومنقوع الشاي للتربة ربما ساعدا في تهيئة الظروف الملائمة لحدوث الانبات وكما نعلم ان للانبات متطلبات ضرورية من العوامل الداخلية المؤثرة في نمو الجنين في سلسلة من التغيرات الفسيولوجية (15).

يظهر في نفس الجدول ان ارتفاع النبات ازداد بصورة معنوية في النبات بالمعاملات المختلفة فقد ازداد بنسبة مقدارها 43% و 57% في معاملي الخميرة اما معاملي الشاي فقد ازداد بنسبة مقدارها 126% و 230% على التوالي ، وبنسبة لعدد الافرع للنبات فقد ازداد بصورة معنوية في معاملي الخميرة بنسبة مقدارها 94% و 108% وازداد عدد الافرع بنسبة مقدارها 142% و 157% معاملي منقوع الشاي الاسود على التوالي.

وعند دراسة قطر الساق لنباتات الريحان التي زرعت في التربة المعاملة بالخميرة ومنقوع الشاي الاسود نلاحظ ازدياد قطر الساق معنوياً عند مقارنة النباتات المعاملة مع نباتات السيطرة فقد ازداد القطر بنسبة مقدارها 74% و 91% لمعاملي الخميرة وبنسبة مقدارها 141% و 147% لمعاملي

الشاي على التوالي، ان الخميرة تعمل على تحليل السكريات وتحولها الى Pyruvic acid ثم الى Acetaldehyde ثم يتحول الى  $CO_2$  والكحول الايثلي، ويتم تثبيت  $CO_2$  في دورة كلفن ليكون اول مركب كاربوهيدراتي في الخلية 3- phosphoglyceric acid ومنه تتكون كل المركبات الكاربوهيدراتية في الخلية (15،16)، تحتوي الخميرة على مشتقات الايضية المهمة مثل الدهون والبروتينات وبعض الفيتامينات وهذا كله يساهم في بناء المكونات المهمة المساعدة في نمو النبات (8).

جدول 1- تأثير الخميرة ومنقوع الشاي الاسود في نسبة الانبات وارتفاع النبات وعدد الافرع وقطر الساق وقطر الجذور في نبات الريحان

المعاملات	نسبة الانبات %	ارتفاع النبات (سم)	عدد الافرع/نبات	قطر الساق (ملم)	قطر الجذور (ملم)
السيطرة	60	11.5	3.5	3.4	8.6
الخميرة 3 غم	65	16.5	6.8	5.9	14.0
الخميرة 6 غم	68	18	7.3	6.5	17.9
الشاي 50 غم	76	26	8.5	8.2	18.9
الشاي 100 غم	78	38	9.0	8.4	28.2
LSD عند مستوى 0.05	4.96	4.87	3.25	2.30	2.42

كما يشير جدول (1) الى ان قطر الجذور ازداد معنوياً في النباتات المعاملة وبلغت الزيادة نسبة مقدارها 63% و 108% لمعاملتي الخميرة ونسبة مقدارها 118% و 228% لمعاملتي الشاي على التوالي، ان الخميرة تزيد في النمو وخاصة عند اضافتها للتربة حيث عملت على زيادة وتحسين العقد الجذرية لنبات الفاصوليا (17)، ان الخميرة تضيف للتربة العناصر المعدنية الضرورية للنبات كالحديد والفسفور والمغنسيوم والبوتاسيوم والكالسيوم والتي يستفيد منها النبات في بناء مركباته الضرورية للنمو كالكاربوهيدرات والبروتينات والدهون وغيرها (8)، ان منقوع الشاي الاسود ربما يساهم عند خلطه بالتربة بعد تنقيعه في زيادة خصوبة التربة وازيادة الرطوبة تحدث سلسلة من التغيرات الكيميائية والتحليل الانزيمي والاكسدة بالاضافة الى نشاط الانزيمات مثل Oxidase و Phenol ان الشاي يحتوي على



وفاق ورضية وغفران

زيت طيارة وانزيمات مؤكسدة بالاضافة الى عدد من الاحماض الامينية وفيتامينات مثل B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, H, K, C, A وتحتوي اوراق الشاي على 25-35% مواد فينولية كذلك على مواد بروتينية وانزيمات الاكسدة المهمة للفعاليات الايضية المختلفة (11، 18، 19).

عند دراسة جدول (2) يتبين الوزن الطري والوزن الجاف ازداد في جميع المعاملات وللموعدين D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> مقارنة مع معاملة السيطرة، فقد ازداد الوزن الجاف لمعاملي الخميرة ومنقوع الشاي الاسود ربما لانهما ساهما بزيادة المغذيات الكيماوية والتي عملت على زيادة ارتفاع النبات وعدد الافرع وقطر الساق وقطر الجذور مما انعكس ايجابياً على زيادة وزن النبات الجاف.

جدول 2- تأثير الخميرة ومنقوع الشاي الاسود في الوزن الرطب والوزن الجاف في نبات الريحان

الموعدين الثاني D <sub>2</sub>		الموعدين الاول D <sub>1</sub>		المعاملات
الوزن الجاف (غم)	الوزن الطري (غم)	الوزن الجاف (غم)	الوزن الطري (غم)	
0.80	9.01	0.02	0.42	السيطرة
2.04	16.0	0.31	2.02	الخميرة 3 غم
1.80	13.8	0.18	1.09	الخميرة 6 غم
11.1	16.3	0.32	2.06	الشاي 50 غم
11.6	18.2	1.94	7.6	الشاي 100 غم
0.42	1.39	0.045	0.83	LSD عند مستوى 0.05

عند دراسة جدول (3) يوضح ان معدل النمو المطلق قد ازداد في معاملي الخميرة بصورة معنوية وكذلك في معاملي منقوع الشاي الاسود وذلك لزيادة الوزن الجاف للنباتات المعاملة مقارنة مع نباتات السيطرة كما ان كفاءة المعاملة قد ازداد معنوياً في جميع المعاملات وذلك لتأثير الخميرة ومنقوع الشاي الاسود عند خلطهما مع التربة في تحسين صفات النمو لنبات الريحان مما ساعد في زيادة الوزن الجاف للنباتات المعاملة معنوياً وبذلك ازداد كل من معدل النمو المطلق وكفاءة المعاملة.

جدول -3: تأثير الخميرة ومنقوع الشاي الاسود في معدل النمو المطلق وكفاءة المعاملة في نبات الريحان

المعاملات	معدل النمو المطلق	كفاءة المعاملة
السيطرة	0.029	—
الخميرة 3 غم	0.060	131.0
الخميرة 6 غم	0.058	110.0
الشاي 50 غم	0.379	1161.2
الشاي 100 غم	0.335	1217.1
LSD عند مستوى 0.05	0.018	87.01

نستنتج مما سبق ان معاملتي كل من الخميرة ومنقوع الشاي الاسود قد عملا على زيادة نسبة الانبات وارتفاع النبات وعدد الافرع وقطر الساق وقطر الجذور والوزن الجاف ومعدل النمو المطلق للنبات.

### المصادر

1- الحسين، محمد و المهدي ، تهاى. النباتات الطبية زراعتها، مكوناتها، استخداماتها العلاجية. مكتبة ابن سينا للنشر والتوزيع والتصدير . القاهرة ، مصر، (1990).

2- هيكل، محمد السيد وعمر، وعبد الله عبد الرزاق. النباتات الطبية والعطرية. منشأة المعارف، الاسكندرية، مصر، (1988).

3- ابو زيد، الشحات نصر. النباتات والاعشاب الطبية. الدار العربية للنشر والتوزيع. الطبعة الثانية 90-100، (2000).

4- الهدواني، احمد خالد محسين. تأثير مستويات الرش بمستويات مختلفة من السايكلوسيل والبولتاسيوم على الصفات الكمية والنوعية للزيوت الطيارة لصنفين من الريحان الحلو *Ocimum basilicum* L. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، (2000).

5- قنيس، اكرم جميل. مستشار الانسان في الغذاء والدواء. معجم طب الاعشاب والاعذية . دار البشائر : 211 صفحة، (2006).

وفاق ورضية وغفران

6- Alexopoulos, C. J.; Mims, C. W. and Blackwell, N. Introductory Mycology. 4<sup>th</sup> Edition John Wiley and sons, (1996).

7- علي، بتول زينل وحبيب، عبد الرزاق ومحسن، توفيق محمد. علم الفطريات. مطبعة جامعة بغداد، (2006).

8- Kobayashi, M.; Torigai, Y. and Tatahashi, E. Effect of yeast extracts on higher plants. Plant and soil, 57: 41-47, (1980).

9- الكاتب، يوسف منصور. تصنيف النباتات البذرية. الطبعة الاولى، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل: 503 صفحة، (1988).

10- قبیس، حسان. معجم الاعشاب والنباتات الطبية. دار الكتب العالمية، الطبعة السادسة. بيروت، لبنان: 398 صفحة، (2004).

11- Bode, A. M. and Dony, Z. Signal transduction pathway: Target for green and black tea polyphenols. J. Biochemist. & Molecul. Biol., 36(1):66-77, (2003).

12- Lin, J. K. and Liang, Y. C. Cancer Chemoprevention by tea polyphenols. Proc. Natl. Sc. Counc. Roc(B), 24(1): 1-13, (2000).

13- Schenk, M. K. and Barber, S. A. Potassium and phosphorus uptake by corn genotypes grown in the field as in flounced by root characteristics. Plant Soil, 54:65-76, (1980).

14- Hunt, R. Plant growth analysis studies in biology No: 96. Edward Arnold (Publ) LTD Lond, (1978).

15- Verma, S. K. and Verma, M. A textbook of plant physiology, Biochemistry and Biotechnology. S. Chand and Company. Ramnayer, New DE IHI, 336-339, (2000).

16- دقلن، م فرنسيس وندام. فسيولوجيا النبات - ترجمة د. تحرير رمضان وجماعته. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. مطابع دار الحكمة للطباعة والنشر، جامعة بغداد، (1991).

- 17- Alkahal, A. ; Saleh, W. D. and Behery, S. The potential role of yeast to improve symbiotic nitrogen fixation and yield on bean under field condition. Bull. Fac. Agric. Caira Univ. T:144-152, (2002).
- 18- Shanmuga Selvan, V. A. and Sivasamy, P. Blending of clonal tea leaves with leaves from seedling in order to improve the quality of made tea. American- Eurasian. J. Scient. Res., 4(3): 148-153, (2009).
- 19- العامري، هيثم محسن و فتوحى، نوال نافع والمختار، ميس مؤيد. تأثير مدة الخزن والمنشأ على بعض الصفات النوعية للشاي. مجلة القادسية للعلوم الصرف، 11(3): 122-128، (2006).

## تأثير المستخلصات الكحولية الخام لنباتي البصل والكراث على نمو بعض الفطريات الممرضة

*Rhizopus oligosporium* و *Aspergillus flavus*

انعام نوري علي وحسين علي سبتي وغنية عيال حمدان وخالد فالح حسن

وزارة العلوم والتكنولوجيا، دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والمياه، مركز بحوث ومختبرات المياه

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/ 6

## ABSTRACT

In this study, crude alcoholic extract of plants which belongs, to the *Liliaceae* family *Allium cepa* (onion) and *Allium porrum* (leek) was used at concentrations 0, 8%, 10% and 15% to know their effect on the growth of toxigenic and pathogenic fungi *Aspergillus flavus* and *Rhizopus oligosporium* that isolated from Tigris river (2010), which these species were purified and culturing in the laboratory for using in this study. The treatment with the onion and leek extract showed the gradual decrease in the fungal growth with increasing of concentration and concentration of 15% from extract showed the highest percentage of inhibition for the two species of fungi with the inhibition percent 62.95%, 19.64% for onion and 73.12, 54.19 for leek respectively. These result were agreed with the result of dry weight for these species that measured decreasing in it with the increasing of extracts at significant difference. To test the effect concentrations of extract on the growth of tested fungi by reading of optical density (OD) which showed that all the concentration caused significant difference ( $P < 0.05$ ) for two species of fungi as compared with the control. Reading of OD is depending on the spores concentration in the broth culture, 10% and 15% of these extract caused highly significant differences in the spores concentration as compared with the control.

## الخلاصة

تم في هذه الدراسة استخدام المستخلص الكحولي الخام لنباتات تعود للعائلة البصلية (الزنبقية) وهي البصل *Allium cepa* والكراث *Allium porrum* وبتراكيز 0% و 8% و 10% و 15% لمعرفة تأثيرها على نمو الفطريات السامة والممرضة والمتواجدة في المياه ومنها *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* حيث تم عزلها من مياه نهر دجلة (2010) وتنقيتهما وتكثيرهما في المختبر لاستخدامهما في الدراسة. اظهرت المعاملة بمستخلص البصل والكراث انخفاض تدريجي بالنمو الفطري بزيادة التراكيز المستخدمة وان اعلى نسب تثبيط لنوعي الفطرين كانت عند تركيز 15% من المستخلص وبنسب تثبيط 62.95% و 19.64% للبصل و 73.12% و 54.19% للكراث على التوالي. تتوافق هذه النتائج مع نتائج الكتلة الحيوية الجافة للفطرين حيث سجلت كذلك انخفاضا في الكتلة الحيوية



انعام وحسين وغنية وخالد

مع زيادة تراكيز المستخلصات المستخدمة وبفروق معنوية. عند اختبار تأثير تراكيز هذه المستخلصات على نمو الأنواع الفطرية قيد الدراسة بطريقة قراءة الكثافة الضوئية فقد بينت ان جميع التراكيز المستخدمة كانت ذات فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) للفطرين المذكورين مقارنة مع مجموعة السيطرة. قراءة الكثافة الضوئية يعتمد على تركيز السبورات في الوسط الزراعي السائل حيث سببت التراكيز 10 و 15% من المستخلصات المستخدمة فروقا عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) في تركيز السبورات عند مقارنتها مع السيطرة.

### المقدمة

تحتل النباتات الطبية في العالم حالياً مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي والدوائي، وتتلقى عناية بالغة في كثير من الدول المنتجة لها، والنباتات الطبية هي من المصادر الرئيسة للعقاقير الطبية النباتية أو المواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء على شكل خلاصات أو مواد فعالة [1] وتم عزل الانواع قيد الدراسة من المياه العراقية ومن مياه خزانات مناطق مختلفة من بغداد لذلك لابد من طريقة معالجة لازالتها أو تخفيضها حيث تعد الفطريات من الاحياء المرضية بسبب انتاجها للسموم ومن امثلة هذه السموم هي الافلاتوكسينات التي تمثل ايضاً ثانوية للفطر *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus* والتي لقيت اهتماماً كبيراً في انحاء مختلفة من العالم منذ اكتشافها في بداية الستينات من القرن الماضي ولغاية الوقت الحاضر بسبب تأثيراتها السامة والمسرطنة للانسان والحيوان [2]. ان استخدام بعض المستخلصات المناعية الموجودة في بعض الخضراوات التي يتناولها الانسان في طعامه اليومي كالثوم والبصل والكراث تحمي الجسم من الاضرار الناتجة من السموم الفطرية وذلك لاحتوائها على مركبات كبريتية بنسب عالية لها القدرة على حماية خلايا الجسم من اضرار هذه السموم عن طريق زيادة انتاج الانزيمات المضادة للاكسدة حيث تمتلك نكهات وروائح خاصة لا تتواجد في النباتات الاخرى وان المواد الطيارة لا تظهر في الانسجة السليمة وانما تتحرر بواسطة فعل انزيمي عند خدشها [3,4].

استهدفت الدراسة الحالية تحديد مدى تلوث بعض المياه العراقية بالفطريات لاسيما الفطريات المنتجة للسموم كـ *Aspergillus* و *Pencellium* و *Rhizopus* وغيرها من الفطريات. اختبار تأثير المستخلص الكحولي الخام لنباتي البصل (*Allium cepa* L. (onion bulb) والكراث (*Allium porrum* L. (Whole leek) على تثبيط نمو العزلات الفطرية *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* باستخدام عدة طرق للكشف.

### المواد وطرائق العمل

**عزل وتشخيص الفطريات:** تم عزل وتشخيص الفطريات المسببة للسموم من المياه العراقية (مياه نهر دجلة ومياه خزانات منزلية) وتم استزراعها وتكثيرها على الأوساط الزرعية المناسبة لها وهي وسط PDA, corn meal agar, sabauroud dextrose agar ، حيث استخدمت طريقة الصب المباشر لعزل الفطريات، إذ تم اخذ 1 مل من كل عينة ووضعت في أطباق زجاجية معقمة بقطر 9 سم ثم صب فوقها الوسط الزرعي السائل PDA (المعقم بالمؤصدة والمضاف اليه 1 مل / لتر من محلول المضاد الحيوي بعد التعقيم ورجت جيدا وتركت لتتصلب، حضنت الأطباق لمدة 5-7 أيام بدرجة حرارة 25° م° ، وتم عزل عدد من الاجناس الفطرية النامية على الاطباق [5]. نقيت المزارع الفطرية بنقلها على وسط PDA وتم تشخيص الفطريات بواسطة الاستخدام المباشر للمجهر الضوئي وعلى شرائح زجاجية وبالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية المتخصصة [7,6]

### جمع النباتات:

جمعت العينات النباتية (الثوم والبصل والكراث) من السوق المحلية ونظفت من الشوائب وطحنت الأجزاء النباتية بمطحنة كهربائية ووضعت في حافظات زجاجية محكمة الغلق.

### تحضير المستخلص الكحولي:

وزن 40 غم من كل من النباتات المطحونة أعلاه ووضعت في دوارق حجمية منفصلة وأضيفت إليها 100 مل من الكحول الأيثلي المركز، وضعت الدوارق على هزاز مغناطيسي لمدة 24 ساعة ثم نبذت المستخلصات بجهاز الطرد المركزي بقوة 2500 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق بعدها رشح الرائق بـ 2-3 قطع من الشاش المعقم وبورق ترشيح 0.45 و ثم عرض الراشح للتبخير باستخدام جهاز Rotary Vacuum Evaporator والتجفيف لحين الحصول على سائل كثيف بحجم 10 مل واكمل الحجم الى 100 مل باستخدام الماء المقطر المعقم واعتبر هو التركيز الأساس ومنها حضرت بقية التراكيز وتم استخدامه مباشرة في التجارب [8].

### التراكيز المستخدمة في التجربة:

تم تحضير التراكيز الحجمية للمستخلصات النباتية المستخدمة في التجربة ( 8%، 10%، 15%) من التركيز الأساس وذلك بمزج حجم معين من محلول الخزين مع الوسط الزرعي الصلب المذاب للحصول على التراكيز المطلوبة وحسب قانون  $C_1V_1=C_2V_2$  ، عملت ثلاث مكررات لكل تركيز بالإضافة إلى السيطرة.

### اختبارالفعالية التضادية للمستخلصات النباتية الخام

#### طريقة قياس قطر المستعمرة في الوسط الزراعي الصلب:

تم وضع كل من تراكيز المستخلصات المستخدمة ( 8%، 10%، 15%) في أطباق زجاجية معقمة قطر 9 سم وبواقع 20 مل لكل طبق وعملت ثلاث مكررات لكل نوع /تركيز، تركت الاطباق لتتصلب في درجة حرارة الغرفة ومن ثم تم نقل قرص قطره 6 ملم من حافة مستعمرة الفطريات المستخدمة (*Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium*) ووضع في وسط الاطباق المحتوية على المستخلصات النباتية ومجموعة السيطرة، حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة 25 م° وبعد مرور 24 ساعة تم قياس قطر المستعمرة بواسطة المسطرة واستمر القياس لحين وصول النمو إلى حافة الطبق.

#### طريقة قياس الوزن الجاف في الوسط الزراعي السائل: -

حضرت العديد من القناني الحجمية الحاوية على الوسط الزراعي السائل وتراكيز مختلفة من المستخلصات وذلك بوضع 25 مل من تركيز كل مستخلص المحضر بالوسط الزراعي السائل في قناني حجمية حجم 100مل، زرع في كل قنينة قرص فطري بقطر 6 ملم وبعمر 5 ايام من مستعمرة للفطريات *Aspergillus flavus* , *Rhizopus oryzae* واضيف اليها 1 مل من المضاد الحيوي الكلورمفينيكول اما مجموعة السيطرة فتحتوي على الوسط الزراعي السائل الملقح بالفطريات المذكورة وبدون المستخلصات. بعد الزرع تم حضن القناني بدرجة حرارة 25 م° ولمدة 48 ساعة، بعد الحضن تم الترشيح للعينه بجهاز vacuum وورق ترشيح 0.45µ وأخذت المستعمرة الفطرية النامية وعمل لها تجفيف بالفرن الكهربائي ولمدة 24 ساعة بدرجة 80 م° وقياس وزن الورقة قبل وبعد ترشيح العينة واستخرج الوزن الجاف للفطريات ولجميع التراكيز من خلال حساب الفرق بين الوزنين بالمغم واعتبرت هذه الطريقة كمؤشر للنمو [9].

#### - قياس تركيز السبورات باستخدام الكثافة الضوئية:

بعد الترشيح للعينه الفطرية والمحضرة في الفقرة اعلاه تم اخذ الراشح وقياس له العكورة والتي تمثل النمو الفطري وتكوين السبورات، قيس العكورة وذلك بقراءة الكثافة الضوئية بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 420nm [8]، تم عمل ثلاث مكررات لكل تركيز.

معدل الكثافة الضوئية للسيطرة - معدل الكثافة الضوئية للمعاملات / معدل الكثافة الضوئية للسيطرة = النمو الفطري. في حالة النمو اقل من 1 هذا يعني نسبة التثبيط عالية inhibition .

#### قياس عدد السبورات باستخدام سلايد الهيموسيتوميتر heamocytometer:

تم أيضا حساب عدد السبورات للراشح بواسطة سلايد heamocytometer [10] وحسب المعادلة:

عدد السبورات/مل = عدد السبورات في 5 مربعات  $\times 5 \times 10^6$  ، تم عمل ثلاث مكررات لكل تركيز.

## التحليل الاحصائي :

حللت النتائج احصائيا باستخدام تحليل التباين ANOVA وعند مستويات احتمالية (0.001، 0.05) باستخدام نظام SPSS لغرض المقارنة بين نتائج المعاملات مع معاملة السيطرة ومع بعضها من حيث كونها فروقات معنوية (بتأثير المادة) او غير معنوية (غير مؤثرة).

## النتائج والمناقشة

يشير الجدول (1) معاملة الفطر *A. flavus* بتركيز مختلفة من مستخلص البصل الكحولي على الوسط الزراعي الصلب اضافة الى معاملة السيطرة ومتابعة النمو يوميا الى حدوث انخفاض تدريجي بالنمو القطري بزيادة التراكيز المستخدمة وحدث تثبيط كامل للنمو في اليوم الخامس من المعاملة ولجميع تراكيز مستخلص البصل الكحولي. اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) بين المعاملات عند مقارنتها مع السيطرة وان اعلى نسبة تثبيط كانت عند استخدام تركيز 15% من المستخلص ونسبة 62.95%. بينما اظهرت نتائج تأثير المستخلص المذكور على نمو الفطر *R. oligosporium* حصول انخفاض قليل بالنمو مقارنة بالسيطرة ولا توجد فروق معنوية في معدل قطر المستعمرة للمعاملات عند مقارنتها بالسيطرة، وتبين هذا واضحا من نسب التثبيط للتراكيز الثلاث حيث كانت 19.64%, 11.62%, 6.64% على التوالي (الجدول 2). ان العديد من المزارع الفطرية تثبت نموها بصورة مؤثرة بواسطة زيت البصل والثوم او مستخلصاتها وهذا ما قام به [11]. على الرغم من قلة البحوث حول الفعالية ضد مايكروبية لنبات البصل فمن المتوقع ان مركب S-propenylcysteine sulfoxide هو المركب الذي يثبط ايض الاحياء المجهرية بنفس الميكانيكية للثوم [12]. بين [13] بان نبات البصل أدى إلى أعلى نسبة تثبيط للفطر *Pencillium roqueforti* عند التراكيز 2 و 4 % مبينا تأثيره على تطور ونمو الهايفا الفطرية. كذلك اوضح الباحث [14] بان انتاج السموم الفطرية قد انخفض عند استخدام نبات البصل بالتراكيز 0.1-1% ونسبة تخفيض 64-76% وعند استخدام نبات الثوم بتركيز 0.2-1% ونسبة تخفيض 71-84% وهذا ما أشارت إليه نتائج.

تأثير المستخلصات الكحولية الخام لنبتاتي البصل والكراث على نمو بعض الفطريات الممرضة *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium*

انعام وحسين وغنية وخالد

جدول-1: تأثير مستخلص البصل الكحولي (40%) على نمو الفطر *Aspergillus flavus* على وسط Malt extract.

التركيز	قطر المستعمرة (مم)						
	يوم 1	يوم 2	يوم 3	يوم 4	يوم 5	يوم 6	نسبة التثبيط (%)
السيطرة	33.17	45.35	53.83	67.17	79.23	89.53	0.00
8%	29.33	35.13	45.83	48.67	-	-	26.49 ± 21.69**
10%	26.83	32.22	43.50	46.83	-	-	24.90 ± 20.61**
15%	25.0	29.53	39.33	42.50	-	-	22.73 ± 18.71**

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

\*\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

جدول-2: تأثير مستخلص البصل الكحولي (40%) على نمو الفطر *Rhizopus oligosporium* على وسط PDA.

التركيز	قطر المستعمرة (مم)					
	يوم 1	يوم 2	يوم 3	يوم 4	معدل قطر المستعمرة (مم)	نسبة التثبيط (%)
السيطرة	28.0	45.67	59.83	80.33	53.46 ± 22.15	0.00
8%	26.67	40.85	54.5	78.17	50.05 ± 21.92	6.64
10%	26.33	38.17	51.67	72.83	47.25 ± 19.95	11.62
15%	24.0	37.0	43.0	67.83	42.96 ± 18.38	19.64

في حين يوضح الجدول (3) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي للكراث على نمو الفطر *A. flavus*. يتبين من النتائج حصول انخفاض تدريجي بالنمو مع مرور الأيام وزيادة التراكيز حيث انخفض النمو من 89.3 ملم الى 47.3 ملم و 36.3 ملم و 24.3 ملم عند اليوم السابع من النمو وللتراكيز 15%, 10%, 8% على التوالي. يوضح التحليل الاحصائي وباستخدام اختبار المقارنات المتعددة بان جميع التراكيز المستخدمة كانت عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وان اعلى نسبة تثبيط كانت عند استخدام تركيز 15% من المستخلص ونسبة تثبيط 73.12%.



بينما يوضح الجدول (4) حصول انخفاض بالنمو للفطر *R. oligosporium* مع ازدياد تراكيز المستخلص وبمرور الايام حيث انخفض معدل النمو من 54.86 ملم في مجموعة السيطرة الى 37.31 ملم، 33.50 ملم، 25.13 ملم بنسب تثبيط 31.99 %، 38.94 %، 54.19 % وللتراكيز 8 % و 10 % و 15 % من المستخلص. اظهرت تراكيز المستخلص الكحولي للكراث تأثيرات تثبيطية اقل مما للمستخلص الاخر كما اوضحت دراسته [15] بان نبات الكراث يمتلك اقل فعالية تثبيطية ضد الخمائر مقارنة بالبصل والثوم. تتفق هذه الدراسة مع دراسة [10] حيث اثبتوا ان اكثر النباتات تثبيطا هو الثوم يليه البصل والكراث، واطهر المستخلص الايثيلي للثوم والبصل تأثيرات تثبيطية لنمو الفطر *A. niger*.

جدول-3: تأثير مستخلص الكراث الكحولي (40%) على نمو الفطر *Aspergillus flavus* على وسط PDA .

التركيز	قطر المستعمرة (ملم)							
	يوم 1	يوم 2	يوم 3	يوم 4	يوم 5	يوم 6	يوم 7	نسبة التثبيط (%)
السيطرة	22.7	30.7	41.0	53.7	66.0	78.3	89.3	54.53±24.73
8%	12.3	18.0	24.7	28.7	33.7	40.7	47.3	29.34 ± 12.33**
10%	8.7	12.0	15.6	19.0	24.0	31.0	36.3	20.94 ± 10.07**
15%	6.3	9.0	11.0	14.7	17.0	20.3	24.3	14.66 ± 6.40**

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

\*\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

تأثير المستخلصات الكحولية الخام لنباتي البصل والكراث على نمو بعض الفطريات الممرضة *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium*

انعام وحسين وغنية وخالد

جدول-4: تأثير مستخلص الكراث الكحولي (40%) على نمو الفطر *Rhizopus oligosporium* على وسط PDA .

نسبة التثبيط (%)	معدل قطر المستعمرة (مم)	قطر المستعمرة (مم)								التركيز
		يوم 8	يوم 7	يوم 6	يوم 5	يوم 4	يوم 3	يوم 2	يوم 1	
0.00	54.86 ± 20.14	85.3	72.7	67.0	59.3	51.3	44.3	32.3	26.7	السيطرة
31.99	37.31 ± 14.19 *	60.0	51.3	46.3	38.7	30.7	28.0	22.7	20.8	%8
38.94	33.50 ± 4.25 **	57.3	49.3	39.7	33.0	27.3	23.7	20.0	17.7	%10
54.19	25.13 ± 1.89 **	45.3	37.3	30.7	25.3	20.0	17.0	13.7	11.7	%15

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

\* فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

\*\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

يبين الجدول (5) تأثير تراكيز مختلفة من مستخلص البصل الكحولي (40%) على الوزن الجاف للفطرين المستخدمين في الدراسة، وكانت جميع التراكيز المستخدمة ذات فروق عالية المعنوية في الكتلة الحيوية للفطر *A. flavus* مقارنة مع مجموعة السيطرة بينما تأثير تراكيز المستخلص على الكتلة الحيوية الجافة للفطر *R. oligosporium* فقد سبب تركيز 15% من المستخلص انخفاض معنوي مقارنة بالسيطرة ولا توجد فروق معنوية بالتراكيز الاقل من التركيز المذكور. وجد [16] في دراسته بان نبات البصل اظهر اكثر فعالية تثبيطية ضد الاحياء المجهرية والفطريات عن غيره من المستخلصات الاخرى. توافقت هذه الدراسة مع دراسة [9] حول التثبيط المعنوي لنمو الفطر *Trichophyton mentagrophytes* بواسطة مستخلصي الثوم والبصل عند كل التراكيز المستخدمة مقارنة مع السيطرة.

جدول-5: تأثير مستخلص البصل الكحولي (40%) على الوزن الجاف (ملغم / 25 مل) للفطرين *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* على وسط PD broth .

الوزن الجاف (ملغم / 25 مل)		التركيز
<i>Rhizopus oligosporium</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
62.67 ± 32.87	588.67 ± 21.78	السيطرة
55 ± 12.49	319.33 ± 101.95*	%8

44 ± 4.36	299.0 ± 22.61*	%10
29 ± 6.0 *	193.67 ± 38.99*♦	%15

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

♦ فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 8%.

بينما يلاحظ في جدول (6) حصول انخفاض في الكتلة الحيوية للفطرين المذكورين في الوسط الزراعي السائل PDB ولجميع تراكيز المستخلص المستخدم وكانت هناك فروق عالية المعنوية في الكتلة الحيوية للفطر *A. flavus* عند استخدام تركيز 10% و 15% من المستخلص بالمقارنة مع السيطرة وفروق معنوية في الكتلة الحيوية للفطر *R. oligosporium* عند استخدام نفس التركيزين اعلاه من المستخلص المذكور مقارنة مع السيطرة. ان النقصان في الكتلة الحيوية للفطريات يعود الى تراكيز المستخلصات النباتية المستخدمة والتي تسبب انكماش في المستعمرة الفطرية وهذا يعني عدم قدرة هذه الفطريات على تحمل التراكيز العالية من هذه المستخلصات [17].

جدول-6: تأثير مستخلص الكراث الكحولي (40%) في الوزن الجاف (ملغم / 25 مل) للفطرين *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* على وسط PD broth .

الوزن الجاف		التركيز
<i>Rhizopus oligosporium</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
101.3 ± 29.14	1022.3 ± 69.0	السيطرة
78.67 ± 3.51	879.3 ± 74.10	8%
72.67 ± 3.06 □	604.7 ± 85.23*	10%
63.33 ± 3.06 □	393.0 ± 110.01* **♦	15%

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

\*\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 8%.

♦ فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 10%.

□ فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

سجل تأثير المستخلص الكحولي الخام لنبات البصل على نمو الأنواع الفطرية قيد الدراسة بطريقة قراءة الكثافة الضوئية لتراكيز مختلفة من المستخلص (8% و 10% و 15%) والمحضرة من تركيز 40% من المستخلص الكحولي الخام بواسطة سلسلة من التخفيف بعد تلقيحها بنوعين من الفطريات *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* والملاحظ في الجدول (7)، حيث



تأثير المستخلصات الكحولية الخام ثنائي البصل والكراث على نمو بعض الفطريات الممرضة *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium*

انعام وحسين وغنية وخالد

حصل انخفاض بالنمو الفطري من خلال قياس قلة العكورة (دليل النمو) حيث سجل تركيزي 8% و 10% من المستخلص فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) في معدل العكورة للفطر *A. flavus* مقارنة بالسيطرة بينما سجلت التراكيز 10% و 15% من نفس المستخلص فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) في معدل العكورة للفطر *R. oligosporium* مقارنة بالسيطرة. ان الانخفاض في النمو الفطري يعزى الى ميكانيكية عمل مستخلص البصل على تحطيم جدار خلية الهايفا الفطرية مسببا التناثر وعدم تنظيم في بعض اجزاء الخلية خاصة النواة والميتوكوندريا في النوعين *T. mentagrophytes* و *T. rubrum*. [9].

جدول-7: قياس الكثافة الضوئية للوسط الزراعي السائل الملقح بالفطر *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* لمجموعة السيطرة والمعاملات بالمستخلص الكحولي للبصل.

معدل الكثافة الضوئية (العكورة)		التركيز
<i>Rhizopus oligosporium</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
1.128±0.009	1.183±0.013	السيطرة
1.036±0.057 *	1.013±0.069*	8%
0.942±0.024**♦	0.977±0.034 *	10%
0.871±0.054 **□	0.900±0.059 **	15%

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

\* فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

\*\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

♦ فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 8%.

□ فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بالتركيز 8% .

في حين يبين الجدول (8) معدل الكثافة الضوئية (العكورة) للوسط السائل الملقح بالفطرين المذكورين حيث انخفضت قراءة الكثافة الضوئية مع ازدياد تراكيز مستخلص الكراث وسجل تركيز 10% و 15% من المستخلص فروقات عالية المعنوية في معدل العكورة للفطرين قيد الدراسة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وتركيز 8%. تم استخدام الوسط السائل PD broth بدلا من الأوساط الأخرى حيث وجد هو الأفضل والأحسن لنمو الفطريات وانتاج السموم الفطرية وهذا يتوافق مع دراسة [18].

جدول-8: معدل الكثافة الضوئية للوسط الزراعي السائل الملقح بالفطر *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* لمجموعة السيطرة والمعاملات بالمستخلص الكحولي للكراث.

معدل الكثافة الضوئية (العكورة)		التركيز
<i>Rhizopus oligosporium</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
0.95±0.04	0.92±0.02	السيطرة
0.86±0.04*	0.87±0.01*	%8
0.77±0.04**♦	0.71±0.03**♦	%10
0.74±0.05**♦	0.63±0.03**□	%15

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

\* فروق معنوية ( $P<0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

\*\* فروق عالية المعنوية ( $P<0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

♦ فروق عالية المعنوية ( $P<0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز %8.

□ فروق عالية المعنوية ( $P<0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بالتراكيز %8 و %10.

تعتمد قراءة الكثافة الضوئية على تركيز السبورات في الوسط الزراعي السائل حيث يشير الجدول (9) الى انخفاض معدل عدد السبورات ( $10^6$  /ملليتر) للفطرين المذكورين مع ازدياد تراكيز مستخلص البصل الكحولي المستخدم حيث سجل تركيز %10 و %15 من المستخلص فروق عالية المعنوية في عدد السبورات للفطر *A. flavus* عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة في حين سجلت نفس التراكيز فروق معنوية وعالية المعنوية في معدل عدد السبورات للفطر *R. oligosporium* عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة. توجد علاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *A. flavus* والفطر *R. oligosporium* وبين قراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزراعي السائل المعامل بمستخلص البصل الكحولي (الشكلين 1 و 2). حيث تعمل هذه المستخلصات النباتية في الحد من نمو الفطريات و إنتاجها للأفلاتوكسين من خلال خفض اخذ الأوكسجين واختزال نمو الكائنات وتنشيط تصنيع الدهون والبروتينات و الأحماض النووية و أخيرا تحطيم جدران الخلية [19].

جدول-9: معدل عدد السبورات ( $10^6$ /مل) لنوعي الفطريات *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* المعاملة بمستخلص البصل الكحولي (40%) في وسط PD broth .

معدل عدد السبورات ( $10^6$ /مل)		التركيز
<i>Rhizopus oligosporium</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
52.0 ± 22.27	38.67 ± 4.62	السيطرة



تأثير المستخلصات الكحولية الخام لنباتي البصل والكراث على نمو بعض الفطريات الممرضة *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium*

انعام وحسين وغنية وخالد

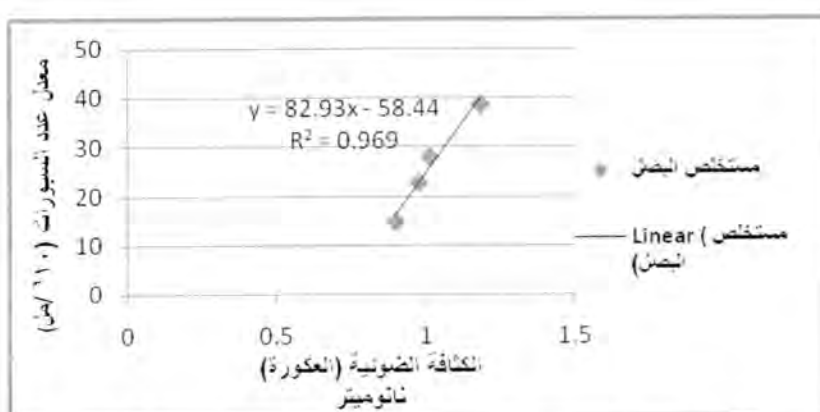
33.33 ± 12.22	28.0 ± 4.0 *	%8
20.0 ± 8.0*	22.67 ± 2.31**	%10
2.67 ± 2.31**♦	14.67 ± 8.33**♦	%15

النتائج تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

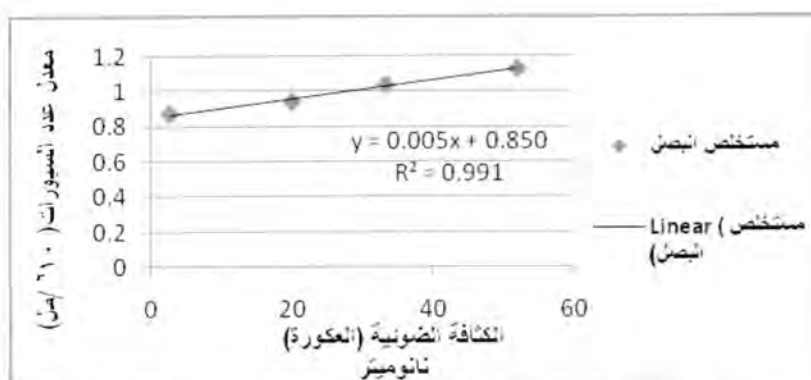
\* فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

\*\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

♦ فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز %8.



شكل-1: العلاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *A. flavus* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزراعي السائل المعامل بمستخلص البصل الكحولي.



شكل-2: العلاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *R. oligosporium* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزراعي السائل المعامل بمستخلص البصل الكحولي.

يبين الجدول (10) عدد السبورات الفطرية في الوسط السائل بعد معاملة الفطرين *A. flavus* و *R. oligosporium* بتركيزات مختلفة من مستخلص الكراث الكحولي حيث انخفض معدل عدد السبورات للفطر *A. flavus* من 86.67 سبور في مجموعة السيطرة الى 48.00، 38.67، 30.67 سبور في

المعاملات 8% و 10% و 15% من مستخلص الكراث الكحولي. بينما يوضح نفس الجدول ان تركيزي المستخلص 10% و 15% سببا فروقا عالية المعنوية في معدل عدد السبورات للفطر *R. oligosporium* عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة. يوضح الشكلين 3 و 4 العلاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *A. flavus* والفطر *R. oligosporium* و بين قراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزراعي السائل المعامل بمستخلص الكراث الكحولي.

تم استبعاد المستخلص المائي في خفض نمو الفطريات السامة حيث لم يعطي اي نتيجة بل شجع النمو الفطري وتتفق هذه النتائج مع ما وجدته [20] بان المستخلصات المائية للاعشاب وبتركيز قليلة لم تثبط النمو الفطري بل بالعكس شجعت النمو الفطري. تستطيع هذه الفطريات ان تعيش في الانهار والبحيرات حيث تمكن [21] في عام 1983 من عزل 35 نوع من الفطريات المرضية للانسان من نهر Ikpoba في نيجيريا وتشمل هذه الانواع *Geotricum candidum* و *Aspergillus fumigatus* و *Candida albicans*. كذلك دراسة [22] قاموا بعزل 38 فطر وذلك من خلال دراستهم للمجتمع الفطري في نهر estuary وكانت الاجناس *Mucor* و *Cladosporium* و *Pencillium* و *Trichoderma* و *Phoma* هي الاكثر ترددا وقد لاحظنا ان الفطريات موجودة حتى في الاماكن العميقة جدا والتي تصل الى 35-45 متر ومنها تم عزل 11 جنس.

تتصف الفطريات المستخدمة في الدراسة انها تستطيع ان تعبر خلال عمليات المعالجة بواسطة النضوح في النظام او من خلال تلامس الهواء مع الماء المخزون في انظمة التوزيع وتستطيع هذه الفطريات ان تعيش في المياه المعقمة بالكلور [23]. اخيرا ان هذه المسخلصات اشتركتا معا في تأثيراتها التثبيطية في كلا الوسطين السائل والصلب على بعض الفعاليات الحيوية لخلايا الفطر وكذلك تأثيراتها في بعض الانزيمات الضرورية لانتاج الطاقة [24].

جدول-10: تأثير مستخلص الكراث الكحولي (40%) في معدل عدد السبورات ( $10^6$ /مل) للفطر *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* على وسط PD broth .

معدل عدد السبورات ( $10^6$ /مل)		التركيز
<i>Rhizopus oligosporium</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
85.33 ± 12.86	86.67 ± 15.14	السيطرة
73.33 ± 4.62 ♦	48.00 ± 12.0 *	8%

تأثير المستخلصات الكحولية الخام لنباتي البصل والكراث على نمو بعض الفطريات الممرضة *Rhizopus* و *Aspergillus flavus* و *oligosporium*

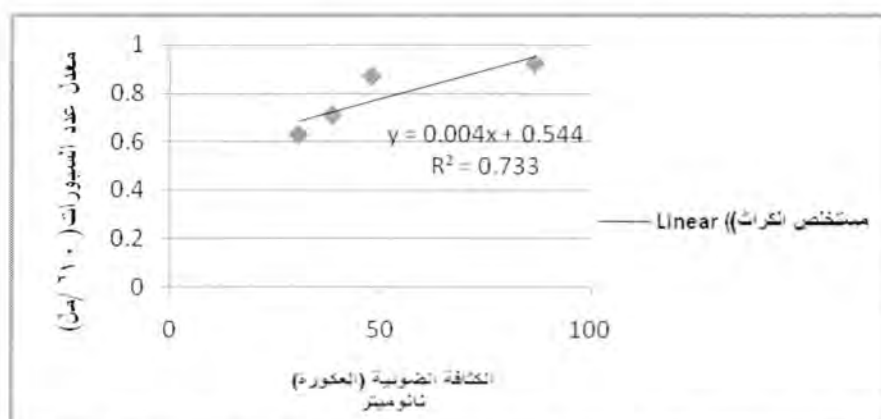
انعام وحسين وغنية وخالد

$32.00 \pm 18.33^*$	$38.67 \pm 2.31^*$	%10
$28.00 \pm 4.00^*$	$30.67 \pm 4.62^*$	%15

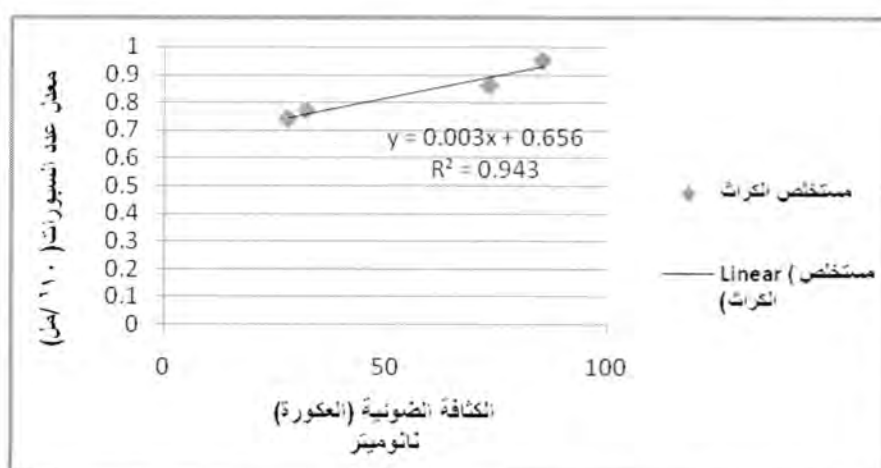
النتائج تمثل المعدل  $\pm$  الانحراف المعياري

\* فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

♦ فروق عالية المعنوية ( $P < 0.001$ ) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 10% و 15%.



شكل-3: العلاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *A. flavus* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزراعي السائل المعامل بمستخلص الكراث الكحولي



شكل-4: العلاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *R. oligosporium* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزراعي السائل المعامل بمستخلص الكراث الكحولي

## المصادر

1. قطب، فوزي طه. "النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها"، دار المريخ للنشر، الرياض، السعودية. (1981)
2. Prescott, L.M.; Harley, J.A. and Klein, D.A. Microbiology 3<sup>rd</sup> ed. W.M.C. Brown publishers U.S.A. 935. (1996)
3. Freeman, F. and Koder, Y. "Garlic: stability of S-(2-propenyl)-2-propene-1-sulfinothioate (allicin) in blood, solvents, and simulated physiological fluids". J. Agric. food chem. 43: 2332-2338. (1995).
4. Lawson, L.D. and Hughes, B.G. "Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic" planta med. 58: 345-350. (1992).
5. Muhsin, T. M & Booth, T. "Fungi associated with halophytes from Delta Marsh, Manitoba, Canada" – Can. Bot. 65: 1137-1151. (1987).
6. Raper, K.B. and Fennell, D.I. "The genus *Aspergillus*". Williams & Wilking Co., Baltimore, 686. (1965).
7. Barnett, H.L. and Hunter, B.B. "Illustrated genera of imperfect fungi". 3<sup>rd</sup> ed. Burgess publ. co., Minnesota. (1972).
8. Irkin, R. and Korukluoglu, M. "Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts". Afr. J. Biotechnol. 6 (4): 384-387. (2007).
9. Ghahfarokhi, M. S.; Razafsha, M.; Allameh, A. and Abyaneh, M. R. "Inhibitory Effects of Aqueous Onion and Garlic Extracts on Growth and Keratinase Activity in Trichophyton mentagrophytes". Iran. Biomed. J. 7 (3): 113-118. (2003).
10. Paisley, D.; Robson, G.D. & Denning, D. W. "Correlation between in vitro growth rate and in vivo virulence in *Aspergillus fumigatus*". Medical Mycology. 43: 397-401. (2005).
11. Wilson, E.A. and Demmig-Adams, B. "Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onion". Nutrition and Food Science. 37: 178-183. (2007).

12. Kyung, K.H. and Lee, Y.C. "Antimicrobial activities of sulfur compounds derived from S-Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides in Allium and Brassica". Food Reviews International. 17(2): 183-198. (2001).
13. Pereira, M.C. ; Chalfoun, S.M.; Pimental, C.J.; Angélico, C. L. and Maciel, W. P. "Spices, fungi mycelial development and ochratoxin A production". Scientific Research and Essay. 1(2): 038-042. (2006).
14. Gowda, N. K. S.; Malathi, V. and Suganthi, R. U. "Effect of some chemical and herbal compounds on growth of Aspergillus parasiticus and aflatoxin production". Animal Feed Science and Technology 116(3-4): 281-291. (2004).
15. Kivanc, M. and Kunduhoglu, B. "Antimicrobial activity of fresh plant juice on the growth of bacteria and yeast". J. Qafqaz Univ. 1: 27-31. (1997).
16. Topal, S. "The researches about antimicrobial effects of garlic and onion". International Food Symposium. 4-6. April. Bursa-Turkey, Proceeding Book. 450-462. (1989) (abstract).
17. Thanaboripat, D.; Suvathi, Y.; Srilohasin, P.; Sripakdee, S.; Patthanawanitchai, O. and Charoensettasilp, S. "Inhibitory effect of essential oils on the growth of Aspergillus flavus". KMITL Sci. Tech. J. 7 (1):1-7. (2007).
18. Bokhari, F. and Aly, M.M. "Trials towards reduction of fungal growth and aflatoxin G1 production in arabic coffee using different additives". Afr. J. Food. Sci. 3(3): 068-076. (2009).
19. Harris, J.C.; Cottrell, S.L.; Plummer, S.; Lloyd, D. "Antimicrobial properties of Allium sativum (garlic)". Applied Microbiol. Biotechnol. 57: 282-286. (2001).
20. Thanaboripat, D., Nontabenjawan, K., Leesin, K., Teerapiannont, D., Sukcharoen, O. and Ruangrattanametee, V. "Inhibitory Effect of Garlic, Clove and Carrot on Growth of Aspergillus flavus and Aflatoxin Production". J. of Forestry Research. 8: 39-42. (1997).



21. Ulfig, K. and korcz, M. "Isolation of keratinophilic fungi from sewage sludge". *Sabouroudia*. 21: 247-250. (1983).
22. Findlay, S.; Tank, J.; Dye, S.; Valett, H.M.; Mulholland, P.J.; McDowell, W.H.; Johnson, S.I. "A cross-system comparison of bacterial and fungal biomass in detritus pools of headwater streams". *Microbiol. Ecol.* 43: 55-66. (2002).
23. Hedayati, M.T.; Pasqualotto, A.C.; Warn, P.A.; Bowyer, P. and Denning, D.W. "Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer". *Microbiology*. 153: 1677-1692. (2007).
24. Chakaravarty, H.L. "Plant wealth of Iraq" (Adictionary of economic plants). 1: 20-21. (1976).

## دراسة تأثير درجة الحرارة والأس الهيدروجيني على إنتاج إنزيم Cellulases من الفطر *Trichoderma viride*

\*محمد ياسين خضير و \*\*مهند محمد نوري و \*\*\*هادي مهدي عبود.

\*الجامعة الإسلامية / كلية التربية

\*\* الجامعة المستنصرية / كلية العلوم

\*\*\* دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/23

### ABSTRACT

Result of evaluation five Temperature (20,25,30,35,40)c°. revealed that 25c° was the optimum one which recorded 2.97 enzyme unit/ml in broth media and 1.2cm analytic zone on solid media respectively, while at 40c° was the lowest which recorded 0.82 enzyme unit/ml in broth media and 0.4cm analytic zone on solid media.

Result of the influence of six pH levels revealed that the optimum pH was 5 which recorded 3.15enzyme unit/ml in broth media and 1.25cm analytic zone on solid media respectively, while at pH 9was the lowest which recorded 1.07 enzyme unit/ml in broth media and 0.45cm analytic zone on solid media.

### الخلاصة

أظهرت نتائج اختبار تأثير خمسة درجات حرارية (20،35،30،25،40) م أن درجة الحرارة 25 م هي الأمثل إذ سجلت أعلى فعالية إنزيمية بلغت 2.97 وحدة إنزيمية/مل في الوسط السائل كما بلغ قطر الهالة 1.2 سم في الوسط الصلب في حين سجلت درجة الحرارة 40 م أوطأ فعالية إنزيمية بلغت 0.82 وحدة إنزيمية/مل في الوسط السائل كذلك بلغ قطر الهالة 0.4 سم في الوسط الصلب .

وبينت نتائج تأثير ستة مستويات من الأس الهيدروجيني أن الأس الهيدروجيني 5 هو الأفضل ، إذ سجلت فعالية إنزيمية بلغت 3.15 وحدة إنزيمية/مل في الوسط السائل كما بلغ قطر الهالة 1.35 سم في الوسط الصلب بينما سجل الأس الهيدروجيني 9 أوطأ إنتاجية إذ بلغت الفعالية الأنزيمية 1.07 وحدة إنزيمية/مل في الوسط السائل كذلك بلغ قطر هالة التحلل 0.45 سم في الوسط الصلب .

## المقدمة

مجموعة إنزيمات السليلوز المنتجة من الفطريات هي عبارة عن ثلاث إنزيمات تنتمي إلى مجموعة إنزيمات التحلل المائي وهي  $\text{Endo-1,4-}\beta\text{-D-glucanase}$  أو  $\text{1,4-}\beta\text{-D-glucangulcanohydrolase Ec. 3. 2. 1. 4}$  والذي يعمل على تحليل الأصرة الكلايوكوسيدية بشكل عشوائي وفي المناطق غير المتبلورة من السليلوز إما إنزيم  $\text{Exo-1,4-}\beta\text{-D-glucanase}$  أو  $\text{1,4-B-D-glucangulcancellbiohydrolase Ec. 3.2.1.91}$  أو  $\text{1,4-}\beta\text{-D-glucangulcancellbiohydrolase Ec.3.2.1.74}$  فهو يعمل على تحرير Cellobiose من النهايات المختزلة وغير المختزلة للسليلوز إما  $\beta\text{-glycosidase}$  أو  $\beta\text{-d-Cellobiose or glycosidase glycohdrolase Ec.3.2.1.21}$  والذي يعمل على تحليل السليلوز إلى الكلويز وسكريات أخرى بسيطة {1} .

الفطر *Trichoderma* وهو من الفطريات الناقصة المستوطنة في التربة والتي تتكاثر بواسطة الأبواغ الكونيدية وبعضها بواسطة الكلاميدية {2} ولكون اغلب أنواعه تعيش متطفلة على الفطريات الأخرى بما يعرف بالتطفل الفطري فإن لهذا الفطر أهمية كعامل مكافحة إحيائية لمسببات المرضية {3} ويعد الفطر *Trichoderma* الأول عالميا في إنتاج إنزيم السليلوز .

إن للسليلوز مدى واسع من التطبيقات ومن هذه التطبيقات انه يدخل في صناعات الغذائية وفي غذاء الحيوانات وفي صناعة المنسوجات والوقود الحيوي و المنظفات وصناعة الورق والعجينة الورقية وفي الصناعات الصيدلانية والطبية و إنتاج البرتوبلاست وفي معالجة البيئة وتطبيقات الهندسة الوراثية {4,5} .

## المواد وطرق العمل

- الزابك السائل Czapek- broth المحور :

حضر الوسط حسب ما ورد في {6} بإضافة 2 غم من  $\text{NaNO}_3$  و 0.5 غم من  $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$  و 1 غم من  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  و 0.5 غم من  $\text{KCl}$  و 0.01 غم من  $\text{FeSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$  و 20 غم من مادة الكربوكسي مثيل السليلوز (CMC) ، ثم أذيبت المكونات في لتر ماء مقطر وضبط الأس الهيدروجيني إلى 5 وعقم بالمؤسدة بدرجة حرارة 121 م وضغط 1 بار ولمدة 15 دقيقة. وعند استعمال الوسط الصلب أضيف إلى وسط 18 غم من الاكار .

## - المحاليل و الكواشف:

- محلول مادة التفاعل كاربوكسي مثيل السليلوز :

- 1- ذوب واحد غرام من مادة CMC في 80 مل ماء مقطر ساخن (80-90)°م مع التحريك المستمر .
  - 2- أضيف 10 مل من 0.5M محلول سترات الصوديوم pH=5.
  - 3- أكمل الحجم إلى 100 مل بالماء مقطر {7}.
- حضر المحلول قبل الاستعمال مباشرة واستخدم لتقدير فعالية الأنزيم .

## - كاشف 3,5 Dinitro Salicylic acid (DNS):

حضر هذا الكاشف حسب طريقة {8} وذلك بإذابة 1 غم من حامض ( DNS ) في 30 مل ماء مقطر بعيدا عن الضوء وبعد انتشار المادة في الماء أضيف إليه 20 مل من محلول NaOH بتركيز 2 مولاري وبعد التأكد من ذوبان DNS أضيف 30 غم من ملح روشل ( - Pottasium ) Sodium tartarat تدريجيا لحين الإذابة التامة ليكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر . بعدها تم الحفظ في قنينة معتمدة في الثلاجة .

## - محلول الكلوكوز الخزين Stock Solution:

حضر محلول الكلوكوز الخزين بإذابة 0.2 غم من الكلوكوز النقي في كمية من الماء المقطر وبعدها أكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر. ثم استعمل في تحضير منحني الكلوكوز القياسي.

## - تحضير الراشح الأنزيمي :

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل {9} والمحورة ، حيث جهزت دوارق زجاجية سعة 150 مل بالوسط الزراعي السائل وبعد تعقيم الأوساط الزراعية بجهاز المؤصدة تم تلقيح كل دورق بقرص واحد قطره 0.5 سم من مزرعة العزلة الأكفأ للفطر *Trichoderma* وبواقع خمس مكررات حضنت الدوارق بدرجة حرارة 25°م ولمدة سبعة أيام ، وجرى بعد ذلك فصل الكتلة الحيوية عن الراشح وعلى ثلاث مراحل : الأولى باستعمال قمع بخنر مجهز بورق ترشيح (Whitman No.1 - No.4) وبمساعدة جهاز التفريغ الهوائي والثانية باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة /دقيقة و لمدة 10 دقائق والثالثة باستعمال المرشح الدقيق Millipore قياس 0.45 µm وبصورة متوالية . ومن ثم حفظ الراشح في الثلاجة لحين الاستعمال .



- تقدير فعالية الأنزيم :

- تقدير السكريات المختزلة:

اتبعت طريقة {10} في تقدير السكريات المختزلة وكالاتي:

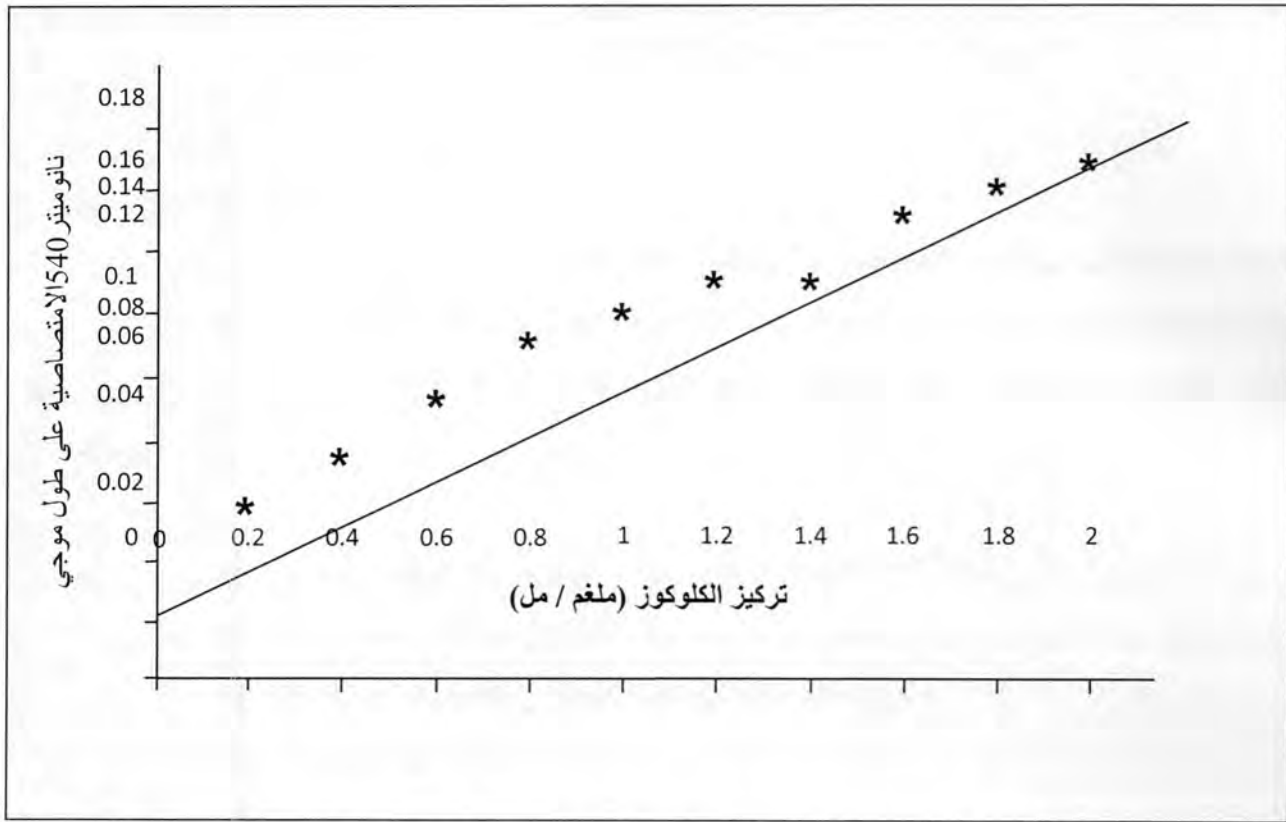
#### 1- المنحنى القياسي للكلوكوز

أضيفت الحجوم الآتية من محلول إلى أنابيب الاختبار ثم أضيفت إليها الحجوم مناسبة من الماء المقطر ليصبح التركيز النهائي للكلوكوز في كل أنبوبة كما موضح أدناه :

ت	حجم المحلول الخزين للكلوكوز (مل)	حجم الماء المقطر المضاف (مل)	تركيز الكلوكوز (ملغم/مل)
1	0	1	0
2	0.1	0.9	0.2
3	0.2	0.8	0.4
4	0.3	0.7	0.6
5	0.4	0.6	0.8
6	0.5	0.5	1
7	0.6	0.4	1.2
8	0.7	0.3	1.4
9	0.8	0.2	1.6
10	0.9	0.1	1.8
11	1	0	2

ثم أضيفت لكل أنبوبة مما تقدم 1 مل من الكاشف (DNS) عرضت بعدها للغليان لمدة 5 دقائق في حمام مائي ثم بردت مباشرة بالماء الجاري أعقبها إضافة 10 مل من الماء المقطر لكل أنبوبة مع الرج جيد . ثم قيس الامتصاص الضوئي باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وبطول موجي 540 نانومتر وكانت الأنبوبة رقم واحد بمثابة الأنبوبة الكفاء (Blank) وقد تم الحصول على المنحنى القياسي شكل (1) والذي يمثل العلاقة الخطية بين قيم الامتصاص الضوئي وتركيز الكلوكوز .





شكل 1- : منحنى الكلوكوز القياسي لتقدير السكريات المختزلة

## 2- تقدير السكريات المختزلة عن طريق السليلوز:

ويتم تقدير السكريات المختزلة عن طريق الأنزيم على نحو التالي :

- a - حضن 0.9 مل من محلول مادة التفاعل (الكاربوكسي مثيل السليلوز) مع 0.1 مل من المستخلص الأنزيمي بدرجة حرارة 45 °م ولمدة ساعة واحدة .
- b- أضيف 1مل من كاشف (DNS) وضع المزيج في حمام مائي مغلي لمدة خمسة دقائق ثم برد مباشرة وأضيف له 10 مل من الماء المقطر .
- c- حضر محلول الكفاء (Blank) بإضافة 1مل من كاشف (DNS) إلى 0.9 مل من مادة التفاعل أعقبها إضافة 0.1 مل من المحلول الأنزيمي غير النشط .
- d- قدرة السكريات المختزلة المتحررة بالرجوع إلى المنحنى القياسي للكلوكوز في شكل (1) لغرض حساب الفعالية الأنزيمية .

وتعرف وحدة الفعالية الأنزيمية بأنها كمية الأنزيم اللازمة لتحرير مايكرو مول من سكريات المختزلة في الساعة الواحدة تحت ظروف التجربة .

$$\text{فعالية الأنزيم (السليز) = } \frac{1000 \times \text{كمية الكلوكوز}}{\text{حجم العينة} \times \text{وقت الحضانة} \times \text{الوزن الجزيئي}}$$

- تحديد درجة الحرارة المثلى:

- في الوسط الصلب :

تم تنمية العزلة الفطرية في درجات حرارة مختلفة (20، 25، 30، 40)°م وعلى وسط الزابك الصلب وبتركيز 10غم/لتر للمصدر الكاربوني (CMC) ولمدة 5 أيام لتحديد درجة الحرارة الأمثل لإنتاج الأنزيم ، إذ تم قياس الإنتاج عن طريق الاختبار النوعي بظهور هالة التحلل والكمي بقياس قطر الهالة كمرحلة أولية .

- في الوسط السائل:

تم تنمية العزلة الفطرية في درجات حرارة مختلفة (20، 25، 30، 40)°م وعلى وسط الزابك السائل وبتركيز 10غم/لتر للمصدر الكاربوني (CMC) ولمدة 5 أيام. لتحديد درجة الحرارة الأمثل لإنتاج الأنزيم ، إذ تم قياس الإنتاج عن طريق قياس الفعالية الأنزيمية كمرحلة تأكيدية .

- تحديد الأس الهيدروجيني الأمثل:

- في الوسط الصلب :

حضر الوسط الزابك الصلب بأرقام هيدروجينية مختلفة (4، 5، 6، 7، 8، 9) وبتركيز 10غم/لتر للمصدر الكاربوني (CMC) ولمدة 5 أيام . لتحديد الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج الأنزيم ، إذ تم قياس الإنتاج عن طريق الاختبار النوعي بظهور هالة التحلل والكمي بقياس قطر الهالة كمرحلة أولية .

- في الوسط السائل:

حضر الوسط الزابك السائل بأرقام هيدروجينية مختلفة (4، 5، 6، 7، 8، 9) وبتركيز 10غم/لتر للمصدر الكاربوني (CMC) ولمدة 5 أيام . لتحديد الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج الأنزيم ، إذ تم قياس الإنتاج عن طريق قياس الفعالية الأنزيمية كمرحلة تأكيدية .

## النتائج والمناقشة

- تحديد درجة الحرارة :

- على أساس قياس قطر هالة التحلل في الوسط الصلب :

أظهرت نتائج تأثير خمسة درجات حرارية (20،25،30،35،40) في قابلية الفطر *T.viride* على إنتاج السليليز على الوسط الصلب ارتفاع قابلية الفطر على إنتاج أنزيم السليليز بارتفاع درجة حرارة من 20°م إلى 25°م.

إذ بلغ قطر هالة التحلل 0.75 سم عند درجة حرارة 20°م ليرتفع قطر هالة التحلل إلى 1.2 سم عند درجة حرارة 25°م ، ليعود بعدها قطر هالة التحلل بالانخفاض التدريجي مع ارتفاع درجة الحرارة إذ بلغ قطر هالة التحلل 0.8 سم عند درجة حرارة 30°م بينما بلغ قطر الهالة 0.5 سم عند درجة حرارة 35°م ليبلغ قطر هالة التحلل أوطئ مداه عند درجة حرارة 40°م إذ بلغ 0.4 سم (الجدول 1) .

- على أساس قياس الفعالية الأنزيمية في الوسط السائل :

أظهرت نتائج تأثير خمسة درجات حرارية (20،25،30،35،40) في قابلية الفطر *T.viride* على إنتاج السليليز على الوسط السائل كخطوة تأكيدية ازدياد الفعالية الأنزيمية بارتفاع درجة حرارة من 20°م إلى 25°م.

إذ بلغت الفعالية الأنزيمية 2.05 وحدة أنزيمية /مل عند درجة حرارة 20°م لتصل إلى 2.97 وحدة أنزيمية /مل عند درجة حرارة 25°م ، لتتخفض بعدها القدرة على إنتاج الأنزيم إلى 2.35 وحدة أنزيمية /مل عند درجة حرارة 30°م ولتستمر بالانخفاض عند درجة حرارة 35°م و 40°م إذ بلغت على التوالي 1.66 و 0.82 وحدة أنزيمية /مل (شكل 2).

أن التباين الحاصل في إنتاج الأنزيم بتغير درجة الحرارة ربما يعود إلى تأثير درجة الحرارة في المسارات الحيوية التي تؤدي إلى إنتاج الأنزيم وبالتالي في نشاط وحيوية الفطر . إن نتائج هذه الدراسة جاءت مقارنة لما ذكره {11} إن أفضل درجة حرارة لإنتاج السليليز (CMCase) من فطر *T.reesei* كانت 28°م .

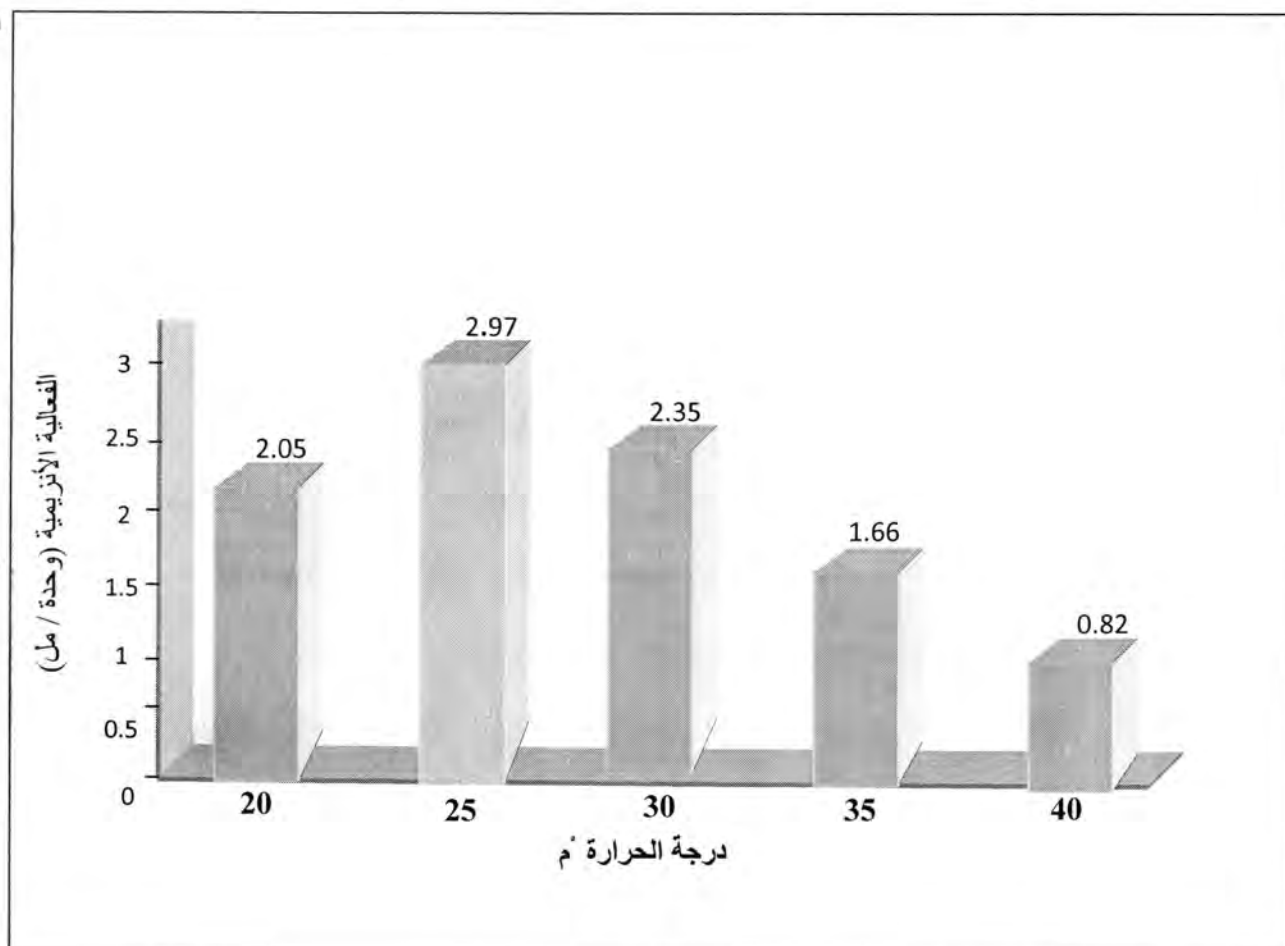
أما {12} فقد بينوا أن درجة الحرارة المثلى لإنتاج السليليز (CMCase) من الفطر المحب للحرارة *Humicola insolens* كانت 50°م . إما {13} فقد أوضحوا أن أفضل إنتاج لأنزيم السليليز من بكتريا *Bacillus subtilis* كانت عند درجة حرارة 40°م .

محمد ومهند وهادي

جدول-1: تأثير درجات الحرارة المختلفة على إنتاج السليليز من فطر *T.viride* في الوسط الزابك

الصلب

درجة الحرارة °م	القابلية على إنتاج الأنزيم	معدل قطر هالة التحلل (سم)
20	+	0.75
25	+	1.2
30	+	0.8
35	+	0.5
40	+	0.4



شكل-2: تأثير درجات الحرارة في إنتاج أنزيم السليليز من فطر *T.viride* في الوسط الزابك السائل

- تحديد الأس الهيدروجيني الأمثل :

- على أساس قياس قطر هالة التحلل في الوسط الصلب :

أظهرت نتائج اختبار اثر ستة مستويات من الأس الهيدروجيني (4,5,6,7,8,9) في قابلية الفطر *T.viride* على إنتاج السليليز على الوسط (C.A) الصلب أن هناك تباين واضح في إنتاج أنزيم السليليز من قبل الفطر قد رافقت قيم الأس الهيدروجيني المختبرة (الجدول 2).

إذ بلغ قطر هالة التحلل 0.8 سم عند pH 4 ليزداد إلى أقصاه عند pH 5 إذ بلغ قطر هالة التحلل 1.35 سم ، بينما كان عند 6 و 7 pH قد بلغ قطر هالة التحلل 1.1 و 0.9 سم وعلى التوالي ، ليصل إلى مستويات ضعيفة عند 8 و 9 pH إذ بلغ قطر هالة التحلل 0.6 و 0.45 سم وعلى التوالي .

- على أساس قياس الفعالية الأنزيمية في الوسط السائل :

أظهرت نتائج اختبار اثر ستة مستويات من الأس الهيدروجيني (4,5,6,7,8,9) في قابلية الفطر *T.viride* على إنتاج السليليز على الوسط (C.A) السائل كخطوة تأكيدية إن هناك تباين واضح في إنتاج أنزيم السليليز من قبل الفطر قد رافقت قيم الأس الهيدروجيني المختبرة .

إذ تراوحت من قابلية عالية على إنتاج الأنزيم في مدى 5-7 pH إذ بلغت الفعالية الأنزيمية 3.15 و 2.82 و 2.47 وحدة أنزيمية /مل على التوالي ، إلى قابلية ضعيفة على الإنتاج عند الأس الهيدروجيني 8 و 9 إذ بلغت الفعالية الأنزيمية 1.66 و 1.07 وحدة أنزيمية /مل على التوالي ، بينما كانت قدرة الفطر على إنتاج أنزيم السليليز متوسطة عند pH=4 إذ بلغت الفعالية الأنزيمية 2.17 وحدة أنزيمية /مل (شكل 3) ، إن هذه النتائج جاءت متوافقة مع ما ذكره {14} على أن الفطريات تمتاز بتحملها الوسط الحامضي مقارنة مع الأحياء المجهرية الأخرى مثل البكتريا ، غير أن معظمها يفضل الأس الهيدروجيني ما بين 5-7.

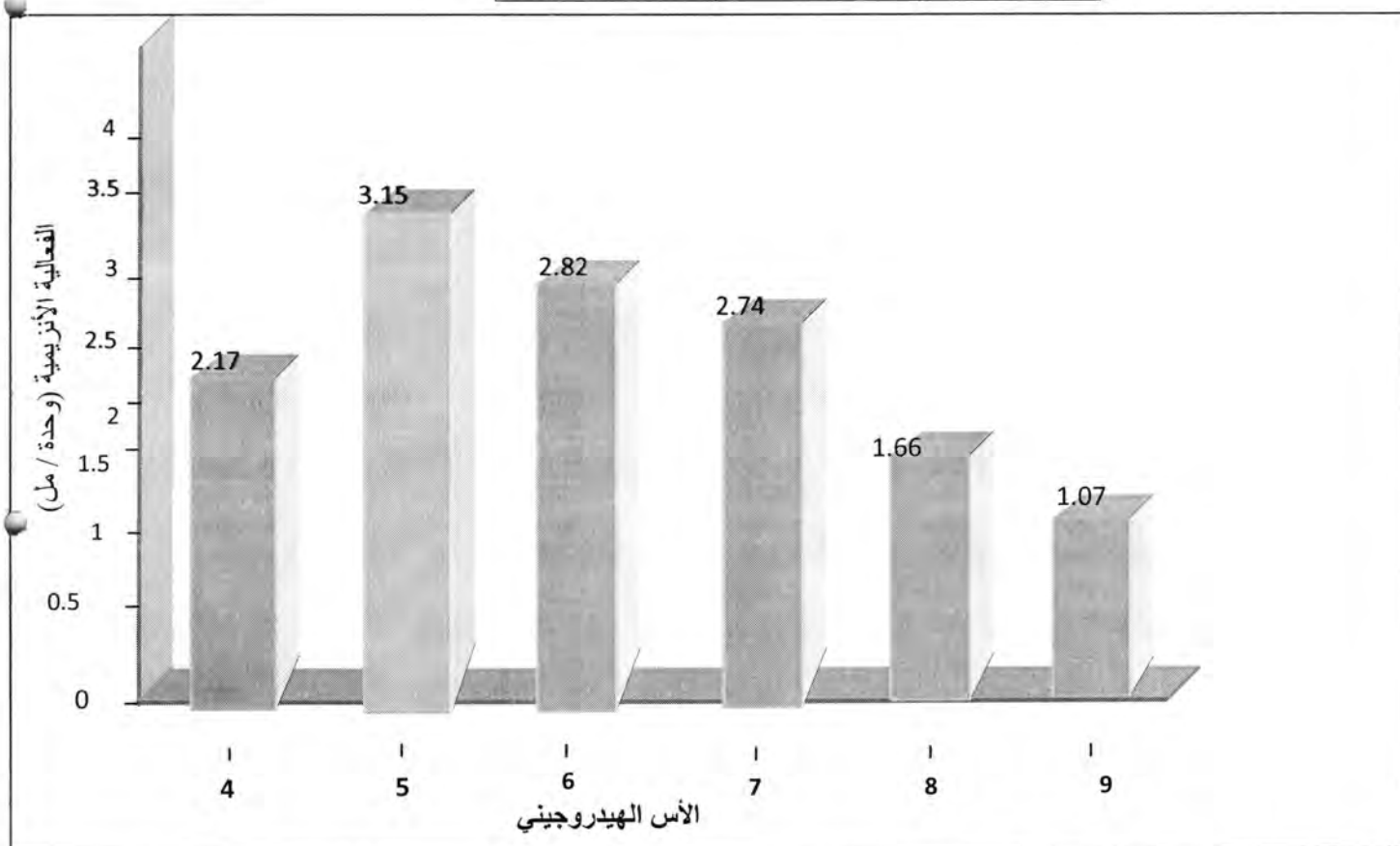
كذلك يظهر من شكل (3) إن أعلى إنتاج للفطر كان عند pH 5 وقد يعود السبب إلى إن أعلى فعالية للأنزيم المنتج من الفطر *T.viride* تكون عند مدى 5-5.5 pH كذلك تكون أفضل ثباتية للأنزيم عند 5-6 pH {15}.

إن نتيجة جاءت مقارنة لما وجده {11} على إن الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج السليليز (CMCase) من فطر *T.reesei* كان 4.8 كذلك توصل {12} على إن الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج السليليز (CMCase) من فطر *H.insolens* كان 5.5 pH وأيضاً مقارب لما ذكره {16} فقد بينوا أن الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج السليليز من فطر *A.niger* هو 5.5 pH ويعزى تأثير الأس الهيدروجيني في إنتاج الأنزيم إلى تأثيره في ذوبان الأملاح في الوسط وتأين المواد الغذائية وانتقالها وبالتالي تجهيزتها وتيسيرها للكائن المجهرى النامي {14}.



جدول - 2 : تأثير الأس الهيدروجيني في إنتاج السليليز على الوسط الزابك الصلب

الأس الهيدروجيني pH	القابلية على إنتاج الأنزيم	معدل قطر هالة التحلل (سم)
4	+	0.8
5	+	1.35
6	+	1.1
7	+	0.9
8	+	0.6
9	+	0.45



شكل- 3: تأثير الأس الهيدروجيني في إنتاج أنزيم السليليز من فطر *T.viride* في الوسط الزابك السائل

## المصادر

- 1- Bath, M. K and Bath, S, "cellulose degradation enzyme and their potential industrial applications", *Biotechnology Adv*, 15, 583-620 (1993).
- 2- احمد، محمد علي، "عالم الفطريات"، الدار العربية للنشر و توزيع (1998).
- 3- العزاوي، أياد قحطان وحيد، "تقييم كفاءة الفطر *Paecilomyces lilacinus* (thom) Samson كعامل للمكافحة الإحيائية لبعض مسببات أمراض النبات الفطرية"، رسالة ماجستير، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية (2002).
- 4- Beguin, P.; and Anbert, J.P, "The biological degradation of cellulose", *FEMS Microbiol, Rev*, 13, 25-58 (1993).
- 5-Moussa, A. A.T. and Tharwat, A. N, "Optimization of cellulase and  $\beta$ -glycosidase induction by sugar beet pathogen *Sclerotium rolfsii*", *African journal of Biotechnology*, 6, 1048-1054 (2007).
- 6- Narasimha, G.; sridevi, A.; Buddolla, V.; Subhosh, C.M. and Rajsekhar, R.B, "Nutrient effect on production of cellulolytic enzymes by *Aspergillus niger*", *Afr. J. Biotechnology*, 5(5), 472-476 (2006).
- 7- Mandels, M. ; Hontz, L. and Nystrom, J, "Enzymatic hydrolysis of waste cellulose *Biotechnology*", *Bioeny*, 16, 1471- 1493 (1974).
- 8- Whitaker, J. R. and Bernhard, R. A, "Experiments for an Introduction to Enzymology", The Whiber press, Davis (1972).
- 9- Elead, Y.; Chet, I. and Henis, Y, "Degradation of plant pathogenic Fungi by *Trichoderma Harzianum*", *Can J. Microbiol*, 28, 719-725 (1982).
- 10- Mandels, M. and Andreatii, R. C, "Measurement of saccharifying Cellulase", *Biotechnol. Bioeng, Symp*, 6, 21-23 (1976).
- 11- Das, M. ; banerjee, R. and Bal, S, "Multivariable parameter optimization for the Endoglucanase production by *Trichoderma ressei* Rut30 from ocium gratissimum seed", *Brazilian Archives of Biology and technology*, 51, 35-41 (2008).
- 12- Jived, M. M. ; Khan, S. T. and Haq, U. I, "Sugar cane bagasse pretreatment : An attempt to enhance the production potential of cellulases by *Humicola*

محمد ومهند وهادي

*insoolens* Tas-13", Electronic Journal of Environmental, Agriculture and Food Chemistry, 8, 2290-2296 (2007).

13-Ray, K. A. ; Bairagi, A. ; Chosh, S. K. and Sen , K. S, "Optimization of fermentation Condition for cellulase Production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated form fish gut", ACTA ichthyologic piscatorial , 37, 47-53 (2007).

14- Berry, D. R, "The environmental control of the physiology of filamentous fungi", In: The Filamentous Fungi, Vol.1 (ed. by J.E. Smith and D.R. Berry), pp, 16-32, Arnold (1975).

15-Witkowska, D, "Isolation and Characteristics of Cellulases from culture filtrate of *Trichoderma viride* C-1", Zeszyty- Naukowe- Akademii - Rolniczej - We- Wroclawiu Technologia - Zywnosci (Poland), (No. 184) p. 255-266 (1990).

16- Acharya , P. B. ; Acharya , D. K. and Modi , H. A, "Optimization for cellulase production by *Aspergillus niger* using saw dust as substrate", African Journal of Biotechnology, 7 (22) , 4147-4152 (2008).

## التسحيح المجهادي لتعيين تركيز ايونات النحاس في المحاليل باستخدام قطب

## ايون النحاس الانتقائي

عدي احمد عبد الستار ونضال حميد كريم ومحمد خليل محمد

وزارة العلوم والتكنولوجيا / بحوث كيمياء وفيزياء المواد

## ABSTRACT

Solid membrane electrode selective for copperic ion manufactured by ORION CO. type (94-29) was used in this work..

The properties of this electrode was evaluated practically by using standard procedures . for this electrode Nernstian slope , linear working range ( calibration line) , detection limit , measurement stability , response time were studied .

The electrode showed the linear working range were(  $10^{-1} - 10^{-4}$  M ) with Nernstian slope value (29 mv/decade) .

The solution pH range suitable for the measurement were found between (2-6).

The analyte pH should be adjusted to this range before analysis were carried out.

The concentration of standard solution of  $\text{Cu}^{+2}$  was determined using : -

- Direct method measurement and its projection on the calibration curve  
Chelometric titration with standard EDTA solution to get equivalent point , then calculation of the derivative for each addition.

## الخلاصة

استخدم قطب ايون النحاس (Cu(II) الانتقائي ذي الغشاء الصلب صنع شركة اوريون (94-29) في هذا البحث.

حيث اجريت دراسة لمواصفات هذا القطب وجرى تقييم لخواصه للاستخدامات التحليلية الكيميائية ، حيث درست الخواص النرنستية لهذا القطب مدى لتراكيز ايون النحاس  $\text{Cu}^{+2}$  الذي كان يتراوح بين  $10^{-1}$  M -  $10^{-4}$  باستخدام محلول مائي داخلي بتركيزين هما (1% , 10%) من نترات البوتاسيم ( $\text{KNO}_3$ ) ، وكانت قيمة الميل النرنستي (29 mv/decade) وباستخدام كذلك منظم للقوة الايونية (ISA) القياسي في عملية قياس الفولتية . قياس مدى الاس الهيدروجيني الذي يعطي استجابة ثابتة (قراءة ثابتة لتراكيز ايون النحاس ) وكانت بحدود (2-6) من وحدات pH .

وكانت مدة استجابة القطب (30-120 sec) لتحقيق استقرارية لقراءات جهود الخلية.

وقد استخدمت الطريقة المباشرة وطريقة التسحيح الجهدي بمحلول EDTA القياسي لاستخراج منحني التسحيح العادي ومن ثم المنحني التفاضلي لإيجاد نقطة التكافؤ ومن ثم تعيين تراكيز ايون النحاس . وقد كانت نتيجة التسحيح الجهدي بالنسبة المولية ( 0.6 : 1 ) .

## المقدمة

تستخدم المركبات الكيلتية في عمليات التسحيح الكيلو متري مع العديد من العناصر ، وأوسعها انتشارا مادة EDTA ، ethylene diamine tetra acetic acid. sodium salt ومشتقاتها المتعددة (1) للعديد من العناصر الانتقالية مثل الحديد والنحاس والنيكل والكوبلت وميلها الشديد لتكوين معقدات مستقرة مع المركبات الكيلتية (2) .

لقد أدى تطوير تقنية الاقطاب الايونية الانتقائية الى التوصل الى طرائق دقيقة وسريعة ورخيصة في تعيين تركيز العناصر الفلزية (3) واللافلزية (4) . تطوير اقطاب انتقائية لها أغشية فعالة تحتوي على مركبات صيدلانية (5) ، ان من الطرائق الدقيقة التي تستخدم هي طريقة التسحيح الجهدي حيث يختلف الجهد الكهربائي للخلية عند بدأ التفاعل عن انتهاء التفاعل ، ويمكن ايجاد نقطة التعادل بدقة عالية سواء لتفاعلات حامض - قاعدة ، او اكسدة - اختزال او تعيين العناصر في المحاليل، وفي هذه الحالة تم استخدام التسحيح الكيلو متري الجهدي (6,7).

لقد استخدم قطب النحاس الصلب الانتقائي في تعيين تركيز ايونات النحاس (II) في الماء ووجد ان القطب يتأثر بوجود ايونات الهاليدات (8).

فقد انجزت العديد من البحوث في مجال تصنيع قطب الـ  $Cu^{+2}$  التي يستخدم فيها غشاء PVC اساسا لاحتواء المادة الفعالة التي تكون احدى معقدات  $Cu^{+2}$  مثل dithiocetal (9) ، او الاثيرات الحلقية (10) او مادة Salen (11) ،

استخدمت قاعدة شف كمادة فعالة لتحليل كلا من ايونات النحاس (II) ، او الثايسيانايت في محلولهم المائي (12) . ولوحظ ان قطب النحاس يتأثر بايونات الهاليدات بسبب تكوين معقدات او بسبب تفاعلات الاكسدة -الاختزال التي تجري على غشاء القطب الصلب ، الذي يؤدي الى تكوين الكبريت غير البلوري الذي يسد مناطق التحسس في الغشاء ( الغشاء يحتوي على chalcogenide النحاس وهو CuS في الغالب ) مما ينتج عنه عدم استقرارية في قراءة الجهد الكهربائي (13) .

## المواد وطرائق العمل

- جهاز قياس الجهد نوع

Microprocessor ion analysis , ORION reseael , model (901) (USA).

- قطب النحاس صنع شركة ORION نوع ( 29 - 94 )



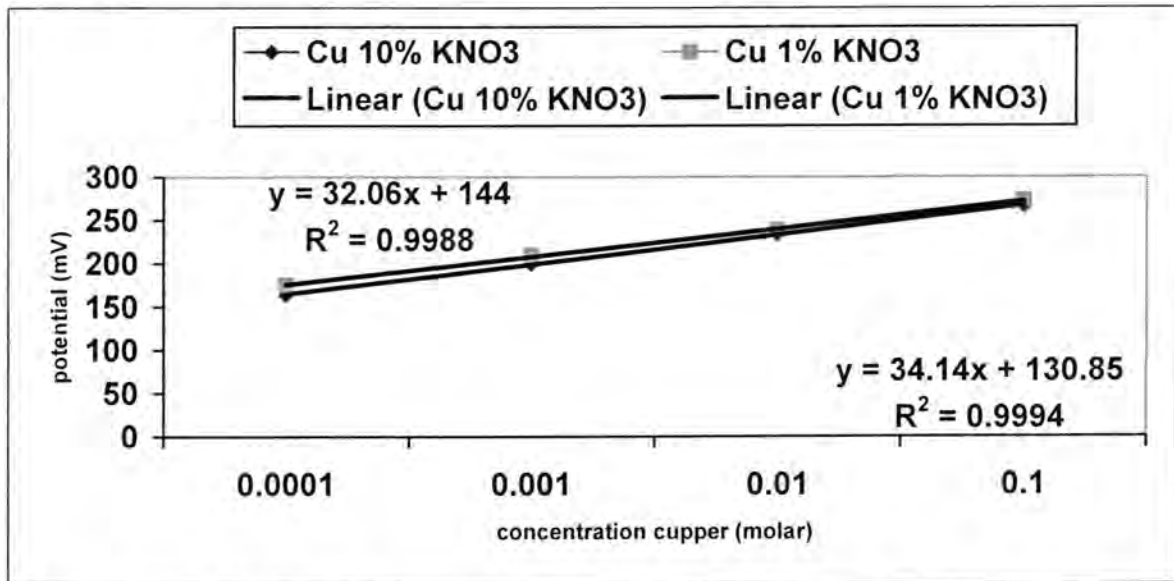
- ORION Model 90-02 double junction  
electrode with filling solution (1%) or (10%)  $\text{KNO}_3$
- المواد الكيميائية
- محلول قياسي من النحاس بتركيز  $0.1\text{M Cu}^{+2}$  صنع شركة اوريون. كذلك حضرت محاليل قياسية أخرى من اذابة وزن معين من ملح النحاس عالي النقاوة في محلول حامض النتريك وبعدها خفف المحلول الى التراكيز المختلفة المطلوبة بالعمل .
  - المسحح EDTA بتركيز  $0.1\text{M}$  صنع شركة BDH : حضر محلول EDTA من اذابة وزن مناسب من مادة Sodium salt of ethylene diamine tetraacetic acid في الماء المقطر اللايوني
  - محلول مائي داخلي للقطب المرجع بتركيز 1% و 10% من نترات البوتاسيوم صنع شركة اوريون Reference electrode filling solution
  - مثبت القوة الايونية (ISA) Ionic strength adjustor. وهو محلول بفر يتكون من  $5\text{M- NaNO}_3$  صنع شركة اوريون .
  - محلول هيدروكسيد الامونيوم صنع شركة BDH.

## النتائج والمناقشة

### 1- تهيئة منحنى المعايرة calibration curve

تم تعيين منحنى المعايرة لقطب النحاس ذي الغشاء الصلب باستخدام محاليل قياسية متعددة ذات تراكيز متدرجة التخفيف لايونات  $\text{Cu}^{+2}$  تبدأ بالتركيز الاوطأ  $10^{-4}\text{M}$  وتنتهي بالتركيز الاعلى  $10^{-1}\text{M}$  .

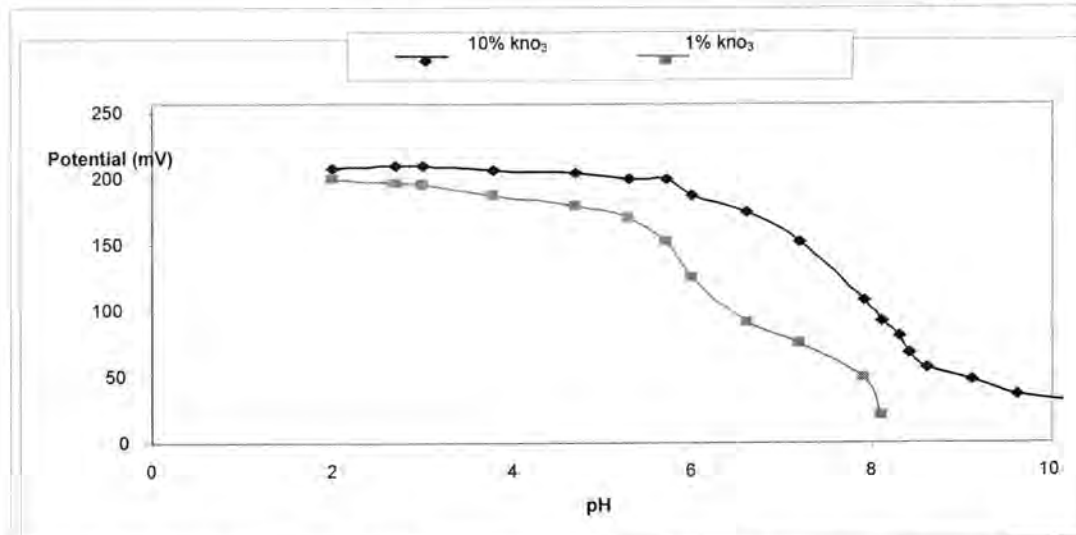
فاظهر قطب النحاس استجابة خطية تتراوح بين  $(10^{-4} - 10^{-1}\text{M})$  ويميل نرنستي  $29\text{ mv/decade}$  والانحدار الخطي  $R = 0.999$  باستخدام تركيزين مختلفين من المحلول المائي الداخلي (1% , 10%) من  $\text{KNO}_3$  وكان منحنى المعايرة متطابق في الحالتين حيث أعطت نفس قيم الجهود للتركيز  $10^{-1}\text{M}$  ( $10^{-4}$  - وحسب الشكل (1))



شكل 1- منحنى المعايرة لقطب النحاس الانتقائي للمحلول الداخلي ( 1% و 10% ) من KNO<sub>3</sub>

## 2- مدى قيمة الدالة الحامضية المناسبة للقياس Determination of pH range

لقد وجد ان مدى الدالة الحامضية المناسبة الذي يعمل فيه القطب هو pH 2-6 , ولوحظ انخفاض في قيمة الجهد في الوسط القاعدي كما في الشكل 2 ويعزى سبب ذلك الى تكوين هيدروكسيد النحاس Cu(OH)<sub>2</sub> وباستخدام كذلك تركيزين من الملول المائي الداخلي ( 1% , 10% ) من KNO<sub>3</sub> كما في الشكل (2)



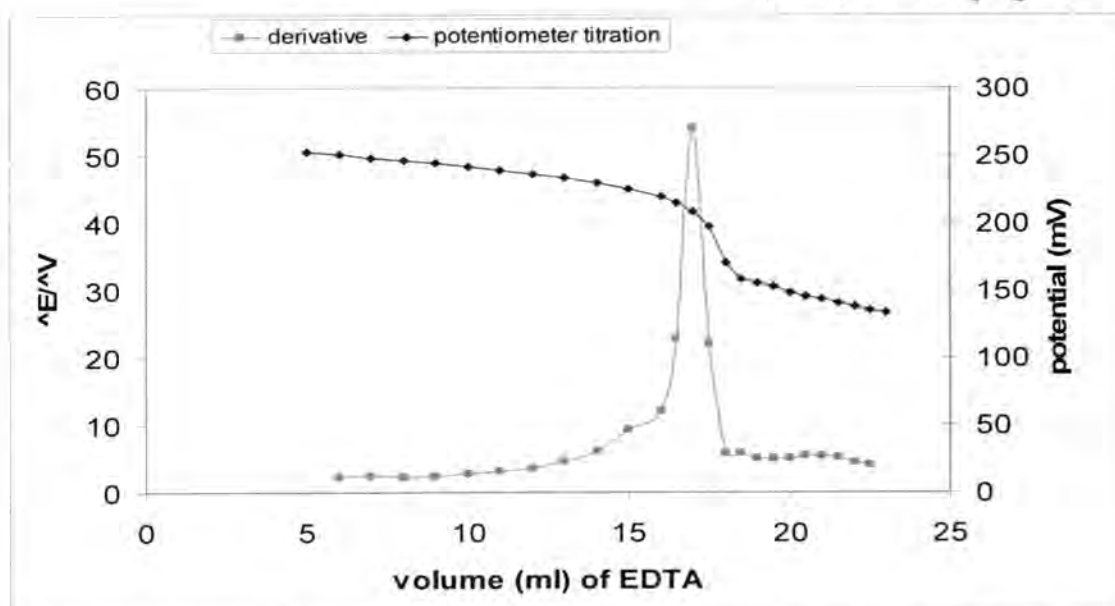
شكل 2- تأثير الدالة الحامضية على قطب النحاس الانتقائي للمحلول الداخلي ( 1% و 10% ) من KNO<sub>3</sub>

## 3- تعيين تركيز النحاس بالطريقة المباشرة

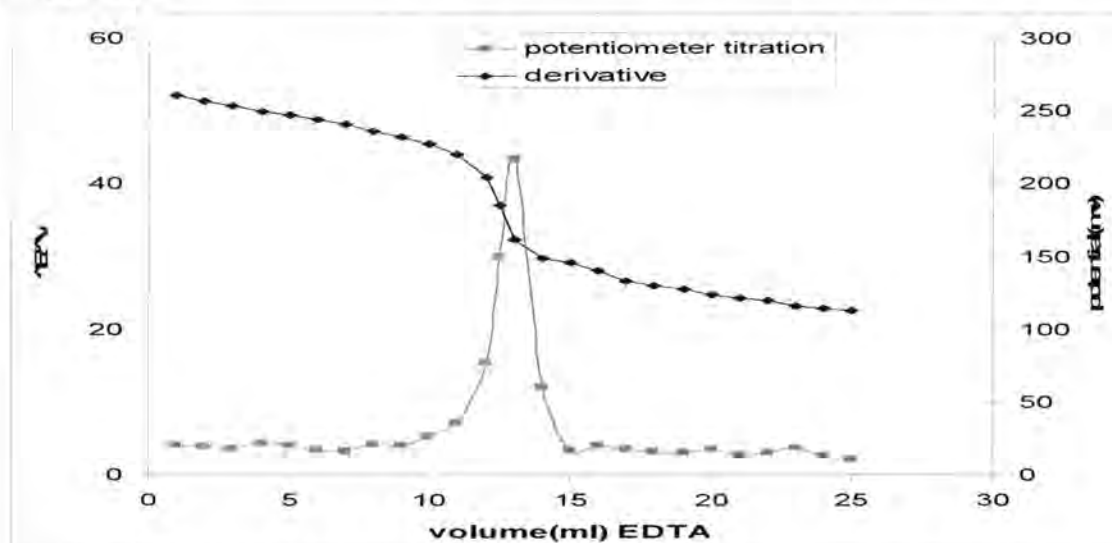
يتم ذلك بغمر قطب النحاس الذي تم تقيمه في ( 1 و 2 ) في محاليل نحاس تحتوي على 2ml من ( ISA ) مختلفة التراكيز لغرض تسجيل قيم الجهد الكهربائي للمحاليل . وباستخدام محلول مائي 10% من  $KNO_3$  ورسم منحنى المعايرة باستخدام محاليل قياسية بين (  $10^{-4}$  –  $10^{-1}$  ) وتم قياس جهد محلول مجهول التركيز وتطبيق الجهد المقاس على المنحنى اعلاه حيث وجد ان تركيز المحلول  $1.03 \times 10^{-3}$  M ونسبة الاسترجاع  $103 \% = REC \% \text{ percent recovery}$

## 4- التسحيح الجهدى لمحاليل النحاس

بعد تقييم القطب وتحديد خواصة استخدم في تعيين ايونات النحاس في محاليل قياسية بطريقة التسحيح الجهدى باستخدام مسحح titrant هو محلول قياسي من EDTA بتركيز (  $10^{-1}$  ) . حيث يضاف المسحح EDTA بالتدريج الى خلية التسحيح . ان منحنى المتكون هو منحنى التقليدي الذي له شكل حرف S . لزيادة الدقة في تعيين نقطة النهاية برسم منحنى التسحيح التفاضلي ( منحنى المشتقة الاولى ) يبين التغير في الجهد لكل وحدة تغير في حجم الكاشف او المسحح Titrant على المحور الصادي مقابل حجم الكاشف على المحور السيني حيث يعطي الرسم قمة حادة هي نقطة النهاية . وقد كانت نتيجة التسحيح الجهدى بالنسبة المولية ( 0.6 : 1 ) . كما موضح في الاشكال ( 3 , 4 ) .



شكل 3- التسحيح الجهدى ومنحنى التفاضلي للمشتقة الأولى لتركيز (  $10^{-2}$  ) من محلول قياسي لايون النحاس مع المحلول المسحح EDTA بتركيز (  $10^{-1}$  ) من محلول داخلي 1%  $KNO_3$



شكل 4- : التسحيح الجهدى ومنحنى التفاضلى للمشتقة الأولى لتركيز (  $10^{-2}$  ) من محلول قياسي للايون النحاس مع المحلول المسحج EDTA بتركيز (  $10^{-1}$  ) من محلول داخلي 10%  $KNO_3$  تبين من خلال البحث قدرة قطب النحاس الانتقائي على الاستجابة السريعة للمحاليل المختلفة ومختلف الطرق المباشرة والتسحيح الجهدى مع محلول EDTA والانحدارية الخطية الجيدة لمختلف الاوساط الحامضية والمتعادلة.

### المصادر

- 1- G . Wilkins (Ed.) , comprehensive coordination chemistry ,legmen (1987)
- 2- G.Svehla , Automatic potentiometric titration ,pergamman press (1978) .
- 3- T .A .Bendikov etel ,Development and environment of applicahm of a nitrate selective microsenur , sens . Actuator, 106,512 (2005) .
- 4- A .I.Kormoshetal , Design of vitamin B1 selective electrode based in ion pair, Electro analysis 22,2714 (2010).
- 5- L .W .Przyborowski ,Cupric ion selective electrode for potentiomenteic determination of drugs . Conference on ion selective electrodes, Budapest (1977).
- 6- J .W. Ross and M .S .Front Chelatometric indicator titration with cupric ion electrode , Analytical chemistry ,41,1900 (1969) .
- 7- V .V.cosofret ,Membrane electrodes in drug analysis , Bergman (1982) . Anal .chim .Acta ,75 ,439 (1975) .

- 8- Method for determining the concentration of copper in water ,ASTM (2000).
- 9- A.Abbaspour and M .A .Kanyabi ,copper selective electrode based in dithioacetal ,Anal .Chum ,Acta ,455,225, (2002).
- 10- S.Chandra et al ,A copper selective PVC membrane electrode based in a macrucyhc legend Anal . sci ,23 ,683 (2007).
- 11- A.R .Fakhari etal , copper selective PVC membrane electrode based in salene as canaries ,Sens. Actuators ,104,317(2005) .
- 12- J.Y.Das ,Schiff base copper complex as a neutral carrier for highly selective electrode . Anal . Lett.,38,389 (2005) .
- 13- A.Lewenstam et al ,Anionic Interferences with Gu ISE, Talanta, 32,53, (1985).



## تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية $\text{Ni(II)}$ و $\text{Cr(III)}$ و $\text{Co(II)}$ مع مشتقات الثيازولدين بإستعمال نوعين من المجاميع $(\text{OH})$ و $(\text{NO}_2)$

سنان مدحت البياتي      الجامعة المستنصرية-كلية العلوم-قسم الكيمياء

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/20      تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

### ABSTRACT

This paper describes the synthesis of a new derivative 3,2 di Aryl-1,3-Thiazolidine-4-one including 1,3-benzothiazol-2-yl with parahydroxyphenyl ring or paranitrophenyl to produce 3-(benzo[d]Thiazol-2yl)-2-(4-hydroxyphenyl) Thiazolidine-4-one [ $L_1$ ] and 3-(benzo[d] Thiazol-2yl) 2(4-nitrophenyl) Thiazolidine-4-one [ $L_2$ ]. These derivatives [ $L_1$ ,  $L_2$ ] were isolated and characterized by (FT-IR), (UV-Vis) spectroscopy and elemental analysis (C.H.N.S).

Three complexes of each ligand [ $L_1$ ,  $L_2$ ] with the transition metal ions  $\text{Ni(II)}$ ,  $\text{Co(II)}$  and  $\text{Cr(III)}$  have been prepared and characterized by using (FT-IR) and (UV-Vis) spectroscopy, moreover, flame atomic absorption technique (M%), in addition to magnetic susceptibility and conductivity measurement.

The molar ratio (Metal:Ligand) was determined by molar ratio method. Formation constant ( $K_f$ ) was also studied for these complexes to compare between two different groups ( $\text{NO}_2$ ), ( $\text{OH}$ ) and their effect to the stability of the complexes.

### الخلاصة

يتضمن البحث تحضير بعض مشتقات 2,3-ثنائي الأريل-1,3-ثيازولدين-4-أون الجديدة المتضمنة نواة 1,3-بنزو-ثيازول-2-يل مع حلقة باراهيدروكسي فنيل أو أوبارانتروفنيل لتعطي 3-(benzo[d] Thiazol-2yl)-2-(4-hydroxyphenyl) Thiazolidine-4-one [ $L_1$ ]

و

3-(benzo[d] Thiazol-2yl)-2-(4-nitrophenyl) Thiazolidine-4-one [ $L_2$ ]. شخّصت تراكيب هذه المشتقات [ $L_1$ ,  $L_2$ ] بالقياسات الطيفية (FT-IR) و (UV-Vis) والتحليل الدقيق لعناصرها (C.H.N.S) وحضرت ثلاث معقدات لكل ليكاند من خلال تفاعلها مع أيونات الفلزات  $\text{Co(II)}$  و  $\text{Ni(II)}$  و  $\text{Cr(III)}$  واستنتجت التراكيب المقترحة لهذه المعقدات من خلال دراسة أطيافها (FT-IR) و (UV-Vis) والتوصيل المولاري والحساسية المغناطيسية والإمتصاص الذري اللهيبي لإيجاد النسبة المئوية للفلز (M%) و النسب المولية لحساب نسبة (الليكاند:الفلز).

تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية  $Cr(III)$  و  $Ni(II)$  و  $Co(II)$  مع مشتقات الثيازولدين بإستعمال نوعين من المجاميع  $(OH)$  و  $(NO_2)$

سنان

وتم احتساب ثابت التكوين للمعقدات لدراسة إستقراريتها بإختلاف المجموعتين المعوضتين  $(NO_2)$  و  $(OH)$  على حلقة الأريل.

## المقدمة

تعد مشتقات المركب 4-Thiazolidinone أحد أصناف المركبات الأروماتية غير المتجانسة الخماسية الحلقية التي اهتم بها الباحثون على نطاق واسع إذ وجد لها تطبيقات كثيرة كمواد صيدلانية مهمة يمكن استعمالها كمضادات بكتيرية ومخدر موضعي وخافض للحرارة ومضادات للتقلصات والتشنجات العصبية وعوامل فعالة أخرى(1).

إن الإستعمالات الكثيرة لهذه المركبات مازالت تثير إهتمام المختصين بتحضير المركبات العضوية-الصيدلانية بإضافة نواة حلقية غير متجانسة إلى المشتق 4-Thiazolidinone والتي تزيد من فعاليتها البايولوجية كمواد صيدلانية(2) فقد وجد أن المشتق 2,3 ثنائي أريل -1,3- ثيازوليدين-4-أون له خواص مضادة للتقلصات ومنومة ومضادات للسرطان، كما شخصت على أنها مثبطات جديدة(3) للإنزيم البكتيري Mur B الذي له دور مهم ك Precursor في عملية التحضير البايولوجي Peptidoglycan.

تم في هذا البحث تحضير هذه المشتقات من قواعد شف للمركب 2-أمينوثيازولدين مع نوعين من الألديهيدات، ثم إجراء الغلق الحلقي لكل منها بإستخدام الفامركيتو حامض الخليك ودراسة المعقدات التي يمكن أن تكونها نواة الثيازولدينون مع الفلزات  $Cr(III)$  و  $Co(II)$  و  $Ni(II)$  والذي يمكن أن يكون له تأثير على زيادة فعاليتها البايولوجية.

## المواد وطرائق العمل

إستعملت المواد الكيميائية الآتية في البحث :-

2-amino benzothiazol, p-hydroxy benzaldehyde, p-nitrobenzaldehyde, ethanol absolute,  $\alpha$ -marcapto acetic acid, glacial acetic acid, sodium bicarbonate,  $CrCl_3.6H_2O$ ,  $CoCl_2.6H_2O$  and  $NiCl_2.6H_2O$  وجميع هذه المواد مجهزة من شركة BDH أو شركة Fluka وبدرجة عالية من النقاوة.

أجريت قياسات (FT-IR) بإستعمال جهاز (FT-IR8300 Shimadzu) ضمن المدى  $4000-200\text{ cm}^{-1}$  بوجود أقراص CSI للمعقدات و KBr لليكاندين والتي تم إجراءها في كلية التربية للنبات-جامعة بغداد، أما الإنتقالات الإلكترونية فقد تم إستعمال (UV-1650 PC. Shimadzu Spectrophotometer) في درجة حرارة الغرفة بالإضافة إلى قياس التوصيلية

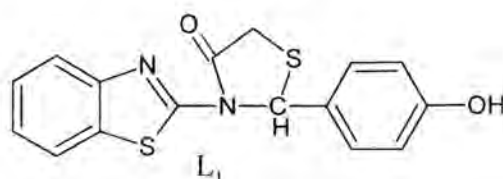
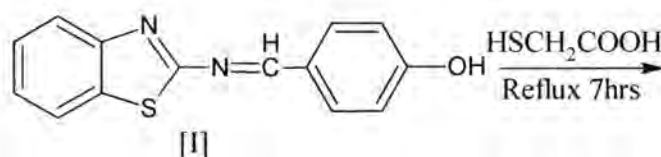
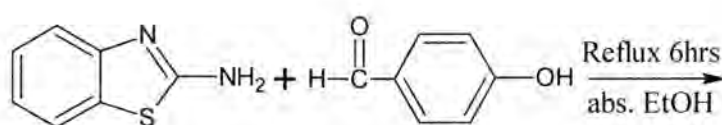
عند تركيز ( $10^{-3}M$ ) للمعدات باستعمال داي مثيل سلفوكسيد كمذيب وجهاز (Conductivity Meter 220).

وقد أجريت القياسات المذكورة في الجامعة المستنصرية-كلية العلوم-قسم الكيمياء، أما التحليل الدقيق للعناصر فقد تم استعمال (EA-034, mth) وأجريت القياسات في جامعة آل البيت بالمملكة الأردنية الهاشمية بالإضافة إلى قياس الحساسية المغناطيسية باستخدام طريقة فرداي باستعمال جهاز (Bruker BM6) والتي تم إجراء قياساتها في جامعة النهرين.

#### 1- تحضير الليكاند $C_{16}H_{12}N_2S_2O$

3-(benzo[d]Thiozol-2yl)-2-(4-hydroxyphenyl)Thiazolidine-4one [ $L_1$ ] أذيب (1mmole, 0.15g) من ثنائي أمينوبنزوثيازول في 15ml إيثانول مطلق، وأضيف إليه محلول مكون من (1mmol, 0.122g) من باراهيدروكسي بنزالديهايد مذاب في 15ml من مذيب الإيثانول المطلق وبضع قطرات من حامض الخليك الثلجي وصعد المزيج لمدة ست ساعات. عزلت البلورات المتكونة ذات اللون البني الفاتح بعد التبريد وأعيدت بلورتها بواسطة الإيثانول المطلق، مركب [I].

أذيب (1mmol, 0.254g) من المركب [I] في 15ml من الإيثانول المطلق وأضيف إليه (1mmol, 0.1g) من ألفامركبتو حامض الخليك، وصعد المزيج لمدة سبع ساعات ثم رشح الراسب بعد التبريد بعد معاملته بإضافة 10% بيكاربونات الصوديوم، مخطط رقم (1).



مخطط رقم (1)

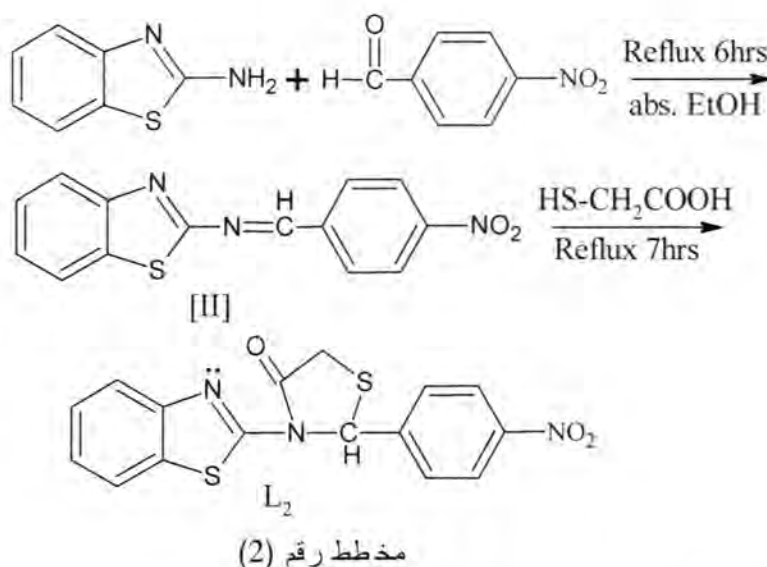
تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية Cr(III) و Ni(II) و Co(II) مع مشتقات الثيازولدين بإستعمال نوعين من المجاميع (OH) و (NO<sub>2</sub>)

سنان

## 2- تحضير الليكاند C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

3-(benzo[d]Thiazol-2-yl)-2-(4-nitro phenyl)Thiazolidine-4-one [L<sub>2</sub>] أذيب (1mmol, 0.15g) من ثنائي أمينوثيازول في 15ml من الإيثانول المطلق وأضيف إليه (1mmol, 1.151g) من بارانايتروبنزالديهايد المذاب في 15ml من نفس مذيب الإيثانول المطلق ثم صعد المزيج عكسياً لمدة ست ساعات مع إضافة قطرات من حامض الخليك الثلجي، عزل الراسب الأخضر اللون وتمت إعادة بلورته بواسطة الإيثانول المطلق، مركب [II].

أذيب (1mmol, 0.117g) من المركب [II] في 15ml من الإيثانول المطلق ثم أضيف إليه (1mmol, 0.1g) من ألفامركبتو حامض الخليك وصعد المزيج لمدة سبع ساعات ومن ثم برد المزيج وعومل بمحلول 10% بيكاربونات الصوديوم، ورشحت البلورات ذات اللون الأخضر الفاتح وأعيد بلورتها بواسطة الإيثانول المطلق، مخطط رقم (2).



## 3- تحضير معقدات الليكاندين [L<sub>1</sub>] و [L<sub>2</sub>]

أذيب (0.266, 0.24, 0.24) 1mmol من كل من NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O و CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O و CrCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O على التوالي في أقل كمية من الإيثانول المطلق وإضافتها تدريجياً مع التحريك المستمر إلى كل من (2mmol, 0.64g) من [L<sub>1</sub>] و (2mmol, 0.714g) من [L<sub>2</sub>] بعد إذابة كل منهما في 10ml من المذيب السابق. وأجري لهما التصعيد العكسي في حمام مائي لمدة ساعتين. بعد ذلك عزلت نواتج المعقدات بالترشيح وغسلت لعدة مرات بالإيثانول المطلق الساخن وجففت، جدول رقم (1) يوضح أهم الخصائص الفيزيائية لليكاندين [L<sub>1</sub>] و [L<sub>2</sub>] ومعقداتهما.

جدول 1- الخصائص الفيزيائية للليكاندين  $L_1$  و  $L_2$  ومعقداتهما

رمز المعقد	الوزن الجزيئي	اللون	درجة الإنصهار	التحليل الدقيق % والإمتصاص الذري اللهيبي					M:L in EtOH	الصيغ المقترحة
				%C	%H	%N	%S	%M		
$L_1$	328	بني فاتح	124-126	58.54 (57.98)	3.65 (4.20)	8.537 (8.24)	19.5 (18.82)	-	-	$C_{16}H_{12}N_2S_2O_2$
$L_2$	357	أخضر فاتح	180-182	53.78 (53.23)	3.08 (4.10)	11.76 (12.6)	17.93 (17.39)	-	-	$C_{16}H_{11}N_3S_2O_3$
$[CrL_1Cl_2(H_2O)_2]Cl$	522.5	أخضر	(165-163) d*	-	-	-	-	(9.20) 9.95	1:1	$[Cr(C_{16}H_{12}N_2S_2O_2)(H_2O)_2Cl_2]Cl$
$Co(L_1)_2Cl_2$	785.9	بني	(179-181)d*	-	-	-	-	(8.32) 7.502	1:2	$Co(C_{16}H_{12}N_2S_2O_2)_2Cl_2$
$[Ni(L_1)_2]Cl_2$	785.7	أخضر فاتح	(170-172)d*	-	-	-	-	(7.93) 7.47	1:2	$[Ni(C_{16}H_{12}N_2S_2O_2)_2]Cl_2$
$[CrL_2(H_2O)_2Cl_2]Cl$	551.5	أخضر غامق	(215-217)d*	-	-	-	-	(8.95) 9.428	1:1	$[Cr(C_{16}H_{11}N_3S_2O_3)(H_2O)_2Cl_2]Cl$
$Co(L_2)Cl_2$	889.9	بني	(186-188d)*	-	-	-	-	(7.20) 6.618	1:2	$[Co(C_{16}H_{11}N_3S_2O_3)_2Cl_2](C_2H_5OH)$
$[Ni(L_2)_2]Cl_2$	843.7	أخضر فاتح	(208-210d)*	-	-	-	-	(6.29) 6.95	1:2	$[Ni(C_{16}H_{11}N_3S_2O_3)_2]Cl_2$

d\* = decomposed

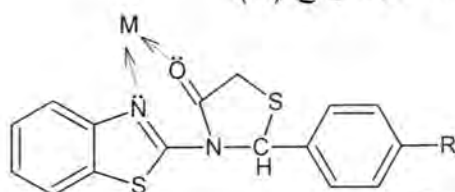


## النتائج والمناقشة

## أطياف الأشعة الحمراء

أظهر طيف الليكند الأول ( $L_1$ ) ثلاث حزم مميزة، الأولى عند  $3265\text{cm}^{-1}$  والتي تعود لمجموعة OH، والثانية  $1662\text{cm}^{-1}$  والعائدة لمجموعة ( $\nu_{\text{C=O}}$ )، وكذلك الحزمة الثالثة عند  $1597\text{cm}^{-1}$  والعائدة لتردد الاهتزاز لمجموعة ( $\nu_{\text{C=N}}$ ) (4)، أما الليكند الثاني فقد أظهر حزمتين أساسيتين هما  $(1608, 1710)\text{cm}^{-1}$  العائدتان للمجموعتين ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) و ( $\nu_{\text{C=N}}$ ) على التوالي (5).

عند دراسة أطياف معقدات الأيونات الفلزية ومقارنتها بطيف الليكاندات الحرة فقد تم تسجيل إنحرافات في حزم الإمتصاص الرئيسة للكاندين هما ( $\nu_{\text{C=N}}$ ) و ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) والتي شهدت إنخفاضاً واضحاً في التردد نحو التردد الأوطأ لمعقدات كلا الليكاندين ما يدل على مشاركة ذرة نتروجين مجموعة ( $\text{C=N}$ ) وأوكسجين مجموعة ( $\text{C=O}$ ) في التناسق وتكوين حلقة سداسية مستقرة (6)، وتم التأكد من ذلك بتأثير الحزم التابعة لإرتباط ( $\nu_{\text{M-O}}$ ) و ( $\nu_{\text{M-N}}$ ) والتي ظهرت بحدود  $(418-450)\text{cm}^{-1}$  و  $(515-550)\text{cm}^{-1}$  على التوالي كما جاء في الأدبيات (8، 9)، جدول (2)، فضلاً عن تأثير الحزم التابعة لإرتباط ( $\nu_{\text{M-Cl}}$ ) للمعقدات المحصورة (10) والتي ظهرت بحدود  $(240-310)\text{cm}^{-1}$  ومن خلال ذلك يتضح أن ارتباط الليكاندين مع الأيونات الفلزية Cr(III) و Co(II) و Ni(II) يكون بشكل مخلي لحقة سداسية مستقرة عن طريق نتروجين مجموعة ( $\text{C=N}$ ) وأوكسجين مجموعة ( $\text{C=O}$ ) نموذج (A).



نموذج (A)

R = OH or NO<sub>2</sub>

M = Cr(III), Co(II), Ni(II)

جدول 2- : أطياف الأشعة تحت الحمراء ل الليكاندات  $L_1$  و  $L_2$  ومعقداتهما مقاسة بـ  $\text{cm}^{-1}$

رمز المعقد	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=N}}$	$\nu_{\text{M-O}}$	$\nu_{\text{M-N}}$	$\nu_{\text{M-Cl}}$
$L_1$	1662	1597	-	-	-
$[\text{Cr}L_1\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}$	1650	1560	520	430	310
$\text{Co}(L_1)_2\text{Cl}_2$	1635	1575	518	450	280
$[\text{Ni}(L_1)_2]\text{Cl}_2$	1599	1514	520	418	-
$L_2$	1710	1608	-	-	-
$[\text{Cr}L_2(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}$	1700	1588	520	450	300
$\text{Co}(L_2)\text{Cl}_2$	1698	1593	550	425	240
$[\text{Ni}(L_2)_2]\text{Cl}_2$	1675	1580	515	420	-

تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية Cr(III) و Ni(II) و Co(II) مع مشتقات الثيازولدين بإستعمال نوعين من المجاميع (OH) و (NO<sub>2</sub>)

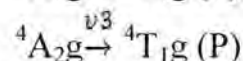
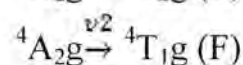
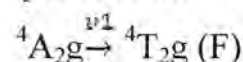
سنان

## الأطياف الإلكترونية والخصائص المغناطيسية والتوصيلية المولارية الكهربائية

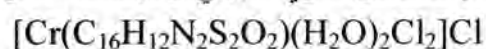
### 1- الليكاند الأول L<sub>1</sub> ومعقداته

يظهر الليكاند L<sub>1</sub> حزمتي إمتصاص تقع عند (309nm, 32362cm<sup>-1</sup>) ذات الشدة الواطئة وهي عائدة للإنتقال (n→π<sup>\*</sup>)، والثانية عند (277nm, 36101cm<sup>-1</sup>) ذات الشدة العالية وتعود للإنتقال (π→π<sup>\*</sup>) وهذا يتفق مع ما جاء في الأدبيات (11, 12). جدول (3).

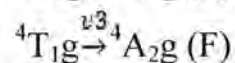
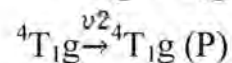
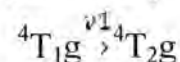
أظهر المعقد CrL<sub>1</sub> الأخضر اللون ثلاث حزم إمتصاص، جدول (3) هي (34674, 28700, 15650)cm<sup>-1</sup> وهي تعود للإنتقالات التالية :



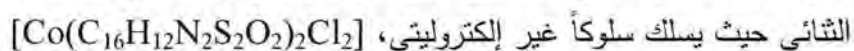
على التوالي (13)، كما أظهر الكروم عزماً مغناطيسياً مقداره (3.3B.M) وهي قيمة مقارنة للقيمة النظرية (3.87B.M)، وهذا يثبت أن المعقد ثماني السطوح عالي البرم (14)، فضلاً عن قياس التوصيل المولاري، جدول 3، الذي يبين أن المعقد إلكتروني بنسبة 1:1 وبالإضافة إلى نتائج تحديد نسبة الفلز بإستخدام تقنية الإمتصاص الذري اللهبية والقياسات الأخرى تم التوصل إلى الصيغة الجزيئية المقترحة التالية:



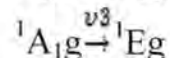
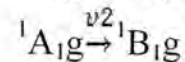
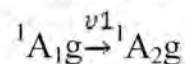
أظهر معقد الكوبلت CoL<sub>1</sub> البنّي اللون ثلاث حزم إمتصاص (16949, 15384, 11198) العائدة للإنتقالات التالية، جدول (3) :



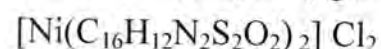
على التوالي، وهذا يتفق مع صفات معقدات الكوبلت الثنائي ذو البنية ثمانية السطوح (15)، كما تؤكد قياسات الحساسية المغناطيسية المقاسة عند درجة حرارة الغرفة (μ<sub>eff</sub>= 4.75 B.M). إن المعقد عالي البرم (16)، إضافةً إلى نتائج التوصيل المولاري جدول (3) يتفق مع الصيغة التركيبية المقترحة لمعقد الكوبلت



أما معقد  $NiL_1$  ذات اللون الأخضر فإنه يمتلك الإنتقالات الآتية :



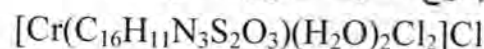
الضعيفة الشدة (17) والعائدة للمناطق  $(27027, 20408, 19230)cm^{-1}$  على التوالي، وهذه الإنتقالات تخص معقدات النيكل ذات التركيب المربع المستوي (18) والتي أعطت قيمة للعزم المغناطيسي مقداره  $(\mu_{eff} = 0.00 \text{ B.M})$  أي أن المعقد يمتلك صفات الدايامغناطيسية، فضلاً عن نتائج التوصيلية المولارية، جدول (3) التي تؤكد أن المعقد إلكتروليتي بنسبة (1:2) وبذلك وإستناداً إلى هذه النتائج يمكن إقتراح الصيغة الجزيئية التالية له:



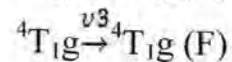
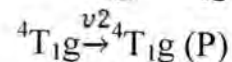
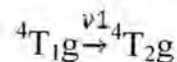
## 2- الليكاند الثاني ومعقداته :

يمتلك الليكاند  $L_2$  حزمتي إمتصاص الأولى ذات شدة واطئة التابعة للإنتقال  $n \rightarrow \pi^*$  عند الموقع  $(271nm, 36900.4cm^{-1})$  والثانية ذات شدة عالية تابعة للإنتقال  $(\pi \rightarrow \pi^*)$  عند الموقع  $(213nm, 46948.4cm^{-1})$ ، جدول (3).

أما المعقدات التابعة لهذا الليكاند فقد أظهر معقد  $CrL_2$  حزمتي إمتصاص، الأولى عند المنطقة  $16949cm^{-1}$ ، والثانية عند المنطقة  $21739cm^{-1}$ ، والتي تمثل  $v_1$  و  $v_2$  على التوالي (19). أما بالنسبة للحزمة الثالثة فلم تظهر في الطيف ويمكن إستخراجها بتطبيق المعادلة  $(15B = v_3 + v_2 - 3v_1)$  والتي تساوي  $38880cm^{-1}$ ، العائدة للإنتقال الإلكتروني  $^4A_{2g} \xrightarrow{v_3} ^4T_{1g} (P)$  حيث أن هذا الإنتقال يحتاج إلى طاقة عالية نسبةً إلى الإنتقالين  $v_1$  و  $v_2$ ، ومن خلال هذه الإنتقالات تبين أن المعقد ثنائي السطوح وعالي البرم (20)، حيث يمتلك عزماً مقداره  $(\mu_{eff} = 3.80 \text{ B.M})$ ، أما قيمة التوصيلية المولارية، جدول (3)، فإنها تدل على أن المعقد إلكتروليتي بنسبة (1:1) وبذلك وإستناداً إلى هذه النتائج والنتائج الأخرى المستحصل عليها تم إقتراح الصيغة الجزيئية التالية له :



أظهر معقد  $CoL_2$  ثلاث إنتقالات إلكتروليتيّة عند المناطق  $(20408, 178571, 143885) cm^{-1}$  التابعة للإنتقالات.



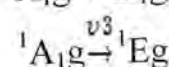
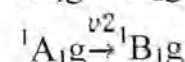
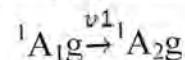
تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية  $Cr(III)$  و  $Ni(II)$  و  $Co(II)$  مع مشتقات الثيازولين باستعمال نوعين من المجاميع  $(OH)$  و  $(NO_2)$

سنان

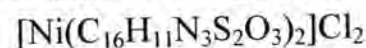
والتي تكون ضمن مدى ثماني السطوح (21) مع قيمة عزم مغناطيسي مقداره  $(\mu_{eff} = 5.8 \text{ B.M})$  وهي قيمة عالية بسبب المساهمة الأوتالية (22)، والتي تشير إلى تناسق الكوبلت بشكل ثماني السطوح عالي البرم، كما أن تناسق معقد الكوبلت مع الليكاند الثاني يسلك سلوك غير إلكتروني، جدول (3)، وإستناداً لهذه النتائج ونتائج التحليل الكمي الدقيق تكون الصيغة الجزيئية المقترحة لهذا المعقد :

$$[Co(C_{16}H_{11}N_3S_2O_3)_2Cl_2]$$

يسلك  $NiL_2$  سلوكاً مشابهاً لمعقد  $Ni(II)$  مع الليكاند الأول فقد إتخذ شكل المربع المستوي (17, 18) من خلال ظهور ثلاث حزم إمتصاص  $cm^{-1}$  (238095, 17825, 15576) العائدة للإنتقالات



على التوالي، جدول (3)، فضلاً عن أنه دأباً مغناطيسية  $(\mu_{eff} = 0.00 \text{ B.M})$  ويسلك سلوكاً إلكترونيّاً بنسبة (1:2) وهذا ما أثبتته قياسات التوصيلية المولارية، وإستناداً إلى هذه النتائج المستحصل عليها تم التوصل إلى الصيغة الجزيئية المقترحة التالية:



جدول 3- : نتائج الأطياف الإلكترونية والقياسات المغناطيسية والتوصيل المولاري بمذيب داي مثل سلفوكسيد DMSO بتركيز  $10^{-3}$  مولاري والشكل المقترح

الشكل المقترح	التوصيل المولاري $ohm^{-1} cm^2 mole^{-1}$	العزم المغناطيسي $\mu_{eff} (B.M)$	تشخيص الإنتقال	حزم الإمتصاص $cm^{-1}$	المعقد
-	-	-	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	32362 36101	$C_{16}H_{12}N_2S_2O_2$
O.h	40	3.3	$^4A_{2g} \xrightarrow{\nu^{24}} T_{2g}$ $^4A_{2g} \xrightarrow{\nu^{24}} T_{1g}$ (F) $^4A_{2g} \xrightarrow{\nu^{24}} T_{1g}$ (P)	15650 28700 34674	$[Cr(C_{16}H_{12}N_2S_2O_2)(H_2O)_2Cl_2]$

$\text{Co}(\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_2)_2\text{Cl}_2$	11198 15384 16969	${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu^1} {}^4\text{T}_{2g}$ ${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu^2} {}^4\text{T}_{1g}$ (P) ${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu^3} {}^4\text{T}_{1g}$ (F)	4.75	12	O.h
$[\text{Ni}(\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_2)_2]\text{Cl}_2$	19230 20408 27027	${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu^1} {}^1\text{A}_{2g}$ ${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu^2} {}^1\text{B}_{1g}$ ${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu^3} {}^1\text{E}_g$	0.00	78	S.q
$\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}_2\text{O}_3$	36900 46948	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	-	-	-
$[\text{Cr}(\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}_2\text{O}_3)(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_2]$	16949 21339 38860	${}^4\text{A}_{2g} \xrightarrow{\nu^1} {}^4\text{T}_{2g}$ ${}^4\text{A}_{2g} \xrightarrow{\nu^2} {}^4\text{T}_{1g}$ (F) ${}^4\text{A}_{2g} \xrightarrow{\nu^3} {}^4\text{T}_{1g}$ (P)	3.8	38.6	O.h
$\text{Co}(\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}_2\text{O}_3)_2\text{Cl}_2$	14388 17857 20408	${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu^1} {}^4\text{T}_{2g}$ ${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu^2} {}^4\text{T}_{1g}$ (P) ${}^4\text{T}_{1g} \xrightarrow{\nu^3} {}^4\text{T}_{1g}$ (F)	5.8	6	O.h
$[\text{Ni}(\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}_2\text{O}_3)_2]\text{Cl}_2$	15576 17825 23809	${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu^1} {}^1\text{A}_{2g}$ ${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu^2} {}^1\text{B}_{1g}$ ${}^1\text{A}_{1g} \xrightarrow{\nu^3} {}^1\text{E}_g$	0.00	80	S.q

## دراسة المعقدات في الحالة السائلة :

## أ- النسب المولية لإيجاد الصيغ التركيبية للمعقدات :

تم الاعتماد على طريقة النسب المولية "Molar-Ratio Method" في حساب نسبة [M:L] لإيجاد الصيغة التركيبية للمعقدات المحضرة في مذيب الإيثانول المطلق، فقد إتخذت معقدات الكروم النسبة (1:1) لكلا الليكاندين، في حين جاءت معقدات كل من Co و Ni بنسبة (1:2) وقد توافقت هذه النتائج مع نتائج دراسة المعقدات في الحالة الصلبة، جدول 1.



تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية Cr(III) و Ni(II) و Co(II) مع مشتقات الثيازولدين باستعمال نوعين من المجاميع (OH) و (NO<sub>2</sub>)

سنان

ب- حساب ثابت التكوين K<sub>f</sub> للمعقدات :

تم حساب ثابت التكوين (K<sub>f</sub>) (24) من خلال حساب التوصيل الكهربائي المولاري لعدة تراكيز من المعقد في مذيب ثنائي مثيل سلفوكسيد DMSO، وفي هذا البحث تم إحتساب ثوابت الإستقرار للمعقدات من خلال قانون التخفيف لأستوالد (25) حسب المعادلة التالية:

$$\Lambda_m C = kd(\Lambda_o) \frac{1}{\Lambda_m} - kd\Lambda_o^2$$

ومن النتائج التي تم الحصول عليها من الجداول (4 و 5) يلاحظ أن معقدات الليكاند الأول أكثر إستقراراً من معقدات الليكاند الثاني ويعزى ذلك إلى تأثير المجاميع المعوضة في موقع البار، فمجموعة الهيدروكسيد الدافعة للإلكترونات في الليكاند الأول وحرية الأزواج الإلكترونية الداخلة في التناسق تجعل المعقدات التابعة لهذه الليكاند أكثر إستقراراً وثباتاً (26)، إذا ما قورنت مع مجموعة النايترو السالبة للإلكترونات في الليكاند الثاني تجعل معقدات هذا الليكاند ذات قيم K<sub>f</sub> أقل أي أقل إستقراراً نسبةً إلى معقدات الليكاند الأول.

جدول -4 : قيم الاختلاف بين التوصيل المولاري  $\Lambda_m$  (ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mole<sup>-1</sup>) والتركيز المولاري باستخدام DMSO كمذيب

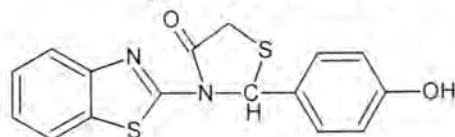
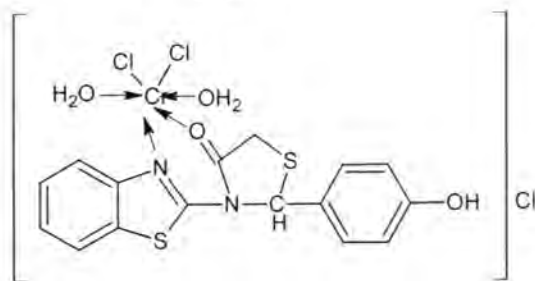
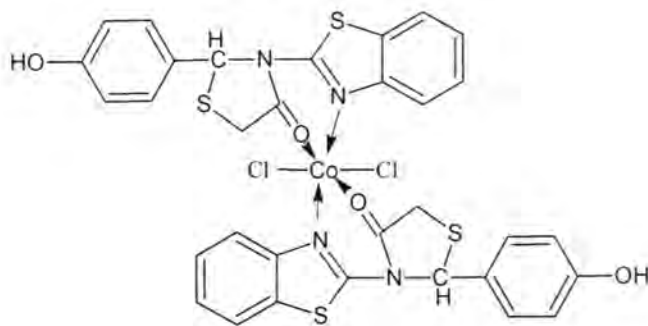
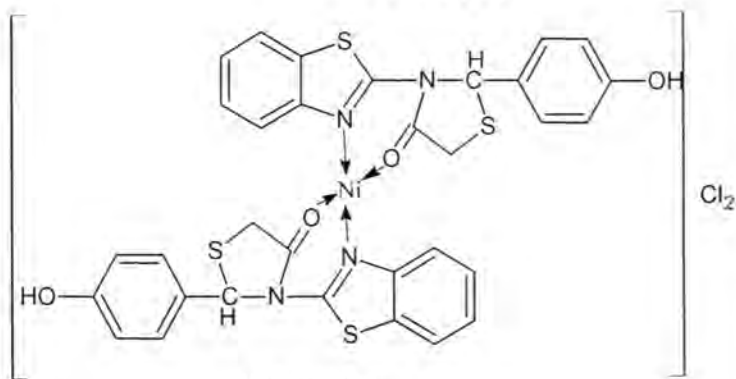
المعقد	Mole.Lit. <sup>-1</sup> التركيز				
	1x10 <sup>-3</sup>	0.5x10 <sup>-3</sup>	0.3x10 <sup>-3</sup>	0.2x10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
[Cr(C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl	40	55	66	75	90
[Ni(C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	78	115	152	185	272
[Cr(C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl	38.6	50	60	69	80
[Ni(C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	80	102	130	163	221

جدول -5 : قيم K<sub>f</sub> للمعقدات في مذيب DMSO

المعقد	1/Λ <sub>o</sub>	-Kd Λ <sub>o</sub> <sup>2</sup>	Kd	1/Kd = K <sub>f</sub>
[Cr(C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl	0.0019	-0.013	0.5x10 <sup>-6</sup>	2.0x10 <sup>6</sup>
[Ni(C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.0013	-0.0014	0.21x10 <sup>-6</sup>	4.7x10 <sup>6</sup>
[Cr(C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl	0.009	-0.015	1.2x10 <sup>-5</sup>	0.83x10 <sup>5</sup>
[Ni(C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.002	-0.012	0.48x10 <sup>-6</sup>	2.08x10 <sup>6</sup>

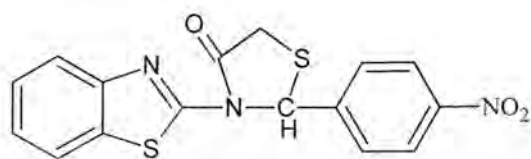
## الصيغ المقترحة للمعقدات المحضرة :

من خلال الدراسات التي أجريت على المعقدات المحضرة وفقاً للتقنيات والقياسات الطيفية المتاحة، يمكن إقتراح الصيغ والأشكال الفراغية لهذه المعقدات وكما يلي :

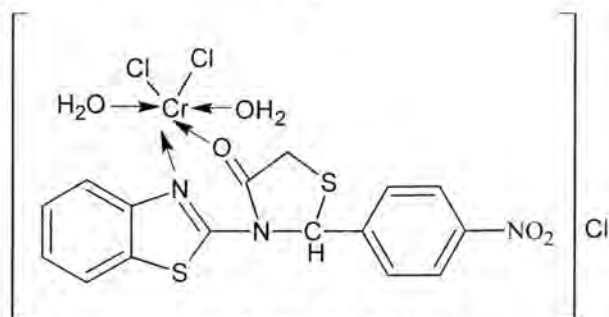
 $[L_1]$  $[CrL_1Cl_2(H_2O)_2]Cl$  $Co(L_1)_2Cl_2$  $[Ni(L_1)_2]Cl_2$

تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية  $Cr(III)$  و  $Ni(II)$  و  $Co(II)$  مع مشتقات الثيازولينين بإستعمال نوعين من المجاميع  $(OH)$  و  $(NO_2)$

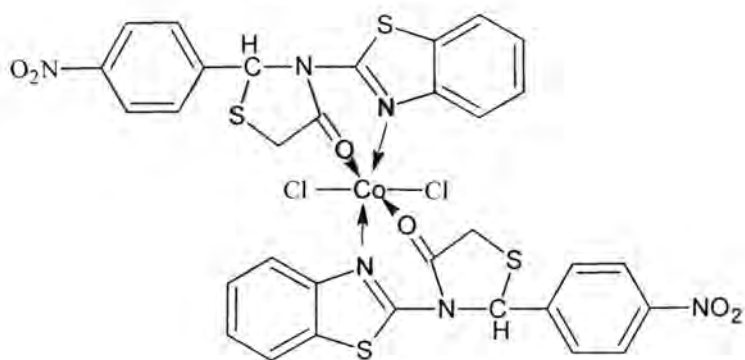
سنان



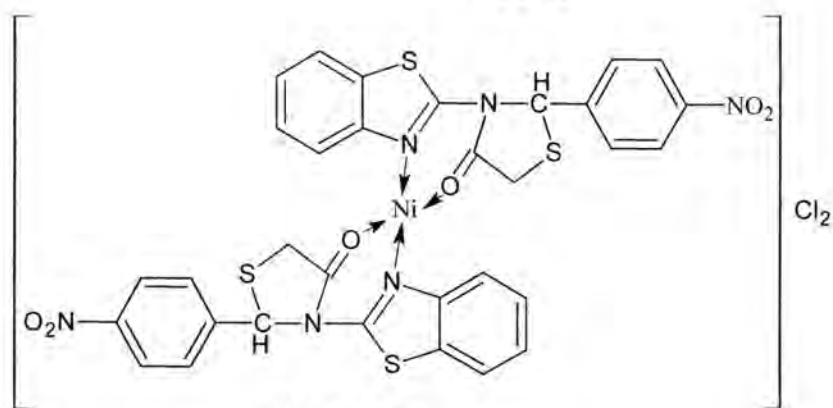
$[L_2]$



$[CrL_2(H_2O)_2Cl_2]Cl$



$Co(L_2)_2Cl_2$



$[Ni(L_2)_2]Cl_2$

## المصادر

- 1- V. Kumar, H. Shameer and G. M. Sreenivasa, "*N-Substituted-Thiazolidin-4-Ones: Synthesis and Characterization of New Novel Potential Anticonvulsant Agents*", Arch Pharm Sci. & Res., 1(2), 188-149, (2009).
- 2- M. Sayyed, S. Mokle and X. Vibhute, "*Synthesis of Some New 2,3-diaryl-1,3-Thiazolidin-4-Ones as Antibacterial Agents*", J. Ind. Chem., 187-192, (2006).
- 3- T. Surendiran, S. Balasubramanian and D. Sivaraji, "*Microwave Assisted Synthesis of Novel 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazolyl Thiazolidine-4-Ones and Azetidin-2-Ones and Their Biological Behavior*", J. Chem., 374-380, (2009).
- 4- K. Nakamoto, "*Infrared of Inorganic and Coordination Compounds*", 6<sup>th</sup> Ed., John-Wiely Inc., New York, London, (1997).
- 5- K. Nakamoto, "*Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*", 4<sup>th</sup> Ed., John-Wiely Inc., New York, London, (1986).
- 6- F. A. Cotton and G. Wilkinson, "*Advanced Inorganic Chemistry*", 4<sup>th</sup> Ed., John-Wiely and Sons, Chichester, Toronto, (1980).
- 7- R. M. Silver Stein, G. C. Bassler and T. G. Morril, "*Spectrometric Identification of Organic Compounds*", 4<sup>th</sup> Ed., John-Wiely and Sons, Inc., New York, London, (1981).
- 8- K. Nakamoto, "*Infrared Spectroscopy of Inorganic and Coordination Compound*", Lolley Inter Science Publication John-Wiley and Sons, New York, (1978).
- 9- Sulekha and Lokesh Kumar Gupta, "*Spectrochemica Acta*", 269, 61A, (2005).
- 10- D. H. Williams and I. Fleming, "*Spectroscopic Methods Inorganic Chemistry*", 2<sup>nd</sup> Ed., London (1973).

تخليق وتشخيص ودراسة إستقرارية معقدات الأيونات الفلزية Cr(III) و Ni(II) و Co(II) مع مشتقات الثيازولينين باستعمال نوعين من  
المجاميع (OH) و (NO<sub>2</sub>)

سنان

- 11- B. N. Figgis, "*Introduction to Ligand Fields*", Inerscience, New York, (1997).
- 12- J. R. Dyer, "*Application of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds*", Prentice-Hall, Englewood Cliffs, USA, (1965).
- 13- A. B. P. Lever, "*Inorganic Electronic Spectroscopy*", 2<sup>nd</sup> Ed., Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 507-537, (1984).
- 14- N. S. Youssef, and K. H. Hegeb, "*Synthesis and Characterization of Some Transition Metal Complexes of Thiosemicarbazones Derived From 2-Acetyl Pyrol and 2-Acetyl Furan*", Synth. Reac. Inorg. Met. Org. and Non-Metal Chem., 35:391, (2005).
- 15- T. Sarojini and Rama Chandraiah, "*Synthesis and Characterization of Co(II), Cu(II), Ni(II), Fe(II) and Oxovanadium(IV) Chelates of New Pair of Schiff Base Ligands Derived From 1,3-bis (Amino Methyl) Cyclohexane*", J. Ind. Chem., 35A, 940-945, (1996).
- 16- P. Venkateswar, N. Rama and M. C. Ganorkar, "*Synthesis & Structural Studies of Cobalt(II), Nickel(II), Iron(II), and Copper(II) Complexes with New Tetradentate Schiff Base Having O:N:N:O Donor System*", J. Ind. Chem., 25A, 482-484, (1986).
- 17- S. S. Massoud, F. A. Mautner and J. S. Dickens, "*Squarato-Metal (II) Complexes Structural and Magnetic Characterization of Squarato-Bridged Dinuclear Ni(II) and Cu(II) Complexes*", Inorg. Chem. Acta., 361, 299-308, (2008).
- 18- D. Nicholls, "*The Chemistry of Nickel and Iron Cobalt*", Pergamon Press, Oxford, (1975).
- 19- D. Nicholis, "*Complexes and First-Row Transition Elements*", Translated by Dr. Wissam Ibrahim, (1983).
- 20- C. Bellitto, A. Alamini and O. Piovesana, "*Inorganic Nuclear Chemistry*", 41, 1384-1385, (1979).



- 21- S. Chandra and U. Kumer, "*Spectral and Magnetic Studies on Co(II), Mn(II) and Ni(II) Complexes with Schiff Bases*", Spectrochimica Acta, A61:219, (2005).
- 22- K. Singh, M. S. Barwa and P. Tyagi, Eur. J. Med. Chem. 41, 147, (2006).
- 23- مؤيد قاسم العبايجي وثابت سعيد الغبشة، *أسس الكيمياء التحليلية*، مديرية مطبعة جامعة الموصل، (1983).
- 24- د. مسلم عبد محمد، *الكيمياء الفيزيائية*، مديرية مطبعة جامعة الموصل.
- 25- J. E. Huheey, "*Inorganic Chemistry Principles of Structure Reactivity*", Ed. Harpar and Row New York, (1983).
- 26- S. F. Akettle and T. Nelson, "*Coordination Compounds*", London, 186-212, (1975).

## تحضير كاشف مناعي أنزيمي (مقترن) لمضاد البروتين الجنيني ألفا مع الانزيم

\*اكتفاء مزهر عبد الحساوي و \*\* لي لوشوان

وزارة العلوم والتكنولوجيا - بغداد - العراق \*

بكين - الصين BNIBT - معهد \*\*

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/24

## ABSTRACT

Immuno enzymatic reagent (Conjugate ) was prepared by coating of anti-alpha fetoprotein with enzyme horse radish peroxidase (HRP) using the oxidation – reduction method in present material sodium periodate ( $\text{NaIO}_4$ ) as oxidizing agent, and sodium borohydride as a reductant, in the presence Sangar reagent (1 - Floro 2,4 - Di nitro Benzene) for shield  $\text{NH}_2$  group from HRP , The reaction was completed on a group of carbohydrates found in the structure of the enzyme(HRP), which gave high Stability by to the kit which used to measure the concentration of alpha-fetoprotein (AFP), we compared the result with the conjugate prepared in Beijing North Institute of Biological Technology (BNIBT , this method for the transfer and resettlement of the kits of diagnostic technology by prepare of enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) , this research was worked in the People's Republic of China/ Beijing / Beijing North Institute of Biological Technology (BNIBT).

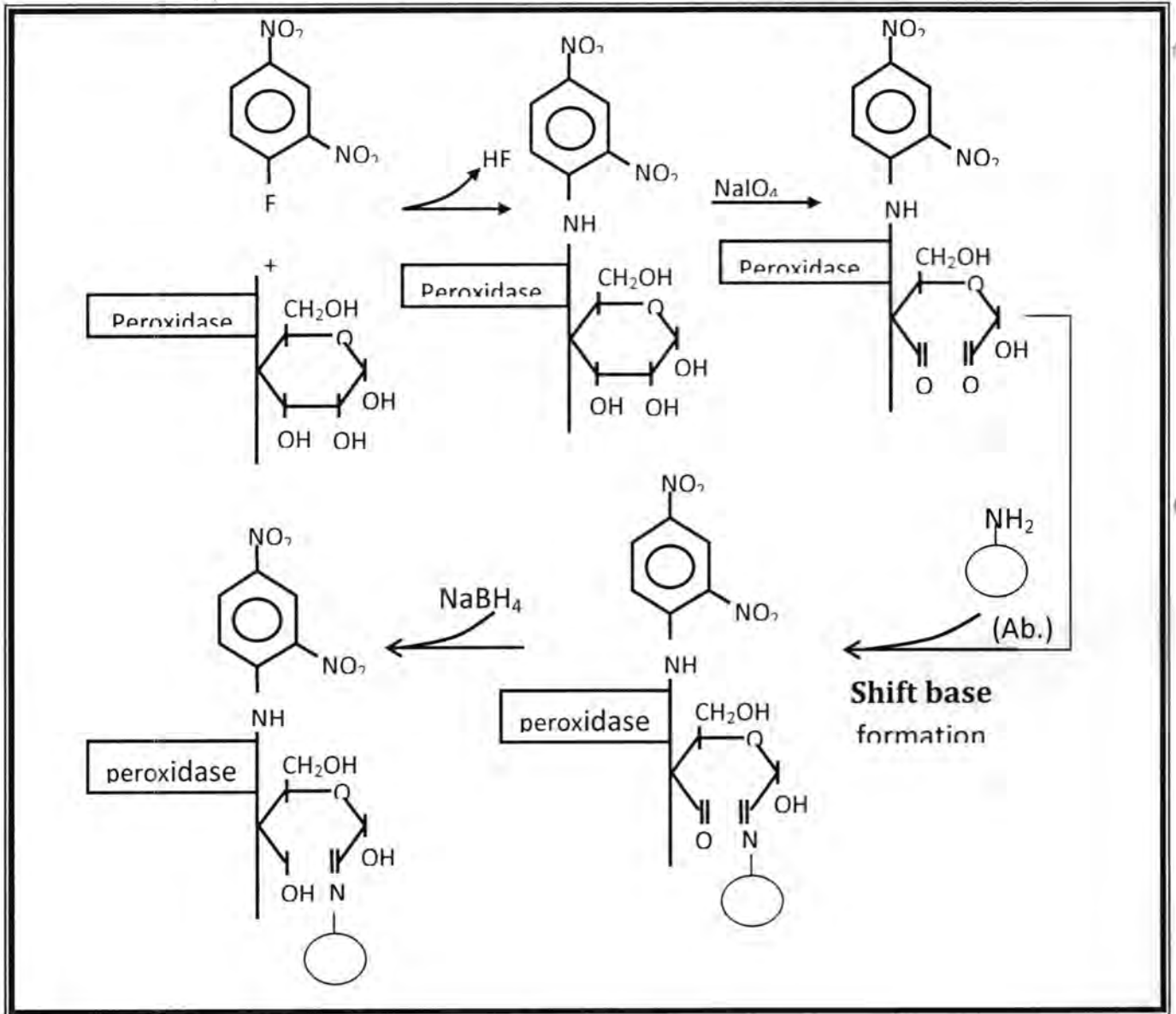
## الخلاصة

تم تحضير كاشف مناعي انزيمي ( المقترن) بتعليم مضاد البروتين الجنيني - الفا - Alpha-Fetoprotein (AFP) مع انزيم البيروكسيداز (Horse radish Peroxidase (HRP بطريقة الأكسدة-الاختزال بمادة بيرأيوديت الصوديوم كعامل مؤكسد، واستخدمنا مادة بوروهيدريد الصوديوم كعامل مختزل ، وبوجود كاشف سانكر (1-فلورو 2,4 -دي نايترو بنزين ) تم حجب مجموعة الامين لأنزيم البيروكسيداز واكملت عمليات الأكسدة والاختزال على مجموعة الكاربوهيدرات الموجودة ضمن تركيب الانزيم والذي أعطى استقرارية عالية بعدة قياس تركيز البروتين الجنيني الفا (AFP) ، واجريت عمليات المقارنة مع المقترن المحضر من قبل معهد BNIBT المنتج للعدد الطبية وكانت متطابقة ، وثبتت الطريقة لنقل وتوطين تكنولوجيا تحضير العدد التشخيصية بتقانة التحليل المناعي الانزيمي ، وتم العمل بجمهورية الصين الشعبية / بكين /معهد(Beijing North Institute of Biological Technology (BNIBT) . Technology

### المقدمة

الكاشف المناعي الأنزيمي (المقترن) عبارة عن معقد محصر من جزيئة حيائية (ضد أو مستضد) مرتبط بها أنزيم مناسب (1). وعند تحضير عدة الكشف عن البروتين الجنيني ألفا (AFP) بتقانة الأليزا يحضر المقترن من ربط الأنزيم مع ضد جزيئة (AFP) (البشري الممنع Anti-Human- AFP) ويعتمد المقترن على كفاءة ونقاوة الأنزيم ، والجزيئة المراد تعليمها بالأنزيم تكون ذات خصوصية ونقاوة عاليتين لمنع التداخلات في التحليل (2). وتوجد عدة طرائق لتحضير المقترن (كاشف مناعي أنزيمي) منها طريقة استخدام مادة الكلوترأليهايد ، طريقة الاكسدة بمادة البيروأيديت والتي تستند على تفاعلات الاكسدة والاختزال (3) والشكل التالي يوضح ميكانيكية التفاعلات :

شكل -1: يوضح ميكانيكية تحضير المقترن بطريقة الاكسدة -الاختزال (3)



تعتمد الفعالية الأنزيمية (Enzyme activity) في طريقة الأليزا على الأنزيم والمادة الأساس لإعطاء اللون الناتج من تحليل الأنزيم ، نجد أن الأنزيم HRP يعمل ضمن نظام البيروكساييد ( $H_2O_2$ ) والمادة الأساس تكون حاوية على مجموعتين من ( $-NH_2$ ) (4). وتعدّ المادة الأساس (OPD) هي المفضلة لعمل أنزيم HRP لاستقراريتها العالية مقارنة بالمواد الأخرى، وتتحلل بالضوء (5)، كما أن لها مضاراً لذلك تم استعمال (ABTS) بدلاً منها لأنها أقل سمية وذات استقرارية عالية أيضاً . واستخدام كاشف مناعي انزيمي بالعدد التشخيصية لتقانة التحليل المناعي الانزيمي يعد من الكواشف المهمة جداً في تقانة الأليزا ، إذ ان المستويات الطبيعية Alpha – Fetoprotein (AFP) لقياس تركيز دليل الورم السرطاني للبروتين الجنيني الفا هو لا تزيد عن 25 نانوغرام لكل ملتر ، وان ارتفاع مستواه دليل لحالة سرطانية منها سرطان المعدة والكبد والامعاء اذ يرتفع في هذه الحالات (6). ويظهر بنسب مرتفعة عند البدايات الاولى لتكوين الجنين ، ويزداد خلال فترة الحمل . ويرتفع ايضاً في حالات التهاب الكبد المزمن والتليف الكبدي (7) ، والوزن الجزيئي للبروتين AFP يتراوح ما بين (67-72) كيلو دالتون ويحتوي (3-5) % من الكاربوهيدرات (8) ، وتحقق حيوانات التجارب من هذا البروتين لأنتاج الاجسام المضادة بطريقة متعددة النسيلة ( polyclonal ) أو بطريقة وحيدة النسيلة (monoclonal) وتعتبر الطريقة الثانية أكثر نقاوة وتعطي حساسية عالية لتحضير العدد الطبية التشخيصية (9) .

يهدف البحث الى التوصل لكشف سر المعرفة العلمي لغرض نقل وتوطين تكنولوجيا تحضير العدد الطبية لتقانة الأليزا وخاصة للكشف عن أدلة الاورام السرطانية مثل AFP ، ويعتبر الكاشف المناعي الانزيمي من اهم مكونات العدة التشخيصية ، والمتمثل بتحضير المقترن لمضاد دليل الورم السرطاني (Anti-AFP) المرتبط مع انزيم البيروكسيداز المفصول من الفجل (HRP).

### المواد وطرائق العمل

Horse radish peroxidase (HRP) و مصل الالبومين البقري من شركة سكما ، (بيرايودت الصوديوم ، بوروهيدرايد الصوديوم ، اثلين كلايكول ، خلاص الصوديوم ، بيكاربونات الصوديوم ، بيكاربونات الصوديوم الحامضية ، كليسول ) من شركة BDH .

### المحاليل المستخدمة:

1. محلول دارىء الخلّات (Acetate buffer) بتركيز 0.2 مولاري ، pH= 5.6.
2. محلول بيرايوديت الصوديوم ( $NaIO_4$ ) بتركيز 0.1 مول /لتر من الماء المقطر .
3. محلول بوروهيدرايد الصوديوم ( $NaBH_4$ ) بتركيز 4 ملغرام /مللتر من الماء المقطر .
4. محلول 1- فلورو 2،4- ثنائي نايترو بنزين (FDNB) بتركيز 1%.
5. محلول دارىء كاربونات -بيكاربونات الصوديوم (CBB) بتركيز 0.5 مول/لتر ، pH= 9.5.

6. محلول دارىء فوسفات الصوديوم (PB) بتركيز 0.01 مولار ، pH= 7.4 ، حضر : محلول (A): بإذابة (1.56) غرام من  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  في لتر من الماء المقطر . محلول (B): بإذابة (1.42) غرام من  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  في لتر من الماء المقطر مزج حجم ( 58 ) مللتر من محلول (A) مع حجم (142) مللتر من محلول (B) فأعطى pH=7.4 .
7. محلول دارىء الفوسفات الملحي (PBS) بتركيز 0.02 مولار ، pH= 7.4 ، حضر : محلول (A): بإذابة (3.12) غرام من  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  في لتر من الماء المقطر . محلول (B): بإذابة (2.84) غرام من  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  في لتر من الماء المقطر مزج حجم ( 68 ) مللتر من محلول (A) مع حجم (132) مللتر من محلول (B) فأعطى PH=7.4 وأضيف (1.8) غرام من كلوريد الصوديوم، ويحتوي مصل جنين بقرى (newborn bovine serum) بنسبة 20% وكذلك يحتوي البروكلين 300-300 (Proclin -300) بنسبة 0.05 % كمادة حافظة.

#### طريقة العمل :

تم ربط مضاد البروتين الجنيني ألفا البشري الوحيد النسيلة (Monoclonal Anti-Human AFP) وفقا لطريقة فولر (10) و طريقة هينك (3) للتوصل الى الطريقة المثلى وكما مبين بالخطوات التالية:

1. تم اذابة 3.7 غرام من انزيم HRP بحجم 0.94 مللتر من محلول دارىء الخللات .
2. أضيف (100) مايكروليتر محلول FDNB (1%) ومزج لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة.
3. واضيف محلول بيريأودييت الصوديوم (21.3 ملغرام لكل مللتر من الماء المقطر)، مزجت جيدا في 4 درجة مئوية لمدة ساعة .
4. أضيف أثلين كلايكول ( حضر بتركيز 50 مايكروليتر لكل مللتر من الماء المقطر ) ومنه اضيف 150 مايكروليتر الى محلول الانزيم ، ومزج جيد لمدة نصف ساعة عند 4 درجة مئوية .
5. اجريت عملية ديلزة ضد محلول دارىء من خللات الصوديوم (0.001 مولار ، pH=4.2) وترك على مازج ليلة كاملة عند 4 درجة مئوية .
6. ويؤخذ من محلول دارىء CBB لتعديل الحامضية الى pH= 9.0 واضيف 50 مايكروليتر ونظمت الحامضية .
7. وحسب الحجم لمحلول الانزيم المؤكسد في الخطوات اعلاه واضيف لكل مللتر من الانزيم المؤكسد حجم نصف مللتر من محلول monoclonal Anti-AFP ومزج ثلاث ساعات عند 4 درجة مئوية.
8. أضيف 4 ملغرام من بوروهيدرايد الصوديوم لكل مللتر من المحلول اعلاه ومزج مدة ساعة عند 4 درجة مئوية .



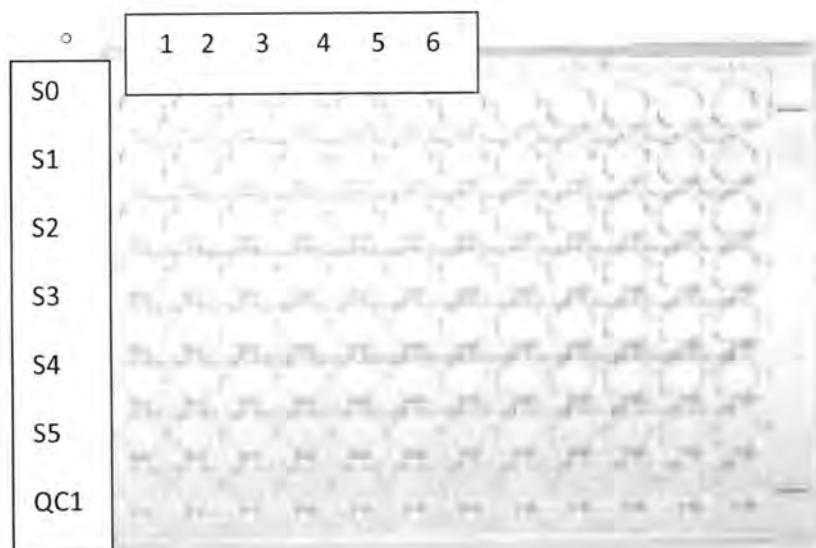
9. اضيف جزء 1:1 من كبريتات الامونيوم المشبع ، وعمل طرد مركزي عند 8000 r.p.m مدة نصف ساعة في 4 درجة مئوية .
10. يؤخذ الراسب ويذاب في محلول داريء فوسفات الصوديوم بحجم 3 ملتر واجريت عملية ديلزة ضد الماء اللاأيوني .
11. اضيف 10 ملغرام من مصل الألبومين البقري لكل ملتر .
12. اضيف 50% من الكليسرول وحفظ الكاشف مناعي انزيمي بالفريز لأجراء الاختبارات

### الاختبارات:

CLIA (chemoluminescence assay) تم تحديد التركيز الأمثل للمقترن بتقانة بالتخفيف بواسطة محلول داريء الفوسفات الملحي (محلول رقم 7) ، اذ اضيف 20 مايكوليتر لكل حفرة من حفر لصفحة دقيقة العيارية ، ثم اضيف 100 مايكوليتر من المقترن المحضر للاختبار وحضنت الصفحة بالظلام لمدة ساعة عند 4 درجة مئوية ، غسلت الصفحة ثلاث مرات بالماء المقطر واطيفت المادة الاساس 25 مايكوليتر وتم اجراء القياس.

### النتائج والمناقشة

ان تفسير ميكانيكية التفاعل لطريقة التحضير من الضروري تفسيرها علميا ، فأن اضافة كاشف سانكر الهدف منه لحجب مجموعة الأمين للانزيم لكي يتم التفاعل على مجموعة الكربوهيدرات (FDNB) التابعة لتركيب الانزيم ، واطافة بيرأيديت الصوديوم لغرض أكسدة مجموعة الكربوهيدرات ثم يضاف الكلايكل لتوقف عملية الاكسدة ، ويضاف الضد لتكوين قواعد شيف ، ثم يضاف البوروهيدرايد لأختزال مجاميع الكربونيل الى هيدروكسيل وتكوين كاشف مناعي انزيمي بأستقرارية عالية . ويستخدم كبريتات الامونيوم للتخلص من الانزيم الحر الغير مرتبط ويبقى المقترن بشكل راسب ، وبعملية الديلزة يتم التخلص من كبريتات الامونيوم المستخدمة في الترسيب . للحصول على التركيز الأمثل للكاشف المناعي الأنزيمي تم الاختبار بأخذ تراكيز مختلفة من خلال تخفيف الكاشف المناعي المحضر (500/1، 1000 /1، 2000/1، 4000/1، 8000/1، 16000/1) وكما مبينة بالجدول رقم (1) ، والشكل التوضيحي للصفحة الدقيقة العيارية التي اجري عليها الاختبار موضحة بالشكل التوضيحي رقم (1). حيث ان الأضافة اعتمدت على تراكيز من عدة منتجة لتثبيت التركيز الأمثل .



شكل -2: الاختبار الذي اجري على المقترن المحضر

جدول -1: نتائج التخفيف للمقترن المحضر مقابل تراكيز مختلفة من المحاليل القياسية .

ng/ml	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000
S0= 0	16263	6083	2457	2903	2280	2129
S1= 5	421883	294483	202880	69857	34906	11577
S2=12.5	1229840	628674	485666	190709	112734	43354
S3=50	3576356	2830850	2209304	1403559	609620	300791
S4= 200	15939200	13578720	11431240	7977811	5087447	2822121
S5= 400	25165500	25165500	25165500	23966930	14791260	7384203
QC1	537680	397331	187731	137460	54594	16234
QC2	21286940	17011190	14710070	9783966	6025876	3371210

وأثبتت النتائج ان تخفيف المقترن 1/8000 يعطي نتائج جيدة فأعتمدنا هذا التخفيف ليعتمد في العدة وأي تخفيف يعتمد على طريقة التحضير ونقاوة الانزيم ونقاوة الضد AFP الطبية لقياس تركيز المستخدم في تحضير المقترن، من النتائج نجد ان استخدام التراكيز المختلفة للبروتين الجنيني -ألفا بوحدة النانوغرام / ملتر واختبارها بتقانة الأليزا بالاعتماد على المقترن المحضر وبخافيف مختلفة اظهرت نتائج جيدة واعتمدت بالمقارنة مع المقترن المستورد وعلى نماذج متعددة ، وكانت النتائج متطابقة

## المصادر

1. David J. Anderson, Baochuan Guo and Yan Xu; clinical chemistry ; *Anal. Chem*, 69 (12: 165–230., (1997).
2. Shi-Rong Hu, Jia-Ming Liu; Tian-Long Yang, Hai-Zhu Liu and Jun-Li Huang; Determination of Human Alpha-Fetoprotein (AFP) by Solid Substrate Room Temperature Phosphorescence Enzyme-Linked Immune Response Using Luminescent Nanoparticles; *Microchim Acta* 152: 53–59 ,(2005).
3. P.Tijssen, In “**Laboratory Techniques In Biochemistry and Molecular Biology**”, Vol. 15, Printed in the Netherlands. (1985).
4. Miguel A. Duarte-Vazquez, Blanca Garcí'a-Almenda' rez, and Carlos Regalado,;Purification and Partial Characterization of Three Turnip (*Brassica napus* L. var. esculenta D.C.) Peroxidases; *J. Agric. Food Chem.*, 48: 1574-1579,(2000).
5. Halpin, B.; Pressey, R.; Jen, J.; Mondy, N. Purification and characterization of peroxidase isoenzymes from green peas (*Pisum sativum*). *J. Food Sci.* , 54: 644-649.(1989).
6. Gary Beale, Dipankar Chattopadhyay , Joe Gray and Stephen Stewart M. ; AFP, PIVKAI, GP3, SCCA-1 and follisatin as surveillance biomarkers for hepatocellular cancer in non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease; *BMC Cancer*, 8:200,( 2008).
7. Yun Liu, Huixiang Wang, Jingyu Huang, Jie Yang, Baohong Liu and Pengyuan Yang; Microchip-based ELISA strategy for the detection of low-level disease biomarker in serum; *Anal.Chemica Acta* ,Vol.650:77-82,(2009).
8. Igor Dudich, , Natasha Tokhtamysheva, Lidia Semenkova, Elena Dudich, Jukka Hellman, and Timo Korpela; Isolation and Structural and Functional Characterization of Two Stable Peptic Fragments of Human R-Fetoprotein; *Biochemistry*, 38: 10406-10414,(1999).
9. Lennart Andersson, Eugene Sulkowski, and Jerker Porath ; Facile Resolution of a-Fetoproteins and Serum Albumins by Immobilized Metal Affinity Chromatography; *CANCER RESEARCH* 47: 3624-3626, , (1987).

## دراسة تحليلية لاستجابة الأقطاب الانتقائية في تقدير تراكيز ايون الكلورايد في المواد الصيدلانية جهديا

ابتسام عبد الحسين خضير ومروة مؤيد عبد الواحد ومحمد خليل محمد علي

وزارة العلوم والتكنولوجيا

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/30

### ABSTRACT

In this research, an analytical study of the response of selective chloride electrode importer in different models of pharmaceutical substances and assess the concentration of chloride ion in which the various analytical conditions has been study the effect of pH on the response of the electrode ion selective and appreciation in different ranges of pH of (1-9) and different concentrations of chloride ion (10-100 ppm) and the effect on the amounts of ion and calculation of recovery and the relative error.

We have obtained through research on the curves of calibration of the selective electrode direct measurement and get the good calibration curve and slope nerneest to 49.9 mV / decade and the linear correlation Coefficient of 0.9945 and using the solutions of the Organization for the voltage to find the best response and stability of the electrode and access to slope close to the Nerneest slope and found a correlation Coefficient well when the use of buffer  $r^2 = 0.9991$ , that the use of the voltage regulator solution has helped us to get a mile close to the Nerneest slope limits of 53.65 mV / decade. Determined the chloride ion in pharmaceuticals materials as Ethambutol, Propranolol using the direct method and the potentiometric titration.

### الخلاصة

تم في هذا البحث دراسة تحليلية لاستجابة قطب الكلورايد الانتقائي المستورد في النماذج المختلفة للمواد الصيدلانية وتقدير تراكيز ايون الكلورايد فيها بمختلف الظروف التحليلية ، وقد تم دراسة تأثير الاس الهيدروجيني على استجابة القطب الانتقائي وتقدير الايون في مديات مختلفة من الاس الهيدروجيني من (1-9) ويتراكيز مختلفة من ايون الكلورايد (10-100 ppm) وتأثير ذلك على مقادير الايون وحساب الاسترجاع والخطأ النسبي .

لقد حصلنا من خلال البحث على منحنيات المعايرة للقطب الانتقائي بالقياس المباشر والحصول على منحنى معايرة بميل مقارب الى ميل نرنست بحدود 49.9 mV/decade وانحدار خطي وبمعامل 0.9945 وباستخدام محاليل منظمة للفولتية لايجاد افضل استجابة وثباتية للقطب والوصول الى ميل

ابتسام ومروة ومحمد

مقارب لميل نرنست ووجد انحدار خطي جيد عند استخدام المحلول المنظم بحيث اصبحت قيمة  $(r^2=0.9991)$  ، ان استخدام المحلول المنظم للفولتية قد ساعدنا في الحصول على منحنى معايرة ذو ميل مقارب لميل نرنست بحدود  $53.65 \text{ mV/decade}$  .

تم تقدير تراكيز ايون الكلورايد في المواد الدوائية المتوفرة كـ Ethambutol , Propranolol باستخدام الطريقة المباشرة والتسحيح الجهدي .

### المقدمة

ان تقدير ايون الكلورايد في المحاليل المختلفة كانت تتم كما ورد في الادبيات والمراجع بواسطة عدة تقنيات تحليلية كالباحث mickael (1) وجماعته والباحث Kolthoff (2) الذين قدروا ايون الكلورايد بوجود ايونات البرومايد والايودايد باستخدام التسحيح الجهدي مع محلول نترات الفضة. اما الباحث Brewer (3) وجماعته فقد اوضح انه يمكن تقدير ايون الكلورايد بواسطة قطب الفضة/كلوريد الفضة في المحاليل الالكتروليتيية بعد تثبيت الاس الهيدروجيني ، والباحث Doyle (4) وجماعته فقد اثبتوا انه يمكن تقدير ايون الكلورايد في الاملاح الذائبة في المستحضرات الصيدلانية . وقد كان للطريقة الجهدية الحظ الاوفر في تقدير ايون الكلوريد عن طريق الاقطاب الانتقائية كما وجد الباحث David (5) وجماعته وكما جاء في الادبيات ASTM (6) حول التسحيح الجهدي لتقدير ايون الكلورايد في النماذج المائية . كما كان للباحث Akaiwa (7) وجماعته الاثر الكبير في ايجاد طريقة جديدة في تقدير ايون الكلورايد باستخدام الكروماتوغرافيا الايوني وبالطريقة المباشرة عن طريق فصل الايون عبر مبادل ايوني . وبالمقارنة مع الدستور الدوائي البريطاني لعام 2005 (8) في تقدير ايون الكلورايد للمستحضرات الصيدلانية الحاوية على الايون ، كما وجد انه يمكن تقدير ايون الكلورايد في تطبيقات حديثة في الكيمياء التحليلية (9) بوجود ايون الايودايد وباستخدام قطب الفضة الانتقائي كقطب كاشف وقطب pH المرجعي مع التسحيح الجهدي مع محلول نترات الفضة .

### المواد وطرائق العمل

#### الاجهزة التحليلية :-

- جهاز قارئ للجهدية Orion 940
- قطب الكلورايد الانتقائي Orion
- قطب مرجعي double junction 90-02 orion حاوي على المحاليل التالية :



out solution 10% KNO<sub>3</sub> (900003) ، Inner solution ( 900002)

- قطب قياس pH المحلول من شركة Metrohm Swiss

- ميزان حساس Mettler

- زجاجيات مختلفة ومتنوعة

### تحضير المحاليل القياسية :-

- المحلول القياسي الام لايون الكلورايد (200 ppm) :- يوزن 0.3 gm من مادة NaCl

النقية ويذاب في الماء المقطر اللايوني الى حد الاذابة ويكمل الحجم الى 1000 ml

ويحضر منها التراكيز المخففة التالية (10,20,30,50,100 ppm) .

- محلول منظم للفولتية :- يؤخذ حجم 1.25 ml من حامض النتريك ويكمل الحجم الى

1000 ml بالماء المقطر اللايوني.

- الماء المقطر اللايوني

- محلول نترات الفضة القياسي 0.1 N AgNO<sub>3</sub> : يؤخذ 5 gm من المادة نترات الفضة

ويجفف بدرجة حرارة 40 درجة مئوية ويذاب 1.69892 gm في 100 ml من الماء المقطر

اللايوني ويتم معايرة المحلول مع محلول قياسي من كلوريد الصوديوم (10)

- مواد دوائية قياسية عالية النقاوة Propranolol hydrochloride , Ethambutol

hydrochloride من الشركة العامة لصناعة الادوية /سامراء.

- جميع المحاليل القياسية المحضرة من املاح ذات نقاوة عالية لشركتي BDH,Fluka

### **النتائج والمناقشة**

من خلال النتائج المستحصلة من الدراسة التحليلية وتعيين تراكيز ايون الكلورايد واستجابة القطب

الانتقائي والعمل على تثبيت افضل الظروف للحصول على منحنى معايرة وانحدار خطى مقارب الى ميل

نيرنست باستخدام محاليل قياسية محضرة من املاح قياسية ذات مناشئ عالمية .

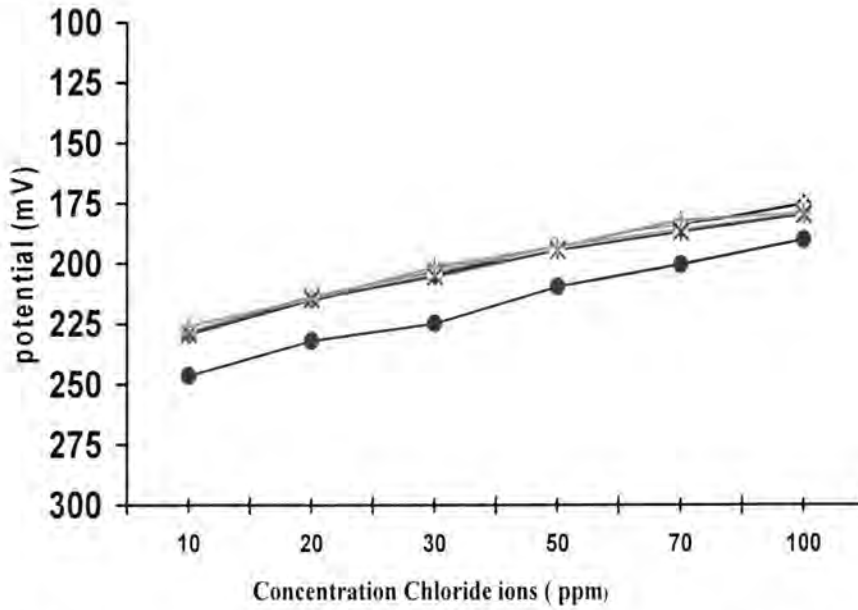
تم استخدام محاليل قياسية محضرة بتراكيز (10-100 ppm) من ايون الكلورايد تمكنا من

الحصول على منحنى معايرة لهذه التراكيز ولمدة زمنية بحدود 160 hour وبشكل ثابت تقريبا وميل

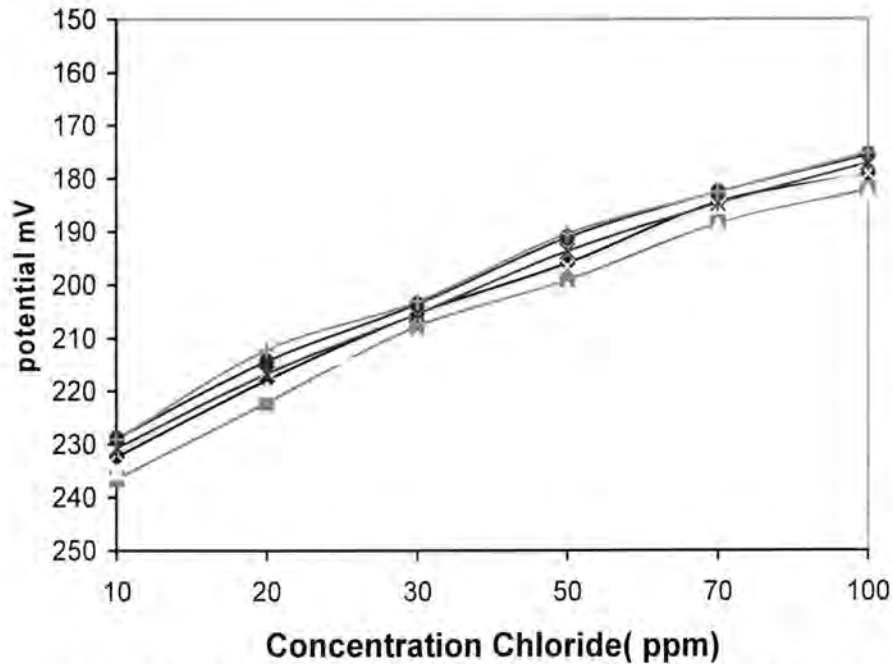
نيرنستي مقارب بحدود ( 49.9 mV/decade ) وانحدارا خطيا بمعدل ( 0.9945 ) ولسبعة قراءات

خلال المدة الزمنية وكما مبين في الشكل (1) .

ابتسام ومروة ومحمد



شكل 1- : منحي المعايرة لتراكيز مختلفة لايون الكلوريد بواسطة قطب الكلوريد الانتقائي وباستخدام المادة المنظمة للفولتية تم الحصول على منحنيات معايرة لايون الكلوريد وبنفس الظروف السابقة وجدنا ان الميل قد اقترب من الميل النرنستي ووصل الى حدود 53.65 ( mV/decade ) وانحدارا خطيا بمعدل (0.9991) .

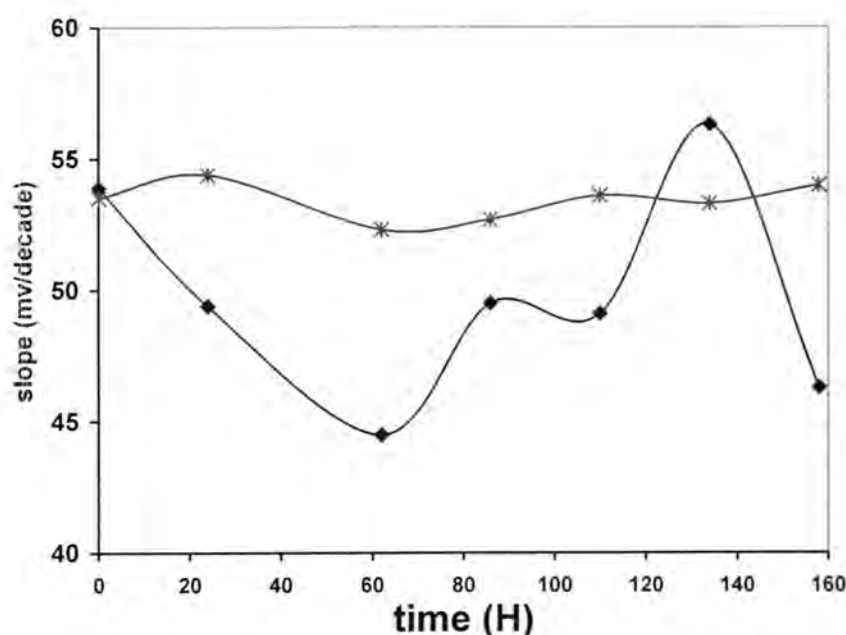


شكل 2- : منحي المعايرة لتراكيز مختلفة لايون الكلوريد بواسطة قطب الكلوريد الانتقائي باستعمال المحلول المنظم للفولتية

جدول 1- : استجابة القطب الانتقائي في استخدام المحلول المنظم والفرق الواضح في الميل والانحدار الخطي الحاصل .

No.	Conc. Of chloride ion (ppm) direct						Slope	R <sup>2</sup>
	10	20	30	50	70	100		
.1	228.3	213.4	203.3	195.8	185.5	178.9	49.4	0.9966
.2	222.9	209.6	201.9	191.6	184.9	178.4	44.5	0.9923
.3	223.7	209.5	200.3	192.5	180.7	174.2	49.5	0.9927
.4	228.9	214.5	205.2	194.4	186.9	179.8	49.1	0.9916
.5	229.2	214.8	204.9	191.8	184.3	175.3	53.9	0.9944
No.	Conc. Of chloride ion (ppm) with tisab						Slope	R <sup>2</sup>
1.	232.7	217.9	205.4	195.9	184.4	179.2	53.5	0.9926
2.	236.5	222.1	207.8	199.1	188.5	182.1	54.5	0.9917
3.	228.9	214.3	203.6	191.1	182.1	175.5	53.4	0.9953
4.	229.1	212.2	203.1	190.4	182.6	175.1	54.0	0.9966
5.	225.9	210.8	200.5	187.9	179.1	171.9	54.0	0.9991

ويبين شكل (3) الثباتية في قراءات الميل في الطريقة المباشرة للقياس في قطب الكلورايد الانتقائي في استخدام المحلول المنظم وعدم استخدامه بمرور الزمن .



شكل 3- : ثباتية الميل النرنستي لقطب الكلورايد الانتقائي بمرور الزمن

وبدراسة تأثير الاس الهيدروجيني على استجابة قطب الكلورايد الانتقائي على التراكيز المقاسة باستخدام المحاليل القياسية لايون الكلورايد وكما موضح في جدول 2- يبين ان قيم التراكيز قد اختلفت وبالنظر الى قيم الاسترجاع والخطا المحسوب بين التراكيز المقاسة والتراكيز الموجودة في المحاليل

جدول 2- : احتساب التراكيز الموجودة والمقاسة بواسطة القطب الانتقائي والاسترجاع

ابتهام ومروة ومحمد

Sample	pH	Conc. of chloride ion taken	Conc. Of chloride ion found	Recovery%	Error%
.1	1.85	50	63	79	20
.2	2.34	50	50	100	0
.3	5	50	35	70	30
.4	6	50	34	68	32
.5	8	50	34	68	32
.6	9	50	31	62	38

يبين جدول (3) ان هناك تباين بين طريقتين تحليلية في قياس التراكيز لايون الكلورايد لنماذج مختلفة توفرت اثناء اجراء البحث

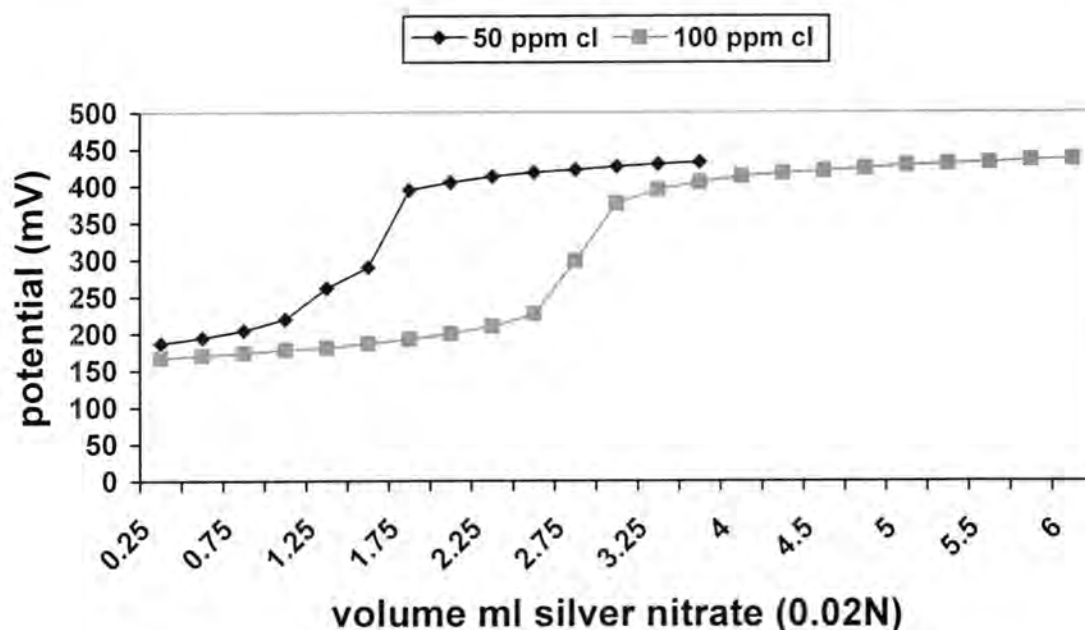
جدول 3- : المقارنة بين التراكيز المقاسة بطريقتين تحليلية لنماذج مختلفة

No.	Sample	ISE*	IC**
1.	unknown	650	626
2.	عين جربة قرب المقام	1600	1575
3.	عين العطاعة	9900	9189
4.	خارج التصفية	60	77
5.	محطات التصفية	50	69

\* ISE : ion selective electrode .

\*\* IC : Ion Chromatography .

وقد استخدمت طريقة التسحيح الجهدي لمحلول نترات الفضة لتعيين الكلورايد في المحاليل القياسية للايون بتركيزين معلومين وكما مبين في الشكل (4) حيث يتضح ان الحجم المستخدم من محلول النترات في التركيز الثاني (100 ppm) هو ضعف الحجم في التركيز الاول (50 ppm)



شكل 4- : منحنى التسحيح الجهدى لتراكيز مختلفة من المحاليل القياسية لايون الكلوريد

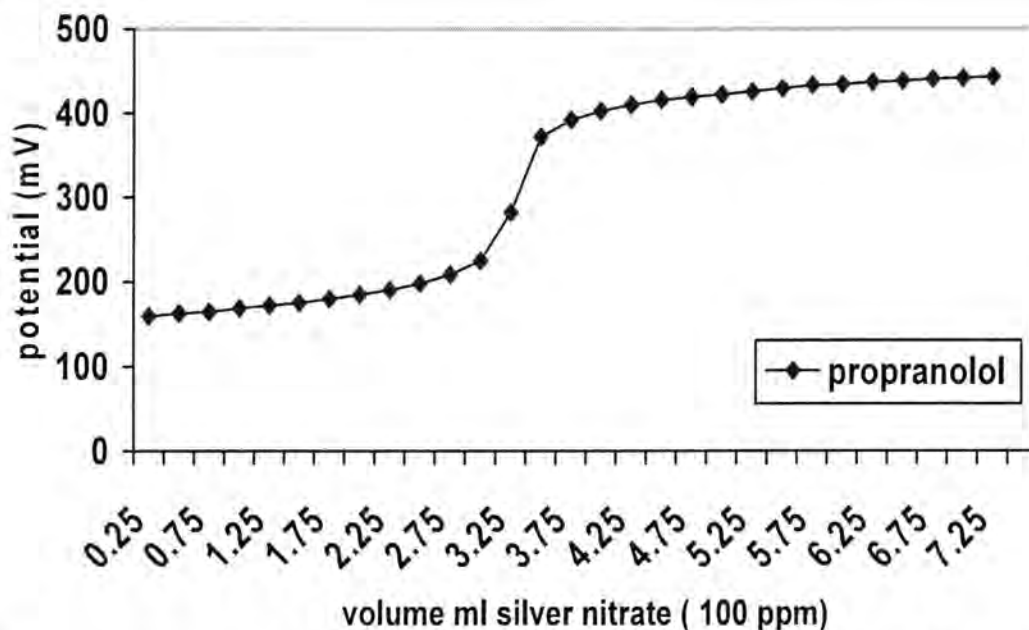
ويتطبيق الطريقة المباشرة وطريقة التسحيح الجهدى على المحاليل المحضرة من المستحضرات الصيدلانية ( Propranolol, Ethambutol ) وباستعمال طريقة التسحيح الجهدى مع محلول نترات الفضة القياسي في تقدير تراكيز الكلوريد وباستخدام قطب الكلوريد الانتقائي وكما موضح في الاشكال (5,6) حيث يتضح ان الحجم المكافئ لمحلول نترات الفضة المستخدم للمادة الدوائية Propranolol هو اقل من المادة الدوائية Ethambutol وبلاحظة ان تركيز المحلول المسح من نترات الفضة يختلف من حالة الى اخرى وباحتساب الحجم المكافئ لتركيز الكلوريد وكما موضح في جدول 4- حيث احتسبت تراكيز الكلوريد بالنسبة المئوية % لكلتا المادتين الدوائيتين .

جدول 4- : المقارنة بين الطريقة المباشرة والتسحيح الجهدى لقياس ايون الكلوريد في المواد الدوائية

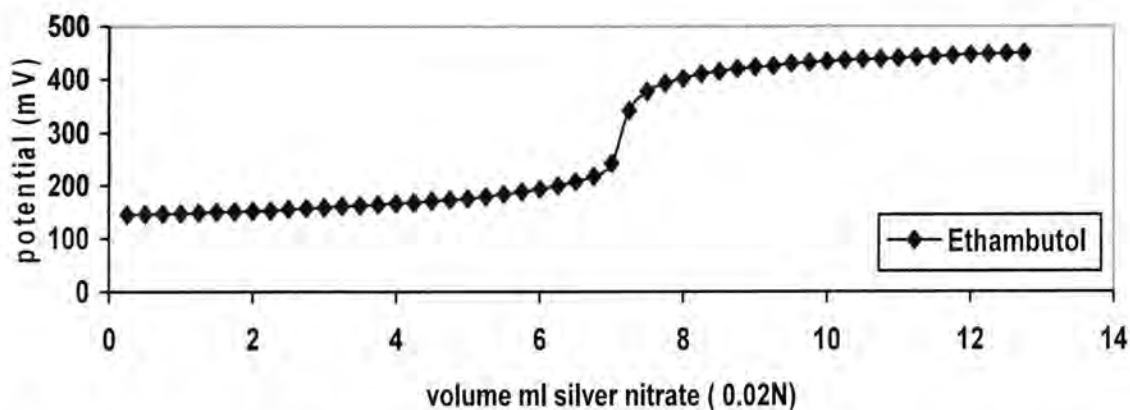
No.	Sample	Conc. Cl in direct determination %	Conc. Cl in potentiometry titration method %
1	Propranolol	2.8	3.0
2	Ethambutol	11.0	13.0



ابتسام ومروة ومحمد



شكل 5- منحنى التسحيح الجهدى لايون الكلوريد في المادة الدوائية Propranolol



شكل 6- منحنى التسحيح الجهدى لايون الكلوريد في المادة الدوائية Ethambutol

يلاحظ ان بمرور الفترة الزمنية تتحسن ثباتية واستجابة القطب وباستعمال محلول المنظم الفولتية يعطي ميلا نرستيا وانحدار خطي جيد وان طريقة التسحيح الجهدى تعطي دقة عالية في تقدير المحاليل القياسية وكذلك تقدير ايون الكلوريد في المستحضرات الصيدلانية الذائبة في الاوساط المائية

## المصادر

1. Michael .J.Ellwood;Keith.A.Hunter; Robert. G.Cunninghame;  
"Elimination of equivalence point errors in the potentiometric titration of chloride , bromide and iodide mixtures with silver nitrate" J. Microchemical.74,187-192(2003).
2. Kolthoff,I.M.;Furman,N.H, "Potentiometric titration",2<sup>nd</sup>.Newyork (1931).
3. Brewer,P.J.C;J.Sensors," Effect of structural design of Ag/AgCl electrode on stability and response time and the implication for improved accuracy in PH measurement " 9(1),118-130(2009).
4. Li.S.Doyle.P;Metz.S;Royce.A.E.;Serajuddin.A.T;" Effect of chloride ion on dissolution of different salt forms of haloperidol , a model basic drug " J.Pharm.Sci.;94(10);2224-31(2005).
5. David.A,Katz and Anil.K.Mukherji;" Determination of halides with ion selective electrodes" J.Microchemical,V(13)Issue 4, 604-615(1968).
6. Annual book of ASTM standardy ; Water and Environmental Technology (section 11) (1986).
7. H.Akaiwa,H.Kawamoto and M.Osumi;" Simultaneous determination of bromide and chloride in natural waters by ion – exchange chromatography and direct potentiometry with ISE" J.Talanta,V(29) issue 8 ,689-690(1982).
8. British pharmacopoeia ,Incorporating the requinements of the 5<sup>th</sup> Edition of the European pharmacopoeia 2004 as amended by supplements 5.1 and 5.2 (CD-Rom) ,version 10.0(2005).
9. Nj.Bartel ." Potentiometric Determination of Iodide and Chlorideina sample " J.Analy. Chem. April 25(2009)
10. Annual Book of ASTM Standards "Water Environmental Technology", Section 11,D 512(1986).

دراسة سرعة القطع لبعض مواد البولييمر باستخدام ليزر CO<sub>2</sub>

احمد ناجي عبد

الجامعة المستنصرية / كلية العلوم / قسم الفيزياء

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/30

## ABSTRACT

A theoretical study has been made for using CO<sub>2</sub> Laser in power (100,300,400W) to cut some polymer materials (PMMA, Polycarbonate, ABS, Polystyrene, Polypropylene and Polyethylene) which have thickness not exceed (6mm) then calculate the cutting constant for (Al and BK-7 glass) to compare with these materials, Results have shown that the cutting speed depends on Laser Power, thickness and a natural of the material. The PMMA cutting speed equal to (9mm/min) in (100W) laser power and (1mm) thickness of material, the cutting speed increase three times in power (300W) and decreasing in any increase with respect to thickness, the cutting speed for the materials (Al and BK-7 glass ) less than the polymer materials.

## الخلاصة

أجريت دراسة نظرية باستخدام ليزر CO<sub>2</sub> بقدرة مختلفة ( 100,300,400 W ) لقطع بعض مواد البولييمر مثل (بولي مثيل ميثاكراليت، بولي كاربونيت، اي بي اس، بوليستيرين، بولي برويلين و بولي اثيلين ) ذات سمك لايتجاوز (5mm) وتم ايجاد ثابت القطع لجميع المواد المستخدمة ومقارنته بمادتي ( Al والزجاج BK-7 ) . أظهرت النتائج إن سرعة القطع تعتمد على قدرة الليزر المستخدم وسمك وطبيعة المادة . حيث تكون سرعة القطع في مادة البولي مثيل ميثاكراليت (PMMA) بمقدار (9mm/min) عند قدرة ليزرية لاتزيد على ( 100 W ) وسمك (1mm) بينما لاتزيد على (6mm/min) لبقية المواد المستخدمة الاخرى عند نفس القدرة والسمك المستخدم . وتزداد سرعة القطع بمقدار ثلاث مرات باستخدام قدرة مقدارها (300 W) وتقل بزيادة سمك المادة . كما أظهرت النتائج بأن سرعة القطع لمادتي الالمنيوم والزجاج BK-7 اقل بكثير مما هي عليه في مواد البولييمر .

احمد

## المقدمة

إن التطور التقني لعمليات المعالجة الليزرية للمواد (القطع والتثقيب و اللحام و ..) يتم من خلال التوسع في استخدام تلك الطاقة العالية وتركيزها على شكل إشعاع ليزري. حيث إن تلك الطاقة والتي تفوق معظم الطاقات الأخرى المتوفرة لاتؤثر في رفع الإنتاجية فحسب وإنما الحصول على مواد ذات خواص ومواصفات جيدة والتي لايمكن إنتاجها باستخدام الطرائق التقليدية الأخرى [1]. أن التطور السريع الذي يلاحظ في السنوات الاخيره في كل من ألسناعه الالكترونية وبناء الأجهزة البصرية وبناء الآلات أدى إلى حدوث توسع كبير في استخدام مواد البوليمر حيث يبلغ استخدام تلك التقنية في اليابان عام 2008 أكثر من 80 % من مجمل الإنتاج الصناعي [2] وبالرغم من استخدام الكثير من الأدوات الميكانيكية المتطورة ذات انظمه سيطرة عاليه ألدقه ألا أنها لم تحصل على نهايات قطع ذات حواف ملساء لتلك المواد بسبب انصهار أو تهشم المناطق المحيطة مقارنة بالاستخدام الليزري الذي يوفر منتج أكثر كفاءة من حيث الدقة والنوعية . يعد استخدام أشعة الليزر في التطبيقات الميكانيكية إلى خصائص الشعاع غير التقليدية والتي لاتتوفر في أي مصدر ضوئي آخر ومنها وكما يلاحظ من الجدول (1) [3] :-

جدول -1: مقارنة القطع الليزري بمصادر أخرى [2].

QUALITY	Laser	Punch	Plasma	Nibbling	Abrasive Fluid Jet	Wire EDM	NC Milling	Sawing	Ultrasonic	Oxy Flame
Rate	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Edge Quality	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓	✗	✓	✗
Kerf Width	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓	✗	✓	✓
Scrap and Swarf	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓	✗	✓	✗
Distortion	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓	✗	✓	✗
Noise	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✓	✗	✓	✗
Metal+Nonmetal	✓	✗	✗	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗
Complex Shapes	✓	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗
Part Nesting	✓	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗
Multiple Layers	✗	✓	✓	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗
Equipment Cost	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✓	✗	✓
Operating Cost	✓	✓	✓	✗	✓	✗	✗	✓	✗	✓
High Volume	✓	✓	✓	✗	✓	✗	✗	✗	✗	✓
Flexibility	✓	✗	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✓
Tool Wear	✓	✗	✓	✗	✓	✓	✓	✗	✓	✗
Automation	✓	✓	✓	✗	✓	✗	✓	✗	✗	✗
HAZ	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓	✗	✗	✗
Clamping	✓	✗	✓	✗	✓	✓	✗	✗	✗	✗
Blind Cuts	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✓
Weldable Edge	✓	✓	✗	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
Tool Changes	✓	✗	✓	✗	✓	✓	✓	✗	✓	✗

1- يضمن كل من التركيز العالي للطاقة المعطاة وتأثيرها الموضعي إجراء المعالجة فقط للجزء المعني من سطح المادة دون إن يسبب تسخيناً لباقي حجمها وبالتالي تغير في بنيتها وخواصها مما يؤدي

إلى حدوث ادني حد من التشوه الحراري.أضف إلى ذلك إن تمتع الطاقة المعطاة بالتركيز العالي يضمن إجراء تسخين ذلك الحجم المراد معالجته خلال زمن تأثير قصير جدا ويؤدي هذا للحصول على سطح معالج يتمتع بخواص جيدة.

- 2- يضمن إمكانية نقل الإشعاع الليزري لمسافات بعيدة وتأثيره على أماكن يصعب الوصول إليها في الحالات الاعتيادية وذلك من خلال استخدام أنظمة بصرية خاصة .
- 3- سهولة التحكم بعناصر التشغيل الليزري ضمن أنظمة تحكم واسعة حيث إن لكل طريقة معالجة طرائق عديدة للتحكم حسب طبيعة المادة المستخدمة وخواصها مثل (الصلابة والخشونة و المقاومة) إضافة للتحكم بالإبعاد الهندسية للأجزاء المراد معالجتها.
- 4- إمكانية إجراء العمليات الليزرية في أي موقع متوفر لعدم وجود مخلفات صلبة أو ضارة إضافة إلى قلة في نسبة المواد التالفة قياسا إلى الطرق التقليدية والتي تصاحب عادة تلوثا بيئيا مع نسبة غير قليلة من نسب التالف للمادة المستخدمة .

#### الجانب النظري :

إن التسخين الليزري والذي يولد تحول طوري للمادة (الانصهار والتبخير ) يعتبر من أهم العمليات اللازم توفرها في القطع لذا سنورد ميكانيكية وسرعة القطع كدالة إلى القدرة الساقطة وسمك المادة إضافة إلى قطر البقعة الليزرية بعد دراسة ميكانيكية القطع.

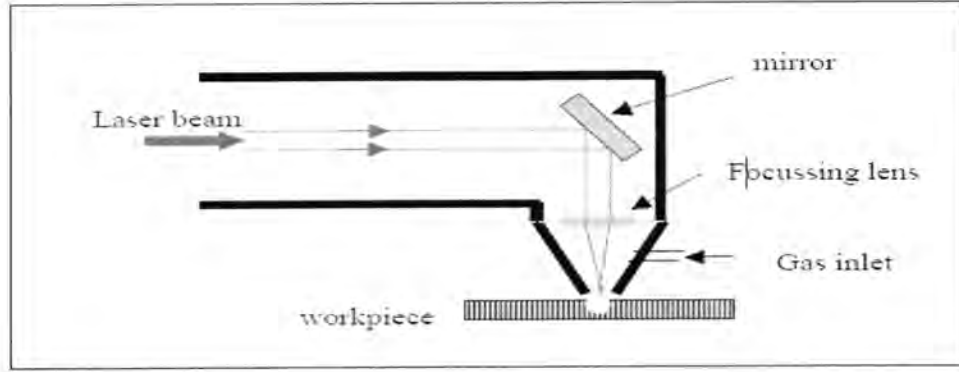
#### ميكانيكية القطع:

إن القطع الليزري عملية حرارية يتم بموجبها إحداث الانصهار والتبخير الجزئي للمادة على امتداد خط القطع حيث يتم إيجاز مراحلها وكما يلي: [4,5]

- 1- تحول نبضة الليزر إلى بقعة صغيرة قدر الممكن مسببة انصهار المادة بدرجة حرارة تعتمد على نوع المادة وتكون مقاربة إلى (350 K) في مادة البولي مثيل ميثاكراليت (PMMA).
- 2- يتم إزالة المادة المنصهرة من منطقة القطع باستخدام غاز يتم نفثه على امتداد محور الشعاع حيث يعمل على إزاحة المواد ويؤدي إلى تقليل الاحتكاك مع الأشعة الليزرية لضمان الاستفادة من معظم الطاقة الساقطة وكما مبين في الشكل (1).
- 3- إزالة الأبخرة المتجمعة حول منطقة القطع والتي تؤدي إلى امتصاص الأشعة الليزرية وتكوين سحابة من البلازما.
- 4- سرعة حركة الليزر حول محور ثابت للقطع يزيد من سرعة إزالة المواد وإحداث القطع.



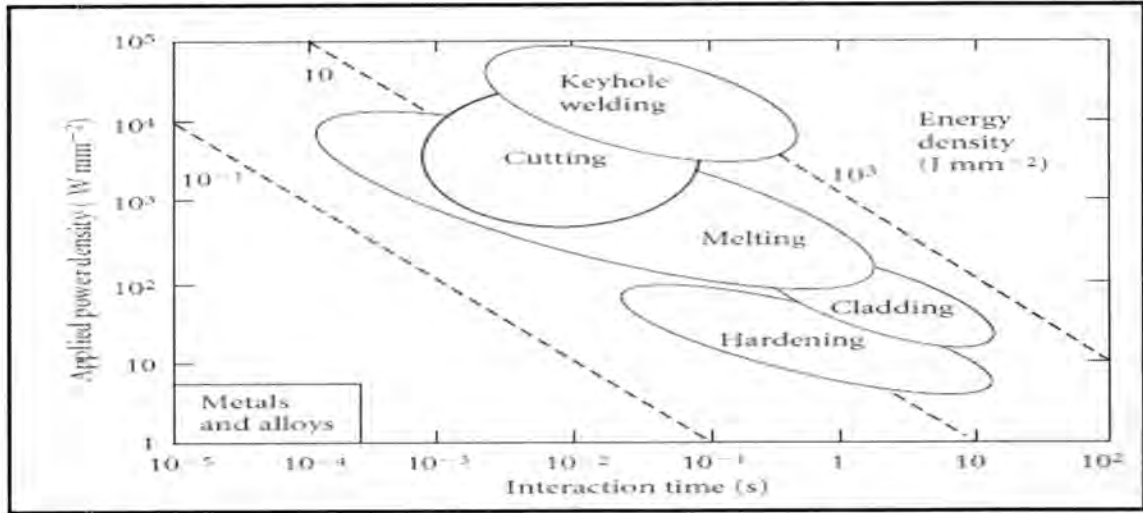
احمد



شكل 1- يوضح وحدة تجميع الحزمة الليزرية [5].

## 2- التأثير الحراري الليزري في مواد البوليمر:-

إن تسخين المادة ورفع درجة حرارتها إلى درجة التبخير يحدث بسرعة كبيرة عند امتصاص حزمة ضوئية عالية القدرة وتعتبر أساس في استخدام الليزر في عمليات القطع. وهذا يحدث عند مدى ضيق من متغيرات الليزر، تقدر كثافة التبخير لجميع المواد بحدود  $(10^5 - 10^6) \text{ W/cm}^2$  نتيجة للتراكم الحراري وضمن منطقة ضيقة جداً (أقل من  $0.05 \mu\text{m}$ ) وكما يلاحظ في الشكل (2).



شكل 2- مخطط تصنيف الانواع المختلفة للمعالجة الليزرية كدالة الى كثافة الطاقة وزمن النبضة [2].

يختلف الزمن اللازم لإحداث التبخير حسب كثافة القدرة المتاحة وتتم إزالة المواد بشكل بخار ومواد منصهرة ويعطى الزمن اللازم للوصول إلى درجة الغليان [6].

$$t = \pi \rho c k (T_v - T_0) / 4 I_0^2 \dots\dots\dots (1) \quad t = \pi k^2$$

$$(T_v - T_0) / 4 I_0^2 \propto \dots\dots\dots (2)$$

تمثل  $k$  التوصيلية الحرارية،  $c$  الحرارة النوعية،  $T_v$  درجة حرارة التبخير،  $T_0$  درجة حرارة الغرفة،  $\rho$  كثافة المادة،  $\alpha$  الانتشارية الحرارية و  $I_0$  تمثل شدة حزمة الليزر الساقطة.

نلاحظ من المعادلة (1) أن حرارة منطقة الامتصاص تعتمد على عاملين أساسيين:-

- الثوابت الحرارية للمادة المركبة.

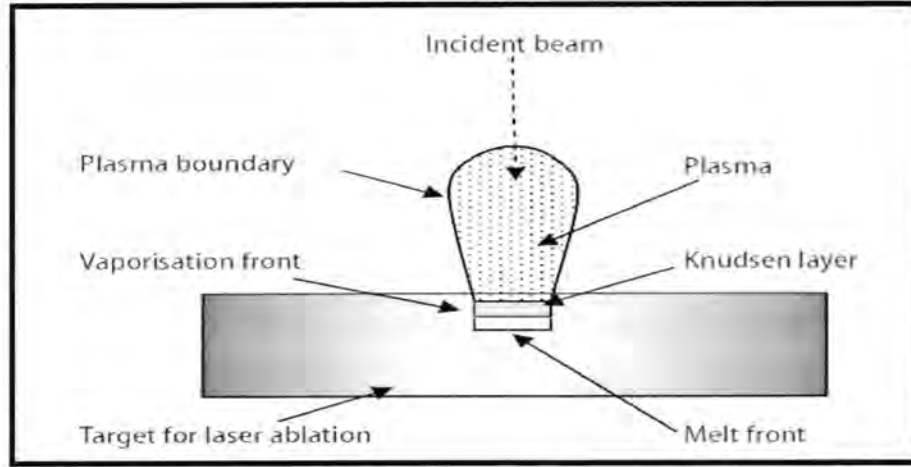
- النسبة بين (زمن نبضة الليزر/الثابت الزمني الحراري للانتقال الحراري)، إذا كانت النسبة صغيرة يعني مقداراً قليلاً من الحرارة سوف ينتقل خارج منطقة سقوط الأشعة وتكون الحرارة في منطقة الامتصاص عالية جداً. أما إذا كانت النسبة أكبر من الواحد (كبيرة) فإن الحرارة تنتقل خارج منطقة البقعة الليزرية وتكون في منطقة الامتصاص قليلة، تنتقل طاقة الليزر بعد امتصاصها عند سطح المادة من خلال التوصيلية الحرارية إلى داخل المادة ويعطى عمق النفاذ عند زمن  $t$  بالعلاقة  $D = (4 \alpha t)^{0.5}$  [3].

### القطع بالتبخير:

يعتبر القطع بالتبخير من أهم الطرق المستخدمة لقطع مواد البوليمر وتدعى (القطع القصي). ان هذه المواد لا تنصهر إلا بالليزر المستمرة لمرورها بمرحلة التسامي حيث إن معظم الامتصاصية تكون في المنطقة فوق البنفسجية من الطيف (امتصاصيتها واطئة في المنطقة المرئية والمنطقة تحت الحمراء من الطيف) لذلك فعند استخدام ليزر ثاني وكسيد الكربون  $CO_2$  يجب أن تكون الطاقة عالية بتصغير منطقة التفاعل لاتمام عملية القطع وذلك بامتصاص المادة للأشعة الليزرية والتي تنتقل إلى بقية أجزاء المادة عن طريق التوصيل الحراري إلى إن تصل درجة الغليان حاملة المواد المتبخرة إلى الخارج تاركة خلفها غيمة من البلازما المحيطة بمنطقة القطع عند استمرار التشعيع وتنتقل باتجاه مصدر الليزر كما في الشكل (3) وتسمى بموجة الامتصاص المدعمة بالليزر، ويعبر عن سرعة القطع  $v$  بأنه مقدار المادة المزالة لوحدة المساحة خلال وحدة الزمن وتحدد بالعلاقة [7]:

$$v = \alpha I_0 / \rho [H_v + c (T_v - T_0)] \dots\dots\dots (3)$$

احمد



شكل 3- القطع بالتبخير [3].

$H_V$  الحرارة النوعية اللازمة للتبخير وتقاس بوحدات  $(J, g^{-1})$ .

المشكلة الحقيقية في عملية القطع انه مجرد تفاعل بين فيض الطاقة الليزرية والمادة المؤثرة فيها حيث توزيع طاقة الليزر توزيعا كاسويا يؤدي إلى انتقال الحرارة إلى جانبي منطقة القطع (حافتي القطع) لذا يجب اعتماد بعض الفرضيات لتقليل نسبة الخطأ:-

a- مصدر الليزر يحسب ويثبت على أساس مساحة صغيرة على سطح المادة ذات نصف قطر يتناسب مع قطر البقعة الليزرية  $d$  للنمط المستخدم لذلك يمكن إن يعرف بشدة الطاقة [8, 9].

$$I_0 = 4P / \pi d^2 \dots\dots\dots (4)$$

تمثل  $p$  قدرة الليزر وتقاس بوحدة Watt .

b- في مركز البقعة الليزرية يمكن إهمال زمن الانتقال للحالة شبه المستقرة  $t_g$  لانه يقترب من الصفر لذا يمكن حساب زمن التفاعل بين الحزمة الليزرية والمادة  $t_i$  كدالة إلى سرعة ذلك التفاعل [10, 11].

$$t_i = d / v_r \dots\dots\dots (5)$$

c- عملية القطع يفترض بأنها اديباتيكية تماما ولا خسائر في الطاقة لذا فان حساب سمك المادة المبخرة  $t_v$  لزمن التفاعل  $t_i$  كدالة الى سرعة التبخير  $v_g$  يعطى بالعلاقة التالية :

$$t_v = v_g \cdot t_i \dots\dots\dots (6)$$

بتعويض المعادلة (6) في المعادلة (5), (4), (3) ينتج:

$$t_v = 4 \alpha p / [\pi \rho v_r d \{H_V + C(T_V - T_0)\}] \dots\dots\dots (7)$$

يمكن اختصار بعض الثوابت والمعاملات الحرارية للمادة في المعادلة (7) :

$$\delta = [\pi \rho \{H_V + C(T_V - T_0)\}] / 4 \alpha \dots\dots\dots (8)$$

ثابت القطع  $\delta$  يشمل كل معلمات المادة ونظام الليزر المستخدم وبتعويض معادلة (8) في المعادلة (7)

ينتج :

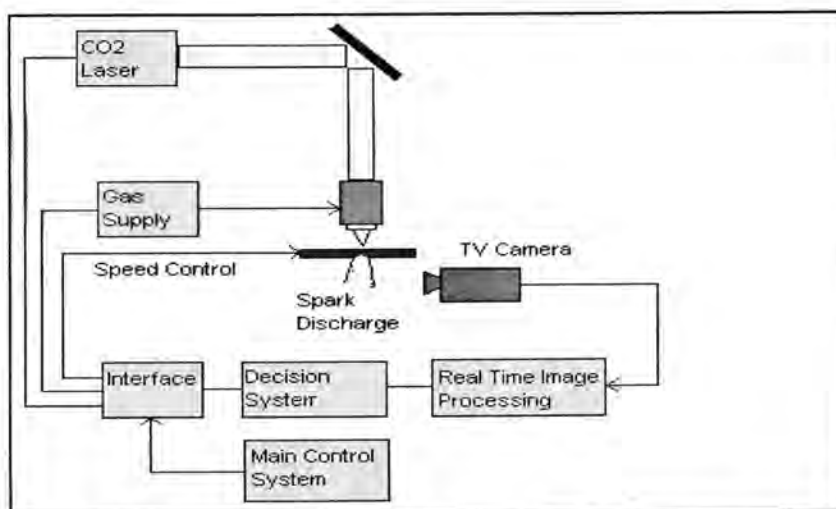
$$t_v = P / \delta V_r d \dots\dots\dots(9)$$

وبتطبيق معادلة (9) عند ما يكون سمك المادة المستخدمة للقطع  $t_{tot}$  يساوي تقريبا سمك المادة المتبخرة  $t_v$  لذا يمكن إيجاد السرعة القصوى للقطع. [12, 11].

$$V_r = p / (\delta t_{tot} d) \dots\dots\dots(10)$$

### المواد وطرق الاختبار :

- 1- تتشكل مواد البولييمر من عدة ألواح سمك اللوح (0.1 cm) تصطف مع بعضها البعض وتضغط للحصول على الإبعاد المطلوبة مع مراعاة تنظيفها وتجفيفها بدرجة حرارة الغرفة.
- 2- نظام ليزر CO<sub>2</sub> (0.5 KW max power) ذو النمط الكاوسي بحيث لايزيد قطر بقعة الحزمة الليزرية عن (0.5mm) أي إن مدى كثافة الطاقة ( $10^4 - 10^6 \text{ W/cm}^2$ ) مع حقن للغاز محوري مع الحزمة الليزرية وعمودي على العينة بنسبة جريان تقارب (80L/min) كما في الشكل (4) .

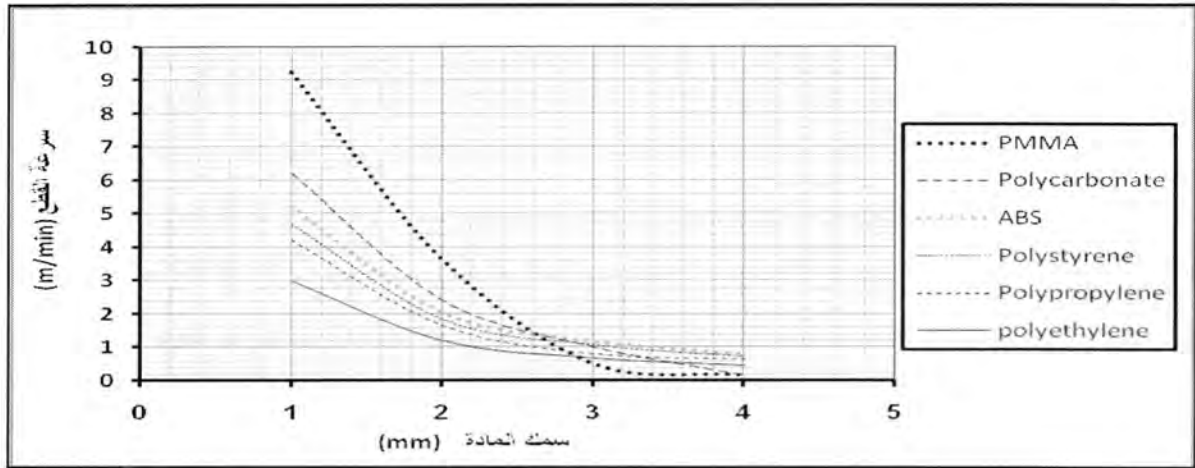


شكل 4- يمثل مخطط نظام ليزر CO<sub>2</sub> (0.5 KW max power).

### الحسابات والنتائج:

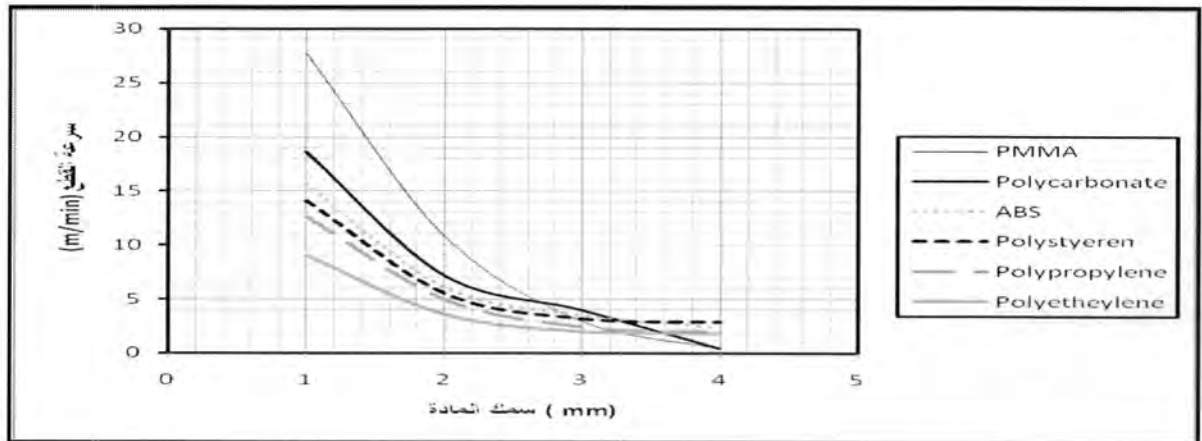
- 1- تم إيجاد سرعة القطع كدالة إلى سمك مختلف من مواد البولييمر (PMMA, Polycarbonate, ABS, Polystyrene, Polypropylene and Polyethylene) باستخدام ليزر CO<sub>2</sub> بقدرة (100W) وبقعة ليزرية (0.05cm). حيث يلاحظ التغير الكبير في سرعة قطع مادة PMMA ليصل إلى (9.2m/min) أما في حالة المواد الأخرى فلا يتجاوز أكثر من (6.2m/min) عند سمك (1mm) وتقل تدريجيا في حالة زيادة سمك المادة إلى (4mm) كما في الشكل (5) إضافة إلى ذلك فإن التغير في سرعة القطع لمواد البولييمر يعتمد على التباين في المعاملات الحرارية لتلك المواد.

أحمد



الشكل 5- سرعة القطع كدالة لسمك بعض مواد البوليمر ،قدرة الليزر (100W) وبقعة ليزرية (0.05cm).

2 - تم إيجاد سرعة القطع كدالة لقدرة مختلفة لليزر CO<sub>2</sub> تصل إلى (300W) حيث يلاحظ زيادة سرعة القطع لمادة البولي مثيل ميثاكراليت لتصل إلى (27m/min) عند سمك (1mm) ثم تقل تدريجياً لتصل إلى (1m/min) عند سمك (4mm) مما يظهر وبوضوح إن زيادة السمك في مادة PMMA يؤدي إلى تقليل السرعة قياساً إلى بقية المواد الأخرى المستخدمة كما في الشكل (6) .

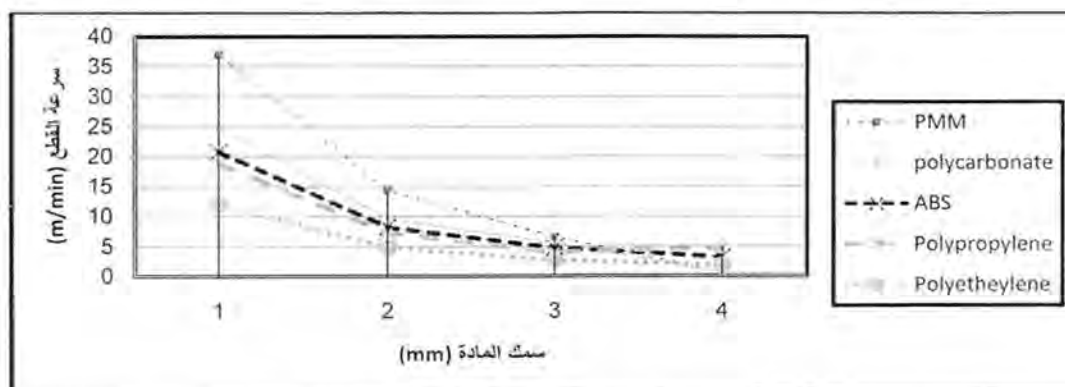


الشكل 6- سرعة القطع كدالة لسمك بعض مواد البوليمر ،قدرة الليزر (300Watt) وبقعة ليزرية (0.05cm).

3- من الشكل (7) تم مقارنة النتائج المستحصلة نظرياً مع القيم العملية في المصدر [13] عند قدرة ليزرية (400W) وسمك كل لوح من مواد البوليمر المستخدم (3.175mm) وكانت نسبة الخطأ في



المادتين (Polystyrene&Polycarbonate) لأتزيد على (0.1m/min) وفي مادة ABS لأتزيد على (0.2 m/min) وتتطابق النتائج مع مادة (Polystyrene & PMMA).



الشكل-7: سرعة القطع كدالة لسمك بعض مواد البوليمر. قدرة الليزر (400W) وبقعة ليزرية (cm) (0.05)

4- تحديد قيمة ثابت القطع ( $\delta$ ) من المعادلة (8) لجميع مواد البوليمر المستخدم ومقارنتها بأحد المواد المعدنية (الالمنيوم) وكما مبين بالجدول (2) ويلاحظ فيه ان ثابت القطع لمادة الالمنيوم اكبر بكثير مما هو عليه في مواد البوليمر اي ان سرعة القطع لمادة البوليمر تكون اكبر باضعاف مما هو عليه في المواد المعدنية .

جدول -2: ثابت القطع الليزري لبعض المواد .

Materials	AL	ABS	PMM A	PVC	Polystyrene	Polypropylene
(J/mm <sup>2</sup> )	14	2.3	2.5	2.0	2.5	3.0

5- إيجاد ثابت القطع لمادة الزجاج نوع (K-7) وكانت ( $20\text{J/mm}^2$ ) مما يدل بان قطع المواد الزجاجية يحتاج لقدرة ليزرية تتجاوز (1000W) حيث تكون سرعة القطع اقل بكثير مما هي عليه في مواد البوليمر والمواد المعدنية .

ومما سبق يمكن أن نستنتج ما يلي :

1- يلاحظ من (الشكل 5) ان زيادة سمك المادة بمقداري (0.1cm) يؤدي إلى نقصان كبير بسرعة القطع الليزري لذا لا يمكن قطع تلك المواد بسمك يتجاوز (1cm) وخاصة في مادتي (PMMA, Polycarbonate) إلا بزيادة للقدرة الليزرية إلى ما لا يقل عن (500W).

احمد

- 2- زيادة سرعة القطع يتطلب قدرة عالية شرط توفر عملية نفث الغاز لطرد الغازات المتبخرة .
- 3- إن سلوك التناسب بين سرعة القطع وسمك المادة يكاد يكون متشابه في كل من المواد ( ABS, Polystyrene Polypropylene and Polyethylene ) كما يلاحظ من الشكل (5,6) مما يدل إن السلوك الحراري لتلك المواد يكاد يكون متشابه وتختلف في مادة البولي مثيل ميثاكراليت .
- 4- إن سرعة القطع في جميع المواد تعتمد على عامل اساسي اخر ويمثل المعاملات الحرارية للمادة لذا يتطلب دراية السلوك الحراري لها مما يتطلب تسخين مادة الزجاج الى درجة حرارة لا تقل عن (500K) قبل إجراء عملية القطع لعدم حدوث فرق في درجة الحرارة ضمن سطح العين في منطقة التأثير الحراري والمتمثل بالبقعة الليزرية وما يجاورها وذلك لاحتمالية حدوث اجهادات حرارية تؤدي الى تهشم المادة الزجاجية .

### المصادر

1. John. Ion,C., "Laser Processing of Engineering Materials", New York, (2008).
2. William ,M. Steen , "Laser Material Processing", Second Edition, NewYork(2010) .
3. Zhu He, "Latest progress of laser material machining", Optics, Mechanics & Electronics Information, pp.1-8,( 2005).
4. Krzysztof , Nowakowski,A., "Laser beam interaction with materials for micro scale applications" prentice Hall ,( 2005).
5. John Wiley, "Laser Physics ", Published simultaneously in Canada", (2010).
6. Emmelmann,c., "Introduction to industrial Laser Materials Processing ", Hamburg, ( 2009).
7. Caprino, G .and Tagliaferri , "int.j.mach.Tools Manufact " ,Vol.28 ,No4 , pp 398-389 Sp. 21, (1987).
8. Wilson, J. and Hawkes ,J.F.B. , "Lasers and Applications", prentice Hall , (1991).

9. Powell, J., Menzies, I.A., "Principles and Application of CO2 Laser cutting", proc 2nd conf on Materials Engineering, London U.K., pp206-213,(1985).
10. Markolf , H. Niemz , "Laser – Tissue Interactions Fundamentals and Applications" ,Third , Enlarged Edition,(2006).
11. Zain-ul Abdein, D., "Prediction of laser beam welding-induced distortions and residual stresses by numerical simulation for aeronautic application," Mater. Process. Techno., vol. 209, no. 6, pp. 2907–2917, (2009).
12. Kaplan, O .,Wangler and Schuocker ,D. , "Laser Cutting: Fundamentals of the Periodic Striations and Their on-Line Direction," Lasers in Engineering, Vol. 2, pp. 103-126(1997) .
13. Nadezhda M. , "Theoretical Models and Qualitative Interpretations of Fs Laser Material Processing", JLMN-Journal of Laser Micro/Nan engineering Vol. 2, No. 1,( 2007).

## تأثير مساحة المقطع للحزمة الالكترونية على قيم الزيغ اللوني والكروي لقاذف الكتروني

ندى عبد الفتاح محمد خطاب

قسم الفيزياء - كلية العلوم للبنات - جامعة بغداد

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/ 3 تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

## ABSTRACT

A theoretical study by using computer model is presented , by fitting an axial electrostatic potential distribution to a polynomial functions of fourth order from which the paraxial-ray equation is solved to obtain the trajectory of particles that satisfy the suggested potential function .

The distribution of the axial potential up or on the lens of length ( $L = 16\text{mm}$ ) has been carried out using laplace equation by using Finite element method. The results showed low value of spherical and chromatic aberrations comparing with other searches about 2.36 for spherical aberration and 0.53 of chromatic aberration at the area with values  $2\text{mm}^2$  which gives a good criteria .

## الخلاصة

تم في هذا البحث دراسة نظرية باستخدام برنامج حاسوبي ، بموائمة معادلة توزيع الجهد الألكتروستاتيكي المحوري على شكل دوال متعددة الحدود من الدرجة الرابعة ومن حل معادلة الشعاع المحوري لإيجاد مسار الجسيمات والذي يحقق معادلة الجهد المفروضة. تم حساب توزيع الجهد المحوري على عدسة طولها ( $L=16\text{mm}$ ) من حل معادلة لابلاس باستخدام طريقة العناصر المحددة ، بينت النتائج قيم قليلة لمعاملات الزيغ الكروي واللوني حيث كانت بحدود 2.36 للزيغ الكروي و 0.53 للزيغ اللوني عند المساحة  $2\text{mm}^2$  وهذا يعطي مؤشر جيد.

## المقدمة

يعتبر علم البصريات الالكترونية احد فروع الفيزياء التي تعمل مع حركة الجسيمات المشحونة في المجالين الكهربائي والمغناطيسي ، تستخدم العدسات الالكترونية على نطاق واسع في تطبيقات البصريات الالكترونية ، يعد موضوع البصريات الالكترونية موضوعا حديثا نسبيا حيث ان اول من اثبت امكانية تكوين صورة بوساطة الالكترونات هو H. Bush عام 1926 [1] ، ان اي مجال كهروستاتيكي متماثل محوريا يمثل عدسة كهروستاتيكية الذي ينتج بوساطة نظام من الاقطاب وان لكل قطب جهدا ملائما فتكون العدسة الكهروستاتيكية نظاما ذا اقطاب متماثلة محوريا.

ندى

ان تقنية استخدام الحزم الالكترونية في التطبيقات العلمية قديمة حيث بدأت مطلع القرن السابق وارتبطت مع أنظمة البصرات الالكترونية . يعتبر القاذف الالكتروني المصدر الرئيسي للحزم الالكترونية والجزء المهم في اي نظام بصري الكتروني ، فالقاذف الالكتروني يتألف من مصدر لانبعاث الالكترونات الحرة والذي يمثل الكاثود واقطاب لتشكيل حزمة والسيطرة عليها وتركيزها وتعجيلها والتي تمثل الانود [2] .

في عام 1997 قام الباحثان Szwada & Yaneda بوضع نظرية جديدة لتحسين حسابات مسار الالكترون حيث تم حساب المسار بالابعاد الثلاثة وهي طريقة جديدة ودقيقة [3] .

### النظرية

تم استخدام متعددة الحدود من الدرجة الثالثة لتمثل توزيع الجهد المحوري  $U(z)$  للعدسة على المحور البصري  $z$  والتي تحقق الشروط الابتدائية الآتية :

$$U(0) = A$$

$$U(L/2) = B$$

$$U(L) = A$$

$$U(0)=0$$

$$U(L)=0$$

والتي اعطت معادلة توزيع المحوري للعدسة كما يلي :

$$U(z) = A + \frac{16(B-A)}{L^2} Z^2 - \frac{32(B-A)}{L^3} Z^3 + \frac{16(B-A)}{L^4} Z^4 \quad \text{-----(1)}$$

تعوض هذه الشروط في متعددة الحدود نحصل على دالة تعبر عن توزيع الجهد المحوري للعدسة حيث ان  $(z)$  هو المحور البصري للعدسة ،  $L$  هو طول العدسة ، المؤثر  $A$  هو قيمة الجهد عند بداية العدسة  $(0)$  ونهايتها ،  $B$  قيمة الجهد عند منتصف العدسة  $(L/2)$  و  $U(0)=0$  ، للحصول على الخواص البصرية للعدسة تم حل معادلة الشعاع المحوري (Paraxial -ray equation) الآتية (2):

$$\frac{\partial^2 r}{\partial z^2} + \frac{U'(z)}{2U(z)} \frac{\partial r}{\partial z} + \frac{U''(z)}{4U(z)} r = 0 \quad \text{----- (2)}$$

ان المعادلة (2) تصف مسار الجسيمات المشحونة في المجال الكهروستاتيكي المتماثل دورانيا وهي معادلة تفاضلية متجانسة خطية من الدرجة الثانية والتي يمكن استخدامها لكل انواع الجسيمات



المشحونة وذلك لان نسبة شحنة الالكترون الى كتلته ( $q/m$ ) لا تظهر في هذه المعادلة [4] وهذا يعني ان الجسيمات ذات الشحنة المختلفة تتأثر في نفس النقطة ولكنها تصل في اوقات مختلفة [5] كذلك تمتاز المعادلة (2) بانها متجانسة بالنسبة لـ  $r, z$  وهذا يعني ان اي زيادة في ابعاد النظام ينتج عنها زيادة في ابعاد المسار اي ان شكل المعادلة لا يتغير .

يتم حساب الخواص البصرية للعدسة بعد حل معادلة الشعاع المحوري باستخدام طريقة رانج - كوتا من الدرجة السادسة ومعرفة توزيع الجهد المحوري ومشتقاته الاولى والثانية ولايجاد معامل الزيف الكروي  $Cs$  والزيغ اللوني  $Cc$  تم استخدام المعادلات الاتية [6] :

$$Cs_0 = \frac{U^{-1/2}(z_0)}{16r_0^4} \int_{z_0}^z \left[ \frac{5}{4} \left( \frac{U''(z)}{U(z)} \right)^2 + \frac{5}{24} \left( \frac{U'(z)}{U(z)} \right)^4 \right] r^4(z) + \frac{14}{3} \left( \frac{U'(z)}{U(z)} \right)^3 r'(z)r^3(z) - \frac{3}{2} \left( \frac{U'(z)}{U(z)} \right)^2 r'^2(z)r^2(z) \} U^{1/2}(z) dz \text{-----} [3]$$

$$Cc_0 = \frac{U^{1/2}(z_0)}{r_0^2} \int_{z_0}^z \left[ \frac{1}{2} \frac{U'(z)}{U(z)} r'(z)r(z) + \frac{U''(z)}{4U(z)} r^2(z) \right] U^{-1/2}(z) dz \text{-----} [4]$$

حيث ان  $Cs_0, Cc_0$  يمثلان معامل الزيف الكروي واللوني في جانب الجسم على التوالي.

### النتائج والمناقشة

تم دراسة توزيع الجهد المحوري وحساب الخواص البصرية كالبعد البؤري  $f$  ومعامل الزيف الكروي  $Cs$  ومعامل الزيف اللوني  $Cc$  . الشكل (1) يوضح توزيع الجهد المحوري لعدسة ثنائية القطب حيث يحتوي على قمة واحدة اعتمادا على فولتية القطب المركزي .

الشكل (2) يمثل مسار الحزمة الالكترونية والشكل (3و4) يمثل العلاقة بين معاملات الزيف الكروي واللوني مع المساحة ، تم اخذ قيم مختلفة للمساحة ابتداء بالقيم القليلة  $S=1mm^2$  ومن ثم الزيادة بهذه القيم ودراسة تأثير تغير المساحة في قيم الزيف العالية فقد تم التوصل إلى قيم مقبولة للزيغ الكروي واللوني عند  $S=2mm^2$  .

أفضل القيم التي حصلنا عليها عندما  $Cs/f = 2.36$  و  $Cc/f = 0.53$  وتعتبر هذه القيم جيدة مقارنة بالبحوث السابقة [4] .

ندى

ولحساب معاملات الزيغ الكروية واللونية تمت الاستعانة بالمعادلة (3) لحساب الزيغ الكروي والمعادلة (4) لحساب الزيغ اللوني والتي تم حلها باستخدام طريقة Simpson's rule .

الشكل (5,6) يبين العلاقة بين معامل الزيغ الكروي واللوني كدالة لنسب الجهود المعجلة  $V_i/V_o$  (حيث ان  $V_o$  هو الجهد في جانب الجسم و  $V_i$  هو الجهد في جانب الصورة) .

يوضح الجدول (1) قيم معامل الزيغ الكروي في جانب الصورة  $C_{si}$  ومعامل الزيغ اللوني في جانب الصورة  $C_{ci}$  نسبة الى البعد البؤري للعدسة حيث نلاحظ ان قيم الزيوغ الكروية واللونية مقبولة نسبياً، وهذا يرجع الى ان توزيع الجهد على الأقطاب وكذلك شكل العدسة يؤثر في شكل المسار وبدوره يؤثر في الخواص البصرية بأستخدام حلول معادلات لابلاس  $\nabla^2 U = 0$  حيث  $V$  يمثل الجهد الالكتروستاتيكي [7] .

#### لأستنتاجات

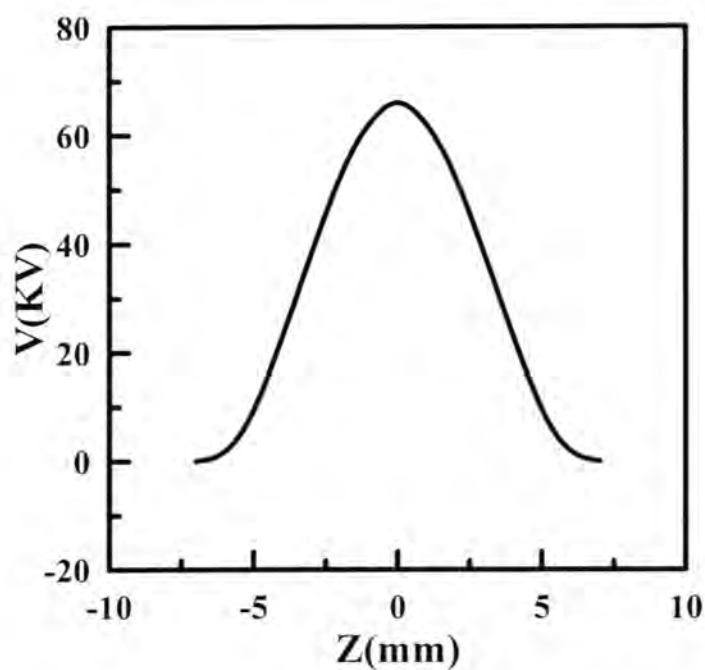
1 - وجد انه بزيادة قيم المساحة تقل قيم معاملات الزيوغ الكروية والنسبية واللونية النسبية حيث تم التوصل الى افضل قيم للزيوغ الكروية النسبية  $C_s/f = 2.36$  والزيوغ اللونية النسبية  $C_c/f = 0.53$  عندما  $S = 2 \text{ mm}^2$  - يقل الزيغ الكروي واللوني بزيادة نسب الجهد.

جدول 1- يبين تغير  $C_s/F$  و  $C_c/F$  مع المساحة

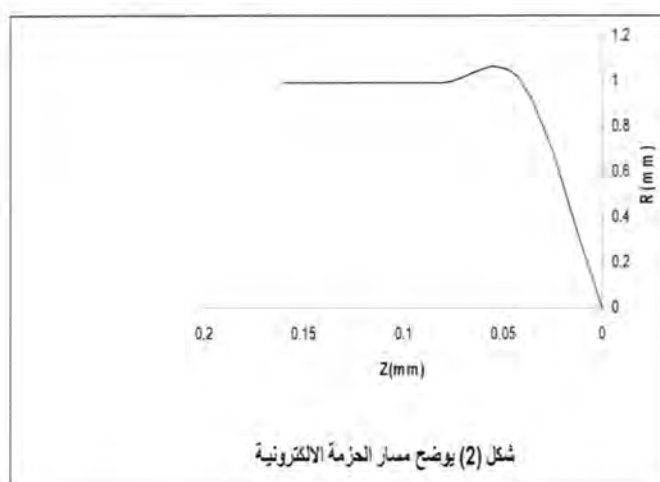
$S(\text{mm}^2)$	$C_s/F$	$C_c/F$
1	2.59	0.57
1.3	2.5	0.56
1.6	2.44	0.55
2	2.36	0.53

جدول 2- يبين مقارنة بين نتائج العمل الحالي والبحوث السابقة

$V_i/V_o$	E.Munro 1975 $C_s/F$	E.Munro 1975 $C_c/F$	العمل الحالي $C_s/F$	العمل الحالي $C_c/F$
10	14.23	5.8	4.7	3.31
15	9.9	6.18	2.1	1.56
20	8.4	6.6	1.4	1.1



شكل - 1: يوضح توزيع الجهد المحوري

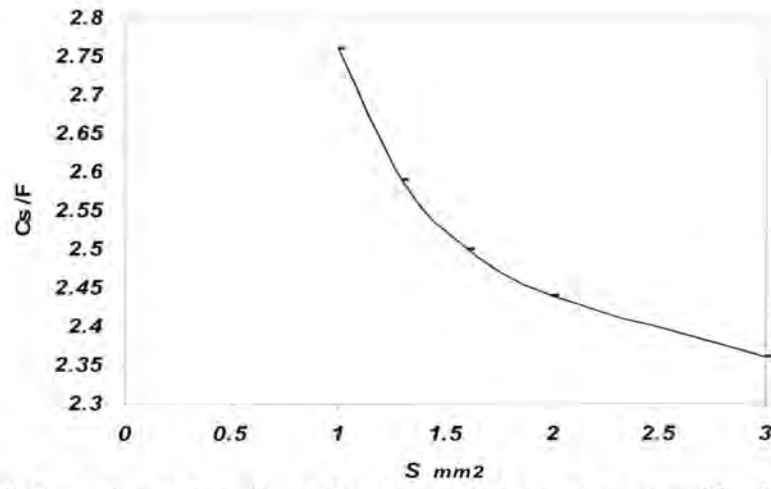


شكل (2) يوضح مسار الحزمة الإلكترونية

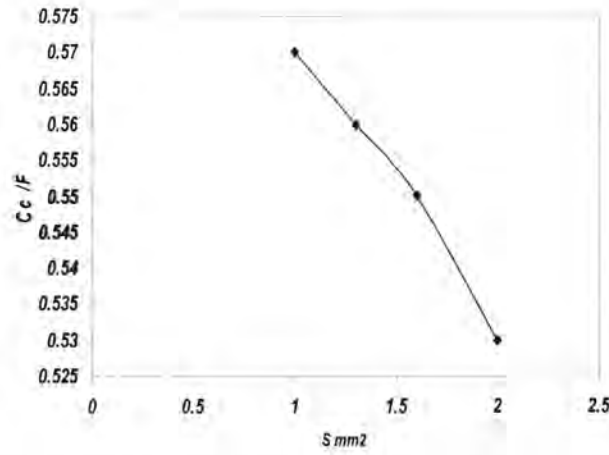
شكل - 2: يوضح مسار الحزمة الإلكترونية

تأثير مساحة المقطع للحزمة الالكترونية على قيم الزيغ اللوني والكروي لقاذف الكتروني

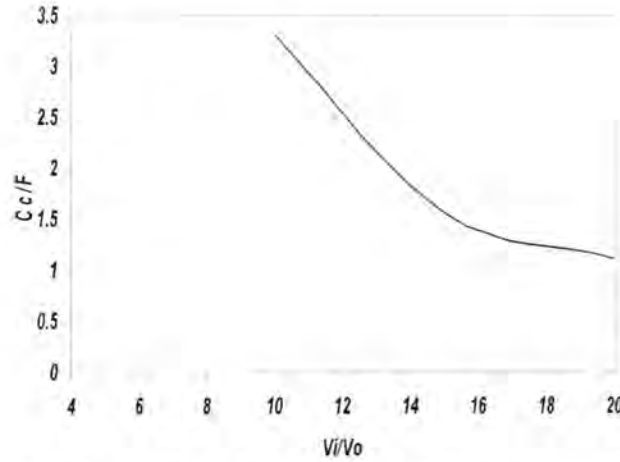
نظري



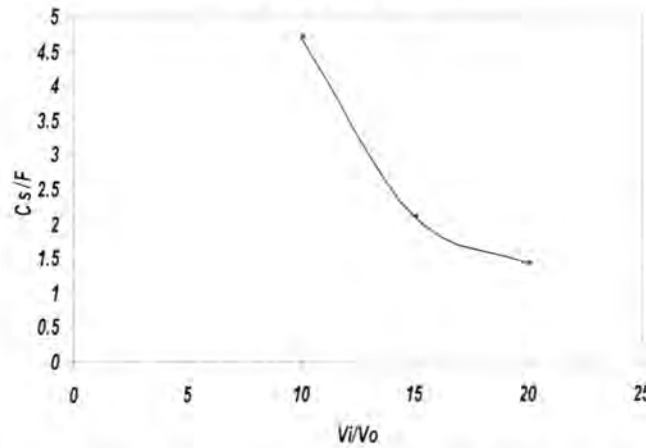
شكل -3: يوضح العلاقة بين معامل الزيغ الكروي نسبة الى البعد البؤري للعدسة Cs/f مع المساحة



شكل -4: يوضح العلاقة بين معامل الزيغ الكروي نسبة الى البعد البؤري للعدسة Cc/f مع المساحة



شكل - 5: يوضح العلاقة بين معامل الزيغ اللوني نسبة الى البعد البؤري للعدسة  $C_c/f_o$  مع نسب الجهد  $V_i/V_o$



شكل - 6: يوضح العلاقة بين معامل الزيغ الكروي نسبة الى البعد البؤري للعدسة  $C_s/f_o$  مع نسب الجهد  $V_i/V_o$

#### المصادر

1. Septier A. "Applied charged particles optics" , Part A (Acade Press:New York)(1980)
2. Sawada, T and Yoneda, K, "Improvement of the Accuracy of 3-D Electron Trajectory Calculation Using Both the Finite Element Method and Boundary Element Method IEEE Trans., Magn(1997).
3. Zhigararev A., "Electron optics and electron-beam devices" , (Mir publisher: Moscow)(1975)
4. Paszkowski B., "Electron Optics" , ( Iliff Books : London)(1968) .
5. EL-Karah A.B and EL-Kareh J.C. J,"Electron Beam,Lenses and Optics", Vol.I (Academic Press: New York and London) (1970) .



6. Kiss L. , "Computerized investigation of electrostatic lens potential distribution",12<sup>th</sup> IMACS World Congress, ed. R. Vieheretsky, Paris (1988)
7. Polyanin,A. D. Handbook of Linear Partical Differential Equations for Equations for Engineers and Scientists Boca Ration :Chapman&Hall/CRC Prees (2002).

## استكشاف الخواص البصرية لآغشية CuO المحضرة بطريقة الترسيب الكيميائي و تأثير تركيز المركب $CuCl_2$ عليها

عبد الخالق ايوب سليمان

جامعة الموصل-كلية العلوم-قسم الفيزياء

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/ 7

### ABSTRACT

A thin film of copper oxide was deposited on glass substrate using the chemical bath deposition method . The solution compositions are copper chloride and potassium hydroxide . The effect of the concentration of the copper clorid on the optical properties of the prepered thin films was studied . The rang of wavelength which is used in transmission and absorption measurements was in the range of (300-800 nm) from which the band gap of the copper oxid calculated and it was 1.7ev . The thickness of the films found to be with in the range of (10 $\mu$ m) .

### الخلاصة

تم ترسيب غشاء من شبه الموصل (CuO) بطريقة الترسيب الكيميائي على قواعد زجاجية من محلول يتضمن كلوريد النحاس وهيدروكسيد البوتاسيوم. ان الخواص البصرية من نفوذية وامتصاصية وفجوة الطاقة قد تم قياسها لهذه الاغشية لمدى من الاطوال الموجية يتراوح بين (300-800nm)، كما وتم دراسة تأثير تغير تركيز مادة ( $CuCl_2$ ) على الخواص البصرية لهذه الاغشية، حيث وجد ان هناك تغير وضع في الخواص البصرية لهذه الاغشية بتغير تراكيز المحاليل. ان اسماك هذه الاغشية حددت من خلال حساب فرق الوزن للقواعد الزجاجية قبل وبعد الترسيب والتي كانت بحدود الـ (10 $\mu$ m) كما ان فجوة الطاقة التي تم حسابها بحدود (1.7eV) .

### المقدمة

تعتبر طريقة الترسيب الكيميائي للآغشية من الطرق السهلة لبناء غشاء رقيق من أي شبه موصل وذلك باختيار التفاعل الكيميائي المناسب والنسب الملائمة للمحاليل المساهمة في التفاعل الكيميائي لانتاج اي غشاء رقيق (1) .

في هذا البحث ، تم استخدام طريقة الترسيب الكيميائي لتحضير آغشية CuO مع دراسة تأثير تغيير نسبة كلوريد النحاس مع بقاء كمية هيدروكسيد البوتاسيوم ثابتة في المحاليل المستخدمة ثم تدرس هذه المتغيرات على الخواص البصرية (1-5).

عبدالخالق

## المواد وطرائق العمل

لقد تم ترسيب غشاء من اوكسيد النحاس على قواعد زجاجية (سلايدات مختبرية) من نوع microscope slides cat.No.7101 وعند درجة حرارة الغرفة بطريقة الترسيب الكيميائي وذلك من خلال مزج محاليل مشبعة من كلوريد النحاس وهيدروكسيد البوتاسيوم (1) .



ان تهيئة القواعد الزجاجية للنماذج يتم من خلال سلسلة من عمليات التنظيف باستخدام مساحيق تنظيف متعددة وتغسل بعدها بالماء المقطر ثم تغسل بالميثانول الساخن للتخلص من المواد الدهنية العالقة بها ثم تغسل بالماء المقطر مرة ثانية وتترك لتجف باغماسها في الاسيتون.

توضع القواعد الزجاجية في بيكر حجم 100ml والذي يحتوي اصلا على 10ml من الماء المقطر . يضاف الى البيكر الذي يحتوي القواعد الزجاجية 20ml من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم والمتضمن 20ml من الماء المقطر مضاف اليه 1 gm من حبيبات هيدروكسيد البوتاسيوم ويرج البيكر ويترك المزيج لمدة 24 ساعة لكي يتجانس .

ثم يضاف الى البيكر الزجاجي 20ml من محلول كلوريد النحاس والذي يكون قد مر على مزجه 24 ساعة لكي يتجانس والمتضمن 20ml من الماء المقطر مضاف اليه 1gm من مسحوق كلوريد النحاس ويترك المزيج لمدة 24 ساعة ليتم تكوين راسب من اوكسيد النحاس.

تعاد العملية السابقة ولكن بتغيير وزن كلوريد النحاس المضاف الى 0.5gm و 0.35gm مع بقاء وزن هيدروكسيد البوتاسيوم 1gm . ولقياس سمك الغشاء تم وزن القواعد الزجاجية قبل الترسيب وبعده وحساب حجم القاعدة v من خلال المعادلة التالية :

$$V = m/\rho \quad \dots\dots\dots(1)$$

حيث ان m هي فرق الوزن قبل الترسيب وبعده

$\rho$  هي كثافة اوكسيد النحاس ومقاديرها 6.1g/cm<sup>3</sup>

ومن خلال المعادلة التالية تم حساب سمك غشاء اوكسيد الباريوم :

$$t = v/A \quad \dots\dots\dots(2)$$

حيث ان A المساحة السطحية للقواعد الزجاجية .

تم قياس الخصائص البصرية من نفوذية وانعكاسية لهذه الاغشية باستخدام جهاز (spectrophotometer 2000-721) ومن خلال هذه البيانات تم حساب معامل الامتصاص  $\alpha$  من خلال العلاقة التالية .

$$\alpha = 2.303 (A - A')/t \quad \dots\dots\dots(3)$$

حيث  $A'$  هي اقل قيمة للامتصاصية

ان فجوة الطاقة وجدت من خلال العلاقة بين معامل الامتصاص وطاقة الفوتون الساقط من خلال العلاقة التالية :

$$\alpha^2 = hv - E_g \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$\alpha = (hv - E_g)^{1/2} \quad \dots\dots\dots(5)$$

وعندما  $\alpha^2 = 0$  فان

$$E_g = hv \quad \dots\dots\dots(6)$$

### النتائج والمناقشة

نتائج البحث قامت على أساس استخدام التغيير في تركيز المركب  $CuCl_2$  وتأثيرها، وبعد إجراء القياسات بين الطول الموجي والنفوذية نلاحظ ان النفوذية تكون قليلة عند الأطوال الموجية القصيرة وحتى حوالي  $470 \mu m$  ثم تبدأ بالزيادة بصورة سريعة حتى تصل نسبة النفوذية إلى حوالي 90% . وكما نرى في الشكل (2) ومن مقارنة هذا الرسم ذي التركيز (1gm) والتركيز الاخرى ، نلاحظ أنه في التراكيز الكبيرة لا يعمل كفلتر جيد .

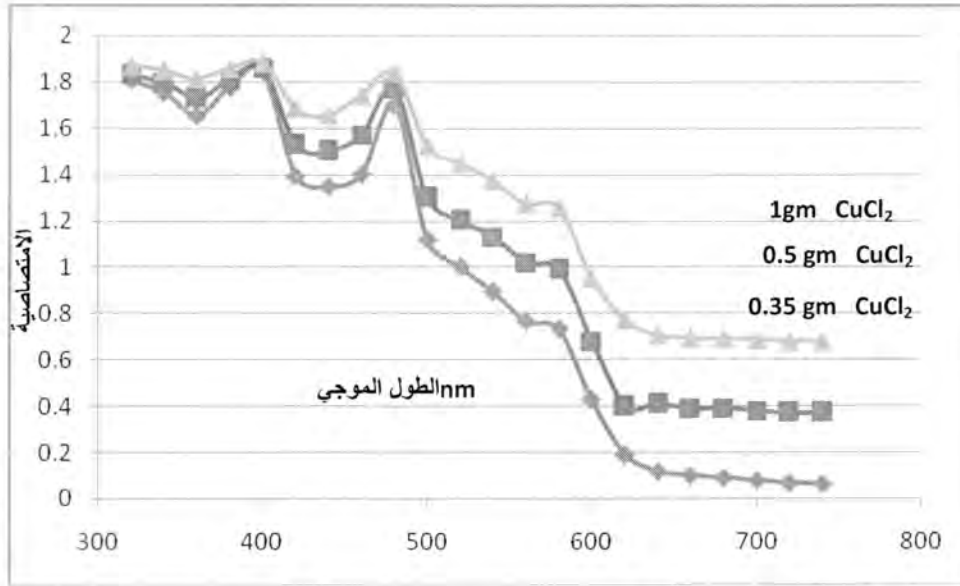
ونلاحظ نفس الظاهرة في حالة الامتصاصية مع الطول الموجي كما في الشكل (1) حيث يعمل هذا الغشاء على امتصاص الموجات القصيرة ويسمح للموجات الطويلة بالمرور .

ومن الواضح جداً ان الامتصاصية والنفوذية تعطينا نتائج تكاد تكون متطابقة في الأطوال الموجية القصيرة والكبيرة وكما في الشكلين (1) و (2) نفس الحال الذي لاحظناه من ناحية التركيز . نلاحظ بان الامتصاصية أقل في التراكيز العالية .

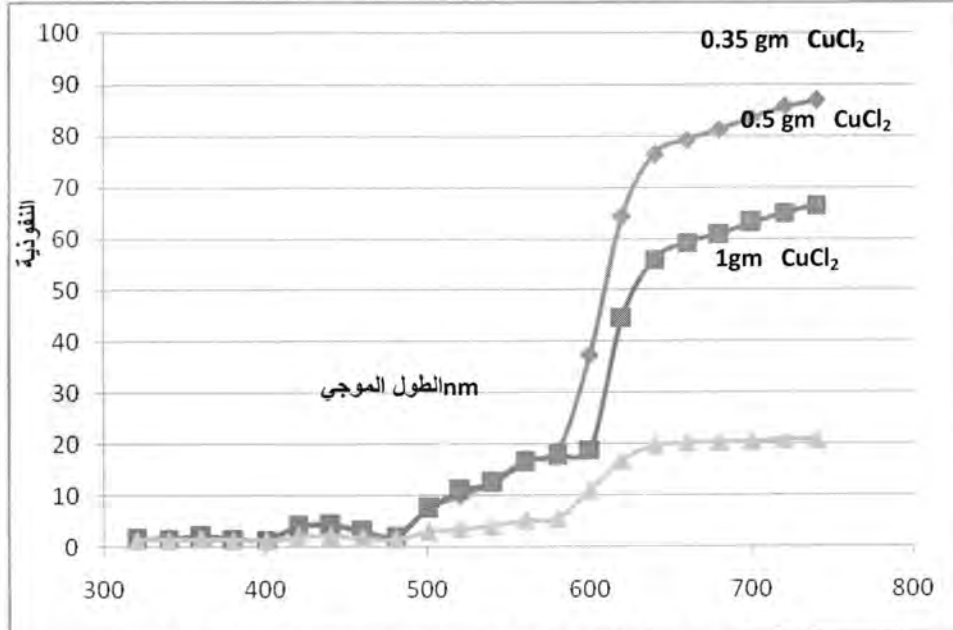
أن سلوك نماذجنا تتصرف كأنها تمثل مركبات هالوجينية ولكن هناك اختلاف واضح في الأطوال الموجية التي تمتص والتي تنفذ ويعود ذلك إلى اختلاف الامتصاص لجزيئات كل من  $CuCl_2$  .

ان فجوة الطاقة لاغشية اوكسيد النحاس المحضر بطريقة الترسيب الكيميائي هي بحدود (1.6-1.7) eV وهي مساوية لما تم تحديده في البحوث العالمية وكما مبين في الشكل (3) .

عبدالخالق

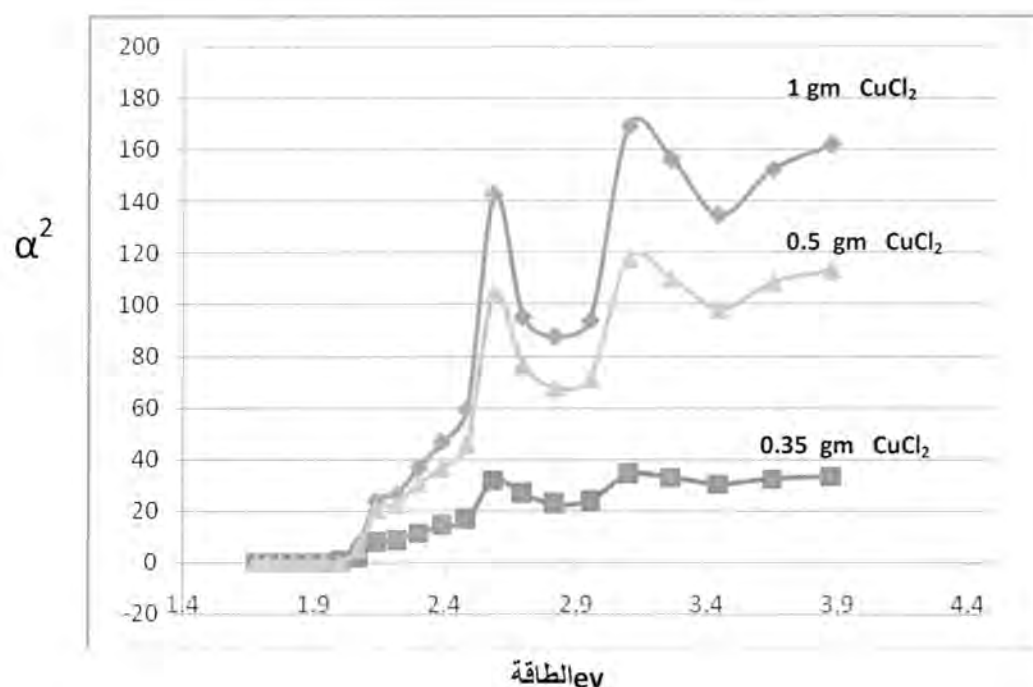


شكل -1: مقارنة الامتصاصية لآغشية اوكسيد النحاس CuO وبالتراكيز  
( $\text{CuCl}_2=0.5 \text{ gm}$  ,  $\text{KOH} = 1 \text{ gm}$ ) و ( $\text{CuCl}_2=0.35 \text{ gm}$  ,  $\text{KOH} = 1 \text{ gm}$ )  
و ( $\text{CuCl}_2=1 \text{ gm}$  ,  $\text{KOH} = 1 \text{ gm}$ )



شكل -2: مقارنة الامتصاصية لآغشية اوكسيد النحاس CuO وبالتراكيز  
( $\text{CuCl}_2=0.5 \text{ gm}$  ,  $\text{KOH} = 1 \text{ gm}$ ) و ( $\text{CuCl}_2=0.35 \text{ gm}$  ,  $\text{KOH} = 1 \text{ gm}$ )  
و ( $\text{CuCl}_2=1 \text{ gm}$  ,  $\text{KOH} = 1 \text{ gm}$ )





شكل 3- معامل الامتصاص للتراكيز (  $\text{CuCl}_2=0.35 \text{ gm}$  ,  $\text{KoH} = 1\text{gm}$  ) و (  $\text{CuCl}_2=0.5$  )  $\text{gm}$  ,  $\text{KoH} = 1\text{gm}$  ) و (  $\text{CuCl}_2=1 \text{ gm}$  ,  $\text{KoH} = 1\text{gm}$  )

تم تحضير اغشية  $\text{CuO}$  باستخدام الترسيب الكيميائي وتغيير تركيز  $\text{CuCl}_2$  على الخواص البصرية ومن ثم تم استنتاج انه كلما زاد تركيز  $\text{CuCl}_2$  ادى ذلك الى زيادة نفوذية الاطوال الموجية بين (300-800nm) وان طاقة الفجوة لاغشية  $\text{CuO}$  زادت من (1.6-1.7 eV) .

#### المصادر

1. Ezema F. I. and Ugwuoke P.E. "Investigation of Optical Properties of Barium Oxide ( $\text{BaO}$ ) Thin Films Deposited by Chemical Bath Technique", The Pacific Journal of Science and Technology Volume 5. Number 1, (2003) .
2. D.D.O. Eya<sup>1</sup>, A.J. Ekpunobi<sup>2</sup>, and C.E. Okeke<sup>3</sup>, FAS " Optical Properties of Cu porous Oxide Thin Film Prepared by Chemical Bath Deposition Technique ", The Pacific Journal of Science and Technology Volume 6. Number 2. November (2005) .

عبدالخالق

3. Wenzhong Wang, Oomman K. Varghese, Chuanmin Ruan, Maggie Paulose, and Craig A. Grimesa " Synthesis of CuO and Cu<sub>2</sub>O crystalline nanowires using Cu(OH)<sub>2</sub> nanowire templates" Materials Research Society J. Mater. Res., Vol. 18, No. (12) (2003) .
4. P. SAMARASEKARA\*, M A K MALLIKA ARACHCHI, A S ABEYDEERA, C A N FERNANDO, A S DISANAYAKE and R M G RAJAPAKSE "Photocurrent enhancement of d.c. sputtered copper oxide thin films" . Indian Academy of Sciences Bull. Mater. Sci., Vol. 28, No. (5), pp: 483–486 , (2005)
- 5- Zhanhu Guo \*, Xiaofeng Liang, Tony Pereira, Roberto Scaffaro, H. Thomas Hahn "CuO nanoparticle filled vinyl-ester resin nanocomposites: Fabrication, characterization and property analysis "Composites Science and Technology 67 , :2036–2044 , (2007).

## دراسة التباين الزمني للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في العراق

وليد اسمير جاسم الرجبو \* وشيماء حسين درويش \*\*

\* كلية التربية - قسم الفيزياء - جامعة الموصل

\*\* المديرية العامة لتربية نينوى

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/28

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

## ABSTRACT

This research include the study of the temporal variation of the total solar radiation falling on horizontal surface at six stations spread over the whole of Iraq which are mosul , sulaimaniya , kirkuk , baghdad , rutba and nasiriya. Figures concerning the temporal variation of the total solar radiation were found during the winter , spring , summer , and autumn months in these stations. The maximum mean seasonally values of total solar radiation during winter , spring , summer , and autumn seasons were in nasiriya , rutba , sulaimaniya and rutba stations respectively. Three dimension figures represent the monthly values of total solar radiation as a function of the months and years were found for all stations.

A highly positive linear regression equations were found between the mean monthly values of total solar radiation and the mean monthly values of sunshine , mean air temperature , evaporation while highly negative linear regression equations were found between solar radiation and relative humidity , cloudiness and rainfall in all stations. A multiple regression equations were found between the mean monthly values of total solar radiation and the mean monthly values of all climatic elements in all stations and the correlation coefficient of these equations were ranged between (0.99-1.0).

## الخلاصة

يتضمن هذا البحث دراسة التباين الزمني للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في ستة محطات موزعة في عموم العراق وهي الموصل ، السليمانية ، كركوك ، بغداد ، الرطبة والناصرية . تم إيجاد مخططات التباين الزمني للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الشتاء والربيع والصيف والخريف في هذه المحطات . أعلى القيم للمعدلات الفصلية للإشعاع الشمسي الكلي خلال فصل الشتاء والربيع والصيف والخريف كانت في محطات الناصرية ، الرطبة ، السليمانية على التوالي في حين ان محطة الموصل اظهرت أوطأ المعدلات . المعدلات السنوية للإشعاع الشمسي الكلي كانت (3959 ، 4336 ، 4927 ، 4912 ، 4934 ، 4707)  $W.d/m^2$  في محطات الموصل ، كركوك ، السليمانية ، بغداد ، الرطبة ، الناصرية على التوالي . تم إيجاد مخططات ثلاثية الأبعاد للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي

الكلي كدالة لكل من تسلسل الشهر والسنة للمحطات كافة. تم الحصول على علاقات ارتباط خطية طردية قوية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لكل من السطوع الشمسي ، معدل درجة حرارة الهواء ، التبخر ، في حين كانت علاقات الارتباط خطية عكسية قوية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي وكل من الرطوبة النسبية والغيمية والأمطار للمحطات كافة. تم إيجاد علاقات ارتباط متعدد بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لكل من المتغيرات المناخية في جميع المحطات والتي اعطت معامل ارتباط شبه تام تراوح بين (0.99-1.0).

### المقدمة

إن معرفة خواص الإشعاع الشمسي وتحديد قيمته وتوزيعه الزمني والمكاني مهمة في العديد من نماذج الإشعاع الشمسي المستخدمة محليا وعالميا [1].

يتأثر الإشعاع الشمسي بعدة عوامل أهمها اختلاف معامل الانعكاس الأرضي من مكان إلى آخر ومن وقت لآخر ، واختلاف البعد بين الأرض والشمس حسب الفصول ، واختلاف طول الليل والنهار في العروض المختلفة وفي الفصول المختلفة ، واختلاف زاوية سقوط أشعة الشمس على سطح الأرض فضلا عن مدى تواجد الغيوم والعوالق الجوية [2].

العديد من الباحثون قاموا بدراسة التباين الزمني في مناطق مختلفة من العالم . الباحثان (Falodun and Ogolo) [3] سنة 2007 قاما بدراسة التباين اليومي والفصلي للإشعاع الشمسي الكلي في مدينة Akure جنوب غرب نيجيريا ووجدوا ان التباين الفصلي للإشعاع الشمسي الكلي يعزى الى نضوب قسم كبير من الإشعاع الشمسي بواسطة الغيوم خلال الفصول الرطبة .

الباحثان (Bishop and Rossow) [4] سنة 1991 قاما بدراسة التباين الزمني والمكاني للإشعاع الشمسي من خلال صور الأقمار الصناعية لوكالة ناسا الفضائية لمناطق مختلفة من سطح الأرض ، ووجدوا ان هنالك دقة عالية في حساب القيم اليومية والمعدلات الشهرية والفصلية للإشعاع الشمسي من خلال صور الأقمار الصناعية .

Hassan [5] سنة 1991 قام بدراسة التباين اليومي لمركبات الإشعاع الشمسي في مدينة حلوان بمصر ، ووجد ان للغيوم والملوثات الصناعية تأثير كبير على تباين مركبات الإشعاع الشمسي وبالأخص خلال فصل الربيع مقارنة بالفصول الأخرى .

كما قام العديد من الباحثين بدراسة علاقات الارتباط البسيط والمتعدد بين الإشعاع الشمسي الكلي ومختلف العناصر المناخية منهم (Julia) [6] ، (Ertekin and Evrendilek) [7] ، الرجيو ولمياء [8]

في العراق قام العديد من الباحثين توزيع الإشعاع الشمسي الكلي منهم عقراوي [9] ، رسول [10] ، بشير [11] ، الرجيو ومصطفى [12] .

- يتضمن هذا البحث دراسة التباين الزماني والمكاني للإشعاع الشمسي الكلي في العراق والذي يهدف الى:
1. دراسة وتحليل بيانات الإشعاع الشمسي الساقط على السطح الأفقي في محطات (الموصل ، السليمانية ، كركوك ، بغداد ، الرطبة ، الناصرية) المنتشرة في عموم العراق .
  2. دراسة علاقات الارتباط البسيط والمتعدد بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي ومختلف العناصر المناخية (السطوع الشمسي ، درجات الحرارة ، الرطوبة النسبية ، الغيمية ، الأمطار ، التبخر) للمحطات كافة .

### تحليل البيانات

1. بالاستعانة بالهيئة العامة للأبنواء الجوية والرصد الزلزالي في بغداد تم إيجاد المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في محطات الموصل للفترة (1980-2008) ، السليمانية للفترة (1979-1988) ، كركوك للفترة (1971-1990) ، بغداد للفترة (1980-2000) ، الرطبة للفترة (1974-1991) والناصرية للفترة (1971-1990) وذلك حسب توفر البيانات لدى الهيئة.
- ان تباين هذه الفترات كان بسبب ان فترة افتتاح هذه المحطات كانت متباينة اضافة الى توقف اجهزة قياس الإشعاع الشمسي عن العمل في معظم هذه المحطات لفترات طويلة.
2. تم إيجاد المعدلات الشهرية للعناصر الجوية التالية (السطوع الشمسي ، معدل درجات حرارة الهواء ، الرطوبة النسبية ، التبخر ، الأمطار ، الغيمية) للسلسلة الزمنية (1980-2008) لمحطات (الموصل ، السليمانية ، كركوك ، بغداد ، الرطبة ، الناصرية). الملاحق (1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 6) توضح المعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة والمحطات كافة.
3. تم رسم هستوكرامات المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في المحطات كافة ، كما تم إيجاد المعدلات الفصلية والسوية للإشعاع الشمسي الكلي في هذه المحطات. تم ايضا رسم مخططات ثلاثية الأبعاد لقيم المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي في هذه المحطات كدالة لكل من تسلسل الشهر والسنة بموجب برنامج ماتلاب.
4. تم إيجاد علاقات الارتباط البسيط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لكل من: ساعات سطوع الشمس ، معدل درجة حرارة الهواء ، الرطوبة النسبية ، الغيمية ، الأمطار ، التبخر للمحطات كافة.
- كما تم إيجاد علاقات الارتباط المتعدد بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لجميع العناصر المناخية في المحطات كافة.
- الجدول التالي يوضح خطوط الطول والعرض والارتفاع لجميع المحطات



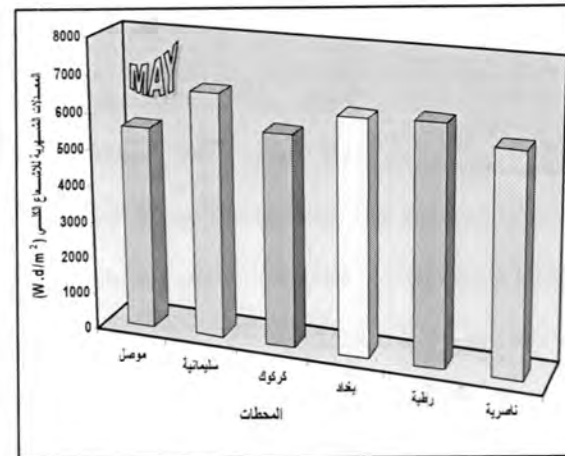
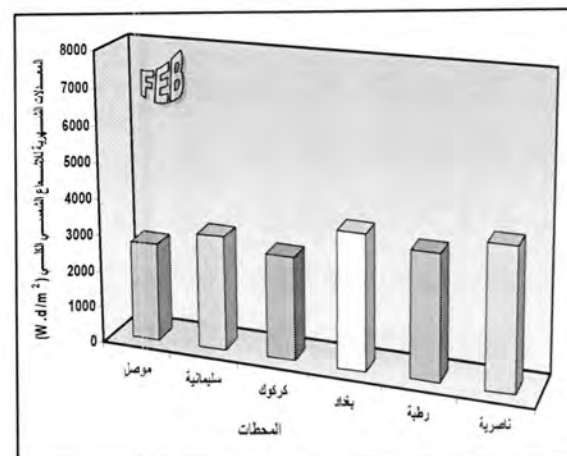
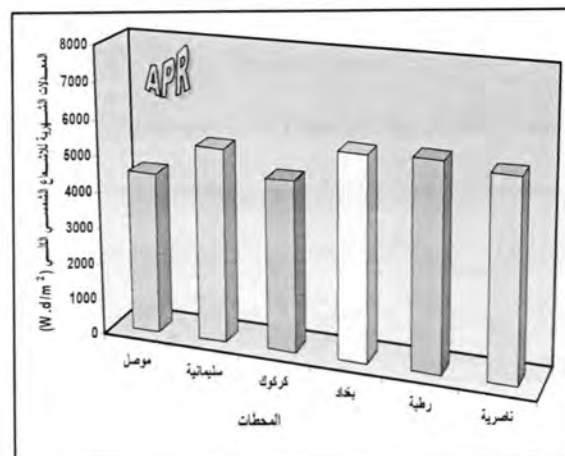
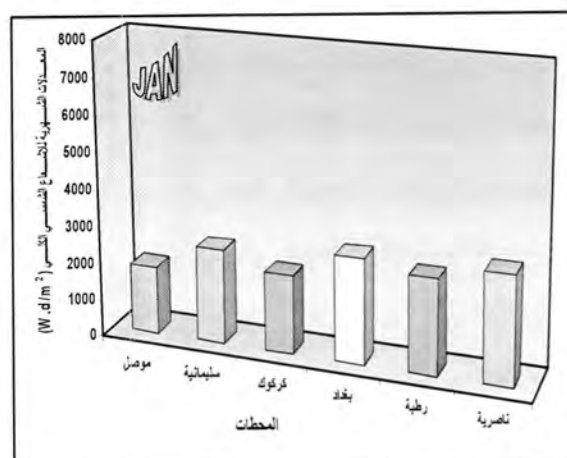
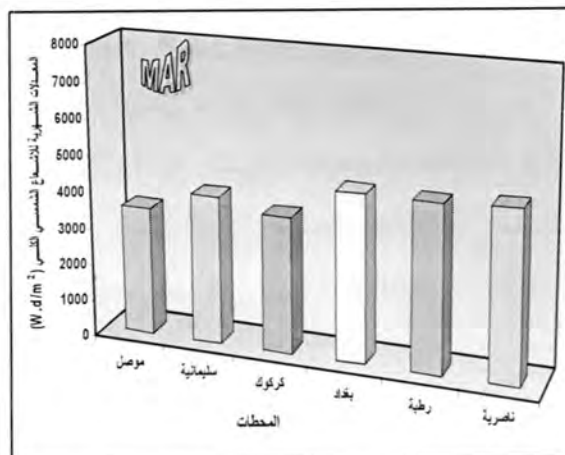
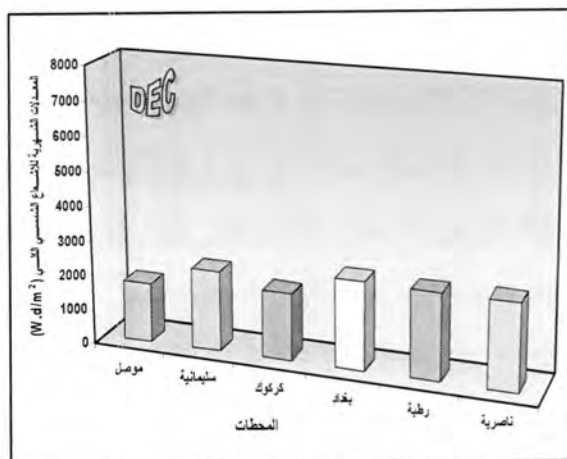
جدول 1- يوضح خطوط الطول والعرض والارتفاع لجميع المحطات

الارتفاع (m)	خطوط الطول	خطوط العرض	المحطات
223	43° 09'	36° 19'	Mosul
883	45° 25'	35° 33'	Sulaimaniya
331	44° 25'	35° 28'	Kirkuk
32	44° 24'	33° 18'	Baghdad
630	40° 17'	33° 02'	Rutba
3	46° 14'	31° 05'	Nasiriya

### النتائج والمناقشة

1. دراسة المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في المحطات كافة:  
 المخطط (1) يوضح المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الشتاء في محطات الموصل ، السليمانية ، كركوك ، بغداد ، الرطبة ، الناصرية .  
 يتضح من المخطط ان محطات الناصرية ، بغداد والرطبة اظهرت اعلى القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الشتاء مقارنة بالمحطات الأخرى حيث ان هذه المحطات تقع في وسط وجنوب العراق وخطوط عرضها اقل مما في محطات الموصل وكركوك (لاحظ جدول 1) وكما هو معلوم ان قيم الإشعاع تزداد كلما اقتربنا من خط الاستواء ، اضافة الى ان زيادة عدد ساعات سطوع الشمس في هذه المحطات مقارنة بالمحطات الأخرى كان سبب في ذلك. في حين ان محطتا الموصل وكركوك اظهرتا اقل القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي مقارنة بالمحطات الأخرى بسبب قلة عدد ساعات سطوع الشمس وزيادة الغيمية في هذه المحطات مقارنة بالمحطات الأخرى.  
 المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الشتاء كانت أوطأ مما في باقي الفصول وذلك اعتمادا على زاوية سقوط أشعة الشمس التي تكون اكثر ميلانا خلال أشهر الشتاء وكذلك تبعا للظروف الجوية السائدة خلال أشهر الشتاء كالرطوبة العالية وزيادة تواجد الغيوم وقلة عدد ساعات السطوع مقارنة بباقي أشهر السنة.

والمخطط (2) يوضح المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي خلال أشهر الربيع في المحطات كافة.



مخطط -1: المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الشتاء للمحطات كافة

مخطط -2: المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الربيع للمحطات كافة

يلاحظ من المخطط (2) ان اعلی القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي خلال شهر آذار كانت في محطة بغداد إذ بلغت ( $4570 \text{ W.d/m}^2$ ) ، في شهر نيسان كانت اعلی المعدلات في محطة

الرطوبة إذ بلغت  $(5662 \text{ W.d/m}^2)$  ، أما في شهر ايار فأعلى المعدلات كانت في محطة السليمانية إذ بلغت  $(6634 \text{ W.d/m}^2)$  .

اوطا القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي في أشهر الربيع كانت في محطة الموصل إذ بلغت  $(3500, 4478, 5528 \text{ W.d/m}^2)$  خلال أشهر آذار ، نيسان ، ايار على التوالي .

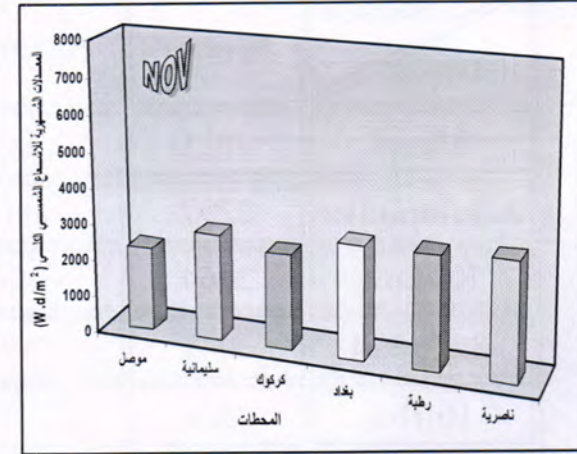
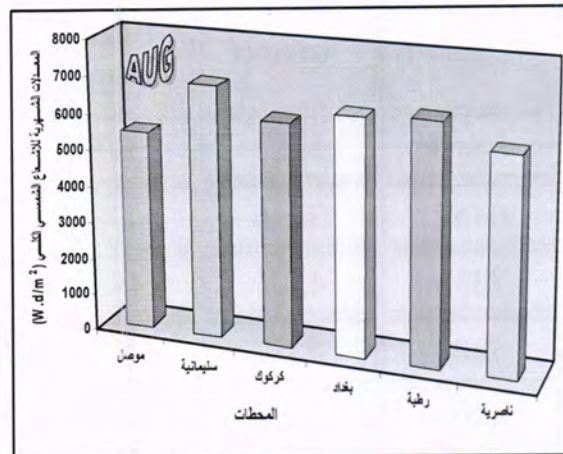
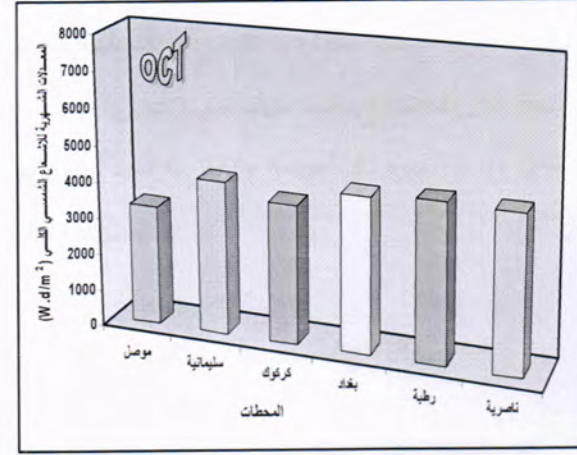
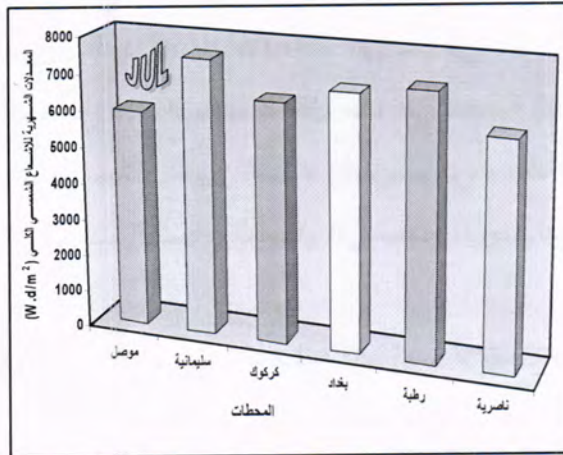
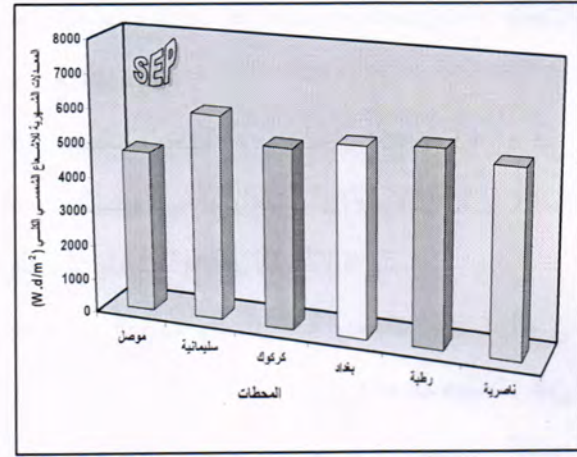
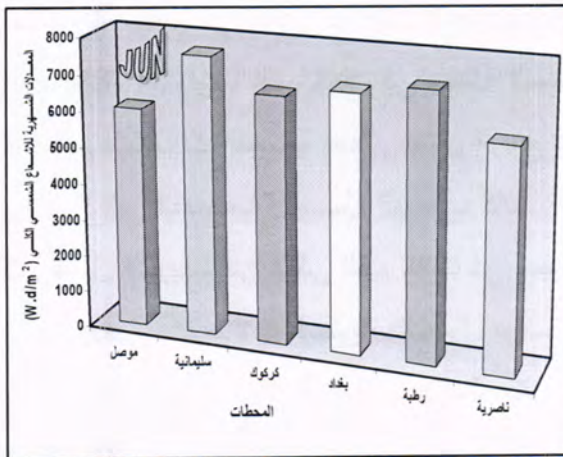
والمخطط (3) يوضح المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي خلال أشهر الصيف للمحطات كافة. يوضح المخطط ان اعلى القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي خلال أشهر الصيف كانت في محطة السليمانية تليها محطة الرطوبة ثم بغداد ، إذ بلغت قيم هذه المعدلات في محطة السليمانية  $(7637, 7531, 6881 \text{ W.d/m}^2)$  لأشهر حزيران ، تموز ، آب على التوالي .

وأما اوطا القيم لهذه المعدلات كانت في محطة الموصل أيضا خلال جميع أشهر الصيف إذ بلغت  $(6027, 5960, 5444 \text{ W.d/m}^2)$  لأشهر حزيران ، تموز ، آب على التوالي .

ارتفاع قيم معدلات الإشعاع الشمسي في مدينة السليمانية خلال أشهر الصيف يعود الى ارتفاع هذه المحطة العالي الذي يبلغ 883 متر مقارنة بالمحطات الاخرى (لاحظ جدول 1) اضافة الى ارتفاع عامل الصفاء الجوي في هذه المحطة مقارنة بالمحطات الأخرى . أما انخفاض معدلات الإشعاع الشمسي خلال أشهر الصيف في محطة الناصرية فيعود الى كثرة العواصف الترابية التي تسود خلال هذه الأشهر والتي تؤدي الى نضوب جزء كبير من الإشعاع الشمسي. المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الصيف تمثل اقصى القيم مقارنة بباقي أشهر السنة بسبب زيادة ارتفاع زوايا الشمس خلال أشهر الصيف وهذا بدوره يؤثر على زيادة كميات الإشعاع الواصل الى سطح الأرض ، كما ان قلة تواجد الغيوم وارتفاع عدد ساعات سطوع الشمس المقاسة خلال تلك الأشهر تؤثر في ذلك.

المخطط (4) يوضح المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الخريف للمحطات كافة . المخطط يوضح ان اعلى القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي خلال شهر ايلول كانت في محطة السليمانية إذ بلغت  $(5955 \text{ W.d/m}^2)$  ، في حين ان اوطا القيم كانت في الموصل إذ بلغت  $(4684 \text{ W.d/m}^2)$  . خلال شهر تشرين الأول اظهرت محطات السليمانية ، الرطوبة ، بغداد ، الناصرية قيما متقاربة للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي تراوحت بين  $(4182-4339 \text{ W.d/m}^2)$  . شهر تشرين الثاني اظهر أيضا قيما متقاربة للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي في محطات السليمانية ، بغداد ، الرطوبة ، الناصرية تراوحت بين  $(2916-3232 \text{ W.d/m}^2)$  . اوطا القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي خلال شهري تشرين الأول والثاني كان في محطة الموصل إذ بلغ  $(3279, 2301 \text{ W.d/m}^2)$  على التوالي.





مخطط -3: المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الصيف للمحطات كافة

مخطط -4: المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الخريف للمحطات كافة

2. دراسة المعدلات الفصلية والسنوية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في المحطات كافة:

الجدول (2) يوضح المعدلات الفصلية والسنوية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في المحطات كافة.

يلاحظ من الجدول ان أعلى القيم لهذه المعدلات خلال فصل الشتاء كانت في محطة الناصرية اذ بلغت  $3158 \text{ W.d/m}^2$  وأوطأ القيم كانت في محطة الموصل لجميع الفصول. أعلى القيم للمعدلات الفصلية خلال فصل الربيع كانت في محطة الرطبة اذ بلغت  $5543 \text{ W.d/m}^2$  في حين ان أعلى القيم خلال فصل الصيف كانت في محطة السليمانية اذ بلغت  $7350 \text{ W.d/m}^2$  ، اما خلال فصل الخريف فان أعلى القيم كانت في محطة الرطبة اذ بلغت  $4371 \text{ W.d/m}^2$  . اما فيما يتعلق بالمعدلات السنوية فالجدول يوضح ان محطات الرطبة والسليمانية وبغداد اعطت أعلى القيم للمعدلات السنوية للإشعاع الشمسي ولم يتجاوز الفرق في المعدلات السنوية بين هذه المحطات عن  $(22 \text{ W.d/m}^2)$  ، اما محطة الموصل فاعطت ادنى القيم للمعدلات السنوية للإشعاع الشمسي الكلي وبفارق بحدود  $1000 \text{ W.d/m}^2$  اقل مما في محطات الرطبة والسليمانية وبغداد ، وذلك بسبب نسبة تواجد الغيوم في هذه المحطات اقل مما في محطة الموصل ، كما ان عدد ساعات سطوع الشمس المقاسة بالايام خلال اشهر الشتاء والخريف في محطة الموصل اقل مما في هذه المحطات وهذا بدوره يؤثر على كميات الاشعاع الواصل الى سطح الارض في هذه المحطات.

## جدول 2- المعدلات الفصلية والسنوية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي

في المحطات كافة بوحدات  $\text{W.d/m}^2$

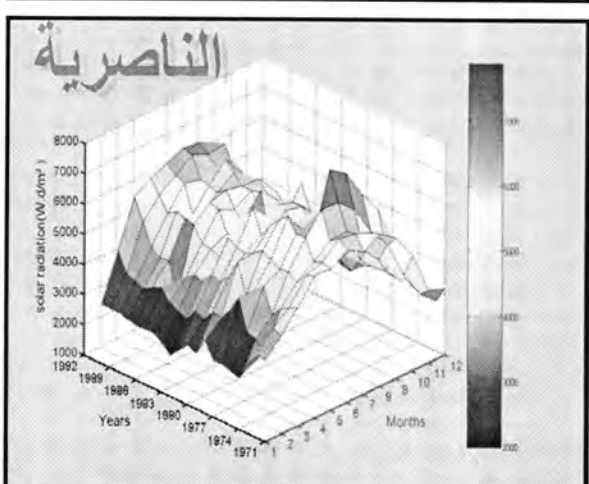
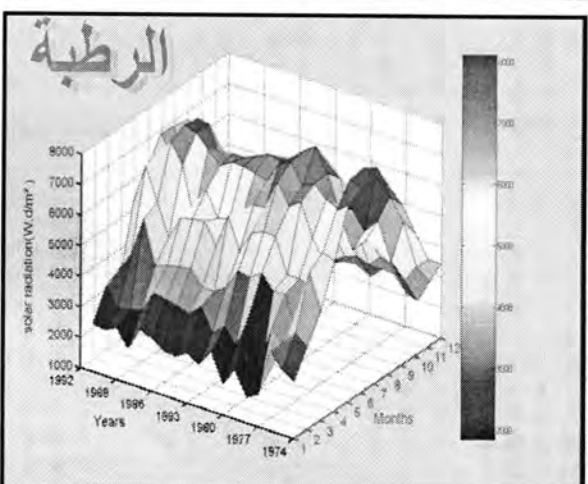
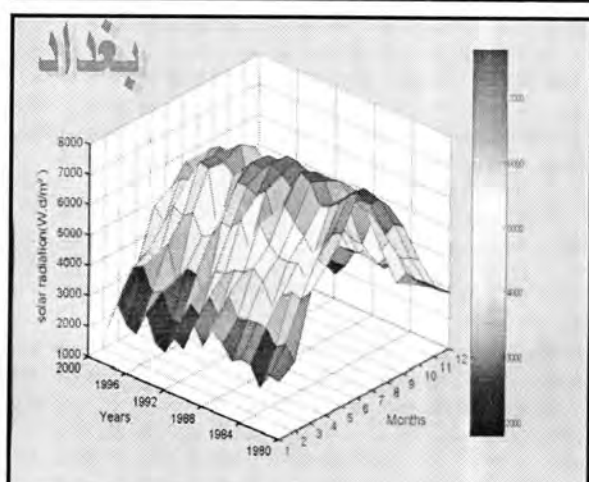
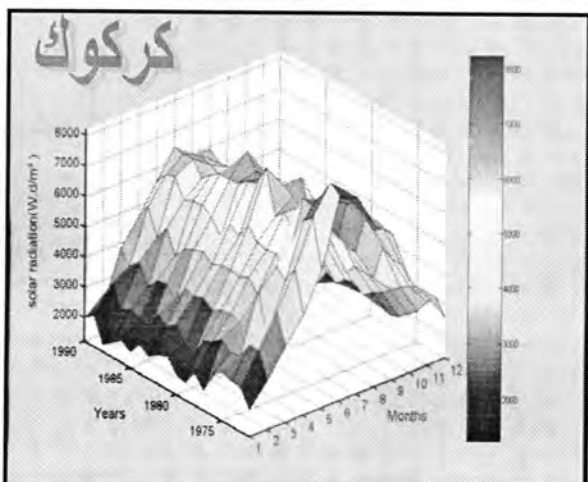
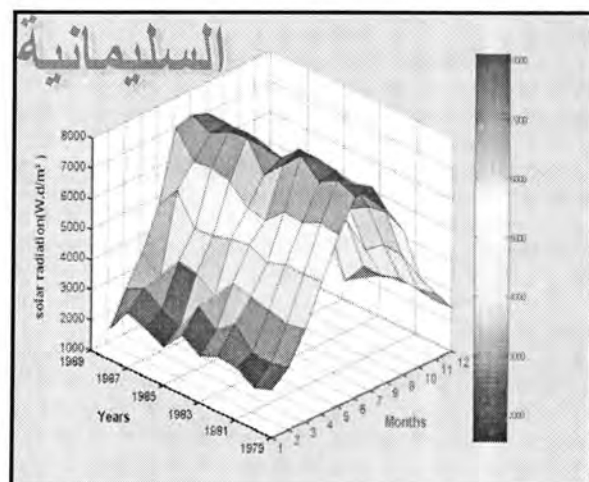
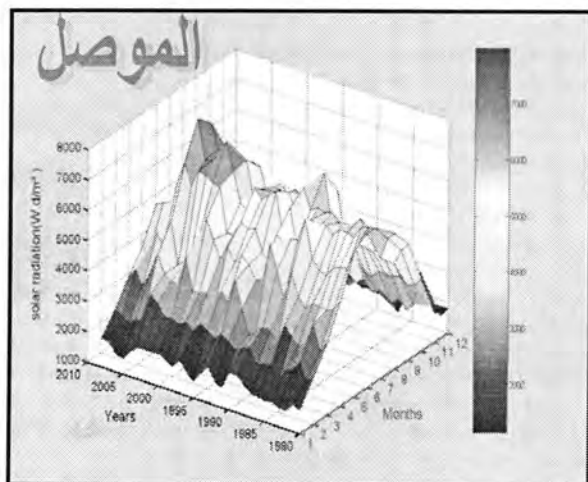
Season Stations	Winter	Spring	Summer	Autum	Mean Annual
Mosul	2081	4502	5810	3421	3953
Sulaimaniya	2297	4711	6459	3876	4336
Kirkuk	2664	5343	7350	4351	4927
Baghdad	3041	5513	6808	4287	4912
Rutba	2828	5543	6994	4371	4934
Nasiriya	3158	5357	6026	4287	4707

3. التمثيل الثلاثي الأبعاد للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي كدالة لكل من تسلسل الشهر والسنة في محطات قياس الإشعاع الشمسي: المخطط (5) يوضح التمثيل الثلاثي الأبعاد لقيم المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في محطات الموصل ، السليمانية ، كركوك.



يلحظ في محطة الموصل ان معظم قيم الإشعاع الشمسي خلال أشهر الصيف (حزيران وتموز) لم تتجاوز ( $6000 \text{ W.d/m}^2$ ) في جميع سنوات القياس باستثناء الفترة (1999-2004) التي أظهرت قيما أعلى من ذلك وبلغت قيمتها القصوى في حزيران عام (2004) إذ تجاوزت ( $7500 \text{ W.d/m}^2$ ). في محطة السليمانية يلحظ ان قيم المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي خلال أشهر حزيران وتموز تجاوزت ( $7500 \text{ W.d/m}^2$ ) ولجميع سنوات القياس في حين ان غالبية القيم للمعدلات الشهرية خلال أشهر كانون الأول وكانون الثاني تجاوزت ( $2400 \text{ W.d/m}^2$ ). في محطة كركوك يلحظ خلال حزيران (1972-1974) ان قيم الإشعاع الشمسي تجاوزت ( $7500 \text{ W.d/m}^2$ ) ، أما خلال الفترة (1977-1990) فان غالبية القيم خلال هذا الشهر لم تتجاوز ( $6400 \text{ W.d/m}^2$ ). أما خلال أشهر الشتاء (كانون الأول ، كانون الثاني) يلاحظ ان قيم الإشعاع الشمسي تجاوزت ( $2000 \text{ W.d/m}^2$ ) للفترة (1972-1975) ، أما خلال الفترة (1976-1990) فيلاحظ ان القيم الشهرية كانت دون ( $2000 \text{ W.d/m}^2$ ).

المخطط (6) يوضح التمثيل الثلاثي الأبعاد لقيم المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في محطات بغداد ، الرطبة ، الناصرية. يلحظ في محطة بغداد ان غالبية العظمى للقيم الشهرية للإشعاع الشمسي تجاوزت ( $7000 \text{ W.d/m}^2$ ) في أشهر حزيران وتموز خلال فترة القياس. وأما خلال شهر كانون الأول الذي يمثل ادنى القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي يلاحظ خلال الفترة (1980-1990) ان غالبية القيم تجاوزت ( $2800 \text{ W.d/m}^2$ ) ، وأما خلال الفترتين (1990-1994) و (1997-1998) يلاحظ ان قيم الإشعاع الشمسي كانت بحدود ( $2000 \text{ W.d/m}^2$ ). في محطة الرطبة يلحظ خلال شهر حزيران ان غالبية العظمى لقيم الإشعاع الشمسي الشهرية كانت محصورة بين ( $7500-7000 \text{ W.d/m}^2$ ) ، في حين ان غالبية القيم الشهرية خلال شهر كانون الأول كانت محصورة بين ( $2500-2000 \text{ W.d/m}^2$ ). في محطة الناصرية يلحظ ان غالبية القيم الشهرية خلال شهر حزيران كانت محصورة بين ( $6000-5000 \text{ W.d/m}^2$ ) وذلك خلال سنوات القياس. في حين ان غالبية القيم الشهرية خلال شهر كانون الأول كانت محصورة بين ( $3000-2600 \text{ W.d/m}^2$ ).



**مخطط -5:** التمثيل الثلاثي الأبعاد للقيم الشهرية اليومية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في مدينة (الموصل ، السليمانية ، كركوك)

**مخطط -6:** التمثيل الثلاثي الأبعاد للقيم الشهرية اليومية للإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في مدينة (بغداد ، الربطية ، الناصرية)

4. دراسة علاقات الارتباط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة:

الجدول (3) يوضح علاقات الارتباط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية للسطوع الشمسي ودرجات حرارة الهواء والرطوبة النسبية للمحطات كافة.

الجدول يوضح علاقات الارتباط الخطية الطردية القوية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي وكل من السطوع الشمسي ومعدلات درجات حرارة الهواء في المحطات كافة اذ تراوح معامل الارتباط لهذه العلاقات بين (0.91-0.97) .

كما يوضح الجدول علاقات الارتباط الخطية العكسية القوية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية للرطوبة النسبية للمحطات كافة اذ تراوح معامل الارتباط لهذه العلاقات بين (-0.90 الى -0.96).

الجدول (4) يوضح علاقات الارتباط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية للغيمية والأمطار والتبخر للمحطات كافة.

الجدول يوضح علاقات الارتباط الخطية العكسية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية للغيمية اذ تراوح معامل الارتباط لهذه العلاقات بين (-0.73 الى -0.79).

كما يوضح الجدول ايضا علاقات الارتباط الخطية العكسية القوية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية للأمطار الساقطة للمحطات كافة ، اذ تراوح معامل الارتباط لهذه العلاقات بين (-0.82 الى -0.89).

علاقات الارتباط التي تم الحصول عليها بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية للتبخر في المحطات كافة كانت خطية طردية قوية كما موضح بالجدول ، اذ تراوح معامل الارتباط لهذه العلاقات بين (0.92 الى 0.96).

هذه العلاقات التي تم الحصول عليها هي منطقية وتتماشى مع طبيعة هذه المتغيرات وتتفق مع العديد من البحوث (6 ، 7).

الجدول 3- علاقات الارتباط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي والمعدلات الشهرية

للسطوع الشمسي ودرجات حرارة الهواء والرطوبة النسبية في كافة المحطات

Corrl. Stati	Solar Rad. & Sunshine		Solar Rad.& Mean AirTemp		Solar Rad. & Rel. Humidity.	
	Equations	R	Equations	R	Equations	R
Mos.	$Y=557.53X-680.46$	0.96	$Y=143.98X+1033.1$	0.91	$Y=-68.021X+7491.7$	-0.90
Sul.	$Y=687.71X-773.91$	0.96	$Y=159.95X+1008.2$	0.93	$Y=-88.797X+9007.1$	-0.92

Kirk.	$Y=780.86X-2201$	0.97	$Y=159.99X+724.85$	0.94	$Y=-84.672X+8222.3$	-0.04
Bagh.	$Y=723.12X-1560.3$	0.97	$Y=157.79X+1310.5$	0.93	$Y=-90.592X+8953.3$	-0.96
Rut.	$Y=768.21X-2138$	0.96	$Y=178.91X+1386.6$	0.93	$Y=-103.47X+9720.6$	-0.96
Nas.	$Y=871.36X-2574.3$	0.93	$Y=121.43X+1605.3$	0.91	$Y=-69.158X+7634.8$	-0.94

الجدول 4: علاقات الارتباط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي والمعدلات الشهرية للغيمة والأمطار والتبخر في كافة المحطات

Corrl. Stati	Solar Rad. & Cloudiness		Solar Rad. & Rainfall		Solar Rad. & Evap.	
	Equations	R	Equations	R	Equations	R
Mos.	$Y=-788.46X+5991$	-0.79	$Y=-48.519X+5442.7$	-0.84	$Y=12.085X+1923.6$	0.94
Sul.			$Y=-34.273X+6974.6$	-0.89	$Y=14.421X+2264.8$	0.96
Kirk.	$Y=-977.66X+6463.3$	-0.82	$Y=-55.909X+6020$	-0.89	$Y=11.036X+1947$	0.95
Bagh.	$Y=-868.65X+6779.9$	-0.73	$Y=-64.585X+6360.6$	-0.84	$Y=9.2958X+2408.3$	0.96
Rut.	$Y=-1093.9X+7075.1$	-0.78	$Y=-185.17X+6759$	-0.84	$Y=10.902X+2107.1$	0.96
Nas.	$Y=-974.88X+6223.1$	-0.73	$Y=-97.571X+5802.7$	-0.82	$Y=6.4083X+2817.9$	0.92

كما تم إيجاد علاقات الارتباط المتعدد بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لجميع العناصر المناخية لمحطات الموصل ، السليمانية ، كركوك ، بغداد ، الرطبة ، الناصرية .  
 • تم الحصول على معامل ارتباط تام تقريباً بين هذه المتغيرات تراوح بين (0.99 ، 1.0) في المحطات كافة.

الجدول (5) يوضح علاقات الارتباط المتعدد ومعامل الارتباط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لجميع العناصر المناخية في المحطات كافة.



الجدول 5-: علاقات الارتباط المتعدد ومعامل الارتباط بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لجميع العناصر المناخية في المحطات كافة

STATIONS	Multiple Regression Equations	R
Mosul	$H = [-3665.84 + 487.55n + 104.55T + 27.04RH - 391.68C - 13.59E - 5.35R + 2603.90W]$	0.998
Sulaimaniya	$H = [2483.37 + 1859.79n - 207.22T - 219.27RH - 15.75E + 69.57R + 515.36W]$	0.993
Kirkuk	$H = [1466.33 + 520.52n - 75.11T - 88.14RH + 481.15C + 6.51E + 29.78R + 551.31W]$	0.996
Baghdad	$H = [7965.23 + 207.87n - 112.48T - 105.53RH + 206.12C + 8.57E + 32.30R - 361.70W]$	0.999
Rutba	$H = [-3089.91 + 667.34n + 105.41T - 26.98RH + 699.48C - 5.93E - 61.63R + 646.26W]$	1
Nasiriya	$H = [-1286.04 + 1127.58n - 124.93T - 72.26RH + 872.30C + 2.19E + 15.89R + 152.89W]$	0.996

ومما سبق يمكن أن نستنتج مايلي:

1. محطات الناصرية وبغداد والرطبة أظهرت أعلى القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الشتاء في حين ان محطة الموصل أظهرت أوطأ القيم.
2. أعلى القيم للمعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي خلال أشهر الصيف كانت في محطات السليمانية ، الرطبة وبغداد ومحطة الموصل أظهرت اوطأ القيم ايضا.
3. أعلى القيم للمعدلات الفصلية للإشعاع الشمسي الكلي خلال فصل الشتاء ، الربيع ، الصيف ، الخريف كانت في محطات الناصرية ، الرطبة ، السليمانية ، الرطبة اذ بلغت (3158 ، 5543 ، 7350 ، 4371)  $W.d/m^2$  على التوالي. محطة الموصل أظهرت اوطأ القيم للمعدلات الفصلية كافة.
4. محطات الرطبة ، السليمانية ، بغداد أعطت أعلى القيم للمعدلات السنوية للإشعاع الشمسي الكلي مقارنة بباقي المحطات ، اذ تراوحت قيم هذه المعدلات في هذه المحطات بين (4912 - 4934)  $W.d/m^2$ . اما محطة الموصل أعطت ادنى القيم للمعدلات السنوية وبفارق حدود (1000)  $W.d/m^2$  عن محطات الرطبة والسليمانية وبغداد .
5. تم إيجاد علاقات ارتباط خطية طردية قوية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لكل من السطوع الشمسي ، درجات حرارة الهواء ، التبخر. في حين تم الحصول



على علاقات ارتباط خطية عكسية قوية بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي وكل من الرطوبة النسبية والغيمية والأمطار للمحطات كافة.

6. تم الحصول على علاقات ارتباط متعدد بين المعدلات الشهرية للإشعاع الشمسي الكلي والمعدلات الشهرية لكل من المتغيرات المناخية في جميع المحطات والتي أعطت معامل ارتباط شبه تام تراوح بين (0.99-1.0).

### المصادر

1. **Michael U.Kemp**, " Spatial and temporal distribution of solar radiation in Louisiana", M.Sc. Thesis, Louisiana State University (2007)
2. **T.Muneer**, "Solar radiation and daylight models", 2<sup>nd</sup> edition, Elsevier Ltd (2004).
3. **S.E.Falodun and E.O.Ogolo**, "Diurnal and Seasonal Variations of Global Solar Radiation at Akure", South-Western Nigeria, Journal of Engineering and Applied Sciences V.2 No.(1) .125-128 , (2007)
4. **J.B.Bishop and W.B.Rossow**, "Spatial and Temporal Variability of Global Surface Solar Irradiance", Journal of geophysical research, V.96, No.(9), 16.839-16,858 , (1991).
5. **A.H.Hassan**, " The variability of the daily solar radiation components over Helwan , Renewable Energy , V.23 , .641-649,( 2001).
6. **Julia Fvancheval**, AN Estimation of Global Solar Radiation Over Bulgaria, Balwois-Ohrid, Republic of Macedonia-27,(2008).
7. **C.Ertekin and F.Evrendilek**, "Spatio-Temporal Modeling of Global Solar Radiation Dynamics as A function of Sunshine Duration for Turkey", Agricultural and Forest Meteorology 145:36-47,(2007).
8. **الرجبو وليد اسمير، لمياء محمد، "دراسة عامل الصفاء الجوي في مدينة الموصل"، مجلة كلية التربية، الجامعة المستنصرية، العدد 1، (2008) .**
9. **A.Akrawi and H.Najjar**, " Calculation and mapping of the distribution of global and diffuse solar radiation in Iraq ", Solar Energy Res , V. 5, No( 1), 1-25, (1986).

10. رعد احمد رسول، "دراسة الإشعاع الشمسي في العراق"، رسالة ماجستير، الجامعة التكنولوجية. (1986)
11. بشير خليل، "دراسة وتحليل قياسات الإشعاع الشمسي في مدينة بغداد"، رسالة ماجستير، الجامعة التكنولوجية. (1989)
12. الرجيو وليد اسمير، مصطفى احمد، "استنباط نموذجين رياضيين لتخمين الإشعاع الشمسي الكلي الساقط على السطح الأفقي في مدينة الموصل"، مجلة كلية التربية، الجامعة المستنصرية، العدد الثالث. (2010).

ملحق -1: المعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة لمحطة الموصل للسلسلة الزمنية (1980-2008)

Months meteo.elem	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
H (W.d/m <sup>2</sup> )	1849	2699	3500	4478	5528	6027	5960	5444	4684	3277	2301	1695
n (hrs)	4.7	5.6	6.8	7.9	9.9	12.2	11.9	11.3	10.3	8.1	6.4	4.6
Mean air temp(c°)	7.0	8.6	12.6	17.9	24.7	30.8	34.5	33.7	28.5	22.4	13.7	9.0
RH%	79.7	73.8	67.5	61.3	42.9	27.6	25.1	26.4	31.3	45.9	64.5	78.2
Windspeed(m/s)	1.0	1.3	1.4	1.6	1.9	1.8	1.8	1.5	1.1	0.9	0.8	1.0
Evaporation(mm)	30.2	45.9	85.8	130.9	231.2	326.9	366.5	327.4	239.6	141.2	60.7	29.3
Rainfall(mm)	61.9	63.5	63.3	40.3	15.3	1.6	0.2	0.0	0.3	13.6	49.9	58.4
Cloudness(Octa)	4.3	4.2	3.9	3.8	2.7	0.9	0.4	0.3	0.6	2.4	3.0	4.3

ملحق -2: المعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة لمحطة السليمانية للسلسلة الزمنية (1980-2008)

Months meteo.elem	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
H (W.d/m <sup>2</sup> )	2556	3141	4042	5353	6634	7637	7531	6881	5955	4182	2916	2294
n (hrs)	5.1	5.4	5.9	7.6	9.8	12.0	12.1	11.7	10.4	8.0	6.2	5.2
Mean air temp(c°)	9.8	10.7	15.1	22.1	28.4	38.8	39.3	38.4	35.3	26.7	18.3	11.3
RH%	72.4	66.4	61.5	53.1	38.6	22.7	19.8	21.8	23.5	39.5	60.8	71.3
Wind speed(m/s)	1.2	1.9	2.1	1.6	2.0	2.5	2.4	2.4	1.5	1.7	1.4	1.3
Evaporation(m)	45.4	57.9	95.2	134.	246.	344.	394.	364.	257.	158.	72.0	44.1



وليد وشيما

m)				8	1	7	2	6	9	1		
Rainfall(mm)	122.1	110.3	106.9	87.2	39.7	1.9	0.0	0.0	1.4	33.2	96.5	117.8

ملحق -3: المعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة لمحطة كركوك للسلسلة الزمنية (1980-2008)

Months meteo.elem	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
H (W.d/m <sup>2</sup> )	2127	2826	3706	4687	5740	6759	6537	6080	5221	3788	2620	1937
n (hrs)	5.5	6.2	7.6	7.8	9.1	11.3	11.2	11.0	10.2	8.2	6.9	5.7
Mean air temp(c°)	9.0	10.5	14.8	20.7	27.5	33.3	36.3	35.6	31.3	24.8	16.3	10.9
RH%	72.6	67.8	58.9	50.9	34.5	24.5	23	24.4	27.3	38.8	58.5	69.6
Wind speed(m/s)	1.1	1.5	1.6	1.9	2.1	2.0	1.9	1.8	1.4	1.5	1.3	1.2
Evaporation(mm)	49.8	64.5	108.9	160.1	278.4	395.8	440.2	427.0	308.8	212.4	96.3	55.2
Rainfall(mm)	68.7	66.8	50.0	43.5	13.8	0.2	0.3	0.1	1.0	14.7	45.6	56.9
Cloudness(Octa)	3.6	3.7	3.5	3.5	2.4	0.5	0.3	0.2	0.4	1.9	2.8	3.4

ملحق -4: المعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة لمحطة بغداد للسلسلة الزمنية (1980-2008)

Months meteo.elem	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
H (W.d/m <sup>2</sup> )	2855	3716	4570	5613	6356	7018	6980	6427	5496	4246	3118	2551
n (hrs)	6.1	7.2	8.0	8.7	10.2	12.1	11.9	11.5	10.1	8.3	7.1	6.1
Mean air temp(c°)	9.4	12.0	16.1	23.0	28.9	32.7	35.1	34.4	30.5	24.4	16.3	11.1
RH%	72.1	60.2	50.8	41.7	31.8	25.2	24.7	27	31.9	42.4	57.9	69.6
Wind speed(m/s)	2.5	2.9	3.2	3.2	3.3	3.9	4.0	3.5	2.8	2.6	2.5	2.5
Evaporation(mm)	68.3	98.8	178.1	260.5	370.4	478.7	525.3	474.9	354.6	231.8	115.2	75.6
Rainfall(mm)	59.7	47.0	35.3	28.6	12.0	0.2	0.3	0.0	0.6	10.6	31.5	43.2
Cloudness(Octa)	3.4	3.2	3.3	3.4	2.7	0.4	0.3	0.4	0.5	2.1	2.8	3.3

ملحق -5: المعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة لمحطة الرطبة للسلسلة الزمنية (1980-2008)

Months meteo.elem	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
H (W.d/m <sup>2</sup> )	2566	3431	4539	5662	6428	7262	7206	6515	5650	4339	3123	2488
n (hrs)	6.5	7.4	8.1	8.8	10.0	12.4	12.4	11.7	10.5	8.8	7.6	6.2
Mean air temp(c°)	7.3	9.2	13.0	19.4	24.6	29.0	31.7	31.2	27.8	21.7	13.9	9.1
RH%	71.1	61.5	52.9	43.4	35	29.4	27.8	29.1	31.3	44.3	58.3	71

Wind speed(m/s)	2.6	3.3	3.4	3.4	3.1	3.2	3.5	3.0	2.1	2.1	2.0	2.2
Evaporation(mm)	77.6	106.1	175.0	254.9	348.2	431.0	508.0	463.3	332.5	223.6	117.4	74.2
Rainfall(mm)	13.8	22.6	14.9	12.0	6.7	0.1	0.1	0.1	0.5	15.0	17.5	15.1
Cloudness(Octa)	3.0	3.0	3.0	3.0	2.3	0.4	0.3	0.2	0.4	1.9	2.6	3.3

ملحق -6: المعدلات الشهرية للعناصر المناخية المختلفة لمحطة الناصرية للسلسلة الزمنية

(1980-2008)

Months meteo.elem	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
H (W.d/m <sup>2</sup> )	2941	3869	4646	5479	5945	6042	6184	5851	5357	4273	3232	2665
n (hrs)	6.5	7.4	7.6	8.2	9.1	9.9	10.0	10.0	9.6	8.5	7.1	6.3
Mean air temp(c°)	11.8	14.3	19.3	25.6	31.9	35.6	37.5	37.0	33.6	27.4	19.2	13.4
RH%	68.9	59.7	49.9	41.9	30.8	23.0	21.9	23.4	27.7	38.7	55.2	66.9
Wind speed(m/s)	3.3	3.8	4.2	4.5	4.7	6.0	6.0	5.2	4.1	3.4	3.3	3.2
Evaporation(mm)	73.0	107.2	178.2	265.0	404.7	519.2	575.4	516.4	407.0	271.2	141.6	78.6
Rainfall(mm)	28.7	17.1	22.1	17.4	1.3	0.0	0.0	0.0	1.5	8.4	12.8	25.5
Cloudness(Octa)	2.6	2.1	2.2	2.5	1.7	0.4	0.3	0.3	0.3	1.4	2.1	2.6

## دراسة تأثير سرعة جريان الرياح على المعدلات اليومية للتبخر

حازم حمود حسين السليم وحسنين خليل عبد الله الشمري

الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الجو

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/12

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

## ABSTRACT

This research an attempt to estimate effect of wind flow speed on average of evaporation pan (class A) by making component between amount of evaporation from pan expose to different wind speed with pan not exposed to wind speed and all atmospheric elements (solar radiation, pressure, relative humidity, temperature) are equal on both them . From Sample Liner Regression equation we show that if wind flow increased (1m), the daily evaporation will increase (3.053mm) , In addition to this direct effect of the flow of wind speed on the amount of evaporation shows that the impact of atmospheric elements (solar radiation, relative humidity , air pressure and air temperature) the existence of wind increases compared with the absence of wind .

## الخلاصة

هذا البحث هو محاولة لتقدير تأثير سرعة جريان الرياح على معدل كمية التبخر من حوض التبخر نوع Class A الاميركي من خلال اجراء مقارنة بين كمية التبخر من حوض معرض لسرع جريان مختلفة من الرياح وحوض معزول عن تأثير الرياح تتساوى عليهما الظروف الجوية من اشعاع شمسي وضغط جوي ورطوبة نسبية ودرجة حرارة ، حيث تبين من معادلة الانحدار الخطي البسيط Sample Liner Regression ان زيادة سرعة جريان الرياح بمقدار 1m/s يؤدي الى زيادة في كمية التبخر 3.053mm ، وبالإضافة الى هذا التأثير المباشر لسرعة جريان الرياح على كمية التبخر تبين بأن تأثير العناصر الجوية (الاشعاع الشمسي والرطوبة النسبية والضغط الجوي ودرجة حرارة الهواء) بوجود الرياح يزداد بالمقارنة مع غياب الرياح .

## المقدمة

ان التبخر ( *Evaporation* ) الذي يحدث من المسطحات المائية كالمحيطات والبحار والبحيرات والانهار والسدود ومن التربة الرطبة ، والذي يعرف بعملية تحول الماء من حالة السيولة الى الحالة الغازية عندما يكون الهواء غير مشبع ببخار الماء ، هو عملية معقدة نوعا ما ، فمعدل التبخر يتغير مكانيا وزمانيا حيث يتناقص باتجاه الاقطاب وكذلك يكون في الفصول الحارة اكثر من الفصول الباردة (1)، وكمية التبخر تتأثر بالعديد من العوامل والمتغيرات المتداخلة من اهمها :



1- درجة الحرارة : يعتمد التبخر بصورة مباشرة على درجة الحرارة ، فكلما تزداد درجة الحرارة يزداد بالمقابل معدل التبخر نتيجة اكتساب جزيئات الماء طاقة تمكنها من الافلات من سطح الماء الى الهواء (2) .

2- الرطوبة النسبية : اذا ازدادت الرطوبة النسبية في الهواء انخفضت قدرته على امتصاص المزيد من بخار الماء وبالتالي سيتناقص معدل التبخر من المسطحات المائية (3) .

3- الاشعاع الشمسي : تربط الاشعاع الشمسي بكمية التبخر علاقة طردية ، فهو من اهم العوامل المؤثرة على كمية التبخر ، وتكمن اهميته باعتباره مصدر الطاقة التي تستهلك لتحويل الماء من الحالة السائلة الى الحالة الغازية (4) .

4- الضغط الجوي : تتناسب كمية الماء المتبخر عكسيا مع الضغط الجوي، وهذا يعود إلى أن الزيادة في الضغط الجوي تمنع جزيئات الماء المتبخرة من من سطح الماء من الافلات الى الهواء (5).

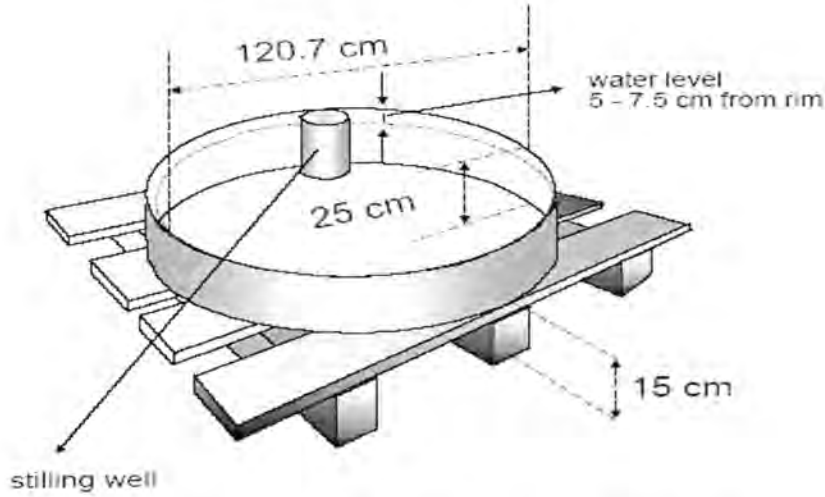
5- ضغط البخار: إن معدل التبخر يعتمد على الفرق بين ضغط البخار لسطح الماء وضغط البخار للهواء فوق سطح الماء  $(e_s - e_a)$  . حيث يعتمد ضغط البخار على درجة حرارة الهواء ودرجة حرارة سطح الماء ، فاذا كان الهواء ادفاً من سطح الماء فان التبخر يحدث حتى يتساوى ضغط بخار الهواء مع ضغط البخار لسطح الماء ، اما اذا كان الماء هو الادفاً فان التبخر يحدث بصورة كبيرة بوجود حركة للهواء تعمل على ازالة بخار الماء القريب من السطح (4) .

6- الرياح : ان للرياح تأثير هام جدا على التبخر فتزايد سرعة الرياح يزيد من معدل التبخر كون الجو الساكن الذي تنعدم فيه الرياح يبقي بخار الماء في الهواء القريب من مصدر التبخر في الطبقة الرقيقة (عدة سنتيمترات سمكا) فوق سطح الارض مما يؤدي الى زيادة رطوبة الهواء المحلية وبالتالي تقلل معدل التبخر وعندما تنتشعب هذه الطبقة ببخار الماء يتوقف التبخر، ولكن بوجود الرياح وزيادة سرعتها تنتقل هذه الطبقة من الهواء الرطب ليحل محلها هواء اكثر جفافا مما يزيد من معدل التبخر. وتسبب الرياح كذلك في تكون الامواج في المسطحات المائية وبالتالي زيادة المساحة السطحية لسطح الماء المتبخر وبالتالي زيادة كمية التبخر، ويؤدي ارتفاع وانخفاض مياه الامواج الى تطاير قطرات الماء الصغيرة ( قطر اقل من 0.05mm ) في الهواء مما يزيد من معدل التبخر لان تبخر القطرات الصغيرة اسرع من التبخر من مياه المسطح المائي . ومن هذا يمكن القول ان لسرعة الرياح تأثيرات متعددة مباشرة وغير مباشرة على معدلات كمية التبخر لذلك فان دراسة تأثير الرياح على كمية التبخر يمكن يوفر مزيدا من المعلومات التي تمكن المختصين في الشؤون المائية والزراعية والمناخية من وضع تصورات لتقليل التبخر من المسطحات المائية واضفاء مزيد من الدقة على حسابات الموازنات المائية (3,5,6).

يعتبر دالتون اول من قام بوضع معادلة رياضية لحساب التبخر طبقا لنظرية انتقال الكتلة وذلك في عام 1802 بالاعتماد على ضغط البخار وسرعة الرياح (7) وفي عام 1931 قام روهلر بدراسة لحساب التبخر واستنتج علاقة رياضية تأخذ بنظر الاعتبار التصحيح بسبب الضغط فضلا عن تأثير سرعة الرياح (8) اما كوتجان فقد قام بوضع معادلة لحساب التبخر في اواسط افريقيا معتمدا على الضغط الجوي ودرجة الحرارة وذلك في عام 1942 (9)، وفي عام 2009 قام Chu وآخرون بتجربة لحساب تأثير جريان سرعة الرياح وعمق الماء على كمية التبخر من الحوض باستخدام نموذج a Penman-Monteith لحساب نسبة التبخر من الحوض حيث استنتج بان هذا النموذج لا يمكن تطبيقه لتقدير كمية التبخر الا عندما تكون سرعة الرياح اكبر  $7 \text{ m/s}$  فقد وجد ان سرعة الرياح لا تؤثر على كمية التبخر بشكل واضح اذا كانت اقل من هذا المقدار (10)، اما في هذا البحث فقد تم حساب كمية التبخر الناجمة عن تأثير زيادة سرعة جريان الرياح عمليا من خلال المقارنة بين التبخر من حوضين نوع Class A يتعرضان لنفس الظروف الجوية من ضغط جوي ودرجة حرارة واشعاع شمسي ورطوبة نسبية ، بحيث يتعرض احدهما لزيادة تصاعدية في سرعة جريان الرياح بينما تم عزل الحوض الاخر عن تأثير الرياح .

### المواد وطرائق العمل

اجريت تجربة البحث ضمن الرقعة الجغرافية للجامعة المستنصرية وتحديدًا في محطة الرصد التابعة لقسم علوم الجو في كلية العلوم وتم فيها وضع حوضي تبخر من نوع Class A المبين بالشكل-1 بصورة متقارب من بعضهما بحيث يضمن تقاربهما تعرضهما لنفس الظروف والعوامل الجوية من درجة حرارة واشعاع شمسي ورطوبة نسبية وضغط جوي . احد الحوضين (حوض  $A_1$ ) سلطت عليه مروحتين هوائيتين لتحقيق تأثير متساوي للرياح على جميع نقاطه تمكنا من تغيير سرعة الرياح التي يتعرض لها سطح الماء في هذا الحوض ، حيث وضعت هاتين المروحتين على بعد  $1 \text{ m}$  من حافة الحوض الخارجية عند زاوية الشمال الغربي لانها تمثل زاوية الرياح السائدة في بغداد وعلى ارتفاع كان فيه مركز هذه المراوح يوازي سطح الماء في الحوض . اما الحوض الاخر (حوض  $A_2$ ) فقد تم عزله عن تأثير الرياح من خلال احاطته بسور عازل حقق لنا معدل جريان سرعة رياح يومي  $0 \text{ m/s}$ .



شكل-1 : يوضح حوض التبخر Class A (6)

قراءات التجربة اشتملت على اخذ معدل التبخر اليومي من الحوضين  $A_1$  و  $A_2$  ، وكذلك تم تسجيل المعدل اليومي لدرجة الحرارة سطح الماء في الحوضين اضافة الى المعدلات اليومية لكل من درجة حرارة الهواء المحيط بالحوضين والضغط الجوي والاشعاع الشمسي والرطوبة النسبية وكذلك للحوادث المطرية التي شهدتها فترة الدراسة وذلك لمدة 38 يوما امتدت على طول شهرين متتاليين هما كانون الاول وكانون الثاني لعامي 2010-2011 ، وقد بوبت هذه البيانات بالجدول-1. وبالاتماد معامل الارتباط Coefficient Correlation والذي يستخرج من المعادلة [1] تم ايجاد العلاقة السببية Causal Method بين التبخر وكل من سرعة الرياح ودرجة حرارة الهواء والاشعاع الشمسي والرطوبة النسبية والضغط الجوي وكذلك بين كمية التبخر وسرعة جريان الرياح بشكل معزول عن باقي العناصر الجوية من جانب اخر (11) :

$$R = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{[n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}} \dots\dots\dots [1]$$

حيث ان  $R$  معامل الارتباط  $(-1 \leq R \leq 1)$  .  
 $x$  و  $y$  متغيرات و  $n$  عدد المشاهدات .

استخدمت كذلك معادلة [2] التي تعرف بمعادلة الانحدار الخطي البسيط Sample Liner Rgression لتحليل العلاقة بين كمية التبخر وسرعة الرياح كون الانحدار الخطي البسيط من الأساليب الإحصائية التي تستخدم في قياس العلاقة بين متغيرين على هيئة علاقة دالة ، يسمى أحد المتغيرات (متغير تابع) والآخر (متغير مستقل) وهو المتسبب في تغير المتغير التابع (11).

$$Y = \alpha + \beta X \dots \dots \dots [2]$$

$Y$  : المتغير التابع

$X$  : المتغير المستقل

$\alpha$  : هو الجزء المقطوع من المحور الرأسي  $Y$  الذي يعكس قيمة المتغير التابع في حالة انعدام قيمة المتغير المستقل  $X$  ، أي في حالة  $X = 0$  .

$\beta$  : ميل الخط المستقيم  $\alpha + \beta X$  ، ويعكس مقدار التغير في  $Y$  إذا تغيرت  $X$  بوحدة واحدة .

حيث يمكن تقدير قيمة التبخر والتنبؤ بها بالاعتماد على قيم سرعة الرياح باستخدام المعادلة [3] :

$$\hat{Y} = \alpha + \beta X \dots \dots \dots [3]$$

$\hat{Y}$  قيمة التبخر المتنبئ بها و  $X$  سرعة الرياح . ولتقدير قيم  $\alpha$  و  $\beta$  نستخدم طريقة المربعات الصغرى من خلال المعادلات [4] و [5] :

$$\alpha = \bar{Y} - \beta \bar{X} \dots \dots \dots [4]$$

$$\beta = \frac{\sum XY - n\bar{X}\bar{Y}}{\sum X^2 - n\bar{X}^2} \dots \dots \dots [5]$$

حيث أن  $\bar{X}$  و  $\bar{Y}$  متوسطات الحسابية للرياح والتبخر (11).

### النتائج والمناقشة

نتائج التجربة بينت أن سرعة الرياح في فترة الدراسة هي العامل الأكثر تأثيراً على كمية التبخر مقارنة مع تأثير العناصر الجوية الأخرى على كمية التبخر كدرجة حرارة الهواء والضغط الجوي والرطوبة النسبية والإشعاع الشمسي ، فمن جدول-1 الذي يوضح قيم معامل الارتباط  $R$  للعناصر المدروسة مع معدل كمية التبخر من الحوضين  $A_1$  و  $A_2$  نلاحظ أن أعلى معامل ارتباط  $R$  كان بين معدل كمية

التبخر وسرعة جريان الرياح للحوض  $A_1$  مقارنة بتأثير العوامل الأخرى حيث بلغت قيمته 0.9 ما يعني وجود علاقة طردية قوية جدا بين التبخر وسرعة الرياح .

جدول 1- : يمثل العناصر المؤثرة على التبخر وقيم  $R$  للحوضين

العناصر المؤثرة على التبخر	$R (A_1)$	$R (A_2)$
درجة حرارة الهواء $C^\circ$	0.475	0.58
الاشعاع الشمسي الساقط $W/m^2$	0.452	0.326
الرطوبة النسبية %	-0.436	-0.377
الضغط الجوي mbr	-0.0483	-0.177
سرعة الرياح m/s	0.9	سرعة الرياح 0 m/s

ان هذا التأثير الواضح لسرعة جريان الرياح على المعدل اليومي لكمية التبخر يمكن ملاحظته من الزيادة الحاصلة على المعدل اليومي لكمية التبخر في الحوض  $A_1$  مقارنة بالمعدل اليومي لكمية التبخر من الحوض  $A_2$  والتي يوضحها الشكل-2 ، حيث يمكن حساب هذه الزيادة بأخذ الفرق في كمية التبخر بين الحوضين من المعادلة [6]:

$$EV = EV1 - EV2 \quad \dots \dots \dots [6]$$

حيث :

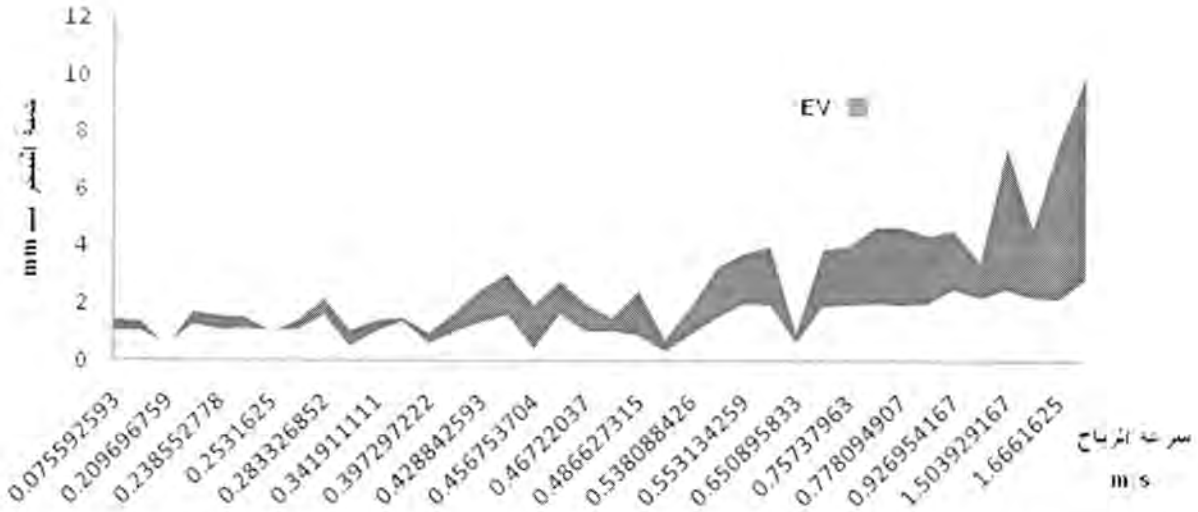
$EV$ : كمية التبخر الناتجة عن تأثير سرعة الرياح.

$EV1$  : كمية التبخر المقاسة من الحوض  $A_1$ .

$EV2$  : كمية التبخر المقاسة من الحوض  $A_2$ .

ومن تحليل نتائج معادلة [6] تبين ان هناك علاقة خطية قوية وبمعامل ارتباط قيمته 0.897 يعكس التأثير الكبير لسرعة جريان الرياح على كمية التبخر بشكل معزول عن تأثير العناصر الجوية الأخرى ، وكما موضح بالشكل-3 .





شكل-2 : يوضح الفرق في التبخر بين الحوض  $A_1$  و  $A_2$  مع سرعة الرياح



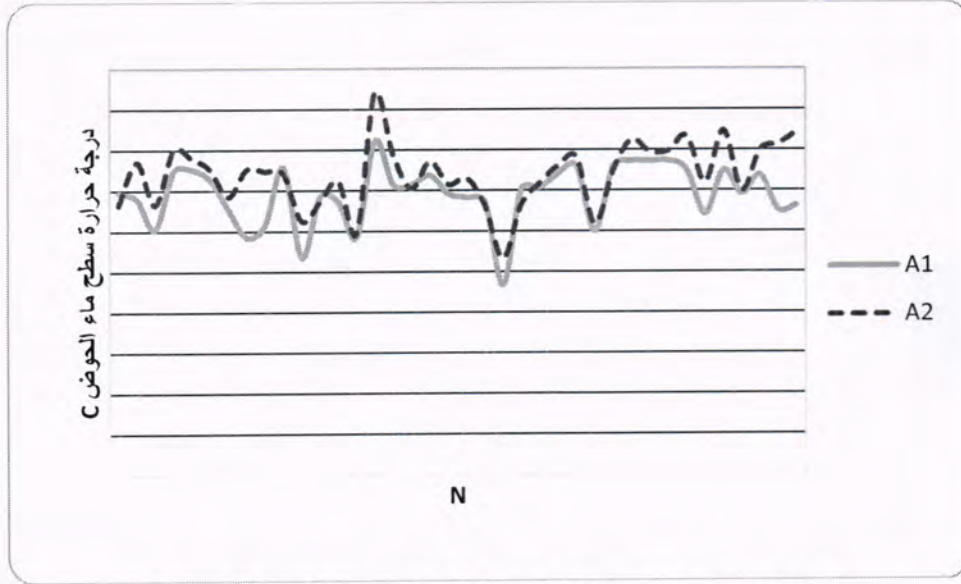
شكل-3 : يوضح العلاقة بين EV وسرعة جريان الرياح

وعليه فان كمية التبخر المقدرة الناتجة عن زيادة سرعة الرياح وحدة واحدة يمكن تحديدها من معادلة الخط المستقيم الموضحة بالشكل-3 والتي حصلنا عليها من المعادلات [3] و [4] و [5]:

$$\hat{Y} = -0.4 + 3.053X \quad \dots \dots \dots [7]$$

فمن معادلة [7] التي تسمى بمعادلة الانحدار المقدرة والتي تفترض ان  $X$  هي سرعة الرياح و  $\hat{Y}$  الزيادة في كمية التبخر الناجمه عنها نجد ان مقدار التغير للتبخر يكون  $3.053\text{mm}$  عند زيادة سرعة جريان الرياح  $1\text{m/s}$ .

كما ان معدل درجة حرارة سطح الماء للحوض  $A_2$  كانت  $14.78$  درجة مئوية بينما كان معدل درجة حرارة سطح الماء للحوض  $A_1$  هي  $13.83$  درجة مئوية وهذا يعني ان لجريان الرياح فوق سطح ماء الحوض  $A_1$  الاثر في تبريد سطح الماء .



شكل-4 : يوضح العلاقة درجة حرارة سطح الماء للحوضين

ان عملية التبخر عملية معقدة ناتجة من تأثير عدة عناصر جوية ان هذا التداخل بين العناصر الجوية المؤثرة على التبخر يجعل عملية عزل تأثير عنصر واحد من هذه العناصر امر صعب فزيادة كمية التبخر نتيجة زيادة سرعة جريان الرياح تكون غير منتظمة ومتذبذبة نتيجة لهذه التداخلات الجوي كما مبين بالجدول-2 .

جدول-2 : يوضح تغير قيم EV بالنسبة للعوامل الجوية

المعدل اليومي للاشعاع الشمسي W/m <sup>2</sup>	المعدل اليومي للضغط الجوي mbr	المعدل اليومي للرطوبة النسبية %	المعدل اليومي لدرجة الحرارة ° C	المعدل اليومي للسرعة جريان الرياح حوض A <sub>1</sub> m/s	معدل EV اليومي mm
129.497	1020.033	55.08333	12.52083	0.075593	0.38
181.58	966.1	73.29133	12.49583	0.114261	0.33
105.2727	1021.983	94.17391	7.678261	0.209697	-0.06
193.8889	941.6292	75.01119	14	0.230121	0.46
223.6	1014.733	83.08333	12.69583	0.238553	0.48
110.3	1016.318	74.70833	12.64583	0.240225	0.39
104.214	1022	95.01355	7.588961	0.253163	-0.04
130.3333	1015.2	86.59167	12.17083	0.265083	0.33
204.8	1021.942	63.93123	13.2625	0.283327	0.58
222.79	1013.112	84.0493	13	0.327083	0.56
249.9091	1020.821	65.31167	9.393333	0.341911	0.38
129.4	1014.194	87.79167	12	0.383124	0.12
204.1727	1021.046	94.10134	11.12917	0.397297	0.38

0.68	0.405365	9.733333	66.04167	1021.13	251.4897
1.17	0.428843	14.4625	71.70833	1014.642	248.2
1.45	0.442653	12.97825	65.33333	1020.33	205.371
1.53	0.456754	13.00183	54.88122	1019.533	128.2998
1.14	0.463077	13.83333	74.29167	942.0493	194
0.95	0.46722	11.08333	76.58333	1021.446	246.5455
0.47	0.479722	12.99793	74	967.1053	182.13
1.56	0.486627	11	93	1022.026	203.301
0.4	0.497021	8.325	83.66667	1022.488	250
1.01	0.538088	10.89843	77.31141	1022.5	248.7702
1.77	0.543104	13.10283	75.24083	1014.988	109.1
1.77	0.553134	13.52174	71	1013	226.6667
2.04	0.599871	14.125	71.92512	987.3875	256.4
0.36	0.650896	8.964	82.5	1023.228	248.9742
1.99	0.751347	12.97787	70.60926	1011.9	225.3346
2.08	0.75738	15.1025	70.00833	1013.113	250.108
2.67	0.763558	14.19167	65.58333	1017.483	234.9
2.74	0.778095	13.7926	73.59035	984.679	256
2.38	0.866044	13.99233	64.10333	1015.993	235.01
2.03	0.926954	14.13333	73.79167	987.9833	260.2
1.27	1.188185	12.0315	83.70833	1017.808	147.89
4.98	1.503929	13.88333	72.8	990.5583	258.988
2.42	1.58163	11.7495	84.69733	1015.9	148
5.5	1.666163	12.275	58.95833	1020	270.201
7.08	2.106925	12.975	57.96033	1017.921	272

نتائج هذه الدراسة وضحت ان سرعة جريان الرياح هو العنصر الاكثر تأثيرا ضمن فترة الدراسة على كمية التبخر مقارنة بتأثير درجة حرارة الهواء والاشعاع الشمسي والرطوبة النسبية والضغط الجوي ، فقد كان معامل ارتباط سرعة الرياح بكمية التبخر في الحوض  $A_1$  اعلى من من بقية معاملات الارتباط للعناصر الجوية الاخرى مع كمية التبخر حيث بلغت قيمته 0.9 ، كما ان الفرق في كمية التبخر بين الحوض  $A_1$  والحوض  $A_2$  والذي يمثل كمية التبخر الناتجة من تأثير سرعة الرياح فقط (بمعزل عن العناصر الجوية الاخرى ) لها معامل ارتباط مع سرعة جريان الرياح 0.897 وهذا يدل على ان سرعة الرياح ضمن فترة الدراسة كانت الاكثر تأثيرا على زيادة كمية التبخر ، ووجد ان تأثير درجة الحرارة على التبخر في الحوض  $A_2$  اكبر من تأثيره في الحوض  $A_1$  وهذا ناتج من عملية التبريد التي تنتج من جريان الرياح فوق الحوض  $A_1$  وكذلك تأثير الضغط الجوي والرطوبة النسبية في الحوض  $A_2$  اكبر من تأثيرهما في الحوض  $A_1$  وهذا يوعز الى ازاحة جزيئات الماء المتبخرة فوق سطح الحوض  $A_1$  بواسطة جريان الرياح المسلط على الحوض  $A_1$  مقارنة بالحوض  $A_2$  ، ولوحظ بان تأثير طاقة الاشعاع الشمسي



حازم وحسين

على التبخر الناتج من الحوض  $A_1$  اعلى من تأثيرها على الحوض الاخر وقد يكون ذلك بسبب فاعلية الحوض  $A_1$  لفقد واكتساب الطاقة نتيجة لعمليتي التوصيل والحمل فوق سطح ماء الحوض ، وكذلك وجد ان مقدار التباير للتبخر 3.053mm عند زيادة سرعة الرياح 1m/s .  
ومن هذا يتبين لنا ان تأثير سرعة جريان الرياح على معدل كمية التبخر يكون متداخل ومن الصعب عزله في ظروف طبيعة عن تأثير العوامل الاخرى ، فبالرغم تعريض حوضي التجربة لنفس الضغط الجوي والاشعاع الشمسي ودرجة حرارة الهواء والرطوبة النسبية الا ان عامل درجة حرارة سطح الماء في الحوضين كان مختلفا نتيجة لوجود تأثير للرياح على احد الحوضين وانعكسه على الحوض الاخر حيث بلغ الفرق في درجة الحرارة بين الحوضين 0.95 درجة مئوية.

### المصادر

- 1- Bedient , P. B. , Huber W. C. , Vieux B. E. " Hyderology and Floodplain Analysis " , Prentice-Hall Inc , U.S.A. , 4 nd Edition , pp. 55-65 , (2008) .
- 2- Chow, Ven. Te. , " Evapotranspiration , Handbook of Applied Hydrology " , McGraw-Hill Book Company, Inc. , New York , pp. 11-1 to 11-38 , (1964) .
- 3- غانم علي احمد ، " الجغرافية المناخية " ، دار المسرة الاردن ، الطبعة الثالثة ، 131-136 ، (2011).
- 4- Linsley , R. K., Kohler M. A., Paulhus , J.L.H., " Evaporation and Transpiration " , Hydrology for Engineers , McGraw-Hill Book Company, Inc, New York , 2 nd Edition , pp. 151-184 , ( 1975) .
- 5- العجرش أسراء قحطان ، " نمذجة التبخر في العراق " ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، العراق ، (2001) .
- 6- التميمي مثنى ، " تقييم التبخر/ النتح لمناطق زراعية مختارة في العراق " ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، العراق ، (2005) .
- 7- الراوي عادل سعيد ، السامرائي قصي عبد المجيد ، " المناخ التطبيقي " ، دار الحكمة للطباعة والنشر ، بغداد ، العراق ، (1990) .

8 - Wisler , C.O. , Brater , E.F. , " Hydrology " , John Wiley & Sons , N.Y. , pp 408 , (1959).

9- الجبوري رجاء خليل ، " الموازنة المائية المناخية للمنطقة المتموجة في العراق دراسة في المناخ التطبيقي " ، رسالة ماجستير ، كلية التربية بنات ، جامعة بغداد ، العراق ، (2002) .

10- Chu , C. R. , Li , M. , Chen , Y. Y. , Kuo, Y. H. , "A wind tunnel experiment on the evaporation rate of Class A evaporation pan", Jornal of Hydrology , vol. 381 , issu. 3-4 : 221-224, (2010).

11- الشمري حاتم ، الفضل مؤيد ، " الاساليب الاحصائية في اتخاذ القرار " ، دار مجدلاوي الاردن ، الطبعة الاولى ، 251-237 ، (2005).



## تصنيف الغيوم فوق مدينة بغداد للأشهر المطيرة لسنة 1988

علي عبد عطية

قسم علوم الجو - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/23

## ABSTRACT

In this research, classification of clouds into five categories (AC, CU, ST, CI, AS), which covers the city of Baghdad for the year 1988 for the months rainfall January, February, March, April, October, November and December through analysis of data on upper-air recorded from a device (Alradyoussond) and taken from the Iraqi Meteorological At the time of monitoring (00:00) GMT and Time (12:00) GMT. It was noted that the clouds of medium height type (AC, AS) are the clouds prevailing in Iraq during the 1988 Both two times. Where A total number of clouds are as follows repeated 178 times for the clouds of the type (AC) and 141 times of clouds of type (AS). And the clouds of the type of CI is the least frequent in the skies of Baghdad for months of rain for the year 1988, amounted to 49 times. The clouds are the most rain are clouds cumulus medium (AC) and the clouds class medium (AS) in the first place and which are second Scattered low cumulus (CU) and the clouds of low-class (ST) which clouds the most presence over the city of Baghdad as they hit 87 visits to the clouds of the type ( CU) 94 times of clouds of the type (ST).

## الخلاصة

تم في هذا البحث تصنيف الغيوم الى خمسة اصناف (AC, CU, ST, CI, AS) والتي تغطي مدينة بغداد لسنة 1988 للأشهر المطيرة كانون الثاني، شباط، آذار، نيسان، تشرين الأول، تشرين الثاني وكانون الأول من خلال تحليل بيانات الهواء العلوي المسجلة من جهاز (الرادايوسوند) والمأخوذة من هيئة الانواء الجوية العراقية وفي وقت الرصد GMT ( 00:00) والوقت GMT (12:00) وقد لوحظ بان الغيوم المتوسطة الارتفاع من نوع (AC, AS) هي الغيوم السائدة في العراق خلال لسنة 1988 ولكلا الوقتين. حيث بلغ المجموع الكلي لتكرار تكون الغيوم كالتالي 178 مرة للغيوم من نوع (AC) و 141 مرة للغيوم من نوع (AS). وان الغيوم من نوع CI هي الأقل تكراراً في سماء بغداد للأشهر المطيرة لعام 1988 حيث بلغت 49 مرة. ان الغيوم الأكثر مطراً هي الغيوم الركامية المتوسطة (AC) والغيوم الطبقيّة المتوسطة (AS) بالدرجة الاولى والتي وتأتي بالدرجة الثانية غيوم منخفضة ركامية (CU) وغيوم منخفضة طبقيّة (ST) وهي الغيوم الأكثر تواجداً فوق مدينة بغداد حيث بلغت 87 مرة للغيوم من نوع (CU) 94 مرة للغيوم من نوع (ST).

## المقدمة

تعد الغيوم احد اهم العوامل الجوية حيث تلعب دوراً مهماً في التوازن الاشعاعي وكذلك تعد المصدر الرئيسي للأمطار والثلوج . درست مشكلة تصنيف الغيوم من قبل الباحثين والذين طبقوا مختلف الطرق تبعاً لغرض البحث . تتكون الغيوم من الماء المتبخر من البحار والبحيرات والمحيطات والأنهار ومن التربة الرطبة والنباتات . هذا الماء المتبخر الذي يسمى بخار الماء يتمدد ويبرد كلما ارتفع في الهواء . يستطيع الهواء حمل كمية معينة من بخار الماء عند أي درجة حرارة . ويحتوي الهواء الدافئ على كميات كبيرة من بخار الماء أكبر مما يحتويه الماء البارد، فإذا ما انخفضت درجة الحرارة، يبدأ بخار الماء إلى في التكثف) يتحول إلى سائل(، على هيئة قطيرات مائية دقيقة . ويحدث تكثيف بخار الماء عن طريق جسيمات عالقة لا بد من وجودها، وهي من الدقة بحيث لا ترى إلا بالمجهر . وهذه الجسيمات التي تسمى نويات التكاثف، تصبح مركز القطيرات . ويتراوح قطرها ما بين 0,01 و 0,1 ملم . وهي جسيمات ملحية صغيرة جداً أو جسيمات صغيرة موجودة في الدخان . [1]

وإذا انخفضت درجة الحرارة بشكل كاف، مع الاعتدال في الأحوال المناخية الأخرى، لا يتكثف بخار الماء إلى قطرات، إنما يتحول مباشرة إلى جليد بعملية تسمى التسامي . وتحدث هذه العملية فوق درجة حرارة  $40^{\circ}\text{C}$ ، وتحتاج إلى وجود جسيمات صغيرة شبيهة بنويات التكاثف وتأخذ شكل بلورات جليد تسمى نويات التجمد . [2]

تحتوي الغيوم غالباً على قطيرات الماء وجسيمات الجليد إذا كانت درجة الحرارة بين الصفر المئوي و  $40^{\circ}\text{C}$  . كما أن القطرات لا تتجمد في كل الأحوال عند درجة الصفر المئوي، فقد تبقى سائلة عند درجة  $40^{\circ}\text{C}$  . [3]

يتكون المطر أو الثلج (الجليد) عندما يتبخر الماء من القطيرات ويتجمد على هيئة بلورات جليد . ينمو الجليد ويكبر حتى يسقط من الغيوم إلى الأرض على هيئة ندفات ثلجية إلا إذا دخلت طبقة هوائية درجة حرارتها أقل من درجة التجمد، عندها تذوب الندفات وتتحول إلى قطرات مطر .

ويمكن أن يصعد بخار الماء في الهواء، وتتكون منه الغيوم بطرق مختلفة . فعندما تدفئ الشمس سطح الأرض، يسخن الهواء الملاصق للأرض . ويتصاعد الهواء الدافئ لأن كثافته أقل من كثافة الهواء البارد . وتسمى عملية ارتفاع الهواء الدافئ تيار الحمل . وتسمى هذه الطريقة في تكون الغيوم الحمل . [4] وكلما تصاعد الهواء، تمدد وانخفضت درجة حرارته . فإذا وجد في الهواء المتمدد بخار ماء كاف، يتكثف بخار الماء وتتكون منه الغيوم .

وتتكون الغيوم أيضاً عن طريق الرفع عندما يصعد الهواء الدافئ الرطب فوق منحدر الهضاب، أو على رؤوس الجبال، فيبرد الهواء بالتمدد، ويكون هذا سبباً في تكثف بخار الماء، وتكون الغيوم، التي تبقى عالقة فوق الجبال . [5]

تتكون الجبهات الهوائية عند التقاء كتل الهواء البارد بالهواء الدافئ، ومنها تتكون الغيوم بالنشاط الجبهوي. ثم يبرد بخار الماء في الهواء المتصاعد، ويتكثف على هيئة قطرات تتكون منها الغيوم [6]. تتشكل الغيوم عندما يرتفع الهواء الرطب ويصبح بارداً، ويرتفع الهواء إما 1- عن طريق الحمل أو 2-الرفع أو 3-النشاط الجبهوي. ولا يستطيع الهواء البارد حمل بخار الماء بقدر ما يستطيع الهواء الدافئ، فيتحول البخار الزائد إلى قطرات دقيقة من الماء أو بلورات ثلجية تشكل الغيوم [7].

### تصنيف الغيوم حسب الارتفاع

#### Classification of Clouds according to Height

يمكن أن تصنف الغيوم على أساس ارتفاعها عن سطح الأرض، فتقع قاعدتها على ارتفاعات عالية بالقرب من خط الاستواء، وتنخفض تدريجياً باتجاه القطبين، وتم تقسيمها دولياً إلى ثلاث اصناف: [8]

#### أولاً: الغيوم المنخفضة (Low Clouds)

وهي غيوم يبلغ ارتفاع قاعدتها عن سطح الأرض تتراوح بين (1500-2000) متر، يمكن ان تنقسم الغيوم المنخفضة الى أربعة انواع.

(الغيوم الطبقة) Stratus (St)، الغيوم ركامية، Cumulus (Cu) الغيوم الركامية المزنية، Cumulonimbus (Cb)، الغيوم الركام الطبقة. (Stratocumulus (Sc)

2 الستراتوس : (ST) تتألف من قطرات ماء دقيقة نتيجة صعود الهواء أو تبريد الهواء السطحي بواسطة الاشعاع الليلي .

3 الكيومولس : (CU) تتكون نتيجة التيارات الهوائية الصاعدة بسبب الحمل لذا فإنها تظهر عادة اثناء النهار خاصة بعد الظهر . [9]

#### ثانياً: الغيوم المتوسطة (Medium Clouds)

وهي غيوم يتراوح ارتفاع قاعدتها من سطح الأرض (2-4 Km) في المناطق القطبية، وتمتد الى (8 Km) في المناطق المدارية وتتكون هذه الغيوم في مناطق العروض الوسطى عادة بسبب الصعود القوي للهواء الدافئ الرطب وتنقسم هذه الغيوم الى ثلاثة أنواع.

الغيوم الركامية المتوسطة، Altostratus (As) الغيوم الطبقة المتوسطة Altostratus (As) والغيوم الطبقة المزنية، Nimbostratus (Ns)

4 التوستراتوس : (AS) تتكون من قطرات ماء أو بلورات الجليد ينتج عنها مطر أو ثلج أو برد. [10]

#### ثالثاً: الغيوم العالية (High Clouds)

وهي غيوم يتراوح مدى ارتفاع قاعدتها من (4-8) كم، وفي المناطق المدارية تمتد قمة الغيوم الى 20 كم، وتتألف الغيوم من بلورات جليدية دقيقة لأن درجة حرارتها منخفضة وتنقسم الغيوم العالية الى ثلاثة أنواع.

الغيوم السحاقية، Cirrus (CI) الغيوم السحاقية الركامية Cirrocumulus (Cc) والغيوم السحاقية الطبقة. [11] (Cirrostratus (Cs)

## المواد وطرائق العمل

### Data and study area

### البيانات ومنطقة الدراسة

تم الحصول على البيانات الانوائية لطبقات الجو العليا (الهواء العلوي) المسجلة بواسطة جهاز الراديو سوند والتي تشمل (الضغط، درجة الحرارة و درجة الندى) والمأخوذة من الهيئة العامة للأشهر الجوية والرصد الزلزالي في مدينة بغداد لسنة 1988 والذي تتميز بانها سنة مطيرة جيدة وتم دراسة الأشهر المطيرة) كانون الثاني، شباط، آذار، نيسان، تشرين الأول، تشرين الثاني، كانون الأول. (وفي وقت الرصد GMT (00:00) والوقت GMT (12:00) وتم تحليل هذه البيانات باستخدام برنامج RAOB والمستخدم في الكثير من دول العالم. حيث يستخدم برنامج RAOB لتحليل التوزيعات الراسية لدرجة الحرارة ودرجة الندى وكذلك في سرعة الرياح واستخراج الكثير من العناصر الجوية والقيم التي تستخرج في الأنواء الجوية والتنبؤات الجوية. ومن هذه القيم ارتفاع طبقة التروبوز ومستوى الانجماد ومستوى التكثف الحملية ومستوى التكثف الرفعي وكمية الماء المتساقطة وأنواع الجسيمات الثلجية والطاقة الحملية الكامنة للعواصف الرعدية وغيرها من العناصر الجوية الأخرى. والرسم على المخططات الترموديناميكية باستخدام مخطط التي فاي-كرام (Tephigram) وبرنامج (RAOB 5.8) المستخدم في هيئة الأرصاد الجوية الأمريكية وهو من البرامج المتخصصة في رسم البيانات الانوائية على المخططات الترموديناميكية المختلفة وله استخدامات واسعة في العالم حيث باستطاعته استخراج أكثر من 100 عنصر جوي كدرجة الحرارة والضغط والارتفاع والرطوبة النسبية ومستوى التكثف الرفعي وأنواع الغيوم وسمكها وارتفاع قاعدتها.. الخ، وكذلك تم استخدام برنامج (Microsoft Excel 2003) لتحليل ورسم العلاقات لأيام الأشهر المطيرة بين العناصر الانوائية الجوية المختلفة.

### طريقة العمل Methodology

تم استخدام برنامج RAOB والذي يتميز بالكفاءة والسرعة مقارنة مع الوسائل التقليدية، لتحليل التوزيعات الراسية لدرجة الحرارة ودرجة الندى والمستويات الظغمية المناظرة لهما. و تحليل ورسم العلاقات لأيام الأشهر المطيرة بين العناصر الانوائية الجوية. وكذلك تحديد نوعية الغيوم لأيام الممطرة بالاعتماد على بيانات يومية مأخوذة من جهاز الراديو سوند في دائرة الأنواء الجوية العراقية لسنة 1988. وتم استخدام البرنامج الاحصائي (Microsoft Office Excel 2003) لحساب التكرارات لأيام الممطرة حسب نوع الغيوم وتمثيلها بيانياً. وتم تحليل هذه البيانات باستخدام برنامج RAOB والمستخدم في الكثير من دول العالم. حيث يستخدم برنامج RAOB لتحليل التوزيعات الراسية لدرجة الحرارة ودرجة الندى وكذلك في سرعة الرياح واستخراج الكثير من العناصر الجوية والقيم التي تستخرج في الأنواء الجوية والتنبؤات الجوية. ومن هذه القيم ارتفاع طبقة التروبوز ومستوى الانجماد ومستوى التكثف الحملية ومستوى التكثف الرفعي وكمية الماء المتساقطة وأنواع الجسيمات الثلجية والطاقة الحملية الكامنة للعواصف الرعدية وغيرها من



العناصر الجوية الأخرى، والرسم على المخططات الترموديناميكية. باستخدام مخطط التي-فاي-كرام (Tephigram) وبرنامج (RAOB 5.8) المستخدم في هيئة الأرصاد الجوية الأمريكية وهو من البرامج المتخصصة في رسم البيانات الانوائية على المخططات الترموديناميكية المختلفة وله استخدامات واسعة في العالم حيث باستطاعته استخراج أكثر من 100 عنصر جوي كدرجة الحرارة والضغط والارتفاع والرطوبة النسبية ومستوى التكثف الرفعي وأنواع الغيوم وسمكها وارتفاع قاعدتها.. الخ.

### النتائج والمناقشة

تضمنت الدراسة تصنيف الغيوم من خلال حساب نوعية الغيوم وعدد تكرارها التي تغطي منطقة الدراسة كما هو موضح في الجداول والرسوم أدناه.

1- بينت الدراسة في الوقت GMT (00.00) أن الغيوم من نوع (AC) هي الأكثر تكراراً

حيث بلغ تكرارها 105 مرة وأقل تكراراً هي الغيوم من النوع (CI) وكان تكرارها 32 مرة

فقط. في حين بلغ تكرار الغيوم من نوع (AS, CU, ST) هو (82, 40, 47) مرة على

التوالي وكما في الجدول والشكل رقم (1)

2- أما في الوقت GMT (12.00) فكانت الغيوم الأكثر تكراراً هي من نوع (AC) أيضاً

وبلغ تكرارها (73) مرة وأقل الغيوم تكراراً هي من النوع (CI) وكان تكرارها (17) مرة

فقط. في حين بلغ تكرار الغيوم من نوع (AS, CU, ST) هو (59, 47, 47) مرة على

التوالي وكما في الجدول والشكل رقم (2)

3- أما في المجموع الكلي لتكرار تكون الغيوم لكلا الوقتين GMT (00.00 , 12.00) فكان

كالتالي 178 مرة للغيوم من نوع (AC) 141 مرة للغيوم من نوع (AS) و 87 مرة

للغيوم من نوع (CU) 94 مرة للغيوم من نوع (ST) 49 مرة للغيوم من نوع (CI) . كما

في الجدول والشكل رقم (3)

4- وبهذا تكون نسبة التكرار للغيوم من نوع (AC) هي 32% و 25% للغيوم (AS) و

17% للغيوم من نوع (CU) و 16% للغيوم من نوع (ST) و 9% للغيوم من نوع

(CI) .

5- أن الغيوم الأكثر مطراً هي الغيوم الركامية المتوسطة (AC) والغيوم الطبقيّة المتوسطة

(AS) بالدرجة الأولى والتي يتراوح ارتفاع قاعدتها (2-4-8 Km) وتأتي بالدرجة الثانية

غيوم منخفضة ركامية (CU) وغيوم منخفضة طبقيّة (ST) ويتراوح ارتفاع قاعدتها

(1000-200m) .



علي

جدول 1- : نوعية الغيوم وعدد التكرارات للعام المطري 1988 في الوقت GMT ( 00:00 )

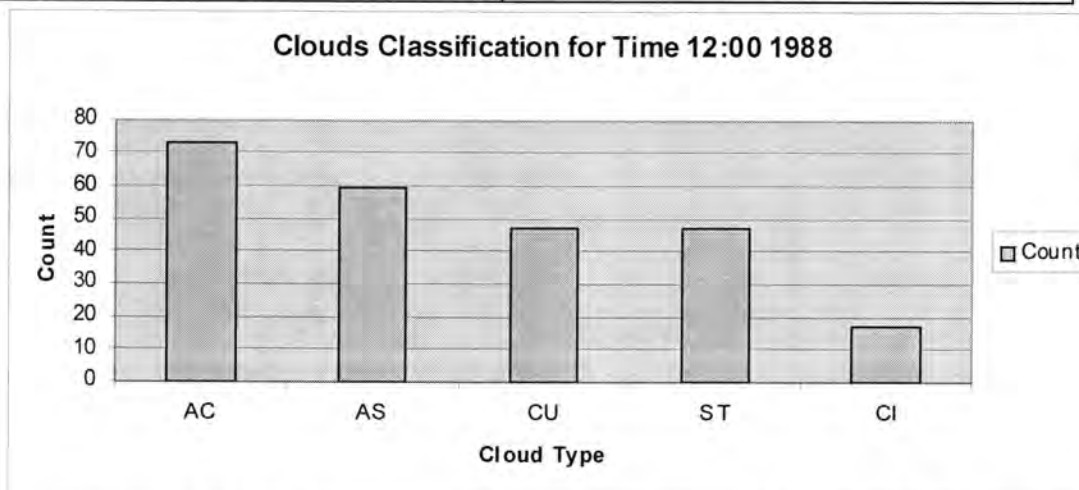
نوعية الغيوم	عدد التكرارات
AC	105
AS	82
CU	40
ST	47
CI	32

جدول 2- : نوعية الغيوم وعدد التكرارات للعام المطري 1988 في الوقت GMT ( 12:00 )

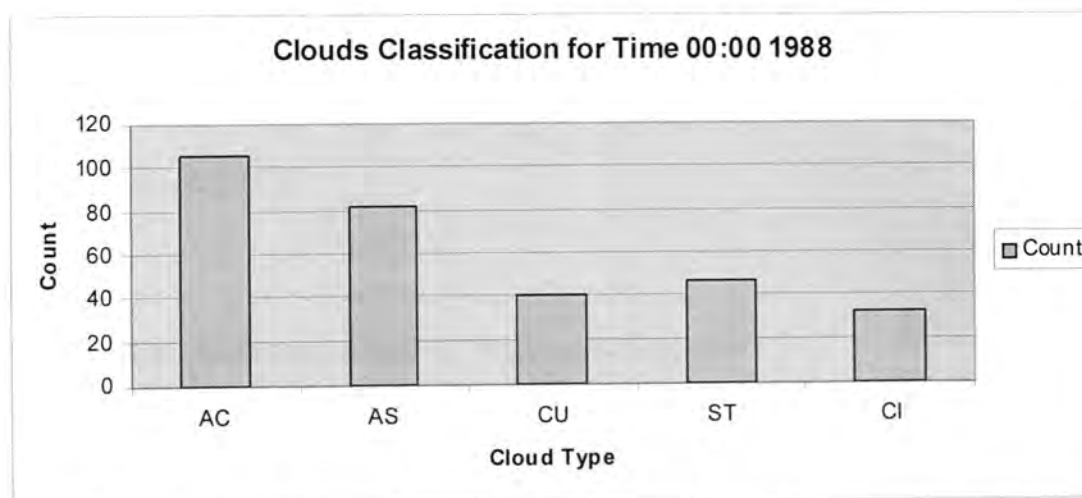
نوعية الغيوم	عدد التكرارات
AC	73
AS	59
CU	47
ST	47
CI	17

جدول 3- : نوعية الغيوم والتكرارات للعام المطري 1988 في الوقت GMT ( 0.00 ,12:00 )

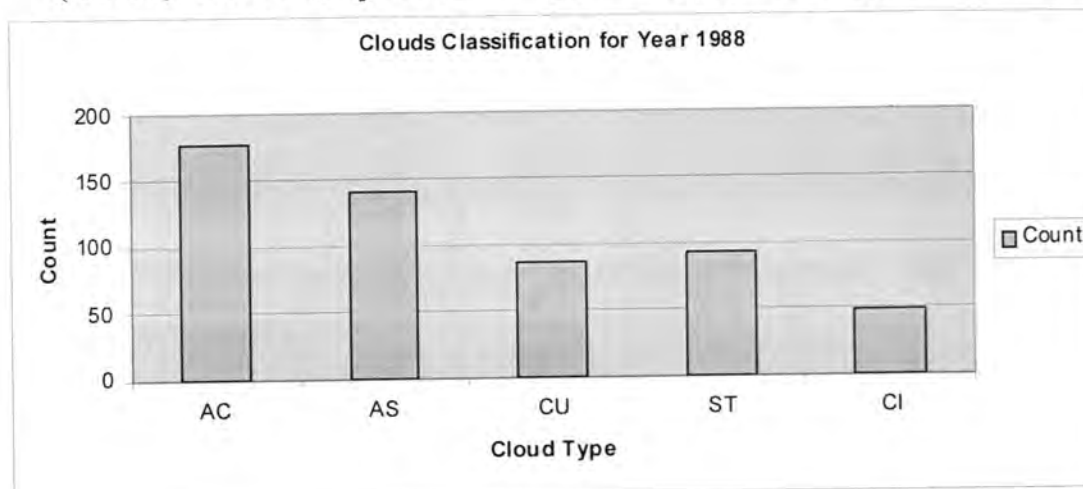
نوعية الغيوم	عدد التكرارات
AC	178
AS	141
CU	87
ST	94
CI	49



شكل 1- : العلاقة بين نوعية الغيوم وعدد التكرارات لسنة 1988 في الوقت GMT (12:00)



شكل-2 : العلاقة بين نوعية الغيوم وعدد التكرار لسنة 1988 في الوقت GMT (00:00)



شكل-3 : العلاقة بين نوعية الغيوم وعدد التكرار لسنة 1988 في الوقت GMT (00.00 ,12:00)

ومما سبق يمكن أن نستنتج :

- 1- تتميز الغيوم التي تغطي العراق بشكل عام وفي بغداد بشكل خاص بأنها غيوم دافئة ناتجة من عملية التصادم والالتحام لأن النوع السائد الذي يغطي منطقة بغداد هو (AS) و (AC)
- 2- ان الغيوم الأكثر مطراً التي تغطي العراق بشكل عام وفي بغداد بشكل خاص هي الغيوم الركامية المتوسطة (AC) والغيوم الطبقيّة المتوسطة (AS) بالدرجة الاولى والتي وتأتي بالدرجة الثانية غيوم منخفضة ركامية (CU) وغيوم منخفضة طبقيّة (ST) وهي الغيوم الأكثر تواجداً فوق مدينة بغداد . وتعتبر سنة 1988 من افضل السنين المطيرة قياساً بالسنوات.
- 3- في الوقت GMT (00.00) كانت الغيوم من نوع (AC) هي الأكثر تكراراً وقل تكراراً هي الغيوم من النوع (CI) وكما في الجدول والشكل رقم (1)
- 4- اما في الوقت GMT (12.00) فكانت الغيوم الأكثر تكراراً هي من نوع (AC) وقل الغيوم تكراراً

علي

- هي من النوع (CI) وكما في الجدول والشكل رقم (2)
- 5- اما في المجموع الكلي لتكرار تكون الغيوم لكلا الوقتين GMT (12.00 , 00.00) فكانت الغيوم من نوع (AC) هي الغيوم الأكثر تكرارا والغيوم من نوع (CI) هي الغيوم الأقل تكرارا كما في الجدول والشكل رقم . (3)

#### فائدة البحث:

- 1 معرفة نوعية الغيوم السائدة بصورة عامة في العراق وخاصة في بغداد
- 2 معرفة الغيوم الأكثر تواجدا وتكرارا في سماء بغداد
- 3 المساهمة في عملية الأمطار الصناعية من خلال معرفة الغيوم السائدة في العراق

#### المصادر

- [1] فرج، حامد احمد :عمليات الأستططار، الهيئة العامة للطيران المدني والأرصاد المصرية (2002).
- [2] الفتلاوي، الدكتور نعمة محسن لفته ، فيزياء الغيوم، الجامعة المستنصرية -كلية العلوم - قسم علوم الجو (2007) .
- [3] Met Office College for professional training to meteorological organizations internationally.(2007)
- [4] الكناني، باسم عبد السادة:محاكاة عددية لنظرية التصادم والالتحام لقطيرا المطر، رسالة ماجستير مقدمة الى كلية العلوم -الجامعة المستنصرية. (2006)
- [5] J. Thompson, Anne . "Simulating the Adiabatic Ascent of Atmospheric Air Parcels using the Cloud Chamber". Department of Meteorology, Penn State. (2007)
- [6] د. و. بييري :فيزياء السحب، مرصد بلوهل المتروولوجي /جامعة هارفارد، ترجمة وزارة التربية والتعليم -مصر(1961)

- Battan Louis J.,: Cloud Physics, Abopular Introduction to Applied Meteorology. Dover Publications, INC, Mineola, New York.( 2003) [7]
- User's Guide and Technical Manual for The Universal RAwinsonde OBServation Program Environmental Research Services, LCC [www.raob.com](http://www.raob.com). (2007) [8]
- Charles Doutriaux, "*Thermodynamic Diagrams Basics of Skew-T plot*", PCMDI Software Portal.(2008) [9]

## الاستخدام الموحد لبيانات الاستشعار عن بعد ونظم المعلومات الجغرافية في مراقبة التغيرات البيئية لاهوار العراق الجنوبية

صباح نوري كاظم واسراء قحطان عبد الكريم وحسن حميد كاطع

الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الجو

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/17

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

### ABSTRACT

This study has been executed in order to make an inventory identify different land cover types in the marsh land region. many environmental changes had occur between 1973 and 2004 . these changes have been detected by using space images of (MSS)sensor aboard land sat 1 and en hand thematic mapper (ETM+) sensor aboard land sat 7.the (MSS) image represents the natural environment of the marshes in 1973 , while the (ETM+)image represents the results of man interference processes include drying out and reflooding . marsh ecosystem including soil vegetation and water characteristics have been affected severely by these processes .this study focused on differences in land use and land cover types as well as water bodies regarding area and water quality. digital image processing has been utilized to produce digital maps by supervised classification and Erdas v.(8.7) in Geographic information system (GIS)for 1973 and 2004 images we used global positioning system (GPS) for plotting test sites on the ground to represent land use /land cover and laboratory analyses for soil and water samples . the results of supervised classification revealed the existence of different spectral classes between 1973 and 2004 these differences reflect the different distribution of land cover including water bodies between 1973 and 2004 . the results of this research clarify the possibility of the combination use of RS data and GIS to identify land cover types with special at tension to hydrological circumstances depending on spectral behavior each cover type ( soil, water and vegetation).

### الخلاصة

نفذت هذه الدراسة لجرد واحصاء انواع الاغطية الارضية في مناطق الاهوار الجنوبية بسبب التغيرات الحاصلة في الظروف البيئية للاعوام (1973 و 2004) وباستخدام صور لاند سات 1، لاند سات 7 (MSS,ETM+). حيث تمثل الصورة الفضائية لسنة 1973 الاهوار قبل التجفيف في حين تمثل الصورة الفضائية لسنة 2004 اعادة الاغمار للاهوار .وبسبب عامل التجفيف تأثرت المكونات البيئية من التربة والمياه والغطاء الخضري بشكل سلبي. ركزت هذه الدراسة على الاختلافات في نوع استخدام الارض والغطاء النباتي والمسطحات المائية من حيث المساحة ونوعية المياه. حيث تم ترسيم خارطة رقمية



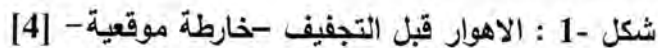
صباح واسراء وحسن

باستخدام برنامج (Erdas v.8.7) بأسلوب التصنيف الرقمي الموجه (supervised classification) لعام 1973 و 2004. دونت الملاحظات الميدانية عن طبيعة الارض وغطائها ونتائج التحليل المختبرية لنماذج التربة والمياه والتي تم تحديد مواقعها على الصورة والارض بواسطة جهاز تحديد الموقع GPS. اظهرت نتائج التصنيف الرقمي الموجة عن وجود اصناف طيفية spectral classes مختلفة للاعوام 1973 و 2004 تعكس توزيع الاغطية الارضية والمساحات المغمورة بالمياه مع اختلاف واضح بين عامي 1973 و 2004 بسبب اختلاف الظروف البيئية بالمنطقة مع تدهور واضح في نوعية المياه ودرجة صلاحيتها في هور الحويزة حسب ما افرزته نتائج التحليل المختبرية. لقد اوضحت نتائج البحث عن امكانية استخدام GIS, RS في تشخيص الاغطية الارضية و خاصة ما يتعلق بالظروف المائية اعتمادا على السلوك الطيفي لكل نوع من الاغطية كالتربة والمياه والنبات .

### المقدمة

الاستشعار عن بعد علم وفن يهدف الحصول على معلومات عن الظواهر والاجسام الطبيعية وفق عملية عدم التماس واستخدام الموجات الكهرومغناطيسية وتحليل المعطيات التي يتم الحصول عليها بالمتحسسات والتي تشخص نتيجة لاختلاف الاغطية الارضية بخصائصها الكيميائية والفيزيائية [1]. ولغرض اثبات الاستشعارية يجب اعتماد الحقيقة الارضية (ground truth) ومواقع الفحص (test area) [2] ان تحليل المعطيات الفضائية وتصنيفها الى اصناف طيفية (spectral classes) وتنظيمها على شكل خرائط او جداول او ملفات حاسوبية (computer files) لتكوين عدد من الطبقات (layers) التي يمكن دمجها باستخدام نظم المعلومات الجغرافية (GIS) [3].

تقع اهوار العراق الجنوبية في حوض وادي الرافدين الادنى وتغطي مساحة كلية (36000 كم<sup>2</sup>) عام 1958 [4] وتتضمن هذه الاهوار ثلاثة احزمة هي هور الحويزة والحمار والاهوار الوسطى (اهوار القرنه) كما موضح بالشكل (1) [5] منطقة الاهوار هي جزء من منخفض واسع ونشط تكتونيا ويمر بمرحلة خسف او هبوط . وتعد ترب الاهوار ترب رسوبية حديثة التكوين (entisols) ذات ترسبات نهريه (alluvium sediments) لعب الانسان دور فعال ومهم في تكوين ترب المنطقة من خلال العديد من العمليات التي اثرت في بيئة المنطقة وخاصة التغيرات المائية نتيجة بناء السدود وخرن المياه وعمليات التجفيف والحرق والاستزراع وعمل السدود الترابية اضافة الى تأثير عامل المناخ والتبخر العالي مما اثرعلى نوعية المياه وصلاحيتها خاصة التوصيل الكهربائي (electrical conductivity) وهي معايير تحدد صلاحية المياه [6]



للمناطق الرطبة (wet lands ecosystem) في الشرق الاوسط .تعرضت هذه المنظومة الى عمليات التجفيف (desiccation) مما احدث تدمير للبيئة وتغيير استخدام الارض وقطع مصادر المياه مما دعى الى اعادة اغمار وانعاش للمنطقة (restoration). ان التغييرات التي حدثت على خصائص الترب والمياه وطبيعة المنطقة بسبب عمليات التدخل البشري من تجفيف واغمار وحرق وعمليات زراعية انعكست على خصائص وتصنيف التربة والمياه والنظم البيئية والتنوع الاحيائي [6]. حيث اكدت بعض الدول المشاركة في ادارة المناطق الرطبة في جنوب العراق من خلال منظمات دولية متخصصة مثل وكالة التطور الدولي الكندية (CIDA) بالتعاون مع جامعة ووترلور وبرنامج الامم المتحدة للبيئة (UNEP) وصندوق الامم المتحدة لتنمية العراق (UNDG) وبرنامج اعادة اصلاح مناطق احوار العراق التابع ل(USAID)

1- استخدام التصنيف الرقمي في تحديد الاغطية الارضية اعتمادا على الحقيقة الارضية  
2- كشف التغيرات البيئية من خلال اجراء مقارنة بين الالهوار الطبيعية لعام 1973 وبعد عمليات الاغمار  
عام 2004

232

صباح واسراء وحسن

## المواد وطرائق العمل

جمعت المعلومات المصدريّة reference data ذات العلاقة بالمنطقة من دراسات وتقارير وخرائط وتم تحضير صور فضائية للقمر الصناعي landsat-1 لعام 1973 للمتحمس (MSS) (spatial resolution 79x57cm) وصور فضائية للقمر الصناعي landsat-7 لعام 2004 للمتحمس (ETM+) (enhanced thematic mapper) (resolution 30x30). تم معالجة الصور وتصحيحها من حيث التباين والحافات في مركز GIS المركز الوطني لإدارة الموارد المائية وقد تم اعتماد المعلومات الميدانية باختيار مناطق اختبار test area على الصورة الفضائية وفحصها على الأرض بما تعرف بالحقيقة الأرضية (ground truth) واستخدم التصنيف الرقمي الموجه (supervised digital classification) باستخدام برنامج (erdas, 2000, v.8.7) وبالاعتماد على استخدام جهاز تحديد المواقع (GPS) نوع (etrex) لتحديد مواقع الاغطية الأرضية واستخدامات الأرض وخاصة المعلومات المتعلقة بالمياه من حيث العمق والنوعية والنباتات المائية ومصادر المياه كم اخذت نماذج لمياه وتربة لمواقع الاختبار وتم قياس ملوحة المياه ميدانيا بواسطة جهاز ec-meter الحقلية كما تم رسم خرائط استخدام الأرض وغطائها اعتمادا على نظام (Anderson) والمستخدم من قبل المسوحات الجيولوجية في الولايات المتحدة الأمريكية ولكونه يتلائم مع تفسير الصور الفضائية وقد تم اجراء بعض التحويرات في هذا النظام بما يتلائم مع مناطق الاهوار وقد تم اعتماد برامج GIS نظم المعلومات الجغرافية المتوفرة في مركز GIS

وهي ARC/info, MAP/info, Erdas/image. تم عزل طبقة المياه لاغراض المقارنة بين 1973 و2004 بحساب المساحات المغمورة والجافة للاهوار الجنوبية على ضوء المعطيات الفضائية، المعطيات المرجعية، الدراسات الميدانية والتحليل المختبري يمكن اعطاء بعض الاستنتاجات والتوصيات في مجال دراسة مناطق الاهوار وخاصة ما يتعلق بالظروف المائية السطحية وتم اعتماد الدراسات السابقة [5]

## النتائج والمناقشة

تم تحديد انواع الاغطية الأرضية واستخدامات الأرض موقعا بواسطة جهاز GPS واعتمادا على التغيرات اللونية للصورة ووزعت الاصناف الطيفية الى مستويات تصنيف كما موضح بالجدول (1) وتطبيقا للنظام (Anderson) [8] المحور حسب ما يلائم بيئة الاهوار وذلك كونه تصنيف مرجعي شامل وسيم علميا ومنهجي ويتضمن كافة الاغطية الأرضية وبثلاث مستويات عامة وثانوية وخاصة صنفت الصور الفضائية لعام 1973 والتي تمثل الحالة الطبيعية للاهوار قبل عملية التجفيف باستخدام (صنفت الصور الفضائية لعام 1973 والتي تمثل الحالة الطبيعية للاهوار قبل عملية التجفيف باستخدام (erdas v.8.7) رسمت الخارطة بمقياس 1:250000 وعكست 13 صنف من استخدام

الارض اضافة الى مواقع غير مصنفة كما موضح بالشكل (2) وكان واضحا السيادة للاصناف ذات العلاقة بالمواقع الرطبة والمائية مثل (1.3) والذي يمثل صنف مياه عميقة خالية من التبات باللون الازرق الغامق و(2.3) مياه متوسطة العمق وضحلة مع غطاء نباتي من القصب والبردي والاسل وبلون الازرق الفاتح اضافة الى مناطق الاغمار الموسمي (3.3) وتحيط بالمسطحات المائية مناطق زراعية والمتضمنة (1.2) اراضي بور، (2.2) اراضي محاصيل زراعية و(3.2) اراضي بساتين ويمكن ملاحظة كافة الاغطية والوانها في الشكل (2)

واظهرت نتائج التفسير الرقمي الموجه والعمل الميداني عن وجود فروقات واسعة بانواع الاغطية ومساحاتها بين صوررة 1973 و2004 لاختلاف الوضع المائي خلال 34 سنة وعند مقارنة المساحة لاهوار الجنوب في ظل الظروف الطبيعية 1973 قبل التجفيف وفي ظل الظروف السائدة بعد التجفيف 2004 نلاحظ انه تبقى من الاهوار ما يمثل 25% وفي منطقة هور الحويزة حصرا كما موضح في الشكل (3)

صنفت الصورة الفضائية لعام 2004 للقمر الصناعي landsat-7 بالمتحس ETM+ وتمثل الصورة مرحلة بدء الاغمار للاهوار رسمت الخريطة بمقياس 1:250000 واظهرت 14 صنف لاستخدام الارض كما موضح بالشكل (4)

حيث كانت السيادة للترب الملحية والجرداء (1.4) والترب الغدقة (2.4) والاراضي المتاثرة والتعرية الريحية (3.4)، (4.4)

جدول 1- : التصنيف المكيف لغطية الارض في الاهوال العراقية والمستخدم من قبل دائرة المسح

الجيولوجي الامريكية لاغراض بيانات التحسس النائي [1]

المستوى الاول	المستوى الثاني	المستوى الثالث
1-الاراضي السكنية المدنية		
2-الاراضي الزراعية	1.2 اراضي بور 2.2 اراضي محاصيل زراعية 3.2 اراضي بساتين النخيل	1.2.2 محاصيل شتوية محاصيل صيفية 3.2.2 قصب السكر
3-الاهوار والمستنقعات	1.3 مياه عميقة خالية من النباتات الطبيعية 2.3 مياه متوسطة العمق وضحلة مع وجود النباتات الطبيعية 3.3 مناطق الاغمار الموسمي	1.2.3 قصب مع مياه عمقها اكثر من 80 سم 2.2.3 بردي مع مياه عمقها (40-80)سم

صباح واسراء وحسن






4- الاراضي والترب الجرداء	1.4 اراضي ملحية 2.4 اراضي رطبة وغدقة 3.4 اراضي جبسية 4.4 اراضي متأثرة بالتعرية الريحية	1.1.4 اراضي ملحية جافة 2.1.4 اراضي ملحية متميعة 1.3.4 اراضي جبسية بنسبة عالية 2.3.4 اراضي جبسية بنسبة منخفضة
---------------------------	---	---

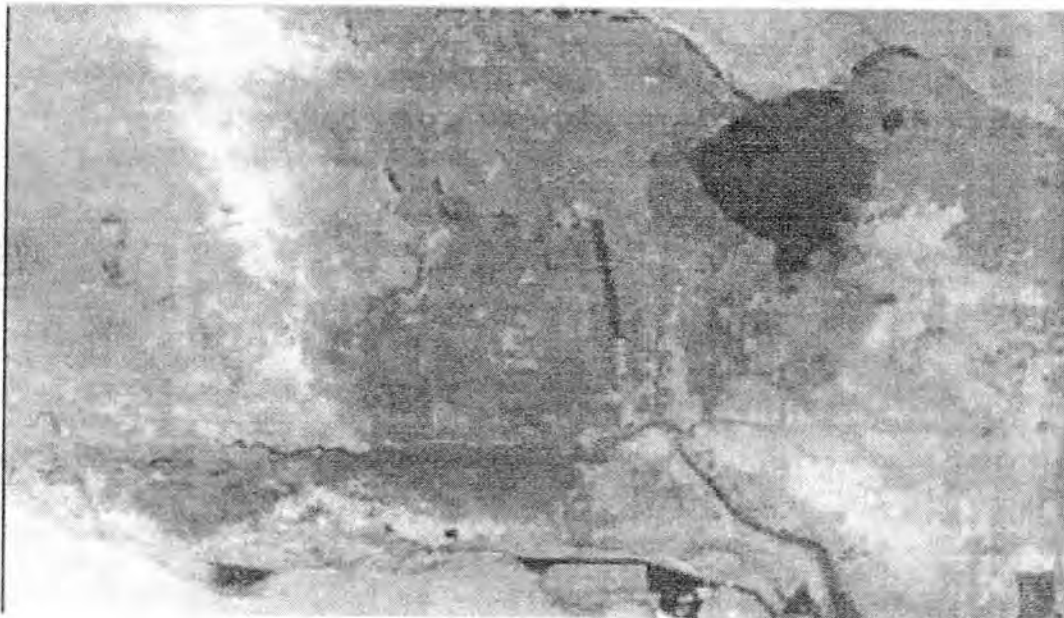
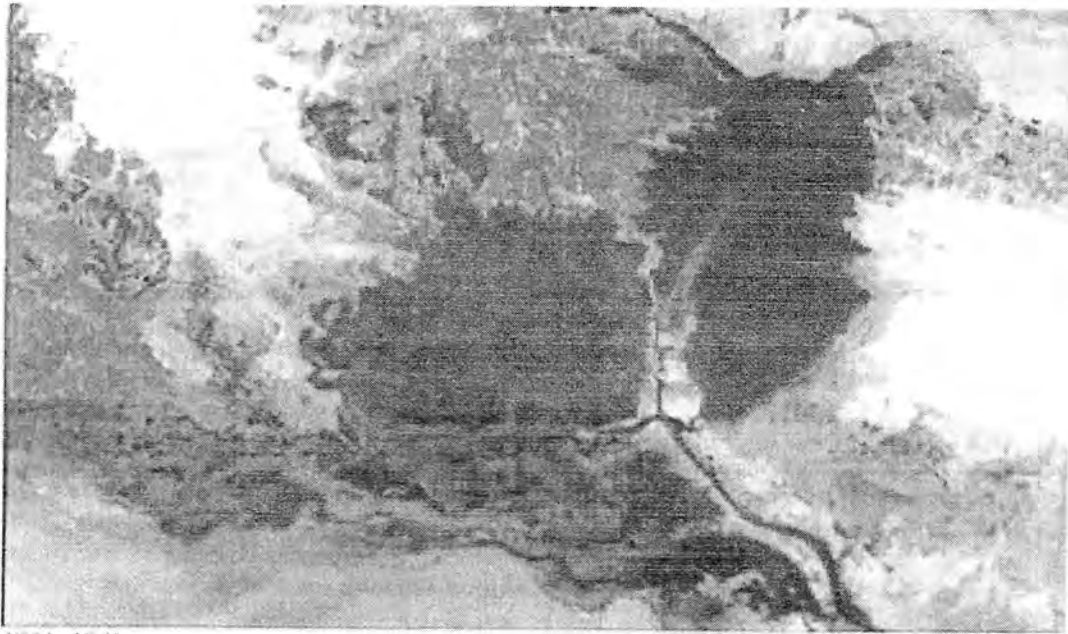


شكل 2- تصنيف اغطية الارض للمتحمس ( MSS ) لسنة 1973 [9] والصورة ادناه توضح الوان التصنيف

1	Un classified	
2	Gypsiferous land	
3	Deep water with out vegetation	
4	Rush with water (depth 40-80 cm)	
5	Reed with water (depth > 80 cm )	
6	Winter crops	
7	Periodically water pond	
8	Sugar cane	

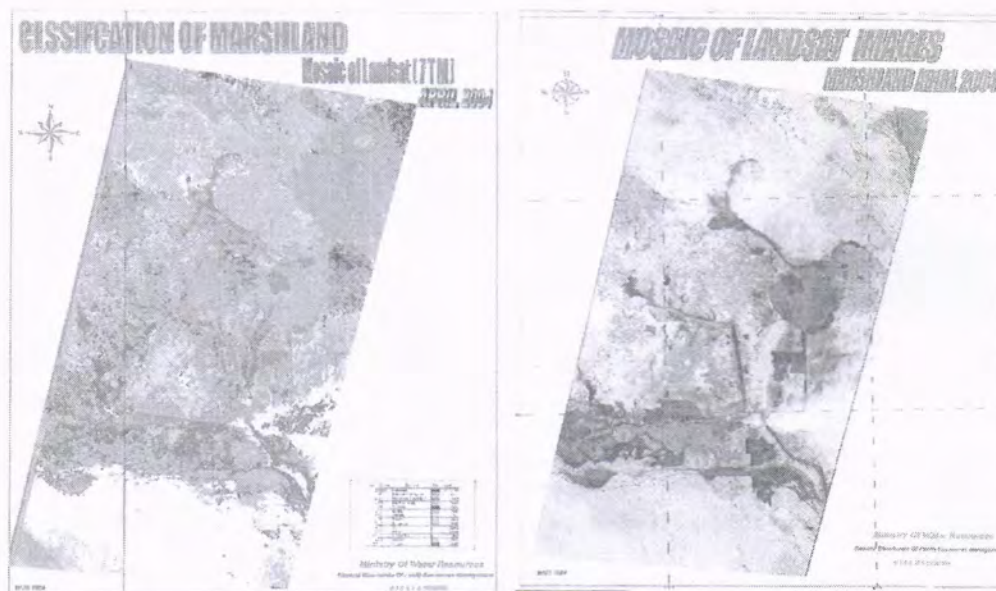


9	Summer crops	
10	Bare land	
11	Dry salt land	
12	Man infr	
13	Date palm	



شكل 3- : مقارنة للاهوار قبل التجفيف وبعده [9]

صباح واسراء وحسن



شكل-4 : تصنيف اغطية الارض للمتحمس (ETM +) لسنة 2004 [9] والصورة ادناه توضح النوان التصنيف

1	Un classified	
2	Gypsifereous land	
3	Deep water with out vegetation	
4	Salty land with hydrated salt	
5	Reed with water (depth> 80 cm )	
6	Winter crops	
7	Periodically water pond	
8	Dry land affected by wind erosion	
9	Summer crops	
10	Bare land	
11	Dry salt land	
12	Wet land	
13	Date palm	

كما للعمل الميداني بروز واضح لاصناف النباتات المحبة للملوحة مثل الطرقة والطريق والشوبل حيث بداءت زيادة ملوحة واضحة في مساحات المناطق المغمورة خلال الاعوام 2003 و 2004 واصبحت حالة تداخل في الانظمة البيئية والتنوع الاحيائي حيث تداخلت النباتات الملحية مع النباتات المائية والجدول 2 و 3 يوضح حالات التغير مع الزمن بين مرحلة التجفيف وبدء الاغمار

جدول 2-: التغيرات البيئية فيما يخص الظروف المائية والتربة والغطاء الخضري

الاهوار سنة 1973 شباط للقمر لاند سات - 1	الاهوار سنة 2004 نيسان لاندسات - 7
المتحسس MSS	المتحسس + ETM
1-المساحة المغمورة (8900) كم <sup>2</sup> النسبة 100%	1-المساحة المغمورة بالمياه تقارب (3120) كم <sup>2</sup> اي تشكل نسبة 35%
2-كثافة الغطاء الخضري للقصب والبردي عالية جدا 80%	2-كثافة الغطاء الخضري للقصب والبردي والجولان بدعت تتزايد وتشكل 35%
3-بيئة اهوار متكاملة	3-بيئة اهوار متداخلة الانظمة
4-سيادة النباتات المائية ونباتات المناطق الغرقة والرطبة	4-اختلاط وتداخل للمجمعات النباتية المائية والملحية
5-ترب مغمورة مع ارتفاع مناسب المياه الجوفية في المناطق المتاخمة للاهوار	5-ترب ملحية ولا زالت قسم من الترب ملحية جافة غير مغمورة
6-ملوحة التربة s1-s2 (4-10ds/m)	6-ملوحة التربة s2.s3.s4 (10-30)ds/m بسبب التجفيف
7-سيادة زراعة محصول الرز على حافات الاهوار	7-زراعة الرز ضعيفة الى معدومة في بعض المواقع بسبب عمليات التجفيف
8-النظام المائي متوازن ومستقر وبدورة مائية منتظمة	8-فتح منافذ التخزين المائي والمصارف وازالة السدود الترايبية ونسبة 30%
9-تعد الاهوار محمية طبيعية ومنظومة بيئية بكر وعذراء	9-تدخل الانسان وتغير الظروف البيئية اثرت على هذه المنظومة



صباح واسراء وحسن

10- وجود كافة اصناف المياه الموسمية والضحلة والعميقة مع وجود ترب رطبة	10- اعيدت قسم منها ولكن بمساحات اقل من الحالة الاولى
11- الاستغلال الزراعي والنمط الزراعي متعدد والمساحات واسعة خاصة محصول الرز	11- الاستغلال الزراعي تأثر بالعوامل المحددة للانتاج الزراعي وقيمة المياه وارتفاع الملوحة
12- حالات التلوث قليلة جدا لوجود حالات موازنة وتغير مستمر لنوعية المياه والموازنة المائية مستقرة	12- وجود مظاهر التملح والجفاف والقشرة الملحية وحالات تلوث عضوي
13- مصادر التغذية والتصريف مستمرة مع وجود انخفاض نسبي في مواسم الجفاف	13- مصادر التغذية والتصريف تأثرت بمشروع GAP والتغيرات المناخية والانسان
14- نمط الصرف مركزي باتجاه الاهوار مع وجود حالات رشح	14- نمط الصرف تأثر بالسدود والانهر الصناعية ومشاريع الاستصلاح
15- نوعية المياه جيدة وملوحتها تتراوح ( 1-1.5 ds/m )	15- تأثرت نوعية المياه بشحنتها وانخفاض مناسب المياه ( 3-5 ds/m )
16- الظروف المائية والتوازن البيئي والتنوع الاحيائي ذو جدوى اقتصادية لسكان الاهوار	17- بعد عمليات التجفيف واعادة الاعمار الجزئي تأثرت المنطقة اقتصاديا وبيئيا نتيجة للخرق البيئي للمنظومة

وقد اظهرت حسابات المسطحات المائية للفترة (1973-2004) عن وجود مناطق اهور لازالت غير مغمورة وقد لايمكن اعادة احيائها بسبب تدخل العامل البشري واستخدامات الارض والتغيرات المناخية ومشاريع السدود مما يحتم ايجاد مناطق محدودة يمكن استخدامها كاهوار والجدول (3) يوضح اختلافات مساحات الاهوار المحسوبة من الشكل (4)

جدول 3- مقارنة بين مساحات الاهوار ما قبل التجفيف وما بعد الاغمار وحسابها  
من صورة لاندسات 7- (2004)

اسم الهور	الموقع الجغرافي	المساحة الكلية بالكيلومتر مربع	المساحة التي اعيد اغمارها (2004)	موقع الهور
1-الاهوار الوسطى	N 31:48-31:00 E47:18-46:30	2400	600	شمال القرنة غرب دجلة ايسر الفرات
2-هور الحمار	N31:00-30:00 E47:40-46:30	3000	620	غرب دجلة ايمن الفرات
3-هور الحويزة	N31:75-31:00 E48:00-47:18	3500	1900	شرق دجلة
المجموع		8900	3120	

نسبة الاغمار من مساحة 8900 كم<sup>2</sup> تعادل 35% ان نسبة الاغمار تعتمد على الظروف المائية لمنطقة الدراسة وكميات المياه الواردة من دول الجوار وكذلك تتأثر بمعدلات سقوط الامطار والسيول في المناطق المتاخمة للاهوار ويمكن دعمها بواسطة مياه البزل من المشاريع القريبة لغرض ادامة التكامل البيئي والتنمية المستدامة لمناطق الاهوار اضافة الى ادارة الموارد المائية

### الاستنتاجات

- 1- تعد تقنيات التحسس النائي (RS) وانظمة المعلومات الجغرافية (GIS) وسيلة فعالة في ترسيم الظروف البيئية المختلفة بدقة وسرعة.
- 2- تعتبر الحقائق الارضية والمصادر الطبوغرافية و Gps مصادر دعم لمصادقية المعلومة الاستشعارية
- 3- ان اعتماد صور فضائية متعاقبة زمنيا تعكس التغيرات السطحية في مشهد الارض واستخدامها بصورة متعاقبة وابرار التغيرات خاصة المائية منها كنمط الصرف والتغذق والحالة المائية
- 4- ان معالجة الصور الفضائية الرقمية وتحسينها يعطي فرصة اكبر لتشخيص التغيرات ووضوح المظاهر وترسيم حدود الوحدات الغطائية الارضية المختلفة.



صباح واسراء وحسن

- 5- اكدت الدراسة بان عامل البشري ساهم في تدمير البيئة بسبب سوء استغلال المصادر المائية وتجفيف الاهوار وسوء الاستغلال للارض ومواردها
- 6- اوضحت الدراسة بانه لايمكن اعادة اعمار كافة مساحة الاهوار بسبب التغيرات المناخية وانشاء السدود التركيبية وشحة المياه وتردي نوعيتها
- 7- امكانية استخدام التصنيف الرقمي الموجه في دراسة الموارد المائية مثل مصادرها اصنافها اعماقها مساحاتها نوعيتها وتداخلها مع عنصر التربة والنبات وخاصة عنده استخدام GIS
- 8- ان خصائص الموارد الطبيعية وسلوكية المواد الطيفية عكس انواع من الانعكاسية لكل غطاء ارضي وحسب خصائصه الكيميائية والفيزيائية مما سهل عمليات فرز وعزل لانواع الاغطية في المنطقة
- 9- نظرا لوجود العديد من التداخلات في الاغطية الارضية وخرق المنظومة البيئية وقطع مصادر المياه وتدمير البيئة فان الاهوار تحتاج الى فترة زمنية طويلة والى عمل جاد وعلمي لتاهيل جزء منها تتوفر فيه شروط بيئة الاهوار
- 10- مع مرور الزمن ومساحات الاهوار تتقلص بعد ان كانت 35000 كم2 اصبحت 20000 كم2 واخيرا 8900 كم2 وحاليا 3120 كم2 في 2004 مما يستوجب رسم خطة علمية للحفاظ عليها ضمن مساحة ثابتة.

### المصادر

- 1-Sabins,F.F,"Remote sensing principles and interpretation" W. H. Freeman and company . San Francisco ,first edition ,426p, (1978)
- 2-Lillesand, T. M. ,Kiefer, R. W. and Chipman ,J.W. "Remote sensing and image interpretation", john willey and sons ,inc,U.S.A ,sixth edition,756 p,(2008)
- 3- Chang, K.T ,”Introduction to Geographic information systems “McGraw Hill. Singapore, Fifth edition, 448 p,(2010).
- 4- Buringh ,P, ”Soil and soil conditions in Iraq”, Ministry of Agriculture Baghdad, 322 p,(1960).
- 5- Lantham ,J.S. ,”The intergrated rural development of the Ahwar region by using remote sensing “, FAO,97 p,(1987).
- 6- Fitzpatrick, R.W. , “Changes in soil and water characteristics of soil in the Mesopotamian marsh land “, CSIRO land and water :client report sopt,(2004).

- 7- Anderson, J.R., "A land use and land cover classification system for use with remote sensing data", Geological survey professional paper 964. Supt. Of docs. No. I19.16 :964, USA, (1976).
- 8- Singer, M. J., Munns, D.N. , "Soils an introduction" , Pearson, Prentice Hall, Ohio, Sixth edition , 446 p ,(2006).

9- وزارة الموارد المائية /مركز بحوث التربة والمياه / قسم التحسس النائي والانظمة الجغرافية.

## حساب فيض الحرارة المحسوسة وتغيرها مع الظروف الغير مستقرة والقريبة من التعادل في مدينة بغداد

عقيل غازي مطر واحمد فتاح حسون وعماد خريبط راشد

قسم علوم الجو \ كلية العلوم \ الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/31 تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

### ABSTRACT

In This work estimation have been done to measure Obkhove Length and sensible heat flux in BAB AL - MUADHAM BAGHDAD city ,as well , we found an exponential relation between Obkhove Length and sensible heat flux and that lead to practical equation can be used under specific condition .

The observations have been made for wind speed and temprature at two levels 20 m ,15 m by used aslow respounse instrument and in aselected hours of the day from 16:00 LT to 20:00 LT. The time rang of observation lengthed throughout amonth (April 2006). The maximam Obkhove Length valu was (- 249.2) and manimum Obkhove Length valu was (- 2638.1m ) , as well,The maximum heat flux valu was ( $19.7\text{w/m}^2$ ) and the manimum heat flux valu was ( $1.9\text{ w/m}^2$ ).

### الخلاصة

تم حساب طول ابوكوف والفيض الحراري المحسوس في منطقة باب المعظم في مدينة بغداد كما وتم استنتاج علاقة بين طول ابوكوف وفيض الحرارة المحسوسة ونتج عن ذلك معادلة وضعية يمكن استخدامها تحت ظروف معينة لحساب المتغيرين انفا الذكر احدهما بدلالة الاخر . تمت عملية الرصد المتضمنة درجات الحرارة وسرعة الرياح على مستويين ارتفاعيين وبمعدل 4 ساعات يوميا خلال شهر نيسان .لقد استخدم في هذا العمل اجهزة لقياس سرعة الرياح ذات استجابة بطيئة Slow responce وقد وجد ان فيض الحرارة قد تراوحت قيمته بين ( $19.7\text{ w/m}^2$ ) في 2006\4\4 عند الساعة 1630 و ( $1.9\text{ w/m}^2$ ) في 2006\4\11 عند الساعة 1740 . كما وقد تم تسجيل قيم طول ابوكهوف والتي تراوحت بين (-2638.1m) في 2006\4\11 عند الساعة 1740 و (-249.2m) في 2006\4\4

الساعة 1630

## المقدمة

لقد نصت نظرية التشابه للباحثان Monin - Obkhove على افتراض ان المؤثران الرئيسيان في اضطراب الطبقة السطحية للغلاف الجوي هما الارتفاع  $Z$  وطول ابوكوف (Obkhove)  $L$ . ان هذا الطول هو مقياس يبين نسبة استهلاك الاضطراب بواسطة قوة الطفو الى الاضطراب الناتج عن رياح القص [1] wind shear

كذلك فان فيض الحرارة المحسوسة Sensaple heat flux يشير الى انتقال الحرارة من سطح الارض الى الجو . في الحالة المثالية فان الانتقال يمثل  $1/3$  الى  $1/2$  من كمية الحرارة الممتصة من الاشعاع الشمسي ، ويذهب الفرق المتبقي بين حرارة مخزونة داخل الارض وحرارة مستخدمة لتبخر الماء من التربة [2]. ان اعلى قيم الفيض الحراري تسجل في منتصف النهار وقد تبلغ  $300 \text{ W/M}^2$  في الصيف و  $150 \text{ W/M}^2$  في الشتاء [3]

ان احد اهم المؤثرات الاساسية في الاضطراب هو انتقال الحرارة حيث يؤدي الى عمليات الحمل التي تؤثر بشكل مباشر على استقرارية الجو بالتالي سرعة الرياح الافقية والراسية [3].

## المواد وطرائق العمل

### الاجهزة:

لقد استخدم في هذا العمل اجهزة ذات استجابة بطيئة لرصد سرعة الرياح من نوع cassela.cup anemometer, لقد تمت عملية الرصد لسرعة الرياح ودرجة الحرارة على مستويين هما (20) متر و(15) متر وامتدت عملية الرصد على مدى شهر نيسان وبمعدل اربع ساعات يوميا وكان اختيار هذه الفترة من السنة لكون الرياح في هذه الفترة تشهد نشاطا ملحوظا في عموم العراق [4] . تمت معايرة الاجهزة بشكل علمي وباشراف فنيين من هيئة الانواء الجوية والرصد الزلزالي في العراق .

### الموقع:

لقد تم اختيار منطقة باب المعظم كمركز لمدينة بغداد والتي تقع على خط طول 44,5 شرقا وخط عرض 33,14 شمالا ,تحتوي المنطقة على مظاهر مختلفة من الخشونة العالية والمتوسطة والمنخفضة والتي تؤدي الى اشكال مختلفة من الاضطراب وقد صنفت المنطقة على انها ذات خشونة متوسطة وفقا لتصنيف Grimmond [5] من قبل الباحث عقيل غازي مطر [6].

## الرصد:

تم رصد المعلومات بشكل يومي على مدى شهر نيسان عام 2006 وكان وقت التسجيل يبدأ في الساعة 1600 الى الساعة 2000 (حسب التوقيت المحلي) متضمنة درجة الحرارة وسرعة الرياح واتجاهها، وقد تكونت الرصدة الواحدة من 20 تسجيلاً وبفاصلة زمنية قدرها دقيقة واحدة بين تسجيل وآخر، واختير هذا الوقت من اليوم ليتسنى الحصول على رصدات في جو متعادل او قريب من حالة التعادل بحيث لا تتأثر قيم الخشونة السطحية والسرعة الاحتكاكية بحالة الاستقرار الجوية [6].

## الجزء النظري :

بعد تسجيل المعلومات المذكورة يمكن حساب عدد ريجاردسون  $Ri$  وذلك لتصنيف حالة الاستقرار الجوية من خلال المعادلة التالية [7] :

$$Ri = \frac{g}{z} * \frac{\frac{\partial T}{\partial z}}{\left[\frac{\partial u}{\partial z}\right]^2} \dots\dots\dots [1]$$

حيث ان  $g$  هي التعجيل الارضي.

$T$  معدل درجة الحرارة بالكلفن.

$\partial T$  تغير في درجة الحرارة

$\partial z$  التغير في الارتفاع

$\partial u$  التغير في سرعة الرياح الأفقية

بعد ذلك تستبعد الرصدات التي يكون فيها الجو مستقراً او غير مستقر ويتم التعامل مع الرصدات في الجو المتعادل فقط . يمكن حساب طول ابوكهوف من خلال المعادلة التالية [3]:

$$L = \frac{-\rho U_*^2}{Kg \left[\frac{\partial \theta}{\partial z}\right]} \dots\dots\dots [2]$$

حيث ان  $U_*$  السرعة الاحتكاكية

$K$  ثابت Von karmen  $0.4 =$

$C_p$  السعة الحرارية النوعية بثبوت الضغط  $1004 J/Kg.K$

$H$  فيض الحرارة المحسوسة

$\rho$  كثافة الهواء وتبلغ قيمتها  $1.2 Kg/m^3$

$\theta$  الحرارة الجهدية

بالنسبة للسرعة الاحتكاكية  $U_*$  فتحسب من خلال المعادلة الوضعية التي حصل عليها الباحث AL- Jiborri [8] لنفس المنطقة وهي كالتالي :

$$U_* = 0.8 * \sqrt{\frac{-Ri}{1.44}} \dots\dots\dots [3]$$



عقيل واحمد وعماد

ومن الممكن كذلك حساب الحرارة الجهدية من خلال الصيغة التالي [9]:

$$\theta = T \left\{ \frac{1000}{P} \right\}^k \quad \dots \dots \dots [4]$$

حيث T درجة الحرارة

P الضغط الجوي

K ثابت = 0.286

يمكن حساب فيض الحرارة المحسوسة من خلال الصيغة التالية [10]:

$$H = -U_e C_F \rho \theta_e \dots \dots \dots [5]$$

حيث ان  $\theta_e$  هي مقياس الحرارة الجهدية وتحسب من خلال المعادلة التالية [11]:

$$\frac{\theta_z - \theta_0}{\theta_e} = \frac{1}{k} \left\{ \ln \left( \frac{z}{z_0} \right) - \psi_H \left( \frac{z}{L} \right) \right\} \dots \dots \dots [6]$$

حيث ان  $\theta_z$  الحرارة الجهدية على الارتفاع Z.

$\theta_0$  الحرارة الجهدية عند المستوى الاول.

Z معدل ارتفاع الاجهزة.  $z_0$  هو طول الخشونة السطحية والتي تم حسابها من قبل السيد عقيل غازي

ولنفس المنطقة في بحث سابق [6].

$\psi_H \left( \frac{z}{L} \right)$  دالة الاستقرارية للتصحيح .

عند الظروف المتعادلة فان تغير معدل سرعة الرياح مع الارتفاع يمكن ان يوصف بالمعادلة اللوغارتمية

خلال الطبقة السطحية, اما في الظروف الغير مستقرة فهناك تصحيح من خلال دالة الاستقرارية

$\psi_H \left( \frac{z}{L} \right)$  وتحسب كالتالي [11]:

$$\psi_H \left( \frac{z}{L} \right) = 2 \ln \left( \frac{1+x}{2} \right) + \ln \left( \frac{1+x}{2} \right) - 2 \tan^{-1} x + \frac{\pi}{2} \dots \dots [7]$$

$$x = \left( 1 - y \frac{z}{L} \right)^{\frac{1}{4}} \dots \dots \dots [8]$$

حيث ان  $y = 15.5$

## النتائج والمناقشة

فيض الحرارة المحسوسة H :

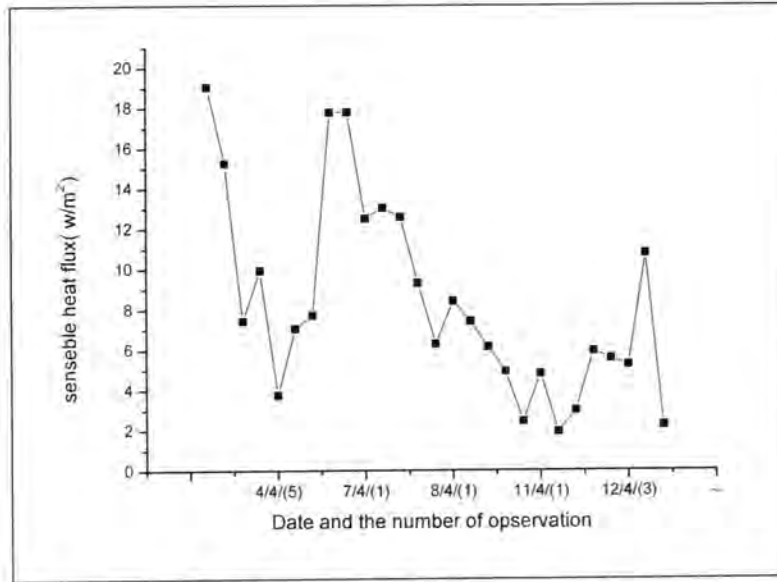
تم حساب الفيض الحراري من خلال حساب مقياس الحرارة الجهدية  $\theta_e$  من المعادلة رقم [6]

وكذلك حساب السرعة الاحتكاكية  $u_e$  من المعادلة رقم [3] ومن خلال هذه النتائج وباستخدام

المعادلة رقم [5] تم حساب قيمة الفيض الحراري لكل رصد , وقد سجلت اعلى قيمة في الساعة

1630 في يوم 2006\4\4 وكانت  $19.7 \text{ w/m}^2$  وسجلت اوطأ قيمة في الساعة 1740 في يوم

2006\4\11 حيث بلغت  $1.9 \text{ w/m}^2$  . الشكل رقم [1] يبين قيم الفيض الحراري خلال الرصدات المختلفة .

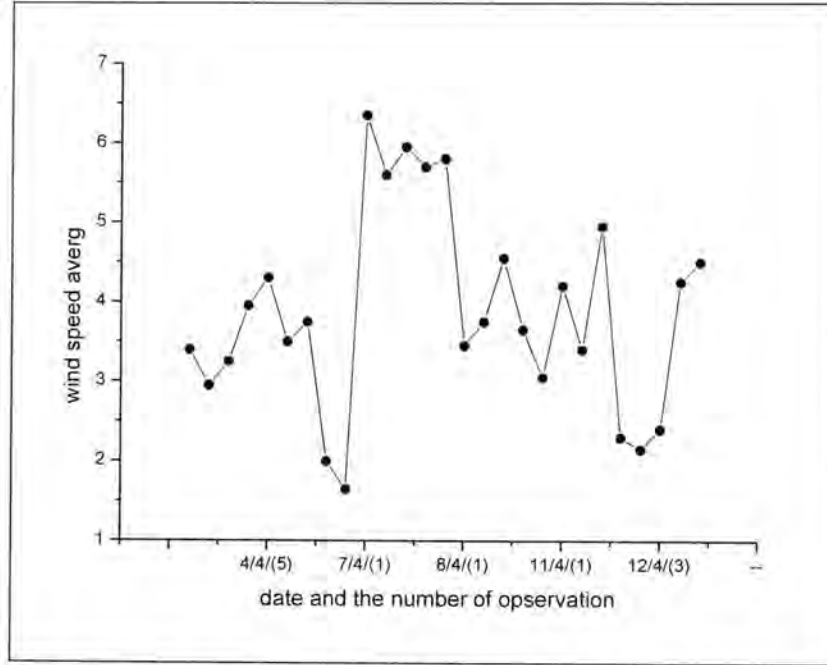


شكل 1- يبين فيض الحرارة المحسوسة  $H$  مع الرصدات بالتاريخ وتسلسل الرصدات .

معدل سرعة الرياح الأفقية  $U$ :

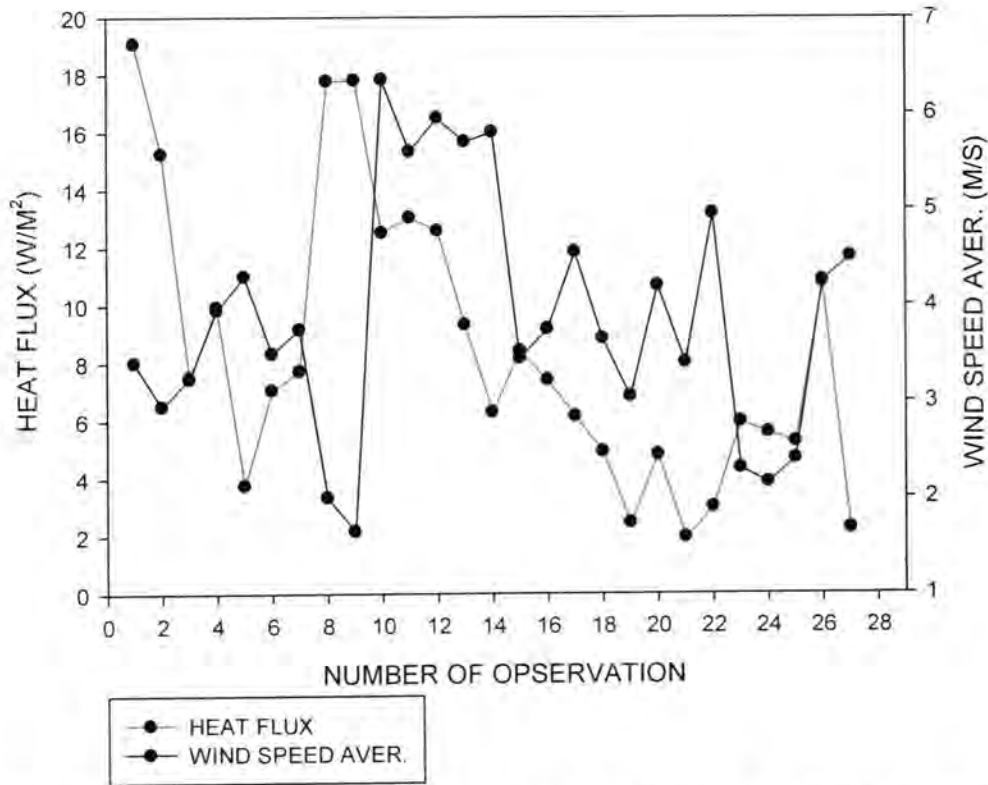
ان قياس السرعة الأفقية تم على مستويين وبعد حساب المعدل البسيط لهما حيث سجلت اعلى السرعة فكانت  $6.3 \text{ M/S}$  في الساعة 1615 في يوم 2006\4\7 اما اوطأ القيم فقد سجلت في يوم 2006\4\5 عند الساعة 1740 وكانت  $1.6 \text{ M/S}$  وكما في الشكل رقم [2] .

عقيل واحمد وعماد



شكل 2- : يبين تغير معدل سرعة الرياح الافقية مع الرصدات حسب التاريخ والتسلسل

ومن خلال ملاحظة النتائج سابقة الذكر لاحظنا وجود ترابط بين تغير معدل سرعة الرياح وتغير فيض الحرارة المحسوسة , ويبدو هذا الترابط للوهلة الاولى غير منضبطا وفق تغير ثابت كما هو ملاحظ في الشكل رقم [3] بسبب تعدد العوامل المؤثرة على سرعة الرياح الافقية والتي من ضمنها الفيض الحراري وكذلك بطئ استجابة التغير في السرعة الافقية لتغيرات فيض الحرارة ويبدو ذلك واضحا من خلال الفرق الزمني الواضح بين تغير السرعة وتغير الفيض , وخصوصا اذا علمنا بان قيم فيض الحرارة في حالة الجو القريب من التعادل تكون قيم واطنة وذات تاثير محدود.



شكل 3- : يبين الترابط بين بين التغيرات في معدل سرعة الرياح الأفقية والتغيرات في الفيض الحراري خلال الرصدات المختلفة

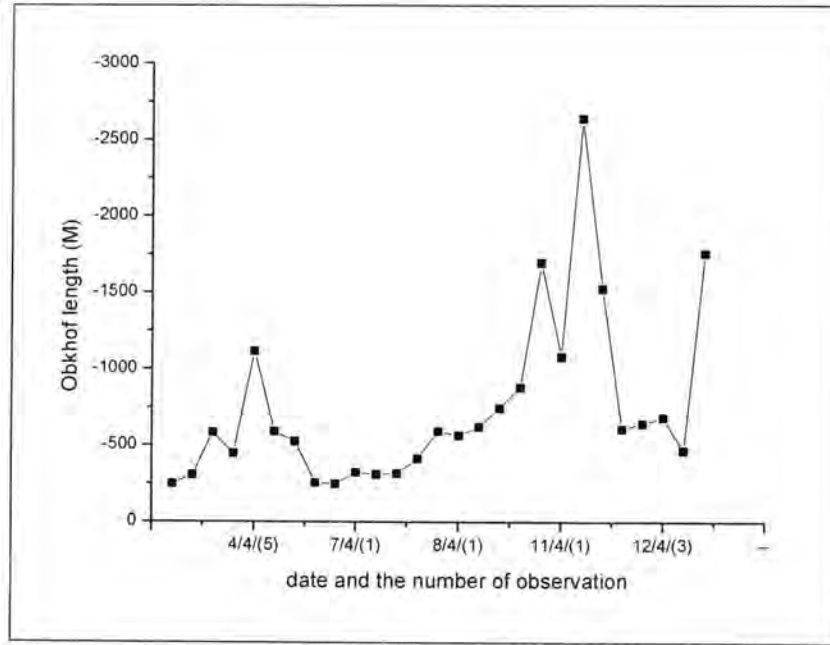
#### طول ابو كوف L :

تم حساب طول ابو كوف من خلال المعادلة رقم [2] وسجلت اعلى قيمة في يوم 2006\4\4 في الساعة 1630 وكانت 249.1 m- اما اوطأ قيمة فكانت 2638.1 m- في الساعة 1740 بتاريخ 2006\4\11 .

من المفيد ان نذكر ان قيمة طول ابو كوف اذا كانت محصورة بين قيمتين هما (- and (-200) 1000)

وكذلك اذا كانت قيمة طول ابوكهوف المطلقة  $|L| < 1000$  فيكون الجو متعادلا ايضا [2] وعليه ومن خلال القيم المحسوبة يتبين ان جميع الرصدات المستخدمة في هذا العمل كانت متعادلة او قريبة من التعادل وكما مبين في الشكل رقم [4] .

عقيل واحمد وعماد



شكل 4- : يبين قيم طول ابو كهوف خلال الرصدات المختلفة بالتاريخ والتسلسل

العلاقة بين طول ابوكوف والفيض الحراري المحسوس :

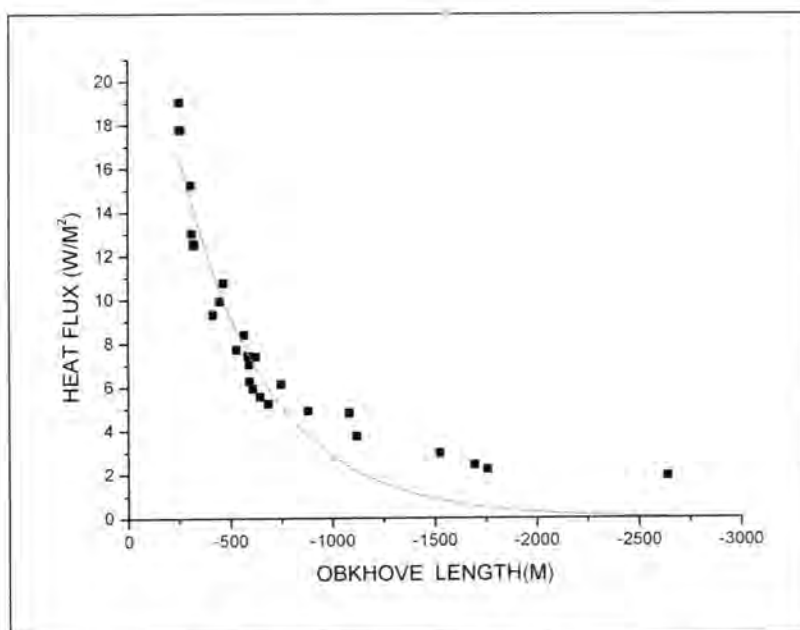
لقد تم استنتاج علاقة اسية بين فيض الحرارة المحسوسة وطول ابو كوف نتج عنها المعادلة الوضعية التالية:

$$H = 30 * e^{\frac{L}{456}}$$

[9]

ويمكن ان تعتمد هذه العلاقة في ظروف جو غير مستقر وقريب من التعادل ,ان معامل التحديد  $R^2$  لهذه العلاقة هو (0.91) وهذه القيمة تؤثر لارتباط قوي بين المتغيرين وكما في الشكل رقم [5] .





شكل 5: يبين العلاقة بين طول ابوكهوف و الفيض الحراري المحسوس

ان قيمة الفيض الحراري المحسوس  $H$  المحسوبة خلال الفترة المنتخبة من اليوم لا تمثل الا جزء قليل من معدلات الفيض الحراري اليومية ونلاحظ ان اوطأ القيم تسجل عند الاوقات القريبة من الغروب , ان اعلى القيم الفيض الحراري سجلت في الساعة 1630 في يوم 2006\4\4 وبلغت  $19.7 \text{ W/M}^2$  واطأ القيم كانت  $1.9 \text{ W/M}^2$  في الساعة 1740 بتاريخ 2006\4\11 . ان تحديد فترة الرصد في هذا العمل جاء بسبب استخدام اجهزة الاستجابة البطيئة والتي يتطلب اجراء الحسابات من خلالها انتخاب ظروف جوية متعادلة او قريبة من التعادل مما اثر على عملية حساب الفيض الحراري وبقية المتغيرات لكونها تمثل جزءا من القيم اليومية لهذه المتغيرات.

تبين من خلال النتائج المستحصلة ان هناك علاقة بين تغير معدل سرعة الرياح الافقية وتغير فيض الحرارة المحسوسة .

قيمة طول ابو كهوف  $L$  حسبت فكانت اعلى القيم في الساعة 1630 في يوم 2006\4\4 وبلغت  $m$  249.1 وان اقل قيمة كانت  $m$  2638.1 - في الساعة 1740 بتاريخ 2006\4\11 وان جميع القيم الناتجة كانت ضمن القيم التي تقابل جوا متعادلا.

تم التوصل الى صيغة وضعية للعلاقة بين الفيض الحراري المحسوس وطول ابو كهوف كما تبين ان العلاقة بينهما هي علاقة اسية .

عقيل واحمد وعماد

### المصادر

- 1- Holtslag,A.A. and Nieuwstadt,F.T: Scaling the atmospheric boundary layer, *Boundary layer meteorol.*,36:201-209.(1984)
- 2- Roomy,T.A: *Estimation of the vertical distribution of wind speed and temperature within the lowest 100 m above Baghdad.Thesis*,101. PP .(2000)
- 3- Patil,M:Aerodynamic drag coefficient and roughness length for three season over atropical western Indian station ,*Atmose.Res.*,80:280-293 .(2006)
- 4- اطلس مناخ العراق 1989 WMO
- 5- Grimmond.C.S.B and T.R.Oke:aerodynamic properties of urban areas derived from .*J.Aool.Meteor.*,1263-1268. (1998)
- 6- مطر عقيل غازي :حساب طول الخشونة السطحية لمنطقة بغداد باستخدام المعايير القياسية. رسالة ماجستير مقدمة الى كلية العلوم-الجامعة المستنصرية (2006)
- 7- McIntosh,D.H. and Thom A.S: *Essential meteorology*,Taylor and Francis.ltd London:164,165,178,179,180. 1981
- 8- AL-Jiborri .M.H:Determiningof neutral and unstable wind profiles over Baghdad city,p.5.(2010)
- 9- Rogers,R: *Ashort course in cloud physics* , Pergamon press,Oxford,second edition ,p.232. 1983
- 10- Yao , J.,Zhao, L.,Ding,y.,Gu,L.,Jiao,K.,Qiao,Y.and Wang,Y.(2008) The surface energy budget and evapotranspiration in the Tanggula region on the Tibetan plateau , *Cold Region Sci. and Tech* .,52:326-340.
- 11- O.M.Y Anbar: Estimation of roughness parameters and sensible flux in the Hada alsham area,*Makkah.JKAU:Met.,Env.and Arid Land Agric.Sci.*,Vol.20,No.2,PP:77-93. .(2009)
- 12- جاسم سحر حسين: حساب وتشخيص سرعة الرياح الأفقية فوق مدينة بغداد..رسالة ماجستير مقدمة الى كلية العلوم (الجامعة المستنصرية). 29 - 32 . (2008)

## دراسة تأثير بعض العناصر الجوية على العواصف الغبارية لمناطق مختارة من العراق

عماد خريط راشد

قسم علوم الجو ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، بغداد ، العراق

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 4/ 6

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

## ABSTRACT

Based on the dust storms data and weather parameters in 5 meteorological stations in Iraq , we analyzed the annual number of dust storms days from (1971-2000) as well as their correlation with temperature , precipitation , relative humidity and wind speed, the results showed that the relation between annual dust storms days number with precipitation and relative humidity were inversive ,while the relation between dust storm days number with wind speed and temperature were ejective . The correlation had been calculated for dust storm days number with weather parameters showed that rang correlation coefficient lengthen from [0.075 - 0.605] for all parameters.

The trend of annual dust storms showed Baghdad , Basra and Nasria stations have decreasing trend ,while the trend of Musel and Rutba stations have increasing trend.

## الخلاصة

بالاعتماد على المعلومات الانوائية الماخوذة في العراق لخمس محطات انوائية هي بغداد والبصرة والموصل والناصرية والرطبة وخلال فترة 30 سنة الممتدة من (1971 – 2000) تم دراسة علاقة العواصف الغبارية مع بعض العناصر المناخية والمتمثلة بكل من كمية الامطار والرطوبة النسبية ودرجة الحرارة وسرعة الرياح وحساب معامل الارتباط بيرسون لها لبيان مدى تأثير هذه العناصر على حدوث العواصف الغبارية وقد وجد تأثير كمية الامطار والرطوبة النسبية يكون بشكل علاقة عكسية في حين يكون تأثير درجة الحرارة وسرعة الرياح بشكل علاقة طردية , وايضا من خلال حساب الاتجاه العام للعواصف الغبارية في المحطات المدروسة بينت النتائج ان الاتجاه العام للعواصف الغبارية في محطات بغداد والبصرة والناصرية هو نحو النقصان , والاتجاه العام للعواصف الغبارية في محطتي الموصل والرطبة هو نحو الزيادة .

## المقدمة

تؤثر العواصف الغبارية على كافة المرافق والمجالات المعيشية للانسان بما تنقله من تراب معلق ورمال زاحفة تؤدي الى مشكلات عديدة في البيئة تنعكس اثارها السيئة على الكائنات الحية بمختلف انواعها وعلى الاقتصاد الوطني في شتى مجالاته [1] .

عماد

وتحدث العواصف الغبارية في المناطق التي تمتاز بالجفاف ، وقلة تساقط الأمطار وتشمل مناطق واسعة من العالم ومنها الوطن العربي عموماً و أجزاء واسعة من العراق خصوصاً ، وتعني وجود غبار عالٍ في الجو وعلى إرتفاعات مختلفة تعتمد على شدة حركة الرياح وإضطرابها [2] . وعموماً فإن ظاهرة العواصف الغبارية في منطقة ما تخضع إلى عوامل فيزيائية بالغة التعقيد تبدأ بطبيعة التربة في المنطقة والمناطق المحيطة بها ، وتتم بنشاطات الإنسان المختلفة عليها ، وتنتهي بالعوامل الجوية المتشابهة [3]. لقد كانت هذه الظاهرة محط اهتمام العديد من الباحثين خلال الثلاثين سنة الماضية ومنهم (الدليمي) في عام (1989) حيث قامت بتحليل أنواع الغبار وبيان علاقة الغبار بسرعة واتجاه الرياح المرافقة له إضافة إلى توضيح تأثير ظاهرة الغبار بالأمطار في ضوء إستخراج دالة الترابط بينهما [4]، وإيضاً (الجوراني) في عام (1990) التي توصلت إلى وجود علاقة إرتباط عكسية بين تكرارات الغبار وكمية الأمطار السنوية كما توصلت إلى وجود إرتباط عالٍ بين الأمطار والغبار في بغداد والجفاف والرطوبة [5]، وإيضاً (المعموري) في عام (1996) الذي أوضح بأن مناطق العراق الوسطى والجنوبية تشهد تغيرات ملحوظة لتكرار العواصف الغبارية في جميع أشهر السنة وأوضح أيضاً أن العواصف الغبارية لها إرتباط بالسرع القوية للرياح والتي تبلغ (25 كم / ساعة) [6] . وتوصل (إسماعيل) في عام (1999) إلى أن الصفة القارية في مناخ العراق والمتمثلة بإرتفاع المدى الحراري اليومي والسنوي تساعد على إستمرار حصول الظواهر الترابية والغبارية [7] ، وقامت (مشعل) في عام (2008) بدراسة ظاهرة العواصف الغبارية التي تحدث فوق العراق بإستخدام الصور الفضائية ومعالجتها الرقمية ، وتوصلت الباحثة إلى أن مصدر العواصف الغبارية التي تحدث في العراق هو ليس محلياً فقط وإنما إقليمياً وإن منشأ العواصف الغبارية التي قامت بدراستها هي من مناطق في شرق سوريا والتي تعاني من ظاهرة التصحر [8] . وإيضاً الخفاجي في عام (2009) الذي تناول دراسة الغبار المنقول من وسط وجنوب العراق ، حيث بينت الدراسة إلى حدوث زيادة ملحوظة في أعداد العواصف الغبارية في العراق والشرق الأوسط خاصة في عام (2008) .

#### العواصف الغبارية والعناصر الجوية المؤثرة في تكرارها

إن ظاهرة الغبار يمكن أن تحدث في حالة إستقرار الجو ، أو في حالة عدم إستقراره [9]. ففي حالة إستقرار الجو يتولد الغبار عندما تسود الإنتقالات الحرارية على إرتفاع (500 - 1000 متر) بسبب هبوط الهواء من الطبقات العليا ، وتعمل هذه الإنتقالات الحرارية على أن يحتفظ سطح الأرض بالغبار [10] .

أما في حالة عدم استقرار الجو فإن الغبار يثار بواسطة الجبهات الهوائية الباردة عند مرورها فوق الصحاري حيث ترتبط بالمنخفضات الجوية وتزداد بذلك سرعة الرياح التي بدورها تعمل على إنتشار ذرات الغبار على مساحة كبيرة وإلى إرتفاعات عالية من سطح الأرض [10] وتعرف العواصف الغبارية بأنها عبارة عن حبيبات صغيرة الحجم لا تتجاوز أقطارها عن (100 مايكرومتر) تنشأ مع رياح شديدة سرعتها حوالي (8 متر / ثانية فأكثر) وتكون محملة بالأتربة المنقولة من التربة السطحية المفككة في المناطق الجافة حيث تعمل تلك الرياح على رفع الغبار إلى إرتفاعات عالية تبلغ عدة آلاف من الأمتار وتؤدي إلى خفض مدى الرؤية الأفقية إلى أقل من (1 كيلو متر) حيث تتقدم جبهة العاصفة الغبارية كجدار غباري مرتفع (يعلو ليصل حتى 3000 متر تقريبا) وعريض بعرض عشرات بل مئات الكيلومترات [11].

يزداد حدوث العواصف الغبارية في نصف السنة الصيفي وفي الأشهر الأشد جفافا والأكثر شدة في رياحها وعلى الرغم من أن مدى الرؤية الأفقية تعتبر المؤشر على حدوث العاصفة الغبارية إلا إنه إضافة إلى هذا المؤشر فإنه لا بد من توفر رياح نشطة لكي تتمكن من إثارة كميات ضخمة من الغبار وحملها لمسافات طويلة [12]. علما أن العواصف الغبارية تحسب على أساس عدد الأيام التي تحدث فيها شهريا [13].

و تعد درجة الحرارة أهم عنصر من عناصر المناخ وذلك من حيث تأثيره المباشر في حالات الضغط الجوي وبالتالي على حركة الرياح وتكوين السحب وسقوط الأمطار ومعدلات التبخر، وترتبط الرطوبة النسبية بظاهرة العواصف الغبارية من خلال وجود علاقة عكسية بين الرطوبة النسبية ودرجة الحرارة مما يؤدي إلى إحتفاظ التربة بكمية من الرطوبة بسبب إنخفاض درجات الحرارة مما يجعلها أكثر تماسكا وبالتالي إنخفاض معدلات العواصف الغبارية شتاءً وايضا تعد الرياح وسيلة ميكانيكية تعمل على نقل الطاقة الحرارية وبخار الماء وما ينتج عنها من التغيرات في الظواهر الجوية بين المناطق المختلفة، وتعتبر الأمطار من أكثر عناصر المناخ تأثيرا في حصر وتقليل أثر العواصف الغبارية [14].

### بيانات العناصر الجوية ومواقع الدراسة

تم في هذا البحث اعتماد البيانات المسجلة في خمس محطات مناخية تابعة الى الهيئة العامة للأنواء الجوية والرصد الزلزالي وهي (بغداد، البصرة، الموصل، الناصرية، الرطبة) وللفترة من (2000 - 1971) والتي تمثل معظم المناخ في العراق والتعرف من خلالها على مدى تأثير العناصر الجوية المختارة في تكرار العواصف الغبارية وايضا حساب معامل الارتباط بين هذه العناصر وعدد ايام العواصف الغبارية

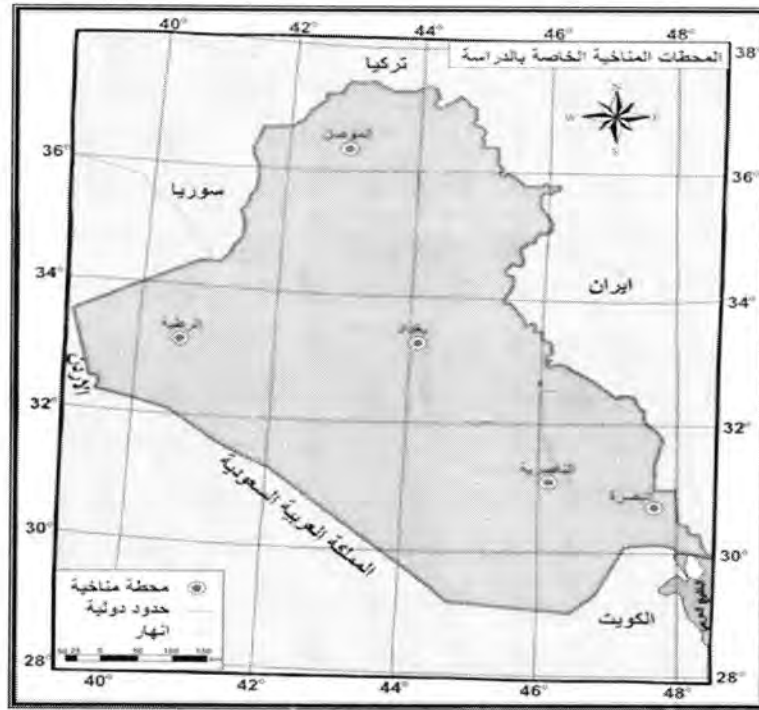
وبين الجدول (1) أسماء محطات الدراسة وأرقامها وإرتفاعها عن مستوى سطح البحر وموقعها الجغرافي ، والشكل (1) يوضح توزيع هذه المحطات المناخية الخاصة بالدراسة [15]



عماد

جدول - 1: الرقم والإرتفاع عن مستوى سطح البحر والموقع الجغرافي لمحطات الدراسة

التسلسل	اسم المحطة	رقم المحطة	إرتفاع المحطة (متر)	خط الطول (°)	دائرة العرض (°)
1	بغداد	650	31.7	44.23	33.23
2	البصرة	689	2.4	47.78	30.57
3	الموصل	608	223	43.15	36.32
4	الناصرية	676	5	46.23	31.08
5	الربطبة	642	630.8	40.28	33.03



شكل - 1 : توزيع المحطات المناخية الخاصة بالدراسة [15]

## النتائج والمناقشة

### التأثير السنوي للعناصر الجوية على العواصف الغبارية

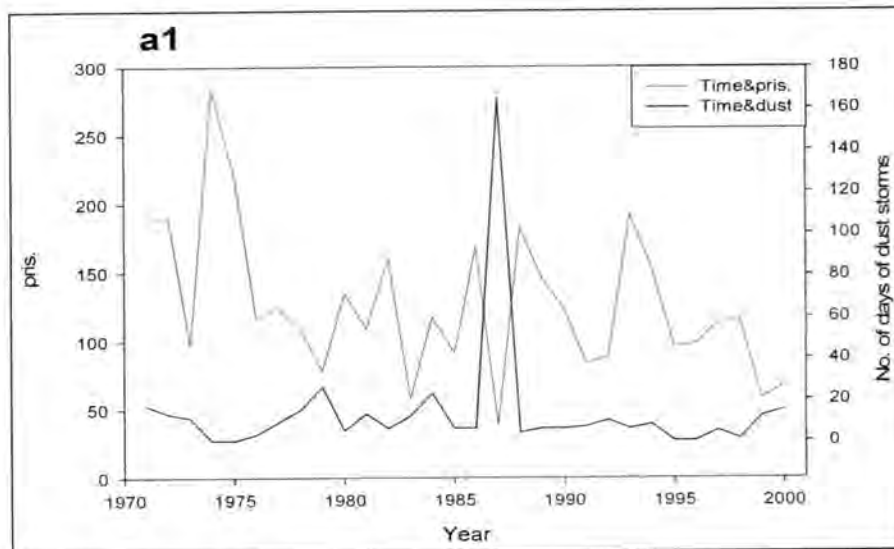
تلعب العناصر الجوية دوراً مهماً في حصر وتقليل تأثير العواصف الغبارية وسيتم دراسة التغير السنوي لعدد أيام العواصف الغبارية مع كل من المعدل السنوي لكمية الامطار والرطوبة النسبية ودرجة الحرارة

وسرعة الرياح وايضاً حساب قيم معاملات الارتباط السنوي من خلال استخدام معامل الارتباط بيرسون (Pearson correlation) لبيان مدى علاقة كل منها في حدوث العواصف الغبارية

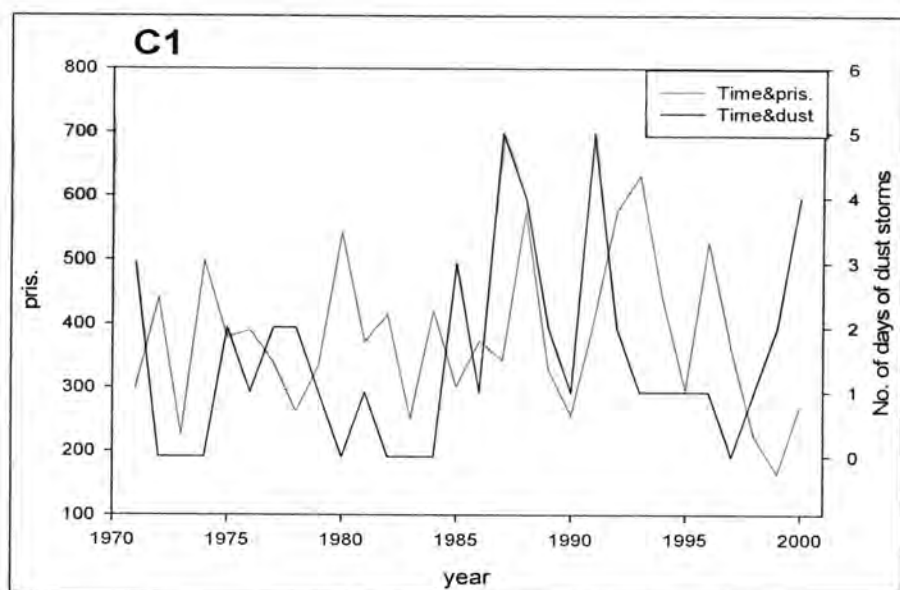
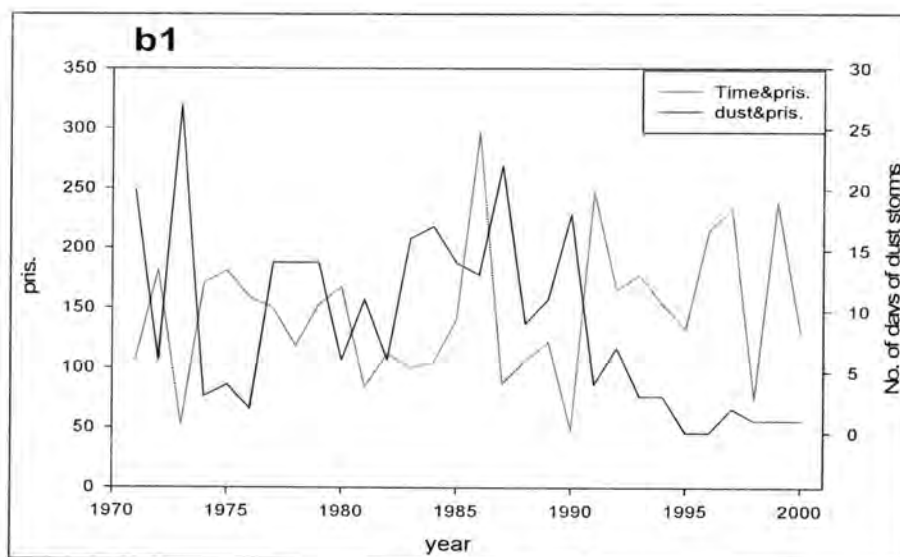
#### التغير السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية مع كمية الامطار

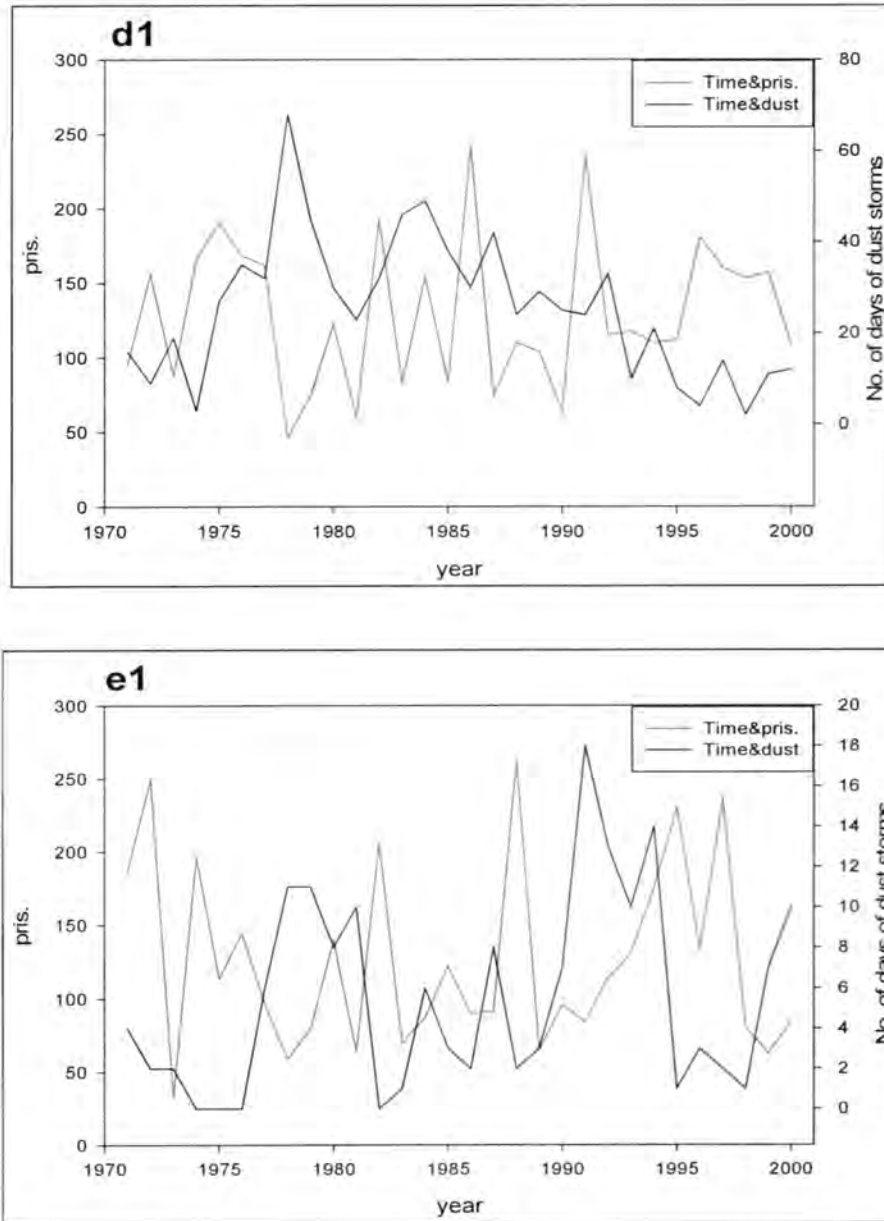
يبين الشكل (2) التغير السنوي للعواصف الغبارية مع كمية الامطار في محطات الدراسة خلال الفترة الممتدة من (1971 – 2000) حيث نلاحظ العواصف الغبارية تنشط كثيرا في السنوات قليلة الامطار فيما يقل تأثيرها كثيرا في السنوات المطيرة وعند استخراج اعلى مجموع سنوي للامطار الساقطة خلال الفترة المدروسة لكل محطة نجد ان اعلى كمية كانت في محطة الموصل (633.0 mm) خلال سنة (1993) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (1 day)، واقل كمية كانت في محطة الناصرية (242.2 mm) في سنة (1986) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (30 days)، وبلغت في محطة البصرة وبغداد والرطبة (263 mm, 284.1, 296.6) في سنة (1986) (1974, 1988)، وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (2, 0, 13) على التوالي .

ومن اجل معرفة نوع العلاقة بين كمية الامطار والعواصف الغبارية تم تحليل المعلومات الانوائية للامطار والعواصف الغبارية ولنفس الفترة في المحطات الخمسة و حساب معامل الارتباط وجد ان تأثير كمية الامطار على عدد ايام العواصف الغبارية هو علاقة عكسية واعلى قيمة لمعامل الارتباط يكون في محطة البصرة ( $r = -0.519$ ) في حين يكون اقل قيمة لمعامل الارتباط في محطة الموصل ( $r = 0.0746$ ) ويكون في محطة بغداد ، الرطبة ، الناصرية  $-0.321$  ,  $-0.352$  ,  $-0.375$  على التوالي .



عماد





شكل - 2 : يبين العلاقة بين المجاميع السنوية لكمية الأمطار وعدد أيام العواصف الغبارية (a1) لمحطة بغداد ، b1 لمحطة البصرة ، c1 لمحطة الموصل ، d1 لمحطة الناصرية و e1 لمحطة الرطبة) .

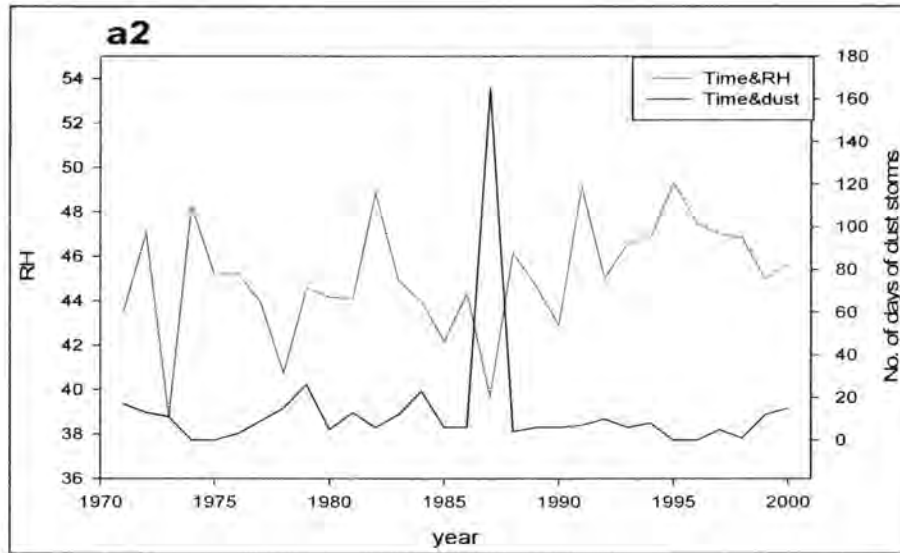
#### التغير السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية مع معدل الرطوبة النسبية

يبين الشكل (3) التغير السنوي للعواصف الغبارية مع الرطوبة النسبية في محطات الدراسة خلال الفترة الممتدة من (1971 – 2000) حيث نلاحظ زيادة عدد ايام العواصف الغبارية في المحطات التي تسجل معدل رطوبة نسبية منخفضة بينما تقل هذه العواصف في المحطات ذات المعدل الرطوبي العالي، وعند استخراج اعلى معدل سنوي للرطوبة النسبية خلال الفترة المدروسة لكل محطة نجد ان اعلى قيمة

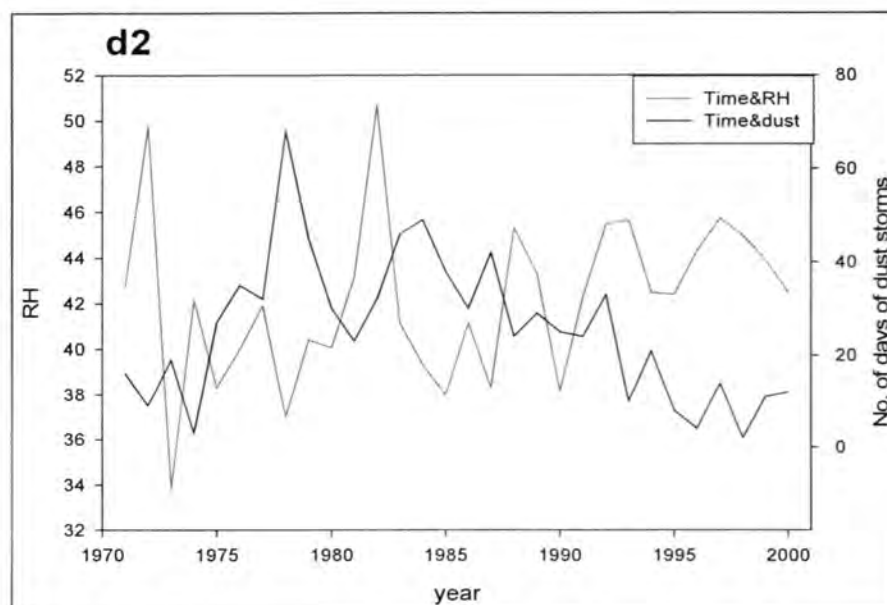
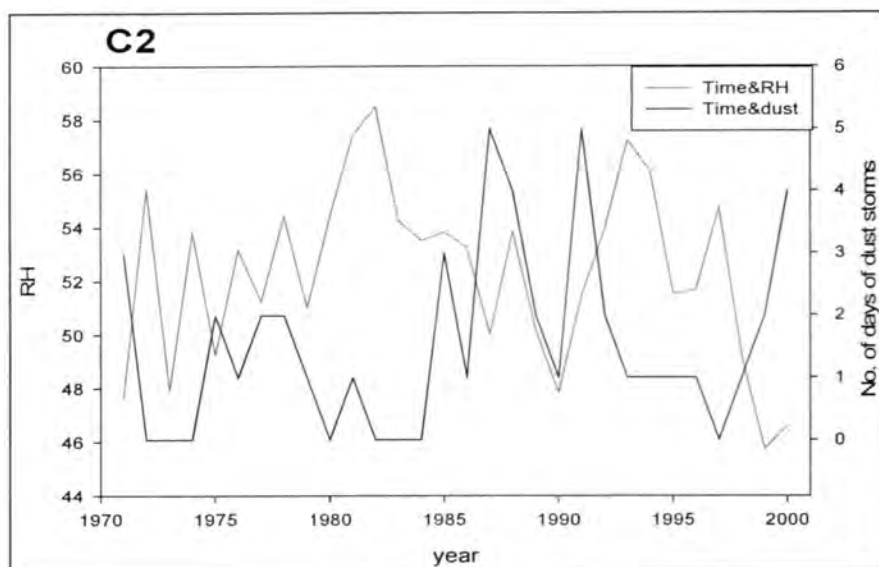
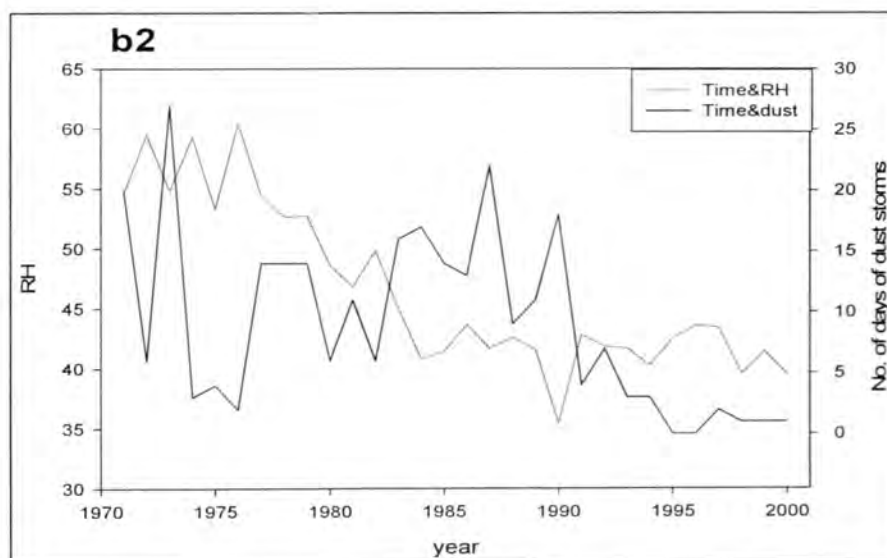
عماد

كانت في محطة البصرة (60.5%) خلال سنة 1976 وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (2 days), واقل قيمة كانت في محطة بغداد (48.8%) في سنة 1982 وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (6 days), وبلغت في محطة الموصل والرطوبة والناصرية (51.8%, 58.5%) (50.7%) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (32, 0, 0) على التوالي وجميعها في سنة (1982)

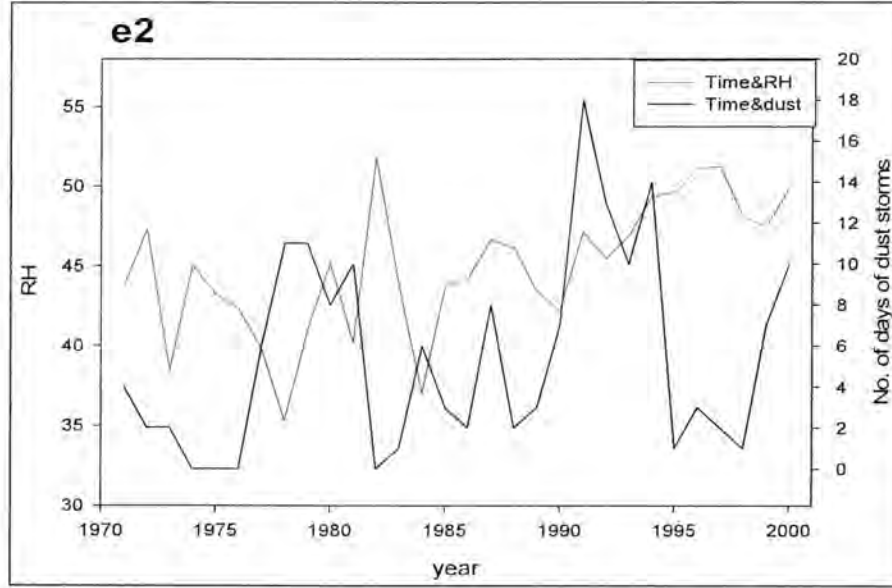
ومن اجل معرفة نوع العلاقة بين معدل الرطوبة النسبية والعواصف الغبارية تم تحليل المعلومات الانوائية لمعدل الرطوبة النسبية ولنفس الفترات في المحطات الخمسة و حساب معامل الارتباط وجد ان تأثير معدل الرطوبة النسبية على عدد ايام العواصف الغبارية هو علاقة عكسية باستثناء محطة البصرة التي يكون فيها معامل الارتباط موجب ( $r = 0.096$ ) وربما يعزى سبب ذلك إلى قرب المسطح المائي المتمثل بالخليج العربي من هذه المحطة والذي يتسبب في إثارة الرياح المصحوبة بمنخفضات جوية مما يؤدي إلى إثارة الغبار على الرغم من ارتفاع قيمة الرطوبة النسبية في هذه المحطة ويكون معامل الارتباط في محطة بغداد والناصرية والرطوبة والموصل (-0.385, -0.0972, -0.459, -0.472) على التوالي.







عماد

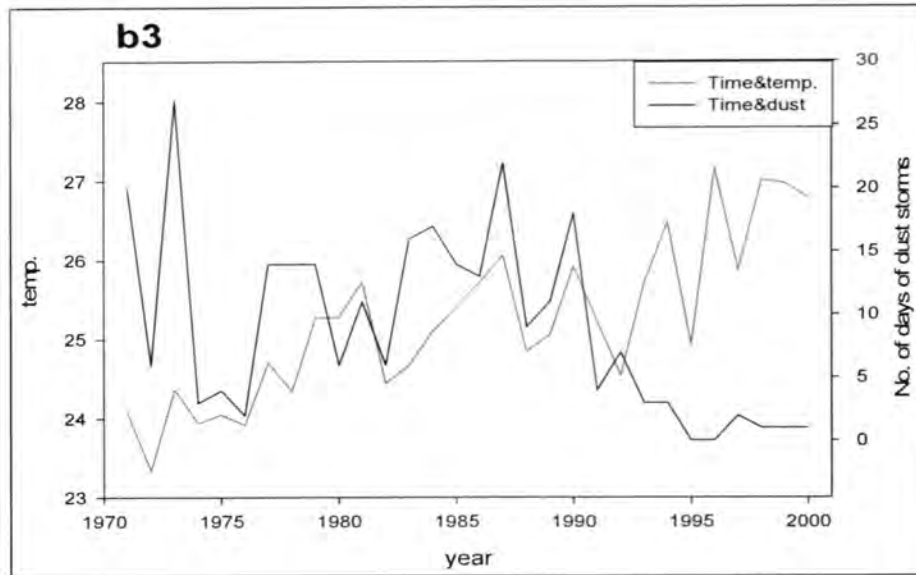
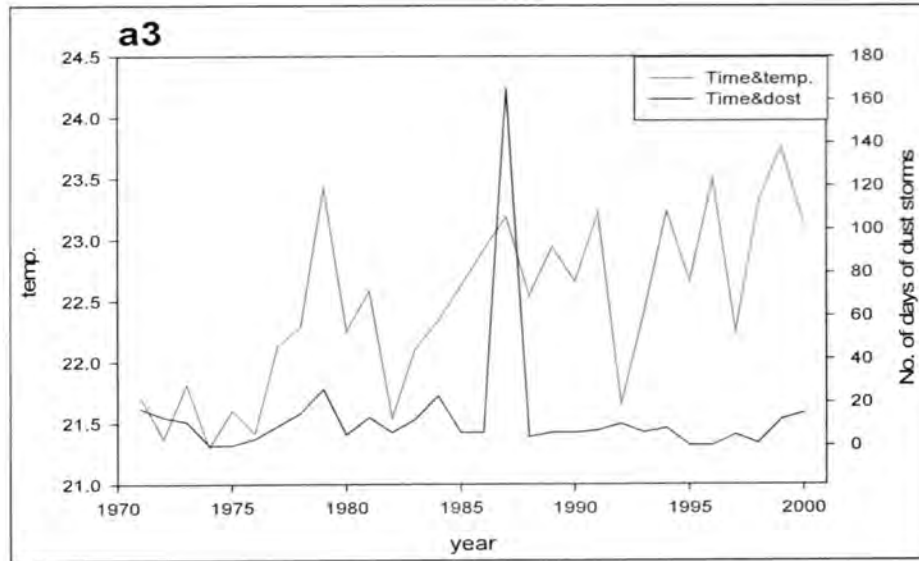


شكل - 3 : يبين العلاقة بين المعدلات السنوية للرطوبة النسبية وعدد أيام العواصف الغبارية (a2) لمحطة بغداد ، b2 لمحطة البصرة ، c2 لمحطة الموصل ، d2 لمحطة الناصرية و e2 لمحطة الرطبة)

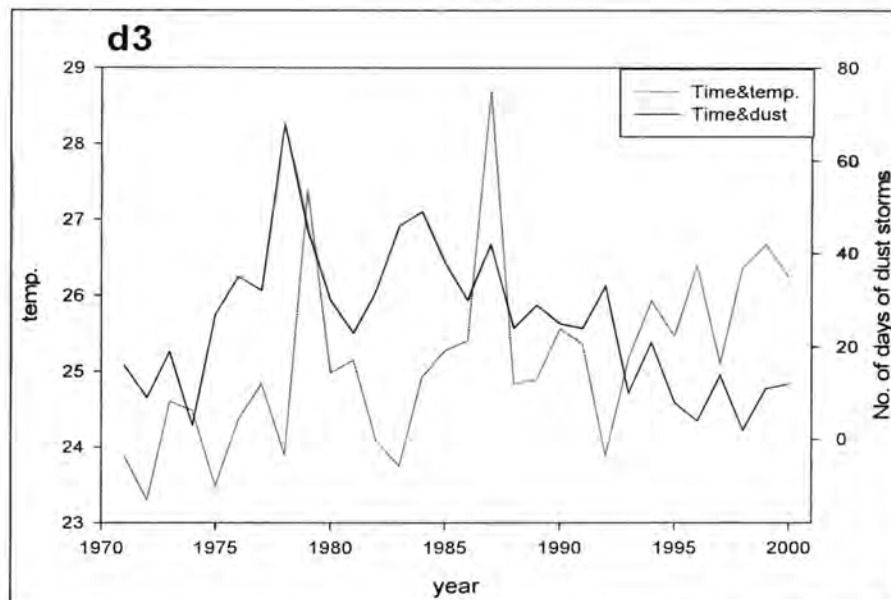
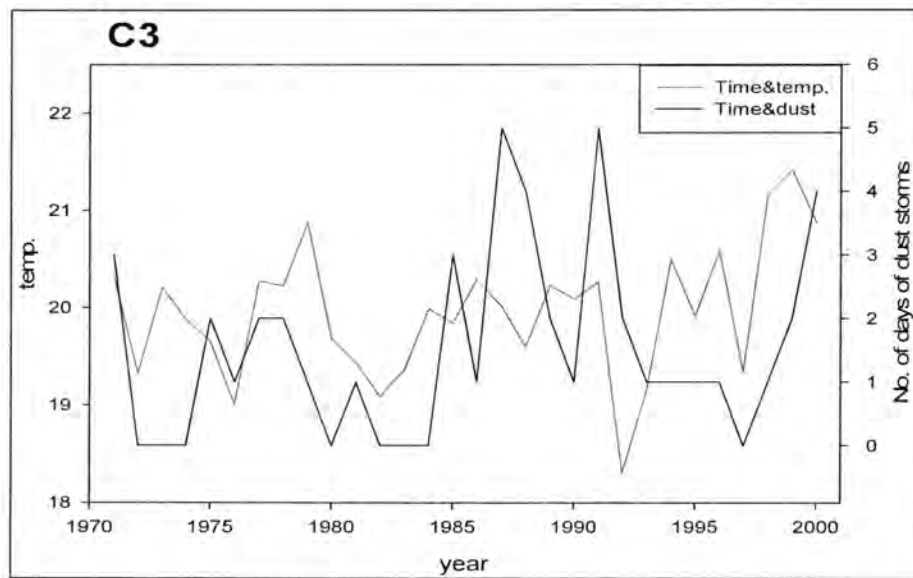
#### التغير السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية مع معدل درجة الحرارة

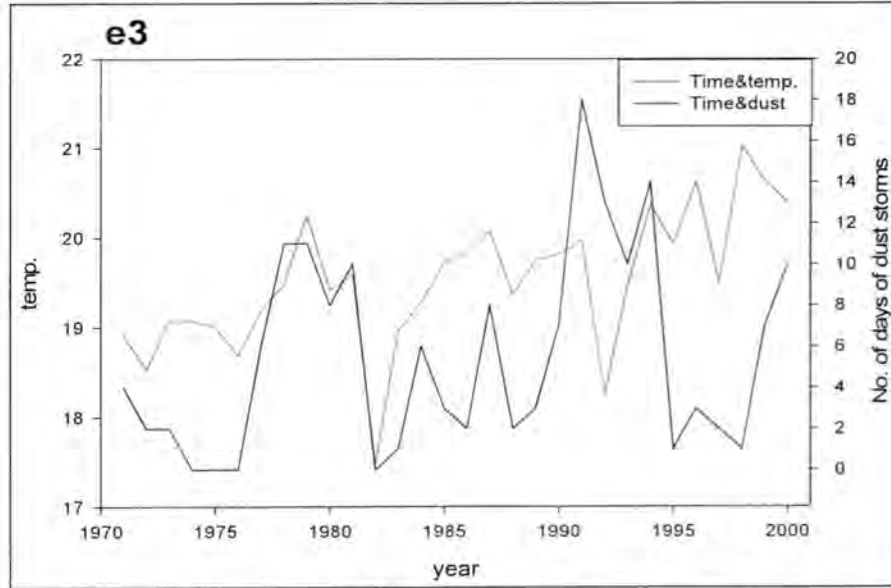
يبين الشكل (4) التغير السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية مع درجة الحرارة في محطات الدراسة خلال الفترة الممتدة من (1971 - 2000) حيث نلاحظ زيادة في عدد العواصف الغبارية في المحطات ذات معدل درجة حرارة عالي ، وعند استخراج اعلى معدل سنوي لدرجة الحرارة خلال الفترة المدروسة لكل محطة نجد ان اعلى قيمة كانت في محطة الناصرية (28.7 C) في سنة (1987) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (42 days) و اقل قيمة كانت في محطة الموصل (20.9 C) في سنتي (1979 - 2000) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (1 , 4 days) على التوالي وبلغت في محطة البصرة ، بغداد ، الرطبة (27.2, 23.2, 21 C) في سنة ، 1999 ، 1996 (1998) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (0 , 12 , 1) على التوالي . ومن اجل ايجاد علاقة ارتباط واضحة بين معدل درجة الحرارة والعواصف الغبارية تم تحليل المعلومات الانوائية لمعدل درجة الحرارة ولنفس الفترات في المحطات الخمسة و حساب معامل الارتباط وجد ان تاثير معدل درجة الحرارة على عدد ايام العواصف الغبارية هو على العموم علاقة طردية في محطات بغداد ، الرطبة ، الموصل وهي (0.230, 0.285, 0.210) على التوالي ، في حين ظهرت العلاقة عكسية في

محطات الناصرية، البصرة (  $r = -0.0986$  ,  $-0.267$  ) على التوالي وربما يكون ذلك ناتج من كون الغبار الذي يغطي المحطة في الأشهر الباردة يكون قادمًا من مناطق أخرى مجاورة للمحطة وليس من المحطة نفسها.



عماد





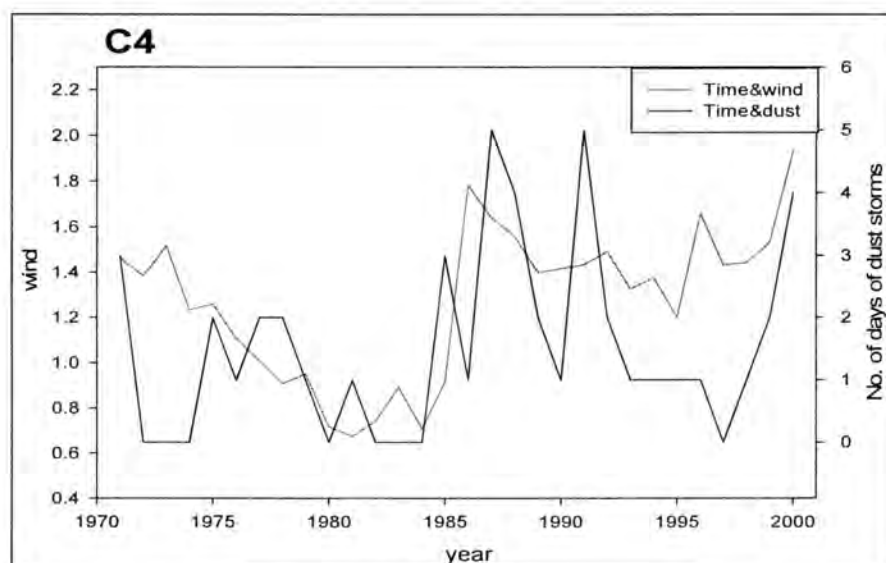
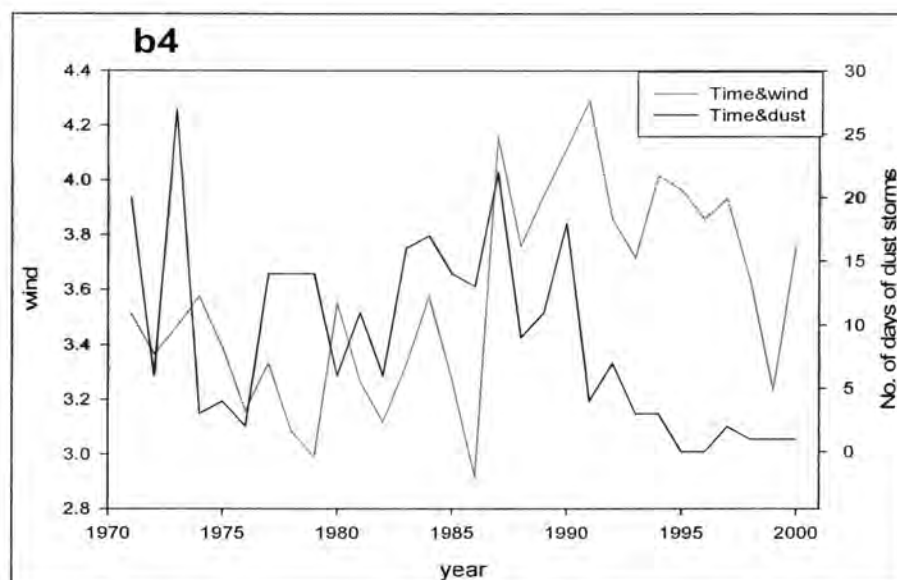
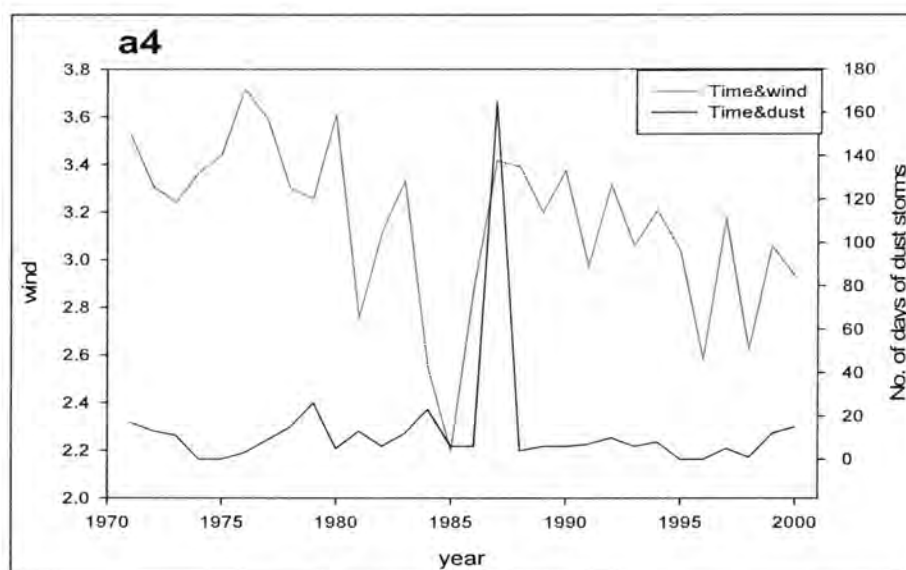
شكل - 4 : يبين العلاقة بين المعدلات السنوية لدرجة الحرارة وعدد أيام العواصف الغبارية (a3) لمحطة بغداد ، b3 لمحطة البصرة ، c3 لمحطة الموصل ، d3 لمحطة الناصرية و e3 لمحطة الرطبة)

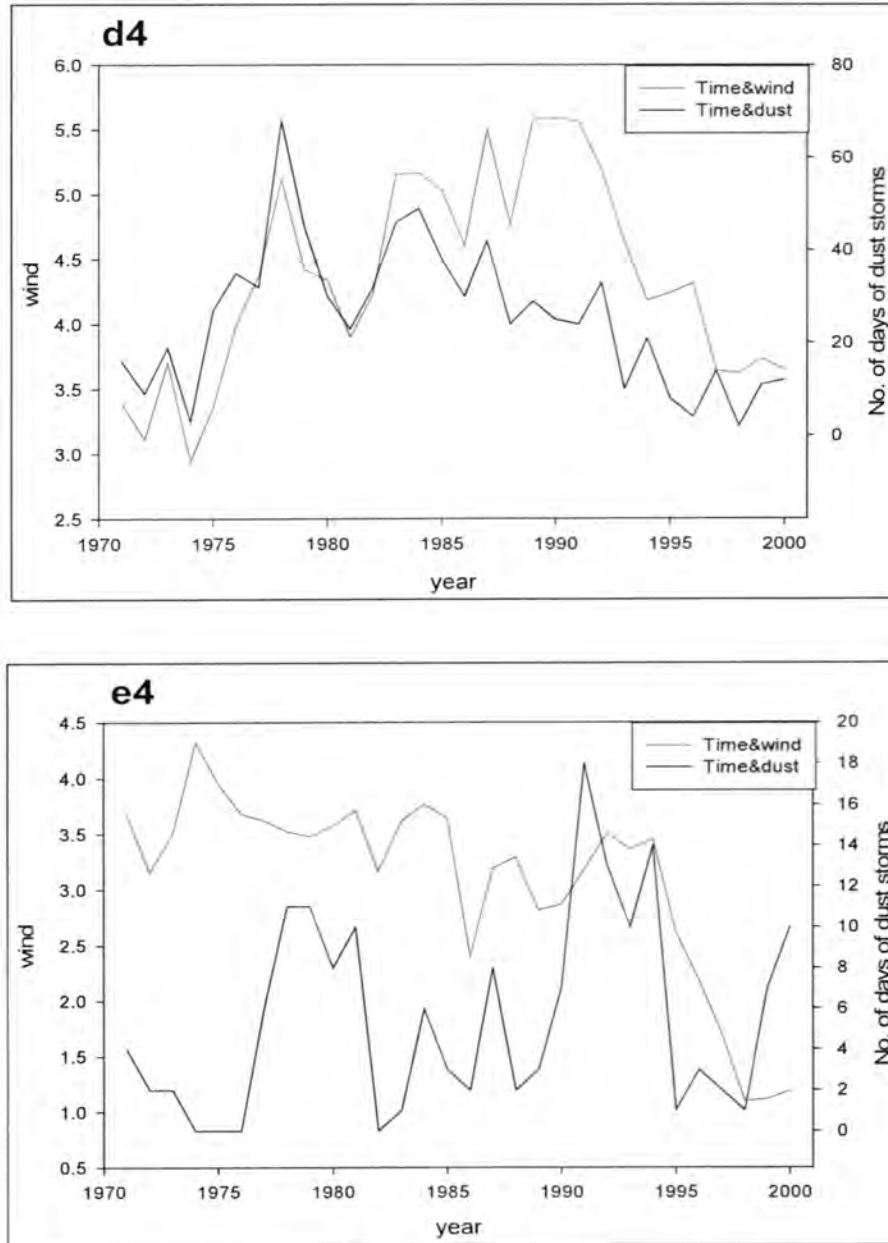
#### التغير السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية مع معدل سرعة الرياح

يبين الشكل (5) التغير السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية مع معدل سرعة الرياح في محطات الدراسة خلال الفترة الممتدة من (1971 – 2000) حيث نلاحظ زيادة في عدد العواصف الغبارية في المحطات ذات معدل سرعة رياح عالي وعند استخراج اعلى معدل سنوي لسرعة الرياح خلال الفترة المدروسة لكل محطة نجد ان اعلى قيمة كانت في محطة الناصرية (5.6 m/s) في سنة (1989,1990,1991) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (29,25,24) على التوالي فيما بلغت اوطا قيمة لها في محطة الموصل (1.9 m/s) في سنة (2000) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (4) وبلغت في محطة البصرة والرطبة وبغداد (3.7 , 4.3 , 4.3 m/s) في سنة (1991,1974,1976) وبمجموع سنوي لعدد ايام العواصف الغبارية بلغ (3 , 0 , 4) على التوالي . ومن اجل ايجاد علاقة ارتباط بين معدل سرعة الرياح والعواصف الغبارية تم تحليل المعلومات الانوائية لمعدل سرعة الرياح ولنفس الفترات في المحطات الخمسة و حساب معامل الارتباط وجد ان تأثير معدل سرعة الرياح على عدد ايام العواصف الغبارية هو على العموم علاقة طردية في محطات الناصرية ، الرطبة ، بغداد ، الموصل وبلغت (r = 0.605, 0.0444, 0.135, 0.428) على التوالي ، بينما في محطة البصرة ظهر الارتباط سالب وبقيمة (r = -0.153) وهذا من المحتمل أن تكون الرياح غير منتظمة السرعة أو الإتجاه مما يقلل من احتمالية تأثيرها في نشوء العواصف الغبارية على الرغم من سرعتها ، لأن من شروط الرياح المسببة للعواصف الغبارية هي كونها رياح شديدة ومنتظمة الإتجاه .



عماد





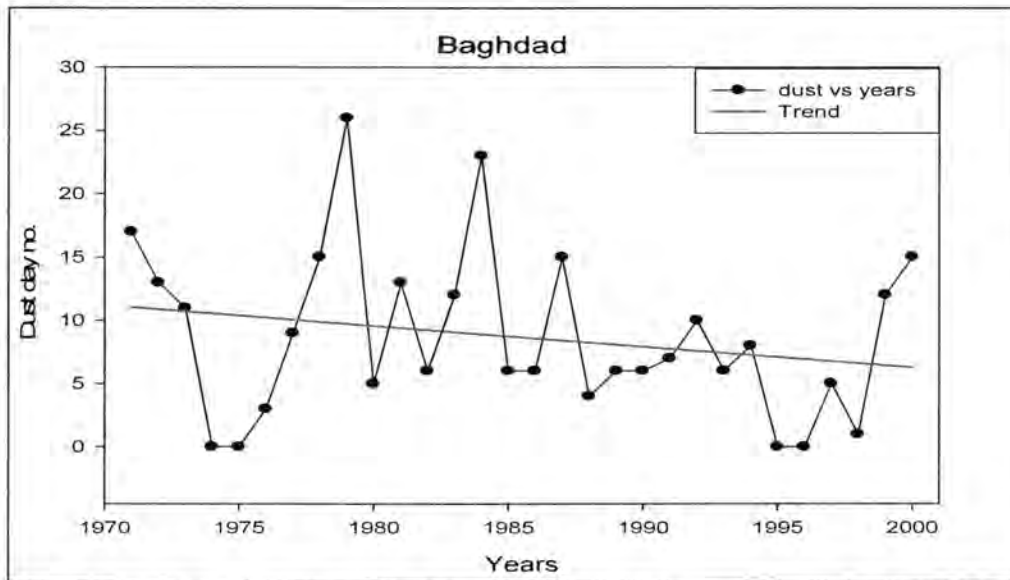
شكل - 5 : يبين العلاقة بين المعدلات السنوية لسرعة الرياح وعدد أيام العواصف الغبارية (a4 لمحطة بغداد , b4 لمحطة البصرة , c4 لمحطة الموصل , d4 لمحطة الناصرية و e4 لمحطة الرطبة)

## الاتجاه السنوي

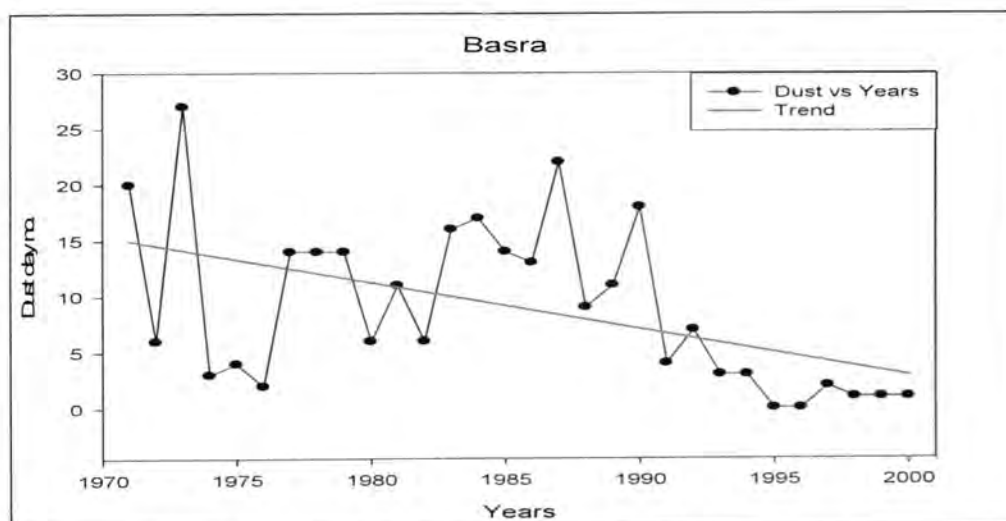
تم تمثيل المعدلات السنوية لعدد ايام العواصف الغبارية من خلال الاشكال (6,7,8,9,10) التي تبين الاتجاه السنوي للعواصف الغبارية لمنطقة الدراسة . وتبين الأشكال ان كل من محطتي الموصل والرطبة هو نحو الزيادة وفيها قيمة معامل الانحدار موجبة , بينما ظهر ان الاتجاه السنوي للعواصف الغبارية في محطات بغداد والبصرة والناصرية هو نحو النقصان وفيها قيمة معامل الانحدار سالبة كما هو مبين في الجدول رقم (2) .

جدول - 2 : يوضح قيم معامل الانحدار لكل محطة

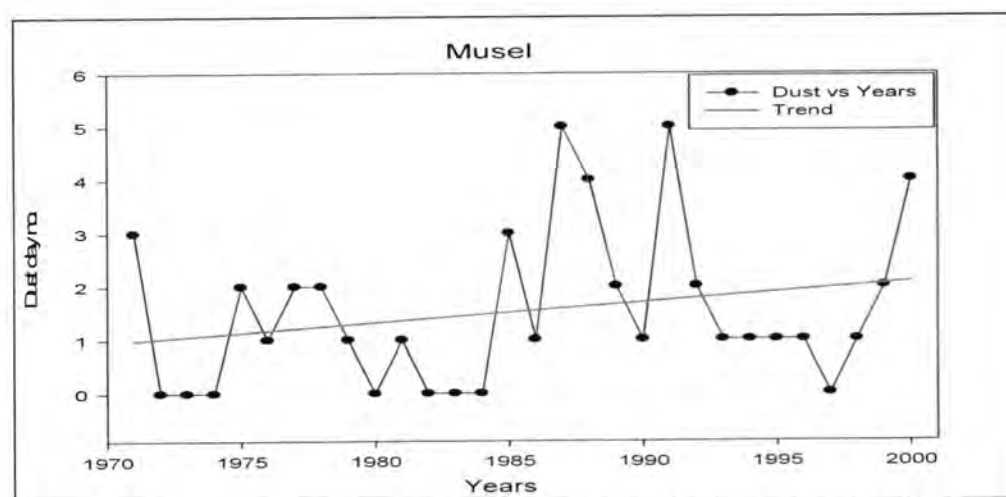
المحطة	معامل الانحدار
بغداد	-0.165
الناصرية	-0.589
البصرة	-0.415
الموصل	0.038
الرطبة	0.15



شكل - 6 : الاتجاه السنوي لعدد الأيام العواصف الغبارية للفترة من (1971-2000) لمحطة بغداد

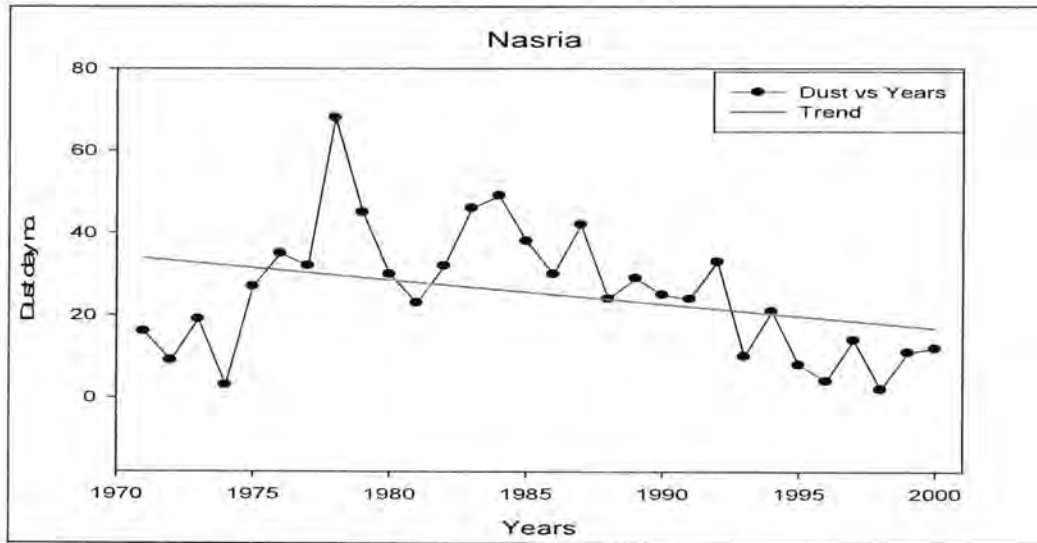


شكل - 7 : الاتجاه السنوي لعدد الأيام العواصف الغبارية للفترة من (1971-2000) لمحطة البصرة

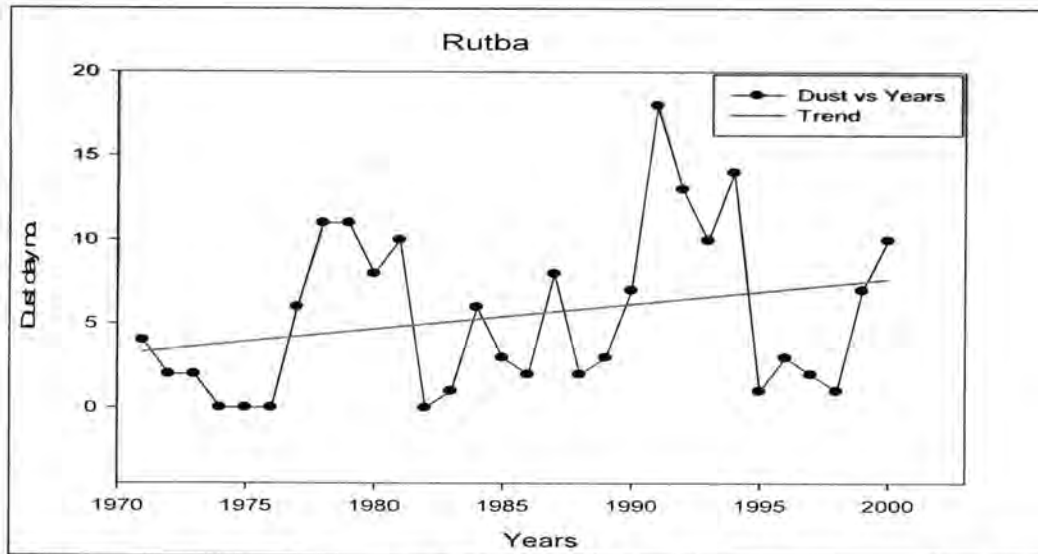


شكل - 8 : الاتجاه السنوي لعدد الأيام العواصف الغبارية للفترة من (1971 - 2000) لمحطة الموصل

عماد



شكل - 9 : الاتجاه السنوي لعدد الأيام العواصف الغبارية للفترة من (1971 - 2000) لمحطة الناصرية



شكل - 10 : الاتجاه السنوي لعدد الأيام العواصف الغبارية للفترة من (1971-2000) لمحطة الرطبة

من خلال المعلومات المدروسة خلال الفترة بين (1971 - 2000) تبين ان الاتجاه السنوي للعواصف الغبارية في محطات بغداد والبصرة والناصرية هو نحو النقصان , والاتجاه السنوي للعواصف الغبارية في محطتي الموصل والرطبة هو نحو الزيادة .  
كما وأن العلاقة بين المعدلات السنوية لكمية الامطار والرطوبة النسبية مع المعدل السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية كانت علاقة عكسية لجميع المحطات المدروسة, بينما كانت العلاقة طردية بين



المعدلات السنوية لدرجة الحرارة وسرعة الرياح مع المعدل السنوي لعدد ايام العواصف الغبارية في المحطات المدروسة

اظهرت قيم معاملات الارتباط انه في محطة بغداد كان اكبر ارتباط للعواصف الغبارية مع الرطوبة النسبية وأقله مع سرعة الرياح اما في محطة البصرة كان الارتباط الأقوى للعواصف الغبارية مع كمية الأمطار والأقل مع الرطوبة النسبية اما فيما يخص محطة الموصل اكبر ارتباط للعواصف الغبارية كان مع سرعة الرياح وأقله كان مع كمية الأمطار وفي محطة الناصرية ظهر ارتباط قوي للعواصف الغبارية مع سرعة الرياح وضعيف مع درجة الحرارة وأخيراً في محطة الرطبة كان اعظم ارتباط مع سرعة الرياح وأقل ارتباط مع الرطوبة النسبية.

### المصادر

- 1- الحمد ، رشيد حمد ، محمد سعيد السنيري ، الكوارث الطبيعية ، الجزء الثاني ، الطبعة الأولى ، مؤسسة الكويت للتقدم العلمي ، ص 70 ، (1986).
- 2- الفريشي ، ضياء الدين عبد الحسين عويد ، الخصائص الحرارية للجزء الأوسط والجنوبي من السهل الرسوبي في العراق ، رسالة ماجستير (غير منشورة) ، جامعة بغداد ، كلية التربية ، ابن رشد ، ص 99 ، (2008).
- 3- النعيمي ، رشيد حمود صالح ، التنبؤ الطويل الأمد بحالات الغبار في بغداد ، مجلة كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، مجلد 3 ، عدد 1 ، ص 10 ، (1991).
- 4- الدليمي ، بشائر عبد الرحمن ، دراسة العواصف الغبارية في العراق ، رسالة ماجستير (غير منشورة) ، الجامعة المستنصرية ، كلية العلوم ، ص 1 - 83 ، (1989).
- 5- الجوراني ، شذى خليل ، دراسة ظاهرة الغبار في العراق ، رسالة ماجستير (غير منشورة) ، الجامعة المستنصرية ، كلية العلوم ، ص 1 - 87 ، (1990).
- 6- المعموري ، بدر جدوع احمد ، العواصف الترابية في وسط العراق وجنوبه وطرق معالجتها ، مجلة الأستاذ ، جامعة بغداد ، كلية التربية ، العدد الثامن ، مكتب اريد للطباعة ، ص 126 - 141 ، (1996).

عماد

7- إسماعيل ، سليمان عبد الله ، العواصف الغبارية والترابية في العراق ، تصنيفها وتحليلها ، مجلة الجمعية الجغرافية العراقية ، العدد 39 ، ص 111 - 128، (1999) .

8- مشعل ، أزهار كاظم ، تمييز العواصف الغبارية باستخدام صور القمر الصناعي Terra MODIS ، رسالة ماجستير (غير منشورة) ، الجامعة المستنصرية ، كلية العلوم ، ص 1 - 82 ، (2008).

9 - AL- KAJAJI, R , M, Effects of Dust Storms on Some Iraqi Territories, Unpublished thesis, PH.D., Dept. Of Geology , of sci. Univ. of Baghdad , (2009).

10- بطي ، داود ناصر ، العواصف الترابية والغبار في العراق ، مركز تدريب الأنواء الإقليمي ، الهيئة العامة للأنواء الجوية العراقية والرصد الزلزالي ، بغداد ، ص 5 ، (1984).

11- موسى ، علي حسن ، موسوعة الطقس والمناخ ، جامعة دمشق ، الطبعة الأولى ، نور للطباعة والنشر ، سوريا ، ص 298 ، (2006).

12- موسى ، علي حسن ، العواصف والأعاصير ، الطبعة الأولى ، دار الفكر ، دمشق ، ص 42 - 43 ، (1989).

13- Ali.A, Dust phenomena at Baghdad Airport , Meteorological Memoirs , Vol . 1 , Baghdad, p.1, (1962) .

14- محمد ، جودت هدايت ، العواصف الغبارية وعلاقتها مع بعض المتغيرات الأنوائية والأنماط السايونيتيكية في محطات مختارة من العراق ، أطروحة دكتوراه (غير منشورة) ، الجامعة المستنصرية كلية العلوم ، (2010) .

15- الهيئة العامة للأنواء الجوية العراقية والرصد الزلزالي ، أطلس مناخ العراق للفترة (1961 - 1990) ، بغداد ، ص 7 - 8 ، (1994).