

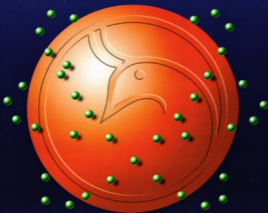


Al-Mustansiriyah

ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 16, No. 4, 2005



Issued by College of Science - Mustansiriyah University

AL-MUSTANSIRYA JOURNAL OF SCIENCE

Head Editor

Prof. Dr. Ihsan S. Damirdagh

General Editor

Prof. Dr. Redha I. AL-Bayati

Editorial Board

Dr. Subhi Kemal Hassun

Member

Dr. Najat Jawad AL-Obaidi

Member

Dr. Kais Jamel Laif

Member

Dr. Inaam A. Malloki

Member

Dr. Naima Mehseen Lafta

Member

Dr. Eman N. AL-Bayati

Member

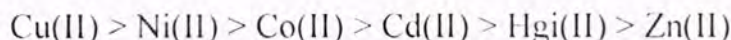
INSTRUCTION FOR AUTHORS

1. The journal accepts manuscripts in Arabic and English languages, which had 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 coppices 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. Figures and illustrations should be drawn using black China ink on tracing papers. Two photocopies (plus original) of each diagram should be submitted. Captions to figures should be written on separate papers. The same information should not be repeated in tables unless it is necessary and required in the discussion.
7. References should be denoted by a number between two brackets 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 intentional style for names and abbreviations of journals.

8. Whenever possible, research papers should follow this pattern: **INTRODUCTION, EXPERIMENTAL (MATERIALS AND METHODS), RESULTS, DISCUSSION and REFERENCES.** All written in capital letters at the middle of the page, without numbers or underneath lines.
9. The following pattern should be followed upon writing the references on the reference sheet: Surname (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).
10. A publication fees in the amount of ID. 15 thousand is charged upon a receipt of the paper and upon the acceptance for publication for their ID. 15 thousand should be paid for the editorial board.

CONTENTS

ITEM	Page No.
Synthesis and Spectroscopic Studies of Some Transition Metal Complexes With 2-[(3-Iodophenyl) azo]-4,5-Diphenyl Imidazole A. M. Ali and Rahim T. Mehdi	1-10
Utility of Certain π -Acceptors and Acid Dyes for the Spectrophotometric Determination of Amitriptyline-HCl Alaa K. Mohammed, Mohammed H. Abdul latif and Yahya Y.Z. Farid	11-31
Kinetic and Thermodynamic Studies on Binding of CA19-9 in Women Patients with Breast Cancer to ^{125}I -anti CA19-9 Antibody Salwa H. N. AL-Rubae'i	32-51
On Growth of Harmonic Functions in Hyper Spheres Having Index-Pair (p, q) Dr. Mushtaq S. AL-Shaibani	52-62
Stability and Instability of Interconnected Systems Using Symmetric Test Matrix Adel Mohammad Hassan Rizaq AL-Rammahi	63-76
Solvable Case of a Two Machine Flow Shop Scheduling Problem With No-Idle in Process T.S. Abdul-Razaq	77-94
Analysis of the Generalized Repeated Measures Models Sami D. Gabbara	95-108



كما وجد بان الصيغة العامة لهذه المعقدات هي $[\text{M}(\text{3-IPAI})_2\text{Cl}_2]$ وقد تم اقتراح تراكيب المعقدات من خلال القياسات الطيفية والمغناطيسية والتوصيلية. كما لوحظ بان الأعداد التناسقية لكل الأيونات الفلزية تساوي ستة ترتبط بواسطة ذرة النيتروجين التابعة للارزو وتلك العائدة إلى ذرة (N₃) للاميدازول، من خلال اثنين من الليكاندات مع أيونين من الكلوريد.

INTRODUCTION

Imidazole is a ubiquitous ligand in chemical and biological system (1-3). The coupling reaction of imidazole with aryl diazonium ion gives 2-(aryl azo) imidazole (4). The chemistry of this class of azo dyes has expanded in different directions. One of the most important uses is as an analytical reagents (5,6). In addition to the use as a staining agent (7). The ligand is iso electronic with (α -imine) and the active function is the (π -acidic) azo imine group, ($-\text{N}=\text{N}-\text{C}=\text{N}-$), abbreviated as N,N' {N refers to N (imine) and N' refers to N (azo)}, for this reason α number of these ligands were prepared as chelating ligands (8,9).

We describe here the preparation of some transition metal complexes, using the new arylazo imidazol ligand.

EXPERIMENTAL

1- Materials and measurements

All reagents and solvents were obtained from commercial sources and used with out further purification. 4,5-diphenyl imidazole was prepared as described in the literature (10). Elemental analyses were carried out by Perkin-Elmer 2400 Elemental analyzer. IR spectra were recorded on pyc-Unicom SP3-300 spectrophotometer in the $4000\text{-}200\text{ cm}^{-1}$ range using CsI disc. The magnetic susceptibilities were measured on powdered samples using the Faraday method, for this purpose Balance Magnetic MSB-MKI was employed. Electronic spectra were made using Cintra-5 GBC UV-Visible Spectrophotometer. pH measurement were carried out using HANNA pH meter model HI 9321. The metal amounts were determined using atomic absorption technique by Shimadzu-AA-160. The conductance measurements were carried out at room temperature at concentration of (10^{-3}M) using conductivity bridge model 31A. The mass spectrum of (3-IPAI) was obtained using G.C-Mass-Shimadzu QP 1000 A Gas – Mass spectrophotometer.

2- Synthesis of the ligand (3-IPAI)

Synthesis of (3-IPAI) ligand (Fig.1), was followed using the general procedure (11). 3-Iodoaniline (6.57g, 30 mmol) was dissolved in 80ml of water and 8 ml of concentrated HCl and diazotized below 5C° with NaNO₂ (2.07g, 30 mmol). The resulting diazonium chloride solution was mixed with 4,5-diphenyl imidazole (6.6g, 30 mmol) dissolved in alcoholic NaOH solution (5g, 150ml) below 0C°. After leaving in the refrigerator over night, the solid product was filtered off, washed with cold water 500 ml and crystallized from ethanol and dried over CaCl₂. The analytical and physical data of the ligand and its complexes are listed in (Table 1).

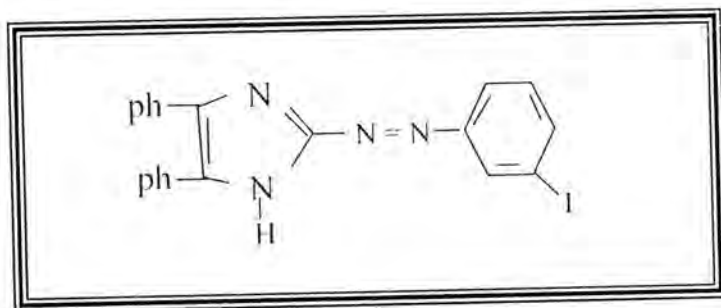


Fig. 1: Structure of ligand (3-IPAI)

3- Synthesis of the complexes

The appropriate metal chloride (Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II) and Hg(II) salts) (1m mol) in ethanol- water (1:1) 25ml mixture was added to the solution of the azo ligand (0.9g, 2 mmol) in ethanol 70ml. The resulting solution was stirred under reflux for 30 min, then the complexes were precipitated. They were removed by filtration, washed with 1:1 ethanol / water and dried over CaCl₂.

RESULTS AND DISCUSSION

1- Mass spectrum of (3-IPAI)

Mass spectrometer data support the proposed structure. The ligand was run using the direct insertion. The base peak had a measured mass of (450) corresponding to a molecular formula of C₂₁H₁₅N₄I, the calculated formula weight I (450). This formula is the azo ligand molecular formula. A fragment at (Z/e =220) corresponding to the 4,5-diphenyl imidazole ⁽¹²⁾

Another fragment at ($Z/e = 235$ and 78) due to 2-amino-4,5-diphenyl imidazole and benzene ring respectively (13). The successive fragmentation peaks are shown in (fig.2).

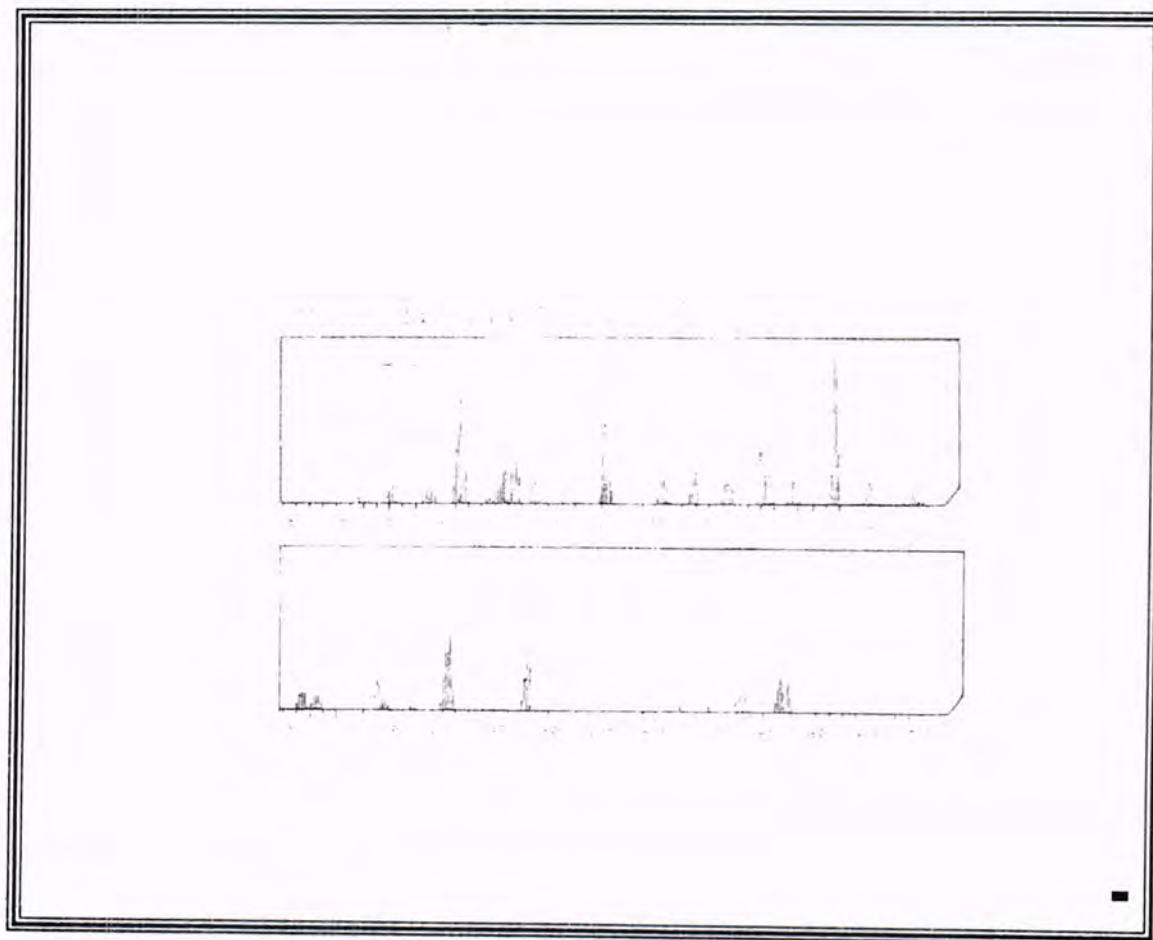


Fig. 2: The mass spectrum of azo ligand (3-IPAI)

2- Metal : ligand ratios

The metal: ligand ratios of chelates were determined by the method of molar ratio at the wavelengths of maximum absorption. The results are summarized in (Table. 2).

The compound (3-IPAI) was found to form 1:2 chelates with metal ions under studies, these results are in agreement with the values reported for some aryl azo imidazole complexes (14).

3- Calculation of the metal complexes stability constant

Chelate stability constants are obtained spectrophotometrically by measuring the absorbance of solutions of ligand and metal mixture at fixed wave length λ_{max} and pH values. The degree of formation of the complex is obtained from the relationship (15).

$$\beta = (1 - \alpha) / (4\alpha^3 C^3) \text{ and } \alpha = (\Lambda_m - \Lambda_s) / \Lambda_m$$

Where Λ_m and Λ_s are the absorbances of the partially and fully formed complex respectively at optimum concentration.

The calculated log β values for the prepared complexes are given in (Table 2). The stability follows the sequence $\text{Cu(II)} > \text{Ni(II)} > \text{Co(II)} > \text{Cd(II)} \sim \text{Hg(II)} > \text{Zn(II)}$. The high stability of (3-IPAI) towards Cu(II) is remarkable over the other ions. This implies a considerably higher affinity toward these ions.

4- Infrared spectra

The IR spectra of the free ligand (3-IPAI) and its metal complexes are carried out in the $4000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$ range (table 3).

The strong and broad band at 3360 cm^{-1} in the spectrum of the ligand may be attributed to the (NH) of imidazole group. This band remains in the same region in free ligand and in complexation. Thus, the remaining of amine hydrogen group intact in solid complexes, indicating its non-involvement in coordination of the ligand to the metal ions (14).

The spectrum of ligand shows absorption band at 1610 cm^{-1} due to $\nu(\text{C}=\text{N})$ of the N_3 imidazole nitrogen. It is observed with a little change in shape and shifted to lower frequencies $1600\text{--}1590\text{ cm}^{-1}$ in the prepared complexes spectra. These differences suggest the linkage of metal ion with nitrogen heterocyclic ring (16).

The $\nu(\text{N}=\text{N})$ stretching vibration appears at 1480 cm^{-1} in the free ligand spectra. This band appearing at $1470\text{--}1460\text{ cm}^{-1}$ with decreased in intensity, in the spectra of complexes. Both bands shifted and reduced intensity this may indicates that it has been affected on coordination with metal ions (17).

In the far IR spectra of all complexes, there are new bands observed in the region of $580\text{--}260\text{ cm}^{-1}$ which are never been observed in the free ligand spectrum. The bands observed at $580\text{--}560\text{ cm}^{-1}$ (M-N) and $280\text{--}260\text{ cm}^{-1}$ (M-Cl) (Table 3) provide evidences concerning the bonding of nitrogen and chloride to the metal ions (18), therefore, the IR spectra indicate that (3-IPAI) ligand behaves as a bidentate chelating agent, and the coordinating sites are $-\text{N}=\text{N}-$ and N_3 atom of the imidazole ring.

5- Magnetic susceptibility and electronic spectra measurements

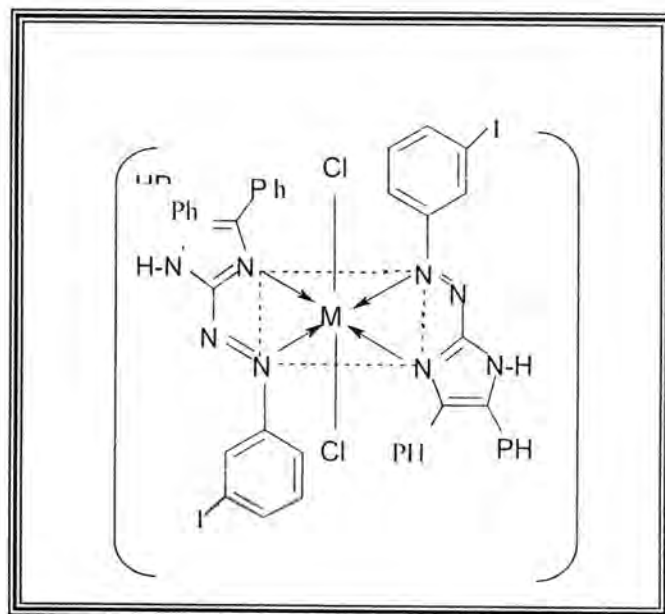
As further structural tools, magnetic and electronic spectral studies have been used to confirm the geometry of the complexes. The spectral data and the magnetic moments are listed in (Table 4)

The magnetic moment of the Co(II) complex has been found to be (5.23 B.M) which is within the range of octahedral cobalt(II) complexes (19). The electronic spectra of this complex shows three absorption band at 14700, 16543 and 23866 cm^{-1} these are assigned to ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{2g}(\text{F})(\nu_1)$, ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{A}_{2g}(\text{F})(\nu_2)$ and ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{P})(\nu_3)$ transitions, respectively, which are characteristic of octahedral stereo chemistry (20). For the Nickel(II) complex, its magnetic moment (3.1 B.M), and d-d spectrum of this complex show bands at 14265 cm^{-1} , and 22225 cm^{-1} , which are suggesting the existence of ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}(\text{F})(\nu_2)$ and ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}(\text{P})(\nu_3)$ transitions with an octahedral spatial configuration^(21,22). The magnetic moment value of the Copper(II) complex is (1.7 B.M) which may suggest an octahedral structure. Its electronic spectrum shows a band centered at 15649 cm^{-1} which may assigned to ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{T}_{2g}$ transition in an approximately octahedral environment (19). Zinc, cadmium and mercury complexes are diamagnetic and the electronic spectra of these complexes do not show any d-d transition bands. There were three absorption bands appear at the free ligand (3-IPAI) spectrum, those are appearing at the positions, 40650 cm^{-1} , 33113 cm^{-1} , 23148 cm^{-1} the bands 40650 and 33113 cm^{-1} referring to the $\pi\text{-}\pi^*$ transitions while the band at 23148 cm^{-1} is due to the charge transfer characters (4).

6- Conductivity measurement

All chelate complexes prepared in this work showed conductivity values ranged between 4.87-6.95 $\text{S.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, (Table 4), in DMF at room temperature, these values indicating that no conductive species exist (23).

According to these results the following structural formula of these complexes may be proposed.



(M=Cu(II), Ni(II), Co(II), Zn(II), Cd(II) and Hg(II)).

Fig. 3: The suggested structural formula of complexes

Table 1
Physical properties and analytical data of the ligand (L) and its complexes

No.	Compound	Colour	M.p. C°	Yield %	Formula	Found (calc.) %			
						C	H	N	M
1	L	Orange	192	72	C ₂₁ H ₁₅ N ₄ I	55.81 (56.00)	3.14 (3.33)	12.93 (12.44)	(-----)
2	[CoL ₂ Cl ₂]	Green	210	67	C ₄₂ H ₃₀ N ₈ I ₂ Cl ₂ Co	48.69 (48.93)	2.72 (2.91)	10.68 (10.87)	5.46 (5.72)
3	[NiL ₂ Cl ₂]	Greenish -yellow	267	65	C ₄₂ H ₃₀ N ₈ I ₂ Cl ₂ Ni	48.75 (48.94)	3.11 (2.91)	10.66 (10.86)	6.05 (5.70)
4	[CuL ₂ Cl ₂]	Green	215	74	C ₄₂ H ₃₀ N ₈ I ₂ Cl ₂ Cu	49.03 (48.71)	2.73 (2.89)	11.03 (10.82)	6.54 (6.14)
5	[ZnL ₂ Cl ₂]	Rose	218	77	C ₄₂ H ₃₀ N ₈ I ₂ Cl ₂ Zn	48.78 (48.63)	3.05 (2.89)	11.03 (10.80)	6.71 (6.30)
6	[CdL ₂ Cl ₂]	Dark red	220	70	C ₄₂ H ₃₀ N ₈ I ₂ Cl ₂ Cd	46.34 (46.52)	2.91 (2.79)	10.14 (10.33)	9.52 (10.37)
7	[HgL ₂ Cl ₂]	Red	232	75	C ₄₂ H ₃₀ N ₈ I ₂ Cl ₂ Hg	43.39 (43.18)	2.71 (2.56)	9.89 (9.56)	16.89 (17.12)

L = Ligand = (3-IPAI)

Table 2

Metal : ligand ratios determination by the method of mole ratio and stability constant values

Ligand	Metation	pH	$\lambda(\text{nm})$	Metal:ligand	β	Log β
(3-IPAl)	Co(II)	8.0	604	1:2	6.12×10^8	8.786
	Ni(II)	9.5	701	1:2	9.23×10^8	8.965
	Cu(II)	8.0	639	1:2	3.46×10^8	9.539
	Zn(II)	7.5	496	1:2	2.44×10^8	8.387
	Cd(II)	10.0	506	1:2	3.85×10^8	8.585
	Hg(II)	10.5	504	1:2	3.79×10^8	8.578

Table 3

Important IR frequencies for the ligand and its complexes
(CsI pellets; cm^{-1})

Compound	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{N}=\text{N})$	$\nu(\text{M}-\text{N})$	$\nu(\text{M}-\text{Cl})$
L	3360 s.br	1610 m	1480 w	--	--
[Co L ₂ Cl ₂]	3360 s.br	1595 m.sh	1460 w	560 w	280 w
[Ni L ₂ Cl ₂]	3355 m.br	1590 m.sh	1465 w	580 w	260 w
[Cu L ₂ Cl ₂]	3355 m.br	1600 m.sh	1470 w	570 w	280 w
[Zn L ₂ Cl ₂]	3360 s.br	1590 m	1460 w	560 w	270 w
[Cd L ₂ Cl ₂]	3355 m.br	1590 m.sh	1460 w	580 w	260 w
[Hg L ₂ Cl ₂]	3360 m.br	1595 m	1465 w	560 w	270 w

L = Ligand, s = strong, br = broad, sh = shoulder, m = medium, w = weak

Table 4

Electronic spectra, conductivity and magnetic moment data of the complexes

Complex	Absorption Bands(cm^{-1})	Transition	Conductivity $\text{s.mol}^{-1}.\text{cm}^2$	$\mu_{\text{eff}}(\text{B.M})$
[CoL ₂ Cl ₂]	14700	${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{2g}(\text{F})$	5.61	5.3
	16543	${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{A}_{2g}(\text{F})$		
	23866	${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{P})$		
[NiL ₂ Cl ₂]	14265	${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}(\text{F})$	4.87	3.1
	22225	${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}(\text{P})$		
[CuL ₂ Cl ₂]	15649	${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{T}_{2g}$	5.23	1.7
[ZnL ₂ Cl ₂]	-	-	6.95	dia
[CdL ₂ Cl ₂]	-	-	6.34	dia
[HgL ₂ Cl ₂]	-	-	6.89	dia

REFERENCES

1. Zhang, S.S., Wang, S., Wen, Y. and Jiao, K., "Synthesis and Crystal Structure of Hexakis (Imidazole) Nickel(II)-O,O'-Diphenyldithio Phosphate $[\text{Ni}(\text{Im})_6](\text{ph}_2\text{O}_2\text{PS}_2)_2$ ", *Molecules*, 8, 866 (2003).
2. Tidwell, R.R., Jones, S.K., Naiman, N.A., Berger, I.C., Brake, W.R., Dykstra, C.C. and Hall, J.E., "Activity of Dicationically Substituted Bis-Benzimidazoles Against Experimental Pneumo Cystis Carinii Pneumonia", *Antimicrob. Agents Chemother.*, 3, 1713 (1993).
3. Sigel, H. (Ed.), "Metal Ions in Biological systems", Marcel, New York, Vol. 13 (1981).
4. Mahmud, M.R., Hamman, A.M. and Ibrahim, S.A., "Spectral and Acid-Base Properties of Some 2-(Arylazo)- 4,5-Diphenyl Imidazole Derivatives", *Z. Phys. Chemie. Leipzig*, 265, 302 (1984).
5. Fakhri, N.A. and Dekran, S.B., "Spectrophotometric Determination of Cobalt and Nickel with 1-(2-Benzimidazolylazo)-2-Hydroxy-3- Naphthoic Acid", *The Journal of the college of Education, Salahaddin University*, 2(3), 233 (1990).
6. Shibata, S., Furukawa, M. and Nakashima, R., "Synthesis of Azo Dyes Containing 4,5-Diphenylimidazole and their Evaluation as Analytical Reagents", *Analy. Chim. Acta.*, 81, 131 (1976).
7. Sumi, Y., Itoh, M.T., Muraki, T. and Suzuki, T., "Histo Chemical Stainine of Cadmium with 2-(8-Quinolylazo)-4,5-Diphenyl imidazole", *Histo Chem. Cell Biol.*, 106, 223 (1996).
8. Dindad, J., Das, D., Santra, P.K., Sinha, C. and Falvello, L.R., "Cyclopalladation Versus Hydroxylation. A case of pH Dependence", *J. Organomet. Chem.*, 629, 28 (2001).
9. Pal, S., Misra, T.K. and Sinha, C., "Reaction of $\text{Ru}(\text{pph}_3)_3\text{Cl}_2$ with Arylazoimidazole. Spectral Characterization and Redox Studies of [Bis-{N(I) Alkyl-2-(Arylazo)Imidazole}-Bis-(Triphenyl Phosphine)] Ruthenium (II) Perchlorate", *Transition Met. Chem.*, 25, 333 (2000).
10. Hofman, K., "Imidazole and its Derivatives", Interscience, New York (1953).
11. Vogel, A.I., "A Textbook of Practical Organic Chemistry" 3rd. Ed., Longman (1956).
12. Mattison, L.E., Metaxas, J.M. and D'dell, C.S., "2-[2-Hydroxy-5-Nitro Phenyl) Azo]-4,5-Diphenylimidazole Mono Acetic Acid as an Analytical Reagent", *Anal. Chem.*, 41(12), 1690 (1969).
13. Ali, A.M., "Synthesis of Some Transition Metal Complexes with New Thiazolylazo and Imidazoleazo Compounds and Their Spectral and Thermal Studies", Ph. D. Thesis, Baghdad University (1999).

14. Yamauchi, O., Tanaka, H. and Uno, T., "Stability Constants of the Metal Chelates of Azo Imidazoles", *Talanta*, 15, 177 (1968).
15. Skoog, D.A., "Fundamentals of Analytical Chemistry" 5th Ed., New York, (1988).
16. Pal, S., Das, D., Chattopadhyay, P., Sinha, C., Panneerselvam, K. and Tian-Hueyly, "Synthesis, Spectral and Electrochemical Properties of 1-Alkyl-2-(Naphthyl- β -Azo) Imidazole Complexes of Platinum (II) and the Reaction with Pyridine Bases", *Polyhedron*, 19, 1263 (2000).
17. Al-Adely, K.J.K., "Synthesis and Spectroscopic Study of Group (IIB) and (IIIB) Metalion Complexes with New Azo Compounds and with 1-(2-Pyridylazo)-2-Naphta", Ph. D. Thesis, Baghdad University (2000).
18. Mukarram, Z.H. and Mazin S.Y., "Complexes of Rhodium Ruthenium and Platinum with 2,2' -Biquinoline and 2-(2'-Pyridyl) Quinoline", *Mutah Journal for Research and Studies*, 6, 5 (1991).
19. Nicholas, D., "Pergamon Texts in Inorganic Chemistry", Pergamon Press, Oxford, 1st Ed., 24, 1087-1090, 1152-1154 (1973).
20. Mohamed, G.G., Nadia Gamel E.A.El., and Teixidor, F., "Complexes of 2-(2-Benzimidazolylazo)-4-Acetamido Phenol, O-Phenol Diazenyl-containing Ligand Could this be a Moiety Suitable for Zn and Cd Extraction?", *Polyhedron*, 20, 2689 (2001).
21. Figgis, B.N., "Introduction to Ligand Field Theory", Interscience, New York (1960).
22. Figgis, B.N. and Lewis, J., "Modern coordination chemistry" Interscience, New York (1960).
23. Ali, A.M., "Synthesis and Characterization of Some Metal Complexes with New Ligand 2-[(6-Ethoxy-2-Benzothiazolyl) Azo]-4-Benzyl Phenol (EBTAE)", *Sci. J. Babylon University*, 9(3), 841 (2004).

Utility of Certain π -Acceptors and Acid Dyes for the Spectrophotometric Determination of Amitriptyline-HCl

Alaa K. Mohammed	College of Education (Ibn-Al-Haitham), Chemistry Department, University of Baghdad
Mohammed H. Abdul latif	College of Education (Ibn-Al-Haitham), Chemistry Department, University of Baghdad
Yahya Y.Z. Farid	College of Medicine, Chemistry and Biochemistry Department, Al-Nahrain University

ABSTRACT

Tow sensitive spectrophotometric methods are developed for the determination of amitriptyline-HCl in pharmaceutical tablets. The first method is based on the formation of charge-transfer complexes between the drug base as an n-donor and 2,3-dichloro-5, 6-dicyano-p-benzoquinone (DDQ), p-chloranilic acid (p-CA) and p-chloranil (p-CL) as π -acceptors.

The products exhibit absorption maxima at 450nm, 510nm and 540nm for DDQ, p-CA and p-CL, respectively.

Beer's law is obeyed in concentration range of 8-60 $\mu\text{g/ml}$ for the complex with DDQ and 10-40 $\mu\text{g/ml}$ for both complexes with p-CA and p-CL. The molar absorptivities are found to be 3.89×10^3 , 1.22×10^3 and $0.423 \times 10^3 \text{ l.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ for DDQ, p-CA and p-CL, respectively. The second method is based on the extraction of the formed ion -association complexes of the drug with either thymol blue or bromophenol blue at pH values 3.6 and 4.18, respectively.

Both complexes have absorption maxima at 410nm. Beer's law is obeyed in a concentration range of 10-40 and 50-150 $\mu\text{g/ml}$ with molar absorptivities of 1.19×10^3 and $1.14 \times 10^3 \text{ l.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ for bromophenol blue and thymol blue, respectively. The methods hold their accuracy and precision well when applied to the determination of the cited drugs in dosage form.

الخلاصة

تم تطوير طريقتين طيفيتين لتقدير الامتريبتلين في الحبوب الدوائية. تستند الطريقة الأولى على تكوين معقدات انتقال الشحنة بين الدواء ذي الصيغة القاعدية كمناح للإلكترونات وبين المركبات 2, 3-دايكلورو-5, 6-دايسيانو-بارا-بنزوكوينون، بارا-حامض الكلورانيك وبارا-كلورانيك كمستقبلات باي (π) للإلكترونات. تظهر المركبات امتصاص اعظم عند طول موجي قدره (450, 510 و 540 نانوميتر) مع مطاوعة لقانون بير ضمن مدى التراكيز 8-60 ميكروغرام/مل لمعقد 2, 3-دايكلورو-5, 6-دايسيانو-بارا-بنزوكوينون و 10-40 ميكروغرام/مل لمعقد بارا-حامض الكلورانيك وبارا-كلورانيك على التوالي مع قيم امتصاص مولارية مساوية إلى 3.89×10^3 , 1.22×10^3 و 0.423×10^3 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹. الطريقة الثانية تستند على استخلاص معقدات الزوج الايوني للدواء اما مع صبغة الثايمول الأزرق أو البروموفينول الأزرق عند دالة حامضية مقدارها 4, 18 و 3, 16. تظهر المعقدات امتصاص اعظم عند طول موجي 410 نانوميتر مع مطاوعة لقانون بير ضمن مدى التراكيز 10-40, 50-150 ميكروغرام/مل مع امتصاصية مولارية مقدارها 19, 1×10^3 و 1.14×10^3 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ لمعقد البروموفينول الأزرق والثايمول الأزرق. تم تطبيق الطريقة على نماذج دوائية مختلفة بدقة عالية وضبط جيد.

INTRODUCTION

Amitriptyline is chemically 3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo [a, d] cyclohepten-5-ylidene)-propyldimethylaminc. belongs to the family of tricyclic antidepressant, a group of drugs used widely in endogenous depression and may also be effective in some cases of reactive depression (1). Most existing methods for the determination of amitriptyline in bulk and in pharmaceutical formulations have been reviewed; among other analytical method for assaying of amitriptyline-HCl are spectrophotometry (2-4), gas chromatography (5,6), high-performance liquid chromatography (7-9), capillary zone electrophoresis (10,11) and potentiometric (12,13). The charge-transfer reaction of certain π -acceptors has been successfully utilized in pharmaceutical analysis, of them 2,3-dichloro-5, 6-dicyano-p-benzoquinone (DDQ), 7,7,8,8-tetracyanoquino-dimethane (TCNQ), tetracyano-ethylene (TCNE), 2,4,7-trinitrofloren-9-one (TNF), 2,3,5,6-tetrachloro-p-benzoquinone (p-chloranil) and 2,5-dihydroxy-3, 6-dichloro-p-benzoquinone (p-chloramilic acid) are know to yield charge-transfer

complexes and radical ions with a variety of electron donors such as amines (14,15), desipramide (16), alkaloids (17) and some cephalosporin derivatives (18). On the other hand, acid dyes such as thymol blue, bromophenol blue, bromothymol blue, methylene blue, light green FCF, and other has been widely used as ion-pairing reagents for quantitative analyses of many pharmaceutical compounds (19,20). The aim of the present work is to establish an improved spectrophotometric method for the determination of amitriptyline-HCL by exploiting its basic nature and electron-donating property. The determination is based on charge-transfer reaction with (DDQ), (p-CA) and (p-CL) and ion-association complexation with thymol blue and bromophenol blue (21,22). The proposed methods were applied successfully to pharmaceutical preparation with good accuracy and precision.

EXPERIMENTAL

Apparatus:

1. A single beam UV-VIS spectrophotometer from Beckman Scientific Equipment model DU-65 with 10mm glass cells was employed for all spectral measurements.
2. pH-meter model PW-9421 from Philips was used for all pH measurements.

Materials and reagents:

All the reagents used were of analytical grade:

1. Amitriptyline- hydrochloride standard powder materials (purity 99.5%) and Deprezol tablets (labeled to contain 25 mg amitriptyline-hydrochloride) were provided from the state company for drug industries and medical appliances samara-Iraq (SDI).
2. Tryptizol tablets (labeled to contain 25mg amitriptyline-hydrochloride) were provided from MSD-USA.
3. Amitriptyline-hydrochloride tablets (labeled to contain 25mg) were provided from (HM-Holden Medical BV-Netherlands- Holland) and (Darou Pukhsh pharma-Iran).
4. Thymol blue, 1×10^{-3} M solution prepared by dissolving 46.7mg thymol blue in 100 ml 0.1NaOH solution.
5. Bromophenol blue, 1×10^{-3} M solution (prepared by dissolving 67.0 mg bromophenol blue in 5 ml methanol and completed to 100ml by distilled water).

6. DDQ solution, 0.1% in acetonitrile. The solution was prepared fresh daily.
7. p-CA solution, 0.125%w/v in acetonitrile.
8. p-Cl₂ solution, 2×10^{-3} M prepared by dissolving 0.0122 gm in 25 ml of acetonitrile by using a volumetric flask.
9. Phthalate buffer (pH =3.60). To 250ml of 0.2M potassium hydrogen phthalate, 11.90ml of 0.2 M HCl was added, and then the solution was diluted to a final volume 1000ml with water (23).

Standard stock solutions:

1- Solution for procedure A:

One mg/ml standard solution of amitriptyline was prepared by dissolving 25mg of amitriptyline-HCl in 8-ml of methanol, then the solution was rendered distinctly alkaline (pH 9.0) by a drop wise of 0.2N sodium hydroxide. The solution was transferred into a separating funnel and the drug base extracted with four portions (5ml of chloroform). The mixed chloroform extracts was filtered through a filter paper containing a small amount of anhydrous sodium sulfate into a 25 ml volumetric flask and diluted to volume with chloroform.

2- Solution for procedure B:

Half mg/ml standard solution of amitriptyline was prepared by dissolving 25 mg of amitriptyline was prepared by dissolving 25 mg of amitriptyline-HCl in a final volume 50ml of methanol by using volumetric flask.

General analytical procedures and calibration graphs:

Procedure A (Charge-transfer complexation):

1- Method using DDQ:

Aliquot volumes of the standard stock solution-containing (0.008-0.10 mg) drug were transferred into a 5-ml volumetric flask, 0.5 ml of the DDQ solution was added, and the mixture was allowed to stand 25 min at room temperature (25 ± 2 °C), and then diluted to volume with acetonitrile. The absorbances of the resulting solutions were measured at the wavelength of maximum absorption (450 nm) against reagent blank treated similarly (Table 1).

2- Method using p-CA:

Aliquot volumes of the standard stock solution-containing (0.01-0.07 mg) drug were transferred into a 5-ml volumetric flask. One ml of the p-

CA solution was added, and then diluted to volume with acetonitrile. The absorbances of the resulting solutions were measured at the wavelength of maximum absorption (510 nm) against reagent blank treated similarly (Table 1).

3- Method using p-CL:

Aliquot volumes of the standard stock solution-containing (0.01-0.07 mg) drug were transferred into a 5-ml volumetric flask. One ml of the p-CL solution and two ml of the acetonitrile was added and the reactions were allowed to proceed for 10min at (60 °C) in thermostated water bath. The mixture was cooled and then diluted to volume with acetonitrile. The absorbances of the resulting solutions were measured at the wavelength of maximum absorption (540 nm) against reagent blank treated similarly (Table1).

Table (1)
Optimum conditions for the colour development of amitriptyline-HCl using charge- transfer complexation

Item	Amitriptyline-HCl		
	DDQ	p-CA	p-CL
Conc. range of the drug (mg/ml)	0.008-0.100	0.010-0.070	0.010-0.070
Conc. of acceptor (% w/v) or molar	0.5 ml (0.1%)	1ml (0.125%)	1ml (2×10^{-3} M)
Reaction time (min)	25 min.	At once	10-min. warming
λ_{\max} (nm)	450	510	540
Stability of the complex	More than 2hr	More than 2hr	More than 2hr
Dissolving solvent	Methanol	Methanol	Methanol
Diluting solvent	Acetonitrile	Acetonitrile	Acetonitrile

Procedure B (Ion-pair formation):

1-Method using thymol blue:

One ml from each solution-containing (0.05-0.30mg) drug was transferred into 25-ml separating funnel. The solution was then treated with 1-ml of thymol blue solution. Five ml phthalate buffer (pH=3.60) was

added and the complex was extracted for 1min with two portion of 5-ml of chloroform. The organic layer was passed through anhydrous sodium sulfate into a 10-ml volumetric flask, then the volume was completed with chloroform and the absorbance was measured at the wavelength of maximum absorption (410nm) against reagent blank treated similarly (Table 2).

2-Method using bromophenol blue:

One ml from each solution-containing (0.01-0.18mg) drug was transferred into 25-ml separating funnel. The solution was then treated with 1-ml of bromophenol blue solution. Five ml phthalate buffer (pH=3.60) was added and the complex was extracted for 1min with two portion of 5-ml of chloroform. The organic layer was passed through anhydrous sodium sulfate into a 10-ml volumetric flask, then the volume was completed with chloroform and the absorbance was measured at the wavelength of maximum absorption (410nm) against reagent blank treated similarly (Table 2).

Table (2)
Optimum conditions for the colour development of amitriptyline-HCl using ion- pair formation

Item	Amitriptyline-HCl	
	Thymol blue	Bromophenol blue
Conc. range of the drug (mg/ml)	0.05-0.30	0.010-0.180
Conc. of acceptor (% w/v) or molar	1ml (1×10^{-3} M)	1ml (1×10^{-3} M)
Reaction time (min)	At once	At once
λ_{\max} (nm)	410	410
Stability of complex	More than 2hr	More than 2hr
Drug dissolving solvent	Methanol	Methanol
Diluting solvent	0.1M HCl	Water

Procedure for pharmaceutical formulations:

1-Applying method A:

Ten tablets were washed from the color coat using distilled water, dried, weighed and finely powdered. A quantity of powdered tablets equivalent to 25 mg amitriptyline-HCl was dissolved by shaking with 5-ml methanol, then render alkaline (pH=9.0) by a drop wise of 0.1N sodium

hydroxide, then the solution filtered and the filtrate was transferred to a separator funnel, followed by 50-ml water. The base was extracted by shaking with four successive 5-ml portions of chloroform. The mixed chloroform extracts were pooled through a filter paper contains anhydrous sodium sulfate in 25-ml volumetric flask and diluted to volume with chloroform. The procedure was continued as described under procedure for calibration curves.

2-Applying method B:

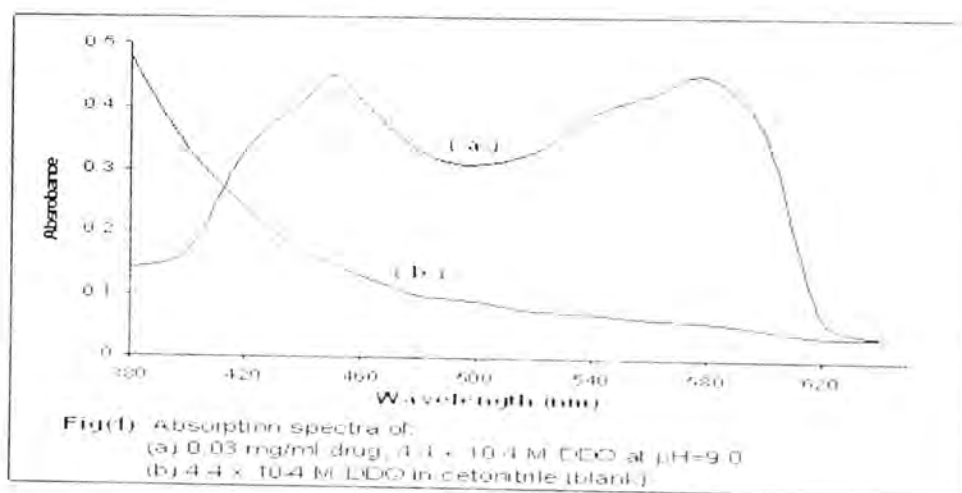
Ten tablets were washed from the color coat using distilled water, dried, weighed and finely powdered. A quantity of powdered tablets equivalent to 25 mg amitriptyline was dissolved by shaking with 5-ml methanol and the volume was made to 50-ml with either 0.1M HCl for the procedure using thymol blue or distilled water for procedure using bromophenol blue. The solution was filtered and the procedure was continued as described under procedure for calibration curves.

RESULTS AND DISCUSSION

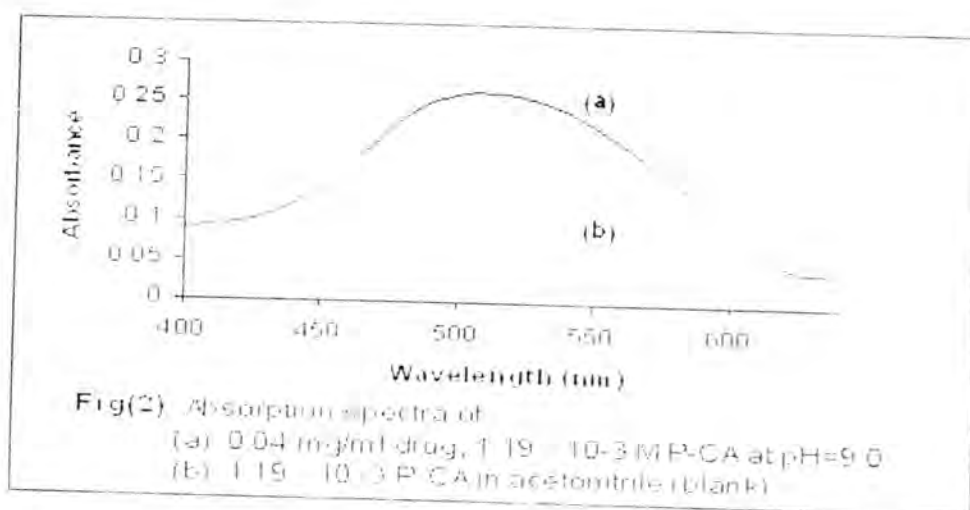
Charge-Transfer Complexation:

Absorption Spectra:

Certain π -acceptor reagents, such DDQ, p-CA and p-CL are known to yield radical ions (formed, in some cases only, presumably via charge-transfer complex formation) with a variety of electron donors including amines, iodide ion and metallic salts. This donor-acceptor interaction has been investigated for alkaloids (17) and some pharmaceuticals (14,15,24,25) with attention to the analytical application. The reaction of amitriptyline with DDQ results in the formation of an intense purple brown-colour product, which exhibits two maximum band at 450 and 580 nm (Fig 1).

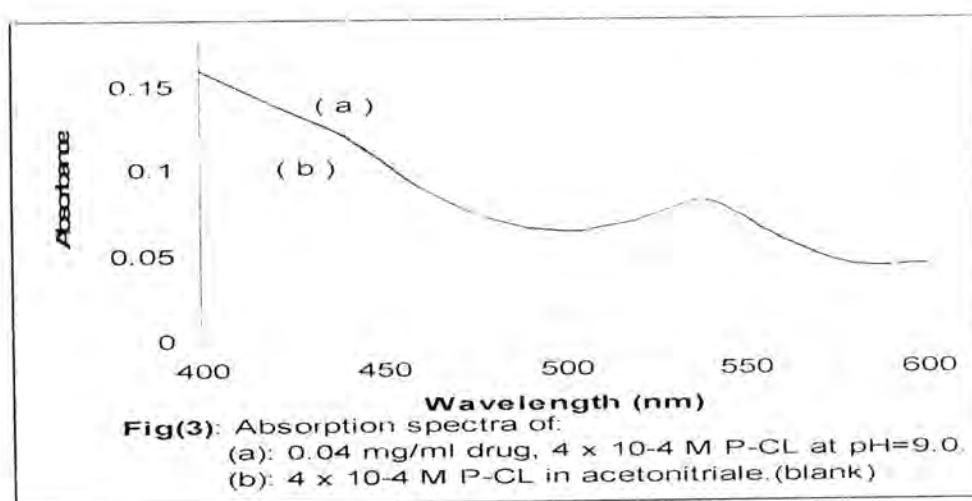


The 450nm band, having highest absorption intensity, was selected for construction of Beer's plot. The predominant color with DDQ is form the purple brown radical anion $DDQ^{\cdot-}$, which was probably formed by the dissociation of an original donor-acceptor (DA) complexation reaction between the drug, the n-donor(D), and DDQ, the H-acceptor(A), followed by the formation of a DDQ radical anions. In addition to DDQ radical anion, the spectrum of p-CA solution in acetonitrile exhibits an absorption band at 430nm. The reaction of amitriptyline-HCl and p-CA causes an immediate change of the yellowish-pink colour of the p-CA to a pale violet. As a consequence, the absorption band of p-CA showed a bath chromic shift, λ_{max} at 510nm (Fig 2).



The band may be attributed to charge-transfer complex of the n-H type. This compound is supposed to be an intermediate molecular association complex, which produces the corresponding chloranilic radical

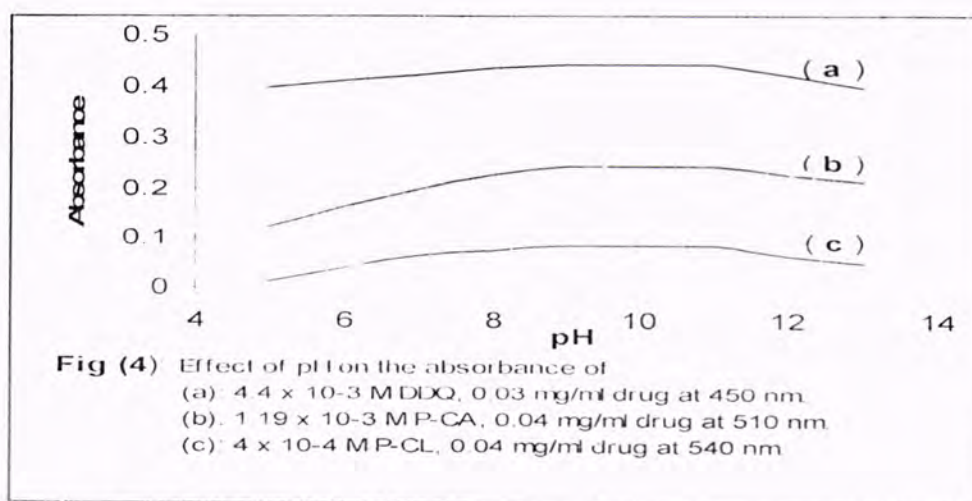
anion in acetonitrile solvent, which exhibits an absorption band at 510 nm. On the other hand a p-CL solution in acetonitrile displayed a maximum absorption band (λ_{max}) at 480 nm. Mixing the solution of amitriptyline-HCl to a solution of p-CL in acetonitrile for 10 min at 60 °C resulted in a change of the yellow colour of the p-CL to a pale yellow with a new characteristic band (bath chromic shift) at 540 nm (Fig 3). The band may be attributed to the formation of a p-CL radical anion.



Optimization of variables:

Effect of pH:

The influence of pH on the formation of the colored complex species between amitriptyline-HCl as π -donors and DDQ, p-CA and p-CL as π -acceptor reagents was systematically investigated from pH 5.0 to 13.0 by adjusting the pH of the studied solution with 0.1M HCl and 0.1M NaOH solutions. A plot of absorbance versus pH showed that although the maximum absorbance was constant at pH 9.0-11.0 (Fig 4). Also, the absorbance decreased significantly from pH 5.0-7.0 and pH 11.0-13.0, which was probably due to the formation of a new species. Hence a pH of 9.0 was used in all the subsequent experimental work.



Effect of amount of acceptors (Acceptor sensitivities):

The relative sensitivities of the three acceptors can be determined by comparing the molar absorptivities of the chromogen (Table 3).

Table (3)

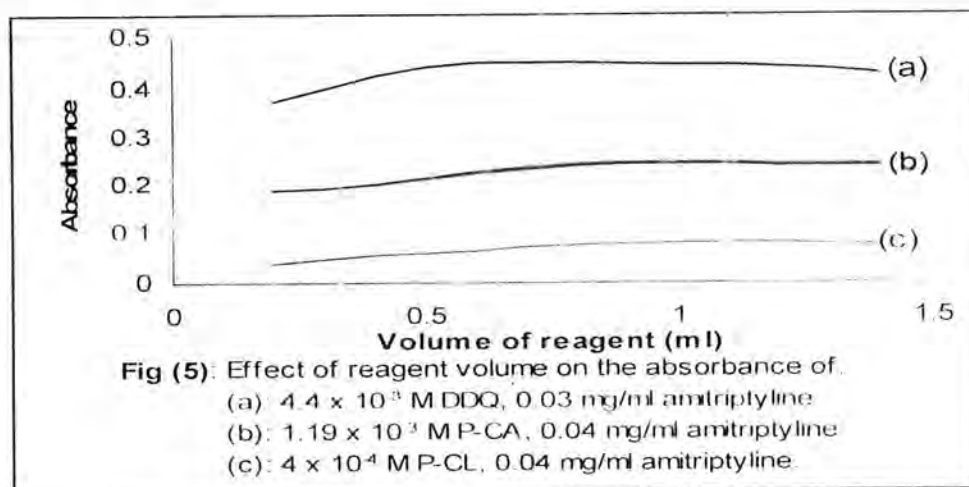
Optical characteristics and statistical data of the regression equations for determination of amitriptyline-HCl using DDQ, p-CA and p-CL methods

Parameters	Amitriptyline-HCl		
	DDQ	p-CA	p-CL
Linearity range of the drug ($\mu\text{g/ml}$)	8-60	10-40	10-40
Molar absorptivity ($\text{l. mol}^{-1}, \text{cm}^{-1}$)	3.89×10^3	1.224×10^3	0.423×10^3
Regression equation:			
Intercept (a)	0.0699	0.1125	0.0143
Slope (b)	0.01243	0.0039	0.00135
Correlation coefficient (r)	0.9995	0.9969	0.9959
Relative standard deviation (%)	0.53	0.24	0.36
Detection limit (d.l)	0.0957	0.12267	0.01915

$A = a + bc$, A =Absorbance, c =Concentration

When various volumes of DDQ, p-CA and p-CL were added to a fixed concentration of amitriptyline-HCl and absorbance were measured according to the standard procedure, it was observed that 0.5-ml of 0.1% of DDQ, 1-ml of 0.125% of p-CA and 1-ml of 2×10^{-3} M of p-CL were found

to be sufficient for the production of maximum and reproducible colour intensity (Fig 5).



Effect of reaction time:

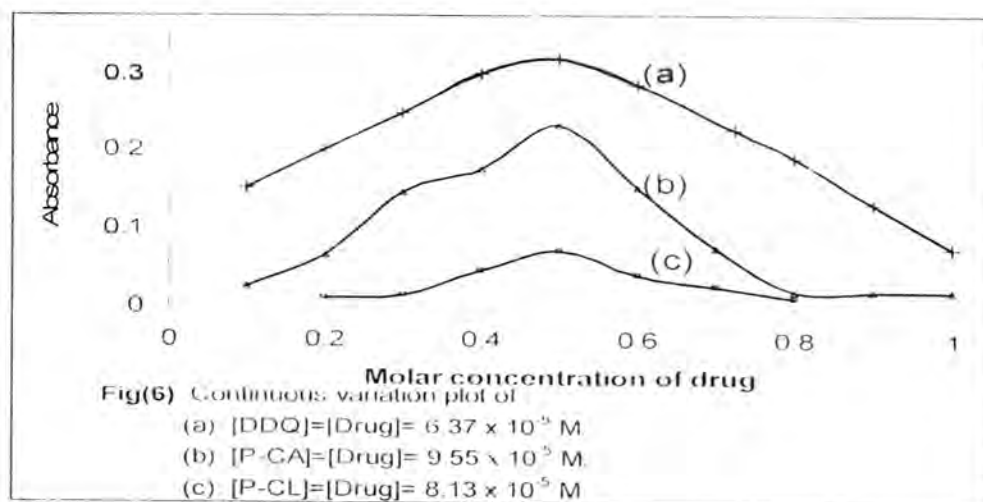
Although the colour intensity for the reaction of amitriptyline-HCl with DDQ was produced instantaneous, the colour maximum for the reaction was reached after 25 min. But the colour maximum was obtained at once in case of P-CA and needs heating at 60 °C for 10 min in case of p-CL.

Calibration graph (Beers' law and sensitivity):

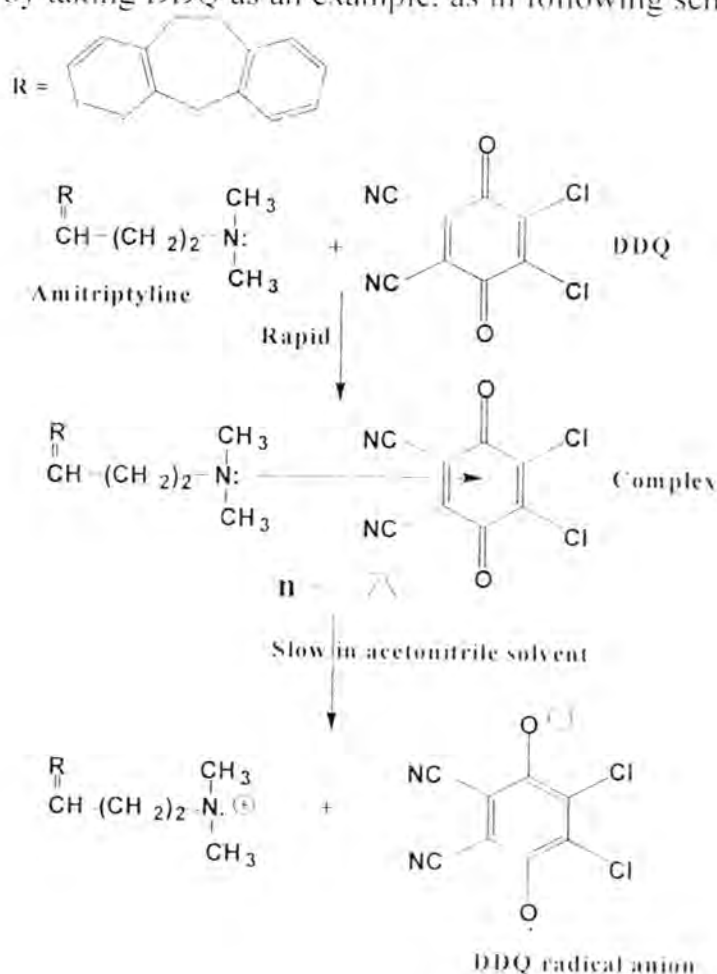
Under the experimental conditions described, standard calibration curves for amitriptyline-HCl with different Π -acceptor reagents were constructed by plotting absorbance versus concentration in the range given in (Table 3). The correlation coefficients, intercepts and slopes for the calibration data are calculated using the least square method (26).

Stoichiometric relationship:

Job's continuous variation graph for the reaction between amitriptyline and DDQ, p-CA, p-CL (Fig 6); shows that the interaction between these compound occurs on an equimolar basis.

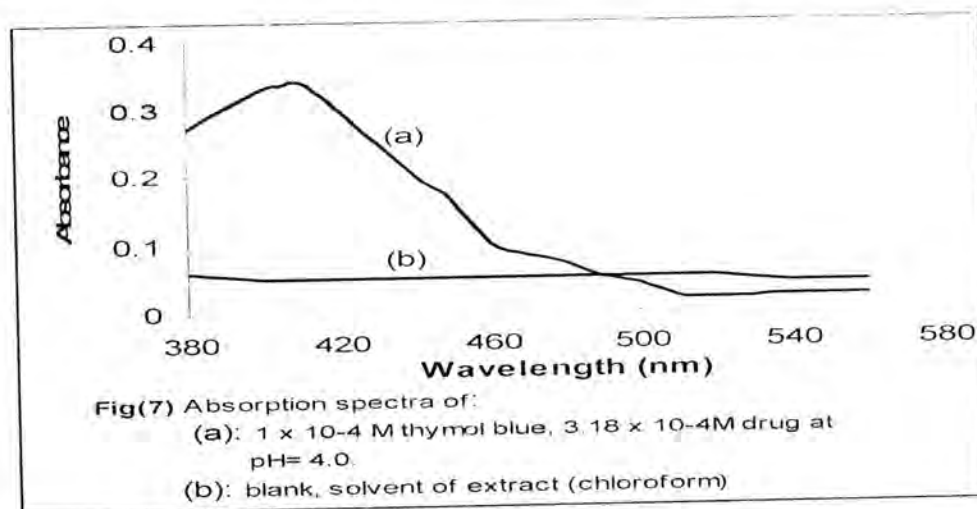


The reaction of amitriptyline with DDQ, p-CA and p-CL occurs through the formation of a charge transfer complex (1:1) at 450, 510 and 540 nm, therefore, the formation of the colour reaction product can be represented by taking DDQ as an example, as in following scheme:

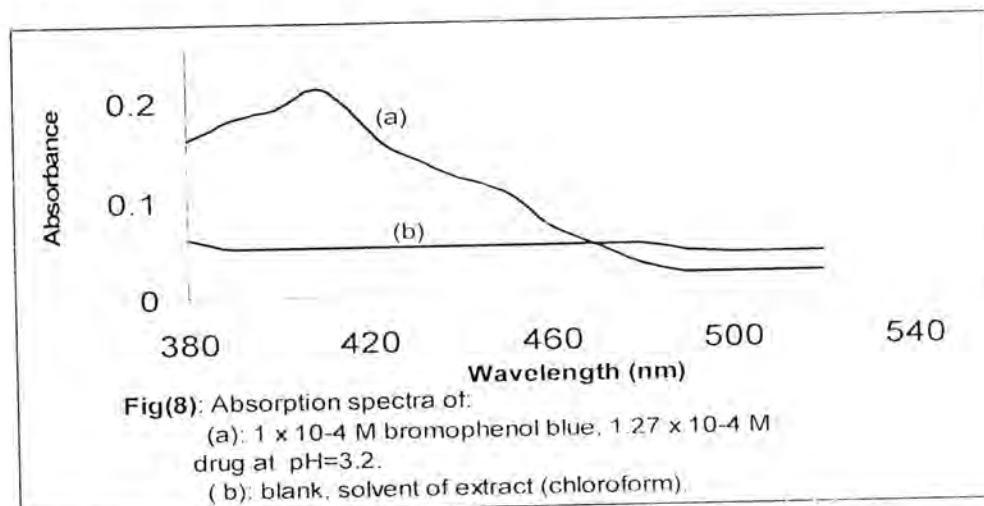


Ion- pair formation:**Absorption spectra:**

When a dilute aqueous solution of amitriptyline-HCl was mixed with thymol blue solution, an intense color was formed immediately, which become stable for at least 2hr. The yellow colour product has a maximum absorption at 410 nm; in contrast to the reagent blank, which show negligible absorption over the range (400-580 nm). Fig 7; shows the spectra of the yellow-formed product and the reagent blank.

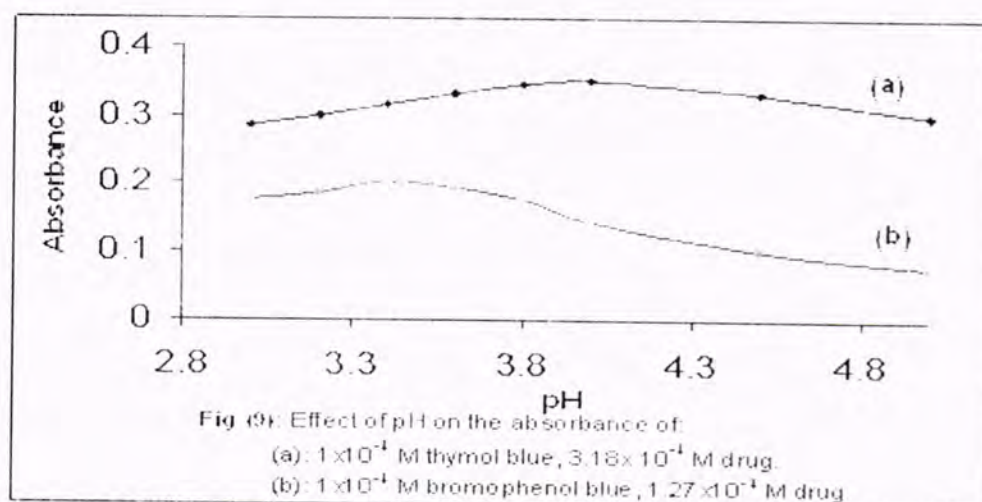


The maximum absorption at 410 nm was used for all subsequent measurements. On the other hand, a solution of amitriptyline-HCl and bromophenol blue exhibits an intense pale-yellow colour with maximum absorption band at 410 nm, in contrast to the reagent blank (Fig 8).



Optimization of variables:**Effect of pH:**

In order to establish the optimum pH range, amitriptyline solution was mixed with specified volume of thymol blue and from phenol blue in aqueous solution from pH 3.0-7.0, and the intensity of colored products were studied (Fig 9). It was found that the absorbance increases and reaches a maximum value at pH 4.0 and pH 3.4 for thymol blue and bromophenol blue respectively. At pH values above the optimum range, the absorbance decrease was probably due to the formation of a new ion associated complex between thymol blue or bromophenol blue and hydroxyl anion in alkaline medium. Hence, a pH of 4.18 and 3.60 were used in all the subsequent experimental work. The shape and maximum position did not vary with pH, so it was concluded that only one complex was formed at this pH range.

**Effect of reagent volume:**

Effect of the volume thymol blue or bromophenol blue on the intensity of the colored product was studied. It was found that maximum absorption was obtained when volumes mentioned under procedure B was added.

Effect of reaction time:

The optimum reaction time was determined by following the colour development at ambient temperature ($25^\circ\text{C} \pm 2$). It was found that the reaction is instantaneous. Hence the product attained maximum and constant absorbance immediately after the amitriptyline-HCl has been

reacted with thymoyl blue or bromophenol blue and the colour obtained remained strictly unaltered for 24 hr.

Calibration graphs (Beer's law and sensitivity):

Employing the conditions described under procedure, a linear calibration graph for amitriptyline-HCl with thymol blue or bromophenol blue was obtained (Table 4). The correlation coefficients, intercepts and slopes for the calibration data are calculated using the least square method.

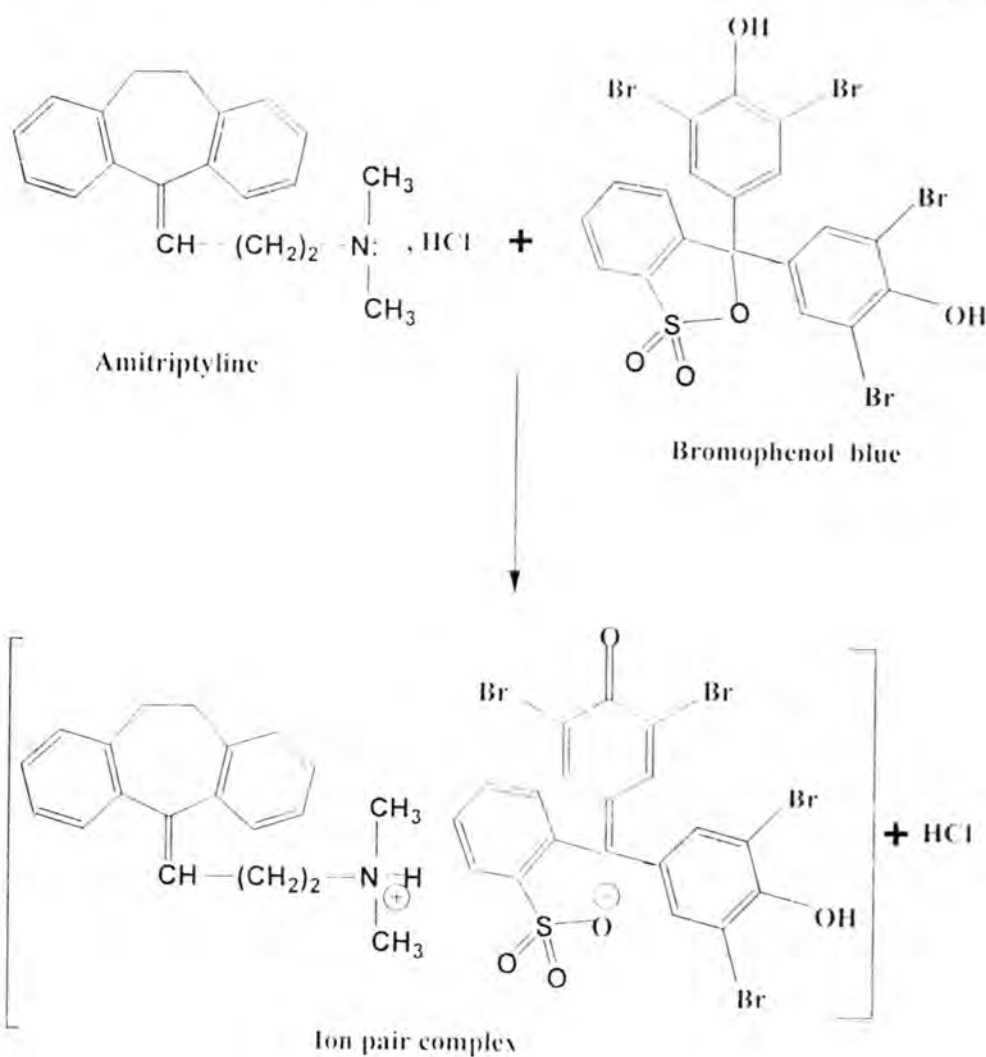
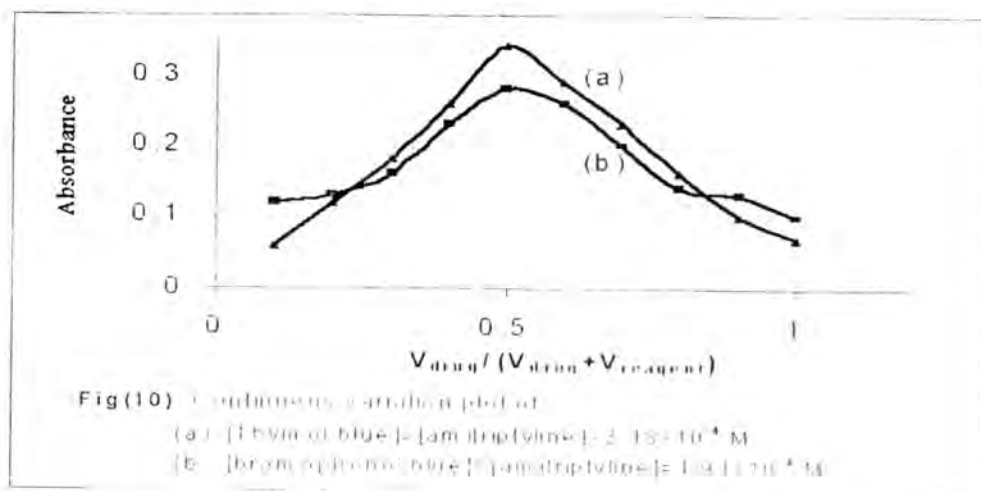
Table (4): Optical characteristics and statistical data of the regression equations for determination of amitriptyline-HCl using thymol blue and bromophenol blue methods

Parameters	Amitriptyline-HCl	
	Thymol blue	Bromophenol blue
Linearity range of the drug ($\mu\text{g/ml}$)	50-150	10-140
Molar absorptivity ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	1.192×10^3	1.4125×10^3
Regression equation		
Intercept (a)	0.047	0.018
Slope (b)	0.0038	0.0075
Correlation coefficient (r)	0.9999	0.9995
Relative standard deviation (%)	0.57	0.55
Detection limit (D.L)	0.01211	0.0383

$A = a + bc$, A=Absorbance, c=Concentration

Stoichiometric relationship:

The stoichiometry of the reaction between amitriptyline-HCl and thymol blue or bromophenol blue was investigated by using Jobs method (Fig 10). The result shows that a (1:1) product was formed through the formation of ion-pair association at 410 nm in the reaction scheme given below by taking bromophenol blue as an example:



Accuracy and precision:

The reproducibility and precision of the two proposed methods was tested by estimating three different concentrations of the cited drug within the Beers law limits. The analytical results are summarized in tablet (5).

Table (5)
Test of precision and accuracy of the two methods for samples of pure amitriptyline –HCl

Method	Amount of amitriptyline (µg/ml)		Recovery %	R.S.D %
	Taken	Found		
DDQ	10	9.934	99.542	2.986
	15	14.793	98.620	2.279
	30	30.653	102.177	-
p-CA	15	15.597	103.982	3.330
	20	20.726	103.633	2.986
	30	29.273	97.578	2.585
p-CL	15	15.333	102.222	14.285
	25	25.703	102.814	5.915
	30	30.148	100.493	9.090
Bromophenol blue	70	70.074	100.105	1.732
	90	90.074	100.078	1.363
	120	119.703	99.753	1.037
Thymol blue	70	69.385	99.122	2.664
	90	89.561	99.512	1.968
	120	119.385	99.488	1.419

Analytical applications:

The applicability of the two methods to the assay of simple dosage form was examined by analyzing five types of pharmaceutical marked tablets containing amitriptyline-HCl: the results are summarized in table (6-7).

Table (6)
Spectrophotometric determination of amitriptyline-HCl in
Pharmaceutical formation using charge- transfer methods

Sample	wt. of tablet mg	Labeled amount mg	Method	Amount taken $\mu\text{g/ml}$	Amount found $\mu\text{g/ml}$	Recovery %	R.S.D %
Depresol	130.80	25	DDQ	25	24.85	99.38	1.18
				45	44.68	99.30	0.877
			p-CA	20	19.87	99.35	3.72
				35	34.74	99.26	3.37
			p-CL	25	24.96	99.85	9.31
				35	35.33	100.95	7.21
Laroxyl	206.20	25	DDQ	15	14.84	98.97	2.15
				35	34.84	94.56	0.81
			p-CA	25	24.48	97.94	2.15
				35	34.73	97.80	2.22
			p-CL	10	10.14	101.48	15.97
				20	20.51	102.59	10.64
Tryptizol	124.60	25	DDQ	25	24.84	99.38	1.18
				45	44.84	99.65	0.87
			p-CA	25	25	100	-
				35	34.74	99.26	1.80
			p-CL	25	24.96	99.85	9.316
				35	35.33	100.95	7.21
Amitriptyline 25-MG	208.70	25	DDQ	25	24.68	98.74	1.45
				45	44.52	98.94	0.71
			p-CA	20	19.87	99.35	-
				40	39.87	99.67	1.66
			p-CL	15	14.59	97.28	14.70
				30	29.40	98.02	10.14
Amitriptyline	119.90	25	DDQ	15	14.68	97.90	1.77
				35	34.52	98.64	0.81
			p-CA	15	14.74	98.29	4.15
				40	39.35	98.39	2.05
			p-CL	15	14.59	97.28	14.70
				30	29.40	98.02	10.14

Table (7)
Spectrophotometric determination of amitriptyline-HCl in
pharmaceutical formation using ion-pair methods

Sample	wt. of tablet mg	Labeled mount mg	Method	Amount taken $\mu\text{g/ml}$	Amount found $\mu\text{g/ml}$	Recovery (%)	R.S.D (%)
Deprezol	130.80	25	Thymol-blue	60	59.73	99.56	3.92
				110	109.73	99.76	1.91
			Bromophenol-blue	70	69.33	99.04	-
				130	129.33	99.48	-
Laroxyl	206.20	25	Thymol-blue	75	73.42	97.89	1.92
				125	123.42	98.73	1.05
			Bromophenol-blue	70	69.77	99.68	1.34
				130	129.77	99.82	0.74
Triptizol	124.60	25	Thymol-blue	75	74.47	99.29	2.32
				125	124.47	99.57	1.28
			Bromophenol-blue	50	49.77	99.55	1.84
				110	109.77	99.79	0.87
Amitriptyline 25MG	208.7	25	Thymol-blue	75	73.94	98.59	2.34
				125	123.94	99.15	1.29
			Bromophenol-blue	50	49.33	98.66	-
				110	109.33	99.39	-
Amitriptyline	119.9	25	Thymol-blue	60	59.21	98.68	2.51
				110	109.21	99.28	1.21
			Bromophenol-blue	70	68.88	98.41	1.36
				130	128.88	99.14	0.74

REFERENCES

1. Martindale, "The Extra Pharmacopocia", 32nd Ed., The Pharmaceutical Press, p.217, 244 (1999).
2. Misiuk W., Puzanowska T., "Spectrophotometric Determination of some Antidepressant-drugs", Analytical Letters, 35(7), 1163-1170 (2002).
3. Karpinska J. and Suszynska J., "The Spectrophotometric Simultaneous Determination of Amitriptyline and Chlorpromazine Hydrochlorides in their Binary Mixtures", Journal of Trace and Microprobe Techniques, 19 (3), 355-364 (2001).

4. Aman T., Kazi A.A., Hussain M., Firdous S. and Khan I.U., "Spectrophotometric Determination of Amitriptyline-HCl in Pure and Pharmaceutical Preparations", *Analytical letters*, 33(12), 2477-2490 (2000).
5. Ulrich S., Isensee T. and Pester U., "Simultaneous Determination of Amitriptyline, Nortriptyline and Four Hydroxylated Metabolites in Serum by Capillary Gas-liquid Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Selective Detection", *Journal of Chromatography, B:Biomedical Applications*, 685(1), 81-89 (1996).
6. Feng S., Sun J., Liu Y., Li Y. and Wang F., "Solid-phase Extraction of Five Tricyclic Antidepressant Drugs from Whole Blood and Tissue Samples Followed by Capillary Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detection", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 16(2), 75-78 (1996).
7. Tanaka E., Terada M., Nakamura T., Misawa S. and Kawasaki C., "Forensic Analysis of Eleven Cyclic Antidepressants in Human Biological Samples Using A New Reversed-phase Chromatographic Column of 2 μ m Porous Micro Spherical Silica Gel", *Journal of Chromatography, B: Biomedical Applications*, 692(2), 405-421 (1997).
8. Kudo K., Jitsufuchi N., and Imamura I., "Selective Determination of Amitriptyline and Nortriptyline in Human Plasma by HPLC with Ultraviolet and Particle Beam Mass Spectrometry", *Journal of Analytical Toxicology*, 21(3), 185-189 (1997).
9. Milijkovic B., Pokrajac M., Timotijevic I. and Varagic V., "Solid-phase Extraction and High Performance Liquid Chromatographic Determination of Amitriptyline and Nortriptyline in Human Plasma", *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 20(7), 1067-1078 (1997).
10. Kou H.S., Chen C.C., Huang H.Y., Ko W.K., Wu H.L., and Wu S.M., "Method for Simultaneous Determination of Eight Cyclic Antidepressants by Cyclodextrin Modified Capillary Zone Electrophoresis", *Application in Pharmaceuticals*, *Analytica Chimica Acta*, 525(1), 23-30 (2004).
11. Wu S.M. and Chen S.H., "Determination of Amitriptyline and Nortriptyline in Spiked Plasma by Capillary Zone Electrophoresis with Beta-cyclodextrin", *Analytica Chimica Acta*, 413(1-2), 125-129 (2000).
12. El-Nashar R.M., Abdel Ghani N.T., and Bioumy A.A., "Flow-injection Potentiometric Determination of Amitriptyline Hydrochloride", *Microchemical Journal*, 78(2), 107-113 (2004).

13. Wang C.Y., Hu X.Y., Leng Z.Z. and Jin G.D., "Nanomolar Detection of Amitriptyline by Potentiometry with Ion Exchanger Based PVC Membrane ISE", *Electroanalysis*, 15(8), 709-714 (2003).
14. Melby L.R. In: Patai S (Ed), "In the Chemistry of the Cyano Group", Interscience, New York, pp.639-670 (1970).
15. Foster R., "Organic Charge-Transfer Complexes", Academic Press, London (1969).
16. Oztunc A., Documaci N. and Tahtasakal E., "The Use of 7,7,8,8-Tetracyanoquinodimethane for the Determination of Nortriptyline and Desipramide in Tablets", *Farmaco*, 54, 835-837 (1999).
17. Taha A. and Rucker G., "Validated Spectrophotometric and Fluorimetric Methods for Analysis of Clozapine in Tablets and Urine", *Arch.pharm.* 310, 485 (1977).
18. Ayad M.M., Shalaby A.A., Abdellatif H.F. and Elsaid H.M., "Spectrophotometric and Atomic Absorbption Spectrophotometric Determination of Certain Cephalosporins", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18, 975-983 (1999).
19. Betello J.C. and Perez G., "Spectrophotometric Determination of Diclofenac Sodium with Methylene Blue", *Talanta*, 42(1), 105-108 (1995).
20. Bhongade S.L. and Kasture A.V., "Extractive Spectrophotometric Determination of Nortriptyline Hydrochloride", *Indian J. Pharm. Sci.*, 55, 155-157 (1993).
21. Fekria M. and Abou Attia, "Use of Charge-transfer Complex Formation for the Spectrophotometric Determination of Nortriptyline", *Farmaco*, 55, 659-664 (2000).
22. Taha F.A., Solman S.M., Abdellatif H.F. and Ayad M.M., "Colorimetric Methods for the Determination of Some Tricyclic Antidepressant Drugs in their Pure and Dosage Forms", *Microchim. Acta.*, 140, 175-182 (2002).
23. Vogel I.A., "Text Books of Macro and Semimicro Qualitative in Organic Analysis", 4th Ed., p. 645 (1959).
24. Saleh G.A., Askal H.F., Daewish A.I. and El-shorbaji A.N., "Spectroscopic Analytical Study for the Charge-Transfer Complexation of Certain Cephalosporins with Chloranilic Acid", *Analytical Sciences*, 19, 281-287 (2003).
25. Rahman N. and Najmul H.S., "Spectrophotometric Determination of Amlodipine Besylate by Charge-transfer Complex Formation with P-Chloranilic Acid", *Analytical Sciences*, 16, 1353-1356 (2000).
26. Miller J.C. and Miller J.N., "Statistics for Analytical Chemistry", Chichester, West Sussex, England, Ellis Horwood, Ltd. (1984).

Kinetic and Thermodynamic Studies on Binding of CA19-9 in Women Patients with Breast Cancer to ¹²⁵I-anti CA19-9 Antibody

Salwa H. N. AL-Rubae'i

Chemistry Department, College of Science, Al-Mustansiriyah
University, Baghdad, Iraq

ABSTRACT

This research includes the studies of kinetic and thermodynamic parameters associated with the binding of tissue homogenate CA19-9 with ¹²⁵I-anti CA19-9 antibody into two groups of pre- and post-menopausal women patients with breast cancer. It was shown that the reaction in all studied cases follow pseudo-first order reaction kinetics. The value of kinetic parameters K_a , K_d , k_{obs} , k_{+1} , k_{-1} , $(t_{1/2})_{ass}$, $(t_{1/2})_{diss}$ and B_{max} at 37 °C for the binding of CA19-9 tissue homogenate to ¹²⁵I-anti CA19-9 antibody in premenopausal women patients with breast cancer were found to be: 43 mg⁻¹.mL, 2.33×10^{-2} mg.mL⁻¹, 9.6×10^{-3} min.⁻¹, 20.5mg⁻¹.mL.min⁻¹, 4.77×10^{-1} min.⁻¹, 72 min., 15×10^{-1} min., and 10.14×10^{-3} mg.mL⁻¹ respectively, while in postmenopausal women patients with breast cancer were found to be: 18.66 mg⁻¹.mL, 5.36×10^{-2} mg.mL⁻¹, 12.5×10^{-3} min.⁻¹, 13.06 mg⁻¹.mL.min⁻¹, 7.0×10^{-1} min.⁻¹, 55 min., 10×10^{-1} min., and 18.66×10^{-3} mg.mL⁻¹ respectively. Time course, Scatchard, Van't Hoff and Arrhenius plots led to theoretical determination of thermodynamic parameters of both the standard state (i.e. ΔH° , ΔG° , ΔS°) and transition state (i.e. E_a , ΔH^\ddagger , ΔG^\ddagger , ΔS^\ddagger) for the formation of (¹²⁵I-anti CA19-9 antibody/CA19-9) complex. The thermodynamic data showed that the binding reaction is as an entropically driven reaction and suggest an involvement of hydrophobic forces in the stabilization of complexes.

الخلاصة

يتضمن البحث دراسة الخصائص الحركية والثرموديناميكية لارتباط المستضد الكاربوهيدراتي لمجانس نسيج سرطان الثدي (CA19-9) بضده المتخصص والمعلم بنظير اليود المشع ذو العدد الكتلي 125 (^{125}I -anti CA19-9 antibody) في مجموعتين من النساء المريضات بسرطان الثدي قبل وبعد انقطاع الطمث .

أشارت النتائج الى ان التفاعل يتبع حركيات المرتبة الاولى في كلا الحالتين. حيث وجد ان قيم المعاملات الحركية k_{-1} , k_{+1} , k_{obs} , K_d , K_a $(t_{1/2})_{diss}$, $(t_{1/2})_{ass}$ و B_{max} في درجة حرارة 37 °م لارتباط المستضد الكاربوهيدراتي لمجانس نسيج سرطان الثدي قبل انقطاع الطمث هي (43 ملغم⁻¹، 2.33×10^{-2} ملغم⁻¹، 9.6×10^{-3} دقيقة⁻¹، 20.5 ملغم⁻¹، مل. دقيقة⁻¹، 4.77×10^{-1} ، 72 دقيقة، 15×10^{-1} دقيقة، 10.14×10^{-3} ملغم⁻¹ مل⁻¹) على التوالي. بينما وجد ان قيم المعاملات الحركية في حالة النساء المريضات بسرطان الثدي بعد انقطاع الطمث هي (18.66 ملغم⁻¹، 5.36×10^{-2} ملغم⁻¹، 12.5×10^{-3} دقيقة⁻¹، 13.06 ملغم⁻¹، مل. دقيقة⁻¹، 7.0×10^{-1} ، 55 دقيقة، 10×10^{-1} دقيقة، 18.66×10^{-3} ملغم⁻¹ مل⁻¹) على التوالي. استعملت نتائج المتابعة الزمنية لدرجات الحرارة المختلفة ورسومات سكاكارد وفانتهوف وارينوس في حساب المعاملات الثرموديناميكية القياسية (ΔH^0 , ΔG^0 , ΔS^0) والحالة الانتقالية (ΔH^* , ΔG^* , ΔS^*) لتكوين المعقد. وأشارت النتائج بأن القوة الدافعة للتفاعلات الارتباطية تعتمد على دالة التغير الانتروبي مما تدل على أهمية التأثيرات الكارهة للماء في تكوين المعقدات الناتجة.

INTRODUCTION

Tumor markers may be used to indicate the risk, presence, status, or future prognosis of cancer (1). CA19-9 is a carbohydrate antigen found in the serum of normal adults (2). CA19-9 is measured with double monoclonal immunoradiometric assay using monoclonal antibodies raised against the SW1116 cell line (3). Recently reports indicates that serum CA19-9 level is frequently elevated in serum subjects with breast cancer (15%) (4). In normal tissues, sialyl Lewis^x antigen is present in ductal epithelium of breast, kidney, salivary glands, and sweat glands (5-7). Analysis of temperature dependence of kinetic and equilibrium constant led to determination of energetic of binding and using the values of the changes in Gibbs free energy, enthalpy and entropy that are associated with

the binding of antibody to its antigen (8). In the other word thermodynamic measurement of reactions interactions under equilibrium conditions provide the information about differences between the initial, final states of each reactant, while kinetics studies supplement that information for the differences between those states and intermediate activated complex, (i.e. the pathway taken by the reactants reach the final product) (9). Al-Mudhuffar et.al. have many studies on the kinetic and thermodynamic of protein-protein interaction in human breast tissue, like kinetic and thermodynamic of purified steroid receptor of malignant breast tumors with hormone (10), also kinetic and thermodynamic studies on the binding of lectin in human malignant breast tumors to glycoprotein (11).

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

All chemicals that were used in this study were obtained from BDH limited, Pool, England. IRMA-ELISA CA19-9 kit was provided by CIS bio internal ORIS GROUP/France. Two groups of breast cancer women patients were included in this study: Group I: Consisted of 10 premenopausal patients with breast cancer, Group II: Consisted of 10 postmenopausal patients with breast cancer. The tumors tissues were surgically removed from breast cancer patients by mastectomy. They were collected individually in plastic receptacle and stored at -20°C until homogenization.

Instruments

The instruments used during this study were: LKB gamma counter type 1270-Rack Gamma II, pH meter, Cooling centrifuge type Hitachi with maximum speed of 5000 r.p.m. Memmert water bath, Memmert incubator, Combicoldrack.

Buffers

Phosphate-buffered saline (PBS) was prepared as following:
A: Disodium basic phosphate (0.15M): 21.2940g Na_2HPO_4 and 9.0g of NaCl were dissolved in final volume 1L deionizer distilled water.
B: Monobasic sodium phosphate (0.15M) 17.9970g of NaH_2PO_4 and 9.0g NaCl were dissolved in a final volume 1L deionizer distilled water. Phosphate buffer saline pH (7.0 and 8.0) was prepared by mixing a volume of solution A with appropriate amounts of solution B to obtain the required pH.

Methods

Preparation of Breast cancer Tissues Homogenates

The frozen tissue were weighed, sliced finely and scalped in petri dish standing on ice bath, and then homogenized with fivefold volumes of PBS buffer pH 7.2, using manual homogenizer (12). The homogenate was filtered through four layers of nylon gauze in order to eliminate fibers connective tissues, and then centrifuged at 2000 xg for 45 min. at 4 °C in order to precipitate the remaining intact cells and the intact nucleus. The supernatant fraction at this speed was separated, divided in aliquots and freezed-20 °C until use.

Protein Determination

Total homogenate protein content was determined by the method of Lowry (13), using bovine serum albumin (BSA) as the standard.

Kinetic Studies

The Time-Course

Twenty microliters of CA19-9 from pre- and postmenopausal breast cancer (Infiltrating ductal carcinoma, IDC) containing (75 mg.mL⁻¹ protein) respectively, were added to (25 µL) of ¹²⁵I-anti CA19-9 antibody containing (0.0585 mg.mL⁻¹) for each group. The volume of reaction were completed to 500 µL with PBS buffer pH (8.0 and 7.0) respectively. All tubes were incubated at 37 °C at different time intervals (60, 120, 180, 240, 300, 360) min. Two additional tubes, containing 25 µL (0.0585 mg.mL⁻¹) of ¹²⁵I-anti CA19-9 antibody only, for total counts were set-aside until counting. At the end of incubation, the assay tubes were centrifuged at 4000 r.p.m for 45 min at 4 °C. The supernatant were decanted, the rims at the tube were swabbed with cotton piece. The radioactivity of the complex were counted using gamma counter. To determine the time-course of CA19-9 binding to ¹²⁵I-anti CA19-9 antibody at different temperatures, steps mentioned in the same experiment were repeated at different temperatures 5, 15, 25 and 45 °C. The counted radioactivity in each tube (expressed in c.p.m.) represents the bound fraction (B), (i.e., ¹²⁵I-antiCA19-9 antibody/CA 19-9 complex). The counted radioactivity in the tubes containing ¹²⁵I-anti CA19-9 antibody only represents the total count (T). The (B/T) ratio for each tube counted as follows:

$$(B/T)\% = \frac{\text{Sample Counts (B)}}{\text{Total Counts (T)}} \times 100$$

Determination of the affinity constant (K_a) and the maximal binding capacity (B_{max}) of CA19-9 in Pre- and Post-menopausal Breast Cancer Tissue Homogenate Binding with ^{125}I -Anti CA19-9 Antibody

Twenty microliters of CA19-9 from pre- and postmenopausal breast cancer (IDC) containing (75 mg.mL^{-1} protein) were added to increasing volumes (5, 15, 25, 35 and 25 μL) of ^{125}I -anti CA19-9 antibody containing (0.0113, 0.0339, 0.0565, 0.0971 and 0.1017 mg.mL^{-1}) to each assay tube. The final volume of each assay tube was completed to 500 μL with PBS buffer pH (8.0 and 7.0) for each group. All tubes were incubated for (240 and 360) min at (37 and 45 $^{\circ}\text{C}$) respectively. Two additional tubes, containing 25 μL (0.0585 mg.mL^{-1}) of ^{125}I -anti CA19-9 antibody only, for total counts were set-aside until counting. At the end of incubation, the assay tubes were centrifuged at 2000 $\times g$ for 45 min at 4 $^{\circ}\text{C}$. The supernatant were decanted, the rims at the tube were swabbed with cotton piece. The radioactivity of the complex were counted using gamma counter. This experiment was repeated at different temperatures (5, 15, 25 and 45 $^{\circ}\text{C}$). The time of incubation required to reach the equilibrium state are reported in table (1).

Table (1)
The time of incubation for pre- and postmenopausal breast cancer tissue homogenate at different temperatures

Temp. $^{\circ}\text{C}$	Time (min.)	
	Premenopausal breast cancer homogenate (IDC)	Postmenopausal breast cancer homogenate (IDC)
5	360	360
25	300	240
37	240	300
45	240	300

The B/F ratio was computed for each tube, where:

F: is the free radioactivity (mean counts in c.p.m.), which represents the (unbound or unreacted), ^{125}I -anti CA19-9 antibody.

F = T (total counts) - B (bound radioactivity)

The concentration of (^{125}I -anti CA19-9/CA19-9) complex in mg.mL^{-1} that found after time (t) was calculated from the following equation:

$$B(\text{mg.mL}^{-1}) = \frac{B(\text{c.p.m})}{T(\text{c.p.m})} \times \text{Concentration of } ^{125}\text{I-anti CA19-9 antibody in the incubation medium in mg.mL}^{-1}$$

The affinity constant and maximal binding capacity was determined according to Scatchard equation (14,15). The value of affinity constant of the binding K_a at each temperature can be calculated from the slop of the straight line in figure (2) and figure (3), while the value of the total concentration of CA19-9 (B_{\max}) in breast cancer homogenate for each group was calculated from the intercept of the x-axis.

Thermodynamic Studies

The same steps mentioned in kinetic studies were performed for pre and postmenopausal breast cancer tissue homogenate from (HDC) as CA19-9 source. The thermodynamic parameters of standard state were obtained from Van't Hoff plot, the values of the natural logarithm of equilibrium constant (affinity constant K_a) obtained at different temperatures were plotted against the reciprocal values of the absolute temperature in Kelvin ($1/T$), according to the following equation:

$$\ln K_a = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT}$$

The enthalpy change of the standard state ΔH° value was obtained from the slop of a linear relationship of the plot.

The change in Gibbs free energy of the standard state ΔG° was obtained from the following equation:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_a$$

Where K_a is the affinity constant, while the standard state entropy change was obtained from (16):

$$\Delta S^\circ = \frac{\Delta H^\circ - \Delta G^\circ}{T}$$

The thermodynamic parameters of the transition state were obtained from Arrhenius plot of $\ln K_{+1}$ values against ($1/T$) values, that given a linear relationship according to the following equation:

$$\ln K_{+1} = \ln A - \left(\frac{E_a}{RT} \right)$$

The values of activation energy (E_a) of the binding reaction can be determined from the slop of the straight line. The enthalpy of transition state ΔH^* was obtained from:

$$\Delta H^* = E_a - RT$$

Transition state of free energy change ΔG^* is calculated from the following equation:

$$\Delta G^* = -RT \ln K_{\ddagger} + RT \ln \frac{KT}{h}$$

The change in entropy of the transition state ΔS^* is calculated from the following equation:

$$\Delta S^* = \frac{\Delta H^* - \Delta G^*}{T}$$

RESULTS AND DISCUSSION

Homogenization was carried out in a cold medium (i.e. 4 °C) so that protein concentration due to pressure of the pestle homogenizes is nearly prevented. On the other hand the proteolytic enzyme activity decrease with the lowering of the temperature (15). The filtration of the tissue homogenate through layer of the nylon gauze facilitate the removal of any suspended pieces of unhomogenized tissue and blood vessels, while homogenate centrifugation at 2000 xg removed the unruptured cells and intact cells of the ruptured cells, leaving mitochondrial /Golgi fraction and cell microsomes in the supernatant (16).

Kinetic Studies

To examine the characteristics of the association of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9, the experiment was carried out at four different temperatures (5, 25, 37 and 45°C). As see in Figure (1A & B) the time-course of the binding reaction after incubation of ^{125}I -anti CA19-9 with CA19-9. The concentration of (^{125}I -anti CA19-9/CA19-9) complex formed after time (t) was calculated from the following equation:

$$[^{125}\text{I}\text{-antiCA19-9/CA19-9}] \text{ in mg.mL}^{-1} \text{ after time (t)} = \frac{\text{Count (c.p.m.) of } ^{125}\text{I-antiCA19-9 specifically bound after time (t)}}{\text{Total counts (c.p.m.) of } ^{125}\text{I-anti CA19-9 used in the incubation}} \times \text{Concentration of } ^{125}\text{I-antiCA19-9 in the incubation (mg.mL}^{-1}\text{)}$$

Al-Mudhalifar, S.A. and et al., have several studies the time-course of purified steroid receptors of malignant breast tumors (10), others studied the time-course on the binding of lectin in human malignant breast to glycoprotein (11). Al-Atrakchi S.A.M.; also studied the time-course of association of CEA protein with their receptors (17). According to these results of this experiment the time-course must be done to find the

maximum binding at different incubation time as a step to prepare the kinetic and thermodynamic studies.

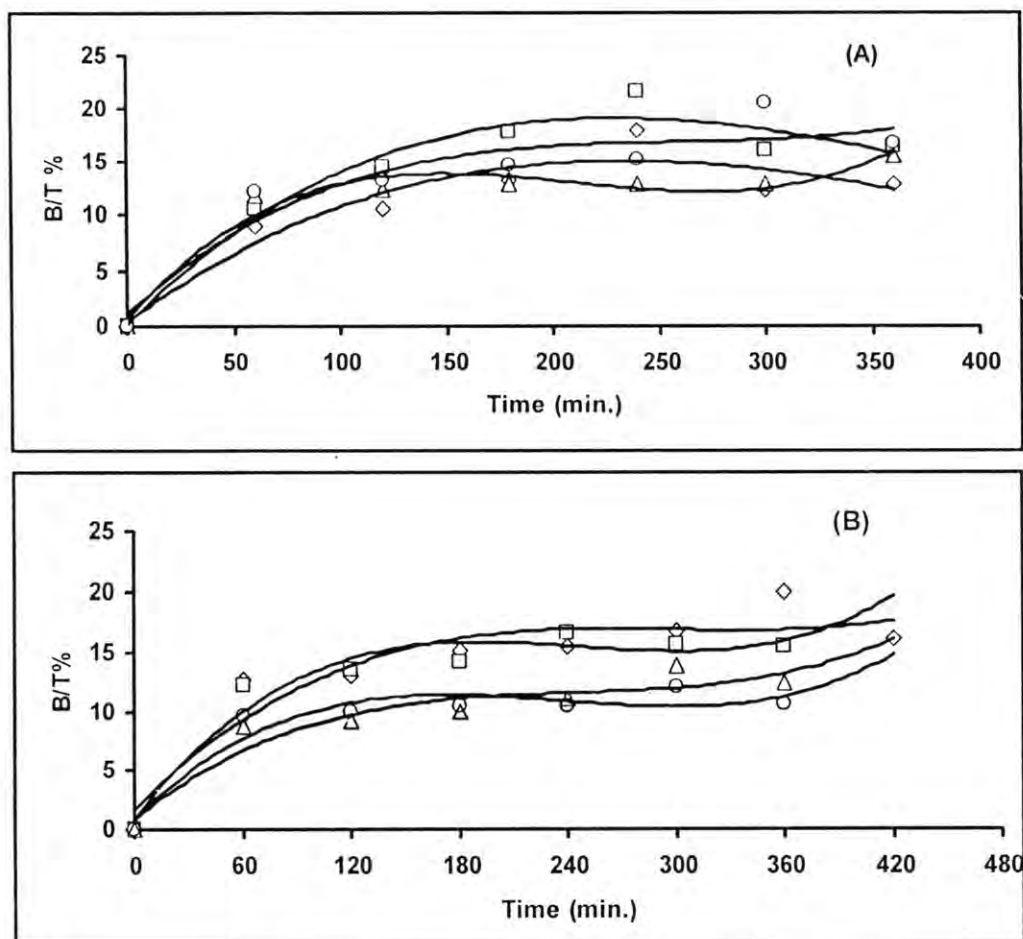
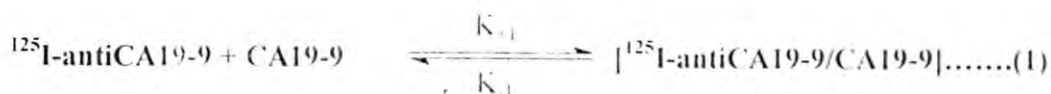


Figure (1): Time-course of ^{125}I -anti CA19-9 binding to CA19-9 in:
 (A)-Premenopausal breast cancer patients (IDC). \square 45 °C, \diamond 37 °C, Δ 25 °C, \circ 5 °C
 (B)-Postmenopausal breast cancer patients (IDC). \square 45 °C, \diamond 37 °C, Δ 25 °C, \circ 5 °C

Scatchard Analysis

The simplest proposed model representing the interaction of (^{125}I -anti CA19-9 antibody) to its CA19-9 is expressed by the following equation:



At equilibrium:

$$K_a = \frac{[^{125}\text{I-antiCA19-9/CA19-9}]}{[^{125}\text{I-antiCA19-9}] [\text{CA19-9}]} \dots\dots(2)$$

$$K_d = \frac{[^{125}\text{I-antiCA19-9}] [\text{CA19-9}]}{[^{125}\text{I-antiCA19-9/CA19-9}]} \dots\dots(3)$$

Thus:

$$K_a = \frac{1}{K_d} \dots\dots(4)$$

Where K_a is the equilibrium constant association (i.e., affinity constant), K_d is the equilibrium constant dissociation (^{125}I -anti CA19-9/CA19-9) complex. The value of K_a and maximal binding capacity (B_{\max}) were calculated from Scatchard plot at four different temperatures in figure (2) and (3).

It is clear from table (2), that the affinities constant (K_a) depend chiefly on the type of the tumor (i.e., premenopausal and postmenopausal) the CA19-9 (cytosolic fraction) and on the temperature. Generally K_a increased with increased temperature for the same type and source of tumor (e.g. in cytosolic fraction from premenopausal), K_a increased from $35 \text{ mg}^{-1} \cdot \text{mL}$ at 5°C to $38 \text{ mg}^{-1} \cdot \text{mL}$ at 45°C . Whereas the values of dissociation constant (K_d) was calculated by using equation (4), which show that the lowest K_d value of (^{125}I -anti CA19-9/CA19-9) complex occurs at 37°C at the time of incubation. The concentration of CA19-9 in cytosolic fractions of (premenopausal IDC) was determined to be $10.14 \times 10^{-5} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and the maximum binding (B_{\max}) occurred after 240 minutes incubation at 37°C , while in the same table the maximum K_a value for the binding ^{125}I -anti CA19-9 antibody with CA19-9 present in cytosolic fraction of (postmenopausal IDC) occurred at 45°C and it was increased with temperature in the following order: $5 > 25 > 37 > 45^\circ\text{C}$. The lowest K_d value of (^{125}I -anti-CA19-9 /CA19-9) complex occurs at 45°C at the time of incubation. Scatchard plot analysis gave straight line as shown in

figure (2) and (3) indicating that the (^{125}I -anti CA19-9/CA19-9) complex is directed against the same epitopes on CA19-9 molecules. On the other hand, the maximum binding occurred at 45 °C and was $19.10 \times 10^{-3} \text{ mg.mL}^{-1}$.

Table 2
Kinetic parameters of ^{125}I -anti CA19-9 antibody binding to CA19-9 in breast cancer patients (IDC) homogenates

Temp °C	Premenopausal breast cancer (IDC)			Postmenopausal breast cancer (IDC)		
	Binding Capacity $B_{\text{max}} \times 10^{-3}$ (mg.mL ⁻¹)	K_a (mg ⁻¹ .mL)	$K_d \times 10^{-2}$ (mg.mL ⁻¹)	Binding Capacity $B_{\text{max}} \times 10^{-3}$ (mg.mL ⁻¹)	K_a (mg ⁻¹ .mL)	$K_d \times 10^{-2}$ (mg.mL ⁻¹)
5	9.34	35.0	2.86	11.37	10.48	9.54
25	7.06	29.0	3.45	14.35	11.68	8.56
37	10.14	43.0	2.33	16.58	12.11	8.26
45	4.64	38.0	2.63	19.10	18.66	5.36

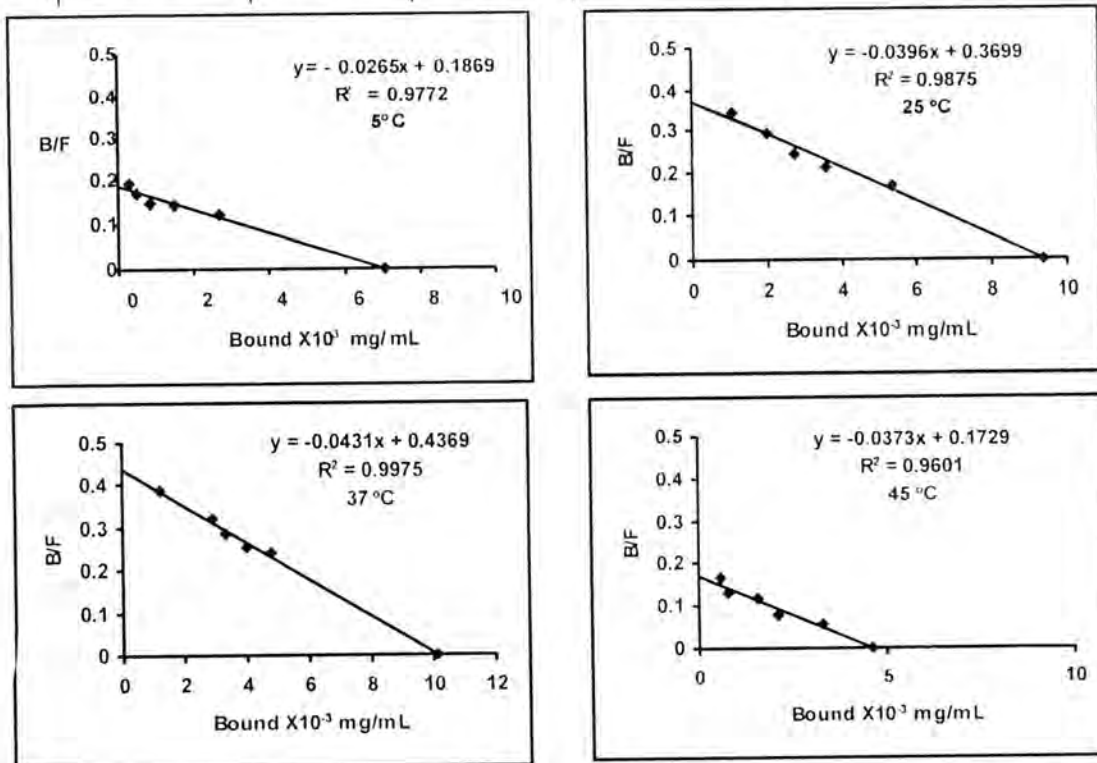


Figure (2): Scatchard plot of ^{125}I -anti CA19-9 antibody binding to the CA19-9 in premenopausal breast cancer patients (IDC) at four different temperatures

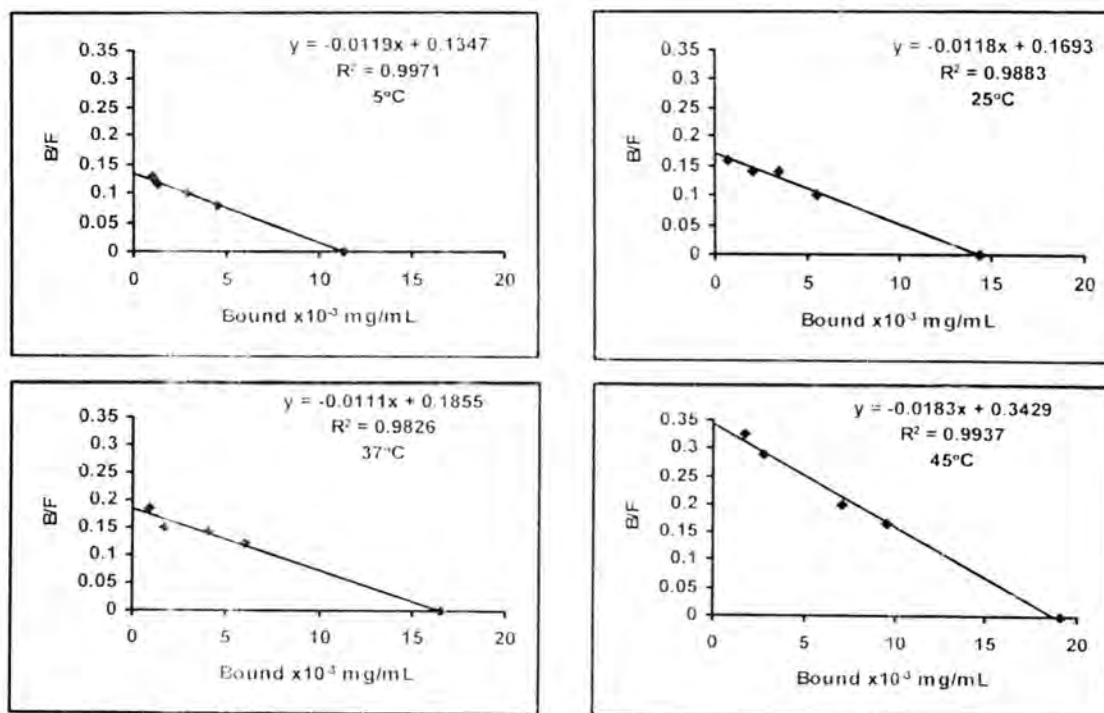


Figure (3): Scatchard plot of ^{125}I -anti CA19-9 antibody binding to CA19-9 in postmenopausal breast cancer patients (IDC) at different temperatures

However, the time-course data shown in figure (1) could be used to determine the reaction order of CA19-9 binding to its specifically ^{125}I -anti CA19-9 antibody using the following equation (18):

$$\ln \left[\frac{[Ab]_0 [Ag]_0}{[Ab]_0 [Ag]_0 - [AbAg]_t} \right] = K_d t \quad \text{.....(5)}$$

Equation (5) represents the second order kinetics, but the percent of binding was in some cases, small and most labeled antibody remains free and only small fraction binds even at equilibrium, i.e., $[Ab]_0 \gg [AbAg]_e$. So that the following equation (9) could be used in order to fit the pseudo-first order kinetics:

$$\ln \left[\frac{[Ab]_0}{[Ab]_0 - [AbAg]_t} \right] = K_d t \quad \text{.....(6)}$$

On the other hand, figure (4) and (5) show the plot of $\ln \frac{[AbAg]_e}{[AbAg]_e - [AbAg]_t}$ against time (t) in both pre- and postmenopausal

patients, who give a straight line with a slope equal to the observed value of first rate constant k_{obs} in min^{-1} . The rate constant (k_{-1}) in $\text{mg}^{-1} \cdot \text{ml} \cdot \text{min}$ was calculated at four different temperatures by using the following equation (19).

$$k_{obs} = k_{-1} \frac{[^{125}\text{I-antiCA19-9}]_0 [CA19-9]_0}{[^{125}\text{I-antiCA19-9}]_0 + [CA19-9]_0} \quad \dots\dots\dots(7)$$

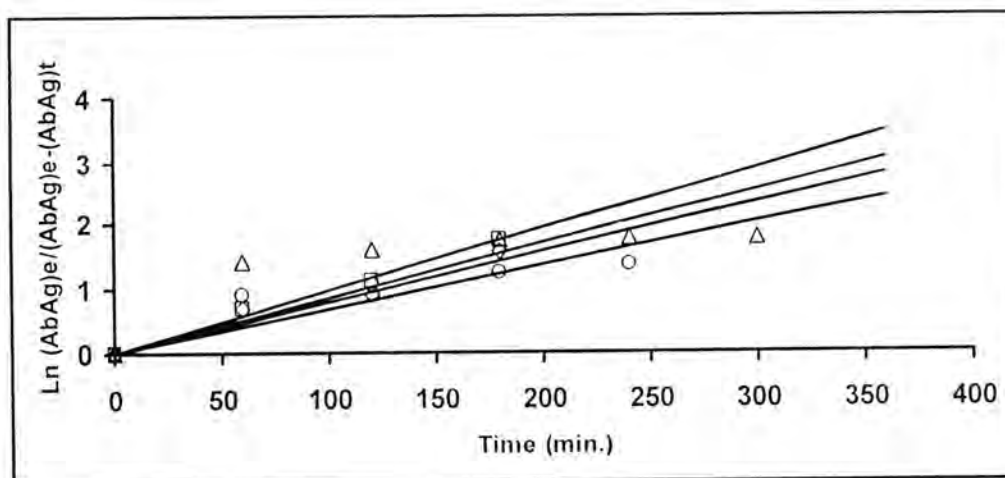


Figure (4): Kinetics of ^{125}I -anti CA19-9 antibody binding to CA19-9 in premenopausal breast cancer patients (IDC).
 \diamond 45 °C, \square 37 °C, Δ 25 °C, \circ 5 °C

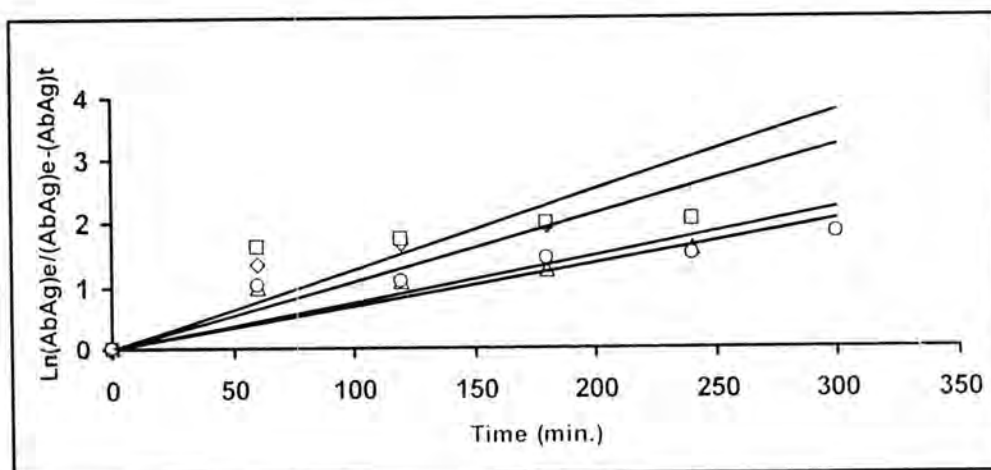


Figure (5): Kinetics of ^{125}I -anti CA19-9 binding to CA19-9 in postmenopausal breast cancer patients (IDC).
 \diamond 45 °C, \square 37 °C, Δ 25 °C, \circ 5 °C

The value of k_{-1} at four temperatures was calculated by using equation (4). Whereas, the half-life time of association $(t_{1/2})_{\text{ass.}}$, that represents the time needed for the formation of half amount of the complex at equilibrium was determined from the concentration of the complex at equilibrium and the time-course curve. The half-life time of dissociation $(t_{1/2})_{\text{diss.}}$, was calculated from the following relation:

$$(t_{1/2})_{\text{diss.}} = \frac{\ln 2}{k_{-1}} = \frac{0.693}{k_{-1}}$$

The value of $k_{\text{obs.}}$, k_{+1} , k_{-1} , $(t_{1/2})_{\text{ass.}}$, $(t_{1/2})_{\text{diss.}}$ at four different temperatures are summarized in table (3). Data analysis in this table shows that highest rate for the association reaction k_{+1} in premenopausal breast cancer patients (IDC*) and postmenopausal breast cancer patients (IDC**) occurs at 37 °C and 45 °C respectively, while the lowest rate occurs at 5 °C. This means the dependence of reaction rate on temperature (Table 3) that also shows the values of the rate constant for the reverse reaction k_{-1} calculated from equation (4). Results show that the rate of dissociation of ^{125}I -anti CA19-9 antibody, from its CA19-9 is temperature independent.

Table (3)
The effect of temperature on the kinetic parameters of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 in pre-and post-menopausal breast cancer patients (IDC)

Temp. °C	$k_{\text{obs.}} \times 10^3 \text{ min.}^{-1}$		k_{+1} $\text{mg}^{-1} \cdot \text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$		$k_{-1} \times 10^{-1} \text{ min.}^{-1}$		$(t_{1/2})_{\text{ass.}} \text{ min.}$		$(t_{1/2})_{\text{diss.}} \times 10^{-1} \text{ min.}$	
	IDC	**IDC	IDC	**IDC	IDC	**IDC	IDC	**IDC	IDC	**IDC
5	6.8	7.8	7.35	11.79	6.92	4.23	102	89	10.0	16.38
25	7	6.7	7.10	17.24	6.08	5.94	95	103	11.0	11.76
37	10.6	9.6	10.60	20.50	8.75	4.77	65	72	8.0	14.53
45	12.5	8.5	13.06	32.80	7.00	8.42	55	82	9.9	8.23

* postmenopausal

** premenopausal

Thermodynamic Studies

Thermodynamic Parameters of Standard State

Figure (6) and (7) show Van't Hoff plot of the binding of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to the partially purified CA15-3 in benign breast tumors (Fibroadenoma) and malignant breast tumors (IDC) respectively, at different temperatures (5, 15, 25, 37 and 45 °C). The dependence of equilibrium constant (affinity constant) for binding of ^{125}I -anti CA19-9

antibody to cytosolic fraction of breast cancer tissue (IDC) on temperature can be observed from Van't Hoff plot revealed that ΔH° in general has small positive values table (4) and (5).

Table (4)

Thermodynamic parameters at standard state of ^{125}I -anti CA19-9 to CA19-9 in premenopausal breast cancer patients (IDC)

Temp. °C	ΔH° KJ .mol ⁻¹	ΔG° KJ .mol ⁻¹	ΔS° J .mol ⁻¹ .K ⁻¹
5	6.48	-7.78	51.29
25	6.48	-8.81	51.30
37	6.48	-9.69	52.17
45	6.48	-9.62	50.61

Table (5)

Thermodynamic parameters at standard state of ^{125}I -anti CA19-9 to CA19-9 in postmenopausal breast cancer patients (IDC)

Temp. °C	ΔH° KJ .mol ⁻¹	ΔG° KJ .mol ⁻¹	ΔS° J .mol ⁻¹ .K ⁻¹
5	3.79	-5.43	33.17
25	3.79	-6.10	33.17
37	3.79	-6.42	33.50
45	3.79	-7.75	36.84

The negative values of ΔG° reflect the stability of the complex hence, the high affinity of the reactants. The high negative values of ΔG° for the binding reaction are controlled by high positive ΔS° values of the complex formed. So, our system is characterized by the sole contribution of ΔS° to the stability of the complex formed, which ΔH° has little or no effect. Whereas, the negative values of ΔG° indicates that the reaction is spontaneous at the standard condition. On the other hand, the high positive of ΔS° suggests that the binding was entropically driven and indicates that the hydrophobic interactions played an important role in the stability of complex formation (20).

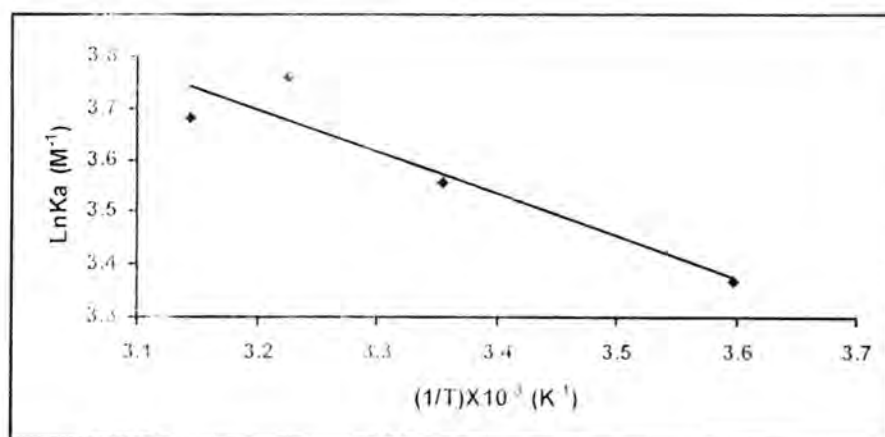


Figure (6): Van't Hoff plot for the binding of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 in premenopausal breast cancer patients (IDC)

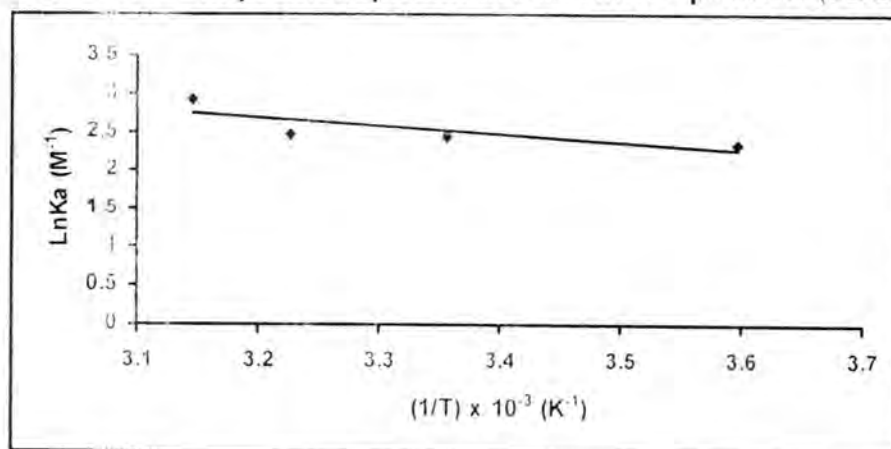
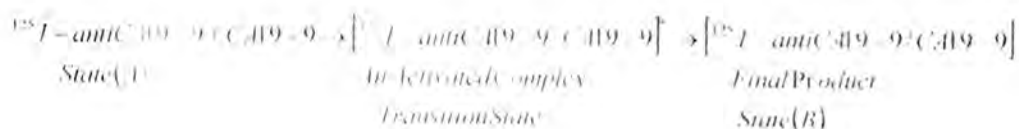


Figure (7): Van't Hoff plot for the binding of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 in postmenopausal breast cancer patients (IDC)

Thermodynamic Parameters of Transition State

Transition state theory postulated that the interaction of two substances to form the final product proceeds through the formation of an activated complex (transition state). Consequently, the association of ^{125}I -anti CA19-9 antibody with its CA19-9 can be represented as follows:



Thermodynamic parameters of the transition state were determined from the application of Arrhenius equation to the kinetic data. Figure (8) and (9) show Arrhenius plots for the binding of CA19-9 to its antibody, the slope of the line represents the activation energy (E_a) of the binding reaction, the linear relationship indicates the dependency of the association rate constant of the binding of CA19-9 to its antibody for pre- and postmenopausal breast cancer (IDC) homogenate on temperature. Table (6) and (7) show the values of thermodynamic parameters of the transition state. The high values of activation energy $14.18 \text{ KJ.mol}^{-1}$ and $15.13 \text{ KJ.mol}^{-1}$ of CA19-9 from pre- and postmenopausal breast cancer respectively, represents the required energy to overcome the energy barrier of the transition state for the formation of (^{125}I -anti CA19-9 antibody / CA19-9) complex. Also the value of activation energy is in accordance with the high positive values of ΔG^* , which indicates that the formation of the activated complex is a non-spontaneous process and requires a lot of energy (equal to E_a) to overcome the transition state energy barrier and giving the final product, whereas the high negative ΔS^* revealed that the activated complex had a more order structure than the reactants. From the result obtained of the thermodynamic parameters in the transition state, it can be concluded that the positive values of ΔH^* and high positive values of ΔG^* are favorable to overcome the energy barrier of the transition state, the high negative values of ΔG^* is mainly attributed to the decrease in entropy of the transition state ($\Delta S^* < 0$). In addition the positive values of ΔH^* show that the heat content of the activated complex is more than that in isolated species (18,21).

It is proposed that the formation of a complex occurs in the two steps. The first is the stabilization of the complex by hydrophobic interactions and second is the stabilization by short range interactions, such as electrostatic interaction, hydrogen bonding and Van der Waals interactions (22).

Hydrophobic interactions contribute to the complex stability via high positive entropy change ($\Delta S^* > 0$), while electrostatic interactions, hydrogen bonding and Van der Waals interactions contribute to the stability of the complex via negative entropy change ($\Delta S^* < 0$) (22, 23).

The thermodynamic data indicate that the binding of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 are entropy driven and in agreement with the concept that hydrophobic interaction play an important role in the formation of (^{125}I -anti CA19-9 antibody / CA19-9) complex.

Table (6)

Thermodynamic parameters at transition state of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 in premenopausal breast cancer patients (IDC)

Temp. °C	Ea KJ.mol ⁻¹	ΔH^* KJ.mol ⁻¹	ΔG^* KJ.mol ⁻¹	ΔS^* J.mol ⁻¹ .K ⁻¹
5	15.13	12.81	61.70	-175.86
25	15.13	12.65	95.93	-178.79
37	15.13	12.55	68.24	-179.65
45	15.13	12.48	68.82	-175.47

Table (7)

Thermodynamic parameters at transition state of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 in postmenopausal breast cancer patients (IDC)

Temp. °C	Ea KJ.mol ⁻¹	ΔH^* KJ.mol ⁻¹	ΔG^* KJ.mol ⁻¹	ΔS^* J.mol ⁻¹ .K ⁻¹
5	14.81	12.49	63.35	-182.95
25	14.81	12.33	82.07	-234.03
37	14.81	12.23	84.44	-232.94
45	14.81	12.16	91.42	-249.23

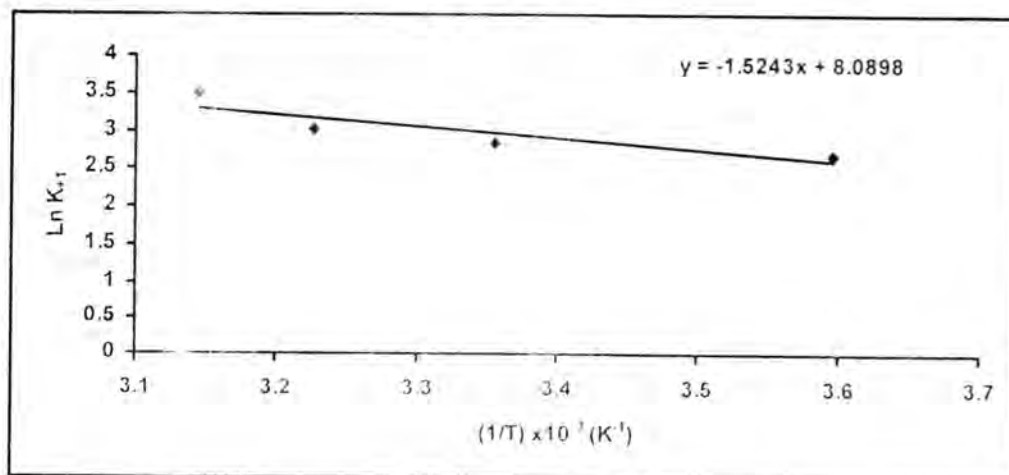


Figure (8): Arrhenius plot for the binding of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 in premenopausal breast cancer patients (IDC)

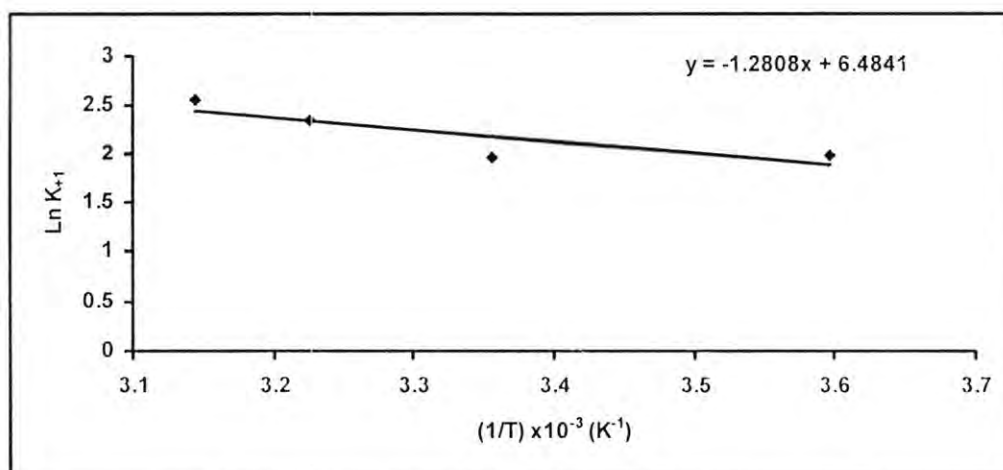


Figure (9): Arrhenius plot for the binding of ^{125}I -anti CA19-9 antibody to CA19-9 postmenopausal breast cancer patients (IDC)

REFERENCES

1. American Society of Clinical Oncology. Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J.Clin.Oncol.*, 14(10), 2843 (1996).
2. Koprowski H., Herlyn M., Steplewski, Z. and Sears H.F., "Specific Antigen in Serum of Patients with Colon Carcinoma", *Science*, 2, 53 (1981).
3. Del Villano B.C., Breennan S., Brock P., Bucher C., Liu V., McClure M., Raake B., Space S., Westrick B., Schomarker H. and Zurawski V.R., "Radioimmuno-metric Assay for Amonoclonal Antibody-Defined tumor Marker CA19-9", *Clin.Chem.*, 29(3), 549 (1983).
4. Burtis C.A., Edward R. and Ashwood E.R., "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", 3rd Ed., Chapter 23, pp722-748, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1999).
5. Dixon J. M. and Mansel R.E., "Congential Proplems and Aberrations of Normal Breast Development and Involution", In: Dixon J. M. Jed. ABC of Breast Diseases, Chapter 1, pp 6-11, BMJ Publishing Group, London (1995).
6. Fletcher J.A., Pinkus G.S., Weidner N. and Morton C.C., "Lineagersticted Clonality in Biphasic Solid Tumors", *Am. J. Pathaol.*, 138, 1199-1207 (1991).
7. Dupont W.D., Page D.L. and Parl F.F., "Long-term Risk of Breast Cancer in Women with Fibroadenoma", *N. Engl. J. Med.*, 311, 10 (1994).
8. Birkinshaw M. and Falconer L.R., "The Localization of Prolactin Labelled with Radioactive Iodine in Rabbit Mammary Tissue", *J. Endorinol.*, 55(2), 323-334 (1972).
9. Seeley D.H., Wang W.Y. and Salhanick H.A., "Temperature Depends of Kinetic Interactions Between Prgesteron and the Uterine Cytoplasmic Receptor", *Biochim. Biophys. Acta.*, 632, 535 (1980).
10. AL-Mudhaffar S.A., "Kinetic and Thermodynamic of Purified Steroid Receptor of Malignant Breast Tumors", *Iraqi. J. Chem.*, 26(1), 186-194 (2000).
11. AL-Mudhaffar S.A., "Kinetic and Thermodynamics Studies on Binding of Human Malignant Breast to Glycoprotein", *Iraqi. J. Chem.*, 26(4), 892-905 (2000).
12. Pal S., Sanyal V. and Chattopadhyay V., "Purification and Characterization of a New 85-kda Glycoprotein Antigen from Human Breast Tumor", *Int. J. Cancer*, 60(6), 759-65 (1995).

13. Lawry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randell R.J., "Protein Measurement with Folin Phenol Reagent", *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275 (1951).
14. Scatchard G., "The Attraction of Proteins of Small Molecules and Ions", *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 51, 660 (1949).
15. Thompson S.A., Johnson M.P. and Brooks C., "Biochemical and Immunohistochemical Characterization of Prolactin Binding in Rat Ventral, Lateral, and Dorsal Prostate Lobes", *Prostate*, 3(1), 45-58 (1982).
16. Chamberlain J., Jargarine N. and Olier P., "Catabolism of (4-¹⁴C) Testosterone by Subcellular Fractions of Human Prostate", *Biochem. J.*, 99, 610 (1966).
17. Al-Atrakchi S.A.M., "Protein Engineering of Carcinoembryonic Antigen and their Receptors Located in Malignant Mammary Tissues", Ph. D. Thesis, College of Science, Baghdad University (2002).
18. Weiland G.A. and Molinoff P.B., "Quantitative Analysis of Drug-Receptor Interactions: 1. Determination of Kinetic and Equilibrium Properties", *Life Science*, 29, 313 (1981).
19. Segel I.H., "Biochemical Calculation", 3rd Ed., pp311. John Wiley & Sons, Inc (1979).
20. Waelbroeck M., Van-Obberghen E. and De-Meytes P., "Thermodynamics of the Interaction of Insulin with its Receptors", *J. Biol. Chem.*, 254(16), 7736 (1979).
21. Haro L.S. and Talamantes F.G., "Specific Binding of Estradiol in Human Uterine Cancer", *Mol. Cell. Endocrinol.*, 43, 199 (1985).
22. Blumenthal D.K. and Stull J.T., "Effect of pH, Ionic Strength, and Temperature on Activation by Calmodulin and Catalytic Activity of Myosin Light Chain Kinase", *Biochemistry*, 21, 2386 (1982).
23. Laporte D.C., Wierman B.M. and Storm D.R., "Calcium-Induced Exposure of a Hydrophobic Surface on Calmodulin", *Biochemistry*, 19(6), 3814-3823 (1980).

On Growth of Harmonic Functions in Hyper Spheres Having Index-Pair (p, q)

Dr. Mushtaq S. AL-Shaibani

Department of Mathematics, College of Science, AL-Mustansiriya
University, Baghdad, Iraq

E-mail: mushtdma@yahoo.com

ABSTRACT

The present paper deals with the growth of solutions (harmonic in n -dimensional Euclidean space R^n) of Laplace's partial differential equation (1.2).

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial x_1^2} + \frac{\partial^2}{\partial x_2^2} + \dots + \frac{\partial^2}{\partial x_n^2} \right) H = 0.$$

Characterizations of (p, q) -type of harmonic functions $H(x)$ have been obtained explicitly in terms of the m 'th gradients $\nabla_m H(0)$. The $H(x)$ are taken to be regular in a finite hyper ball $B_R = \{x: |x| < R\}$, where $|x| = (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2)^{1/2}$.

الخلاصة

يتناول البحث نمو معادلتة لابلاس التفاضلية الجزئية

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial x_1^2} + \frac{\partial^2}{\partial x_2^2} + \dots + \frac{\partial^2}{\partial x_n^2} \right) H = 0$$

حول الفضاء الإقليدي R^n ذي البعد n وان تمثيل

النوع (p, q) للدوال التوافقية $H(x)$ حصلنا عليه ضمناً بدلالة m من الميول $\nabla_m H(0)$.

وان الدالة $H(x)$ كانت تحليلية في المجموعة $B_R = \{x: |x| < R\}$ حيث

$|x| = (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2)^{1/2}$ وهي تستر فوق الكرات المنتهية. وان رمز الدليل والرتبة

(p, q) تلعبان دوراً مميزاً في تصنيف التزايف المربع للدوال التحليلية في B_R وان هذا

المضمون قد فشل في مقارنة نسبة نمو أي اثنين من الدوال التحليلية في B_R والتي لها نفس الرتبة (p, q) .

في بحثنا هذا قدمنا متغير جديد ومختلف لنسبة نمو مثل تلك الدوال ونتائجنا هي توسيع وتحسين وتطوير لنتائج الرياضي الهندي Devendra Kumar .

INTRODUCTION

A real valued function $H(x)$, $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)$ is said to be harmonic in n -dimensional Euclidean space R^n if it has continuous partial derivatives of the first and second order and satisfies the Laplace's equation

$$\frac{\partial^2 H}{\partial x_1^2} + \frac{\partial^2 H}{\partial x_2^2} + \dots + \frac{\partial^2 H}{\partial x_n^2} = 0,$$

Throughout a neighborhood of the origin in R^n . Such functions have spherical harmonic expansions:

$$(1.1) \quad H(x) = \sum_{m=0}^{\infty} H_m(x), \text{ where } H_m \text{ are harmonic, homogeneous}$$

polynomials of degree m in x_1, x_2, \dots, x_n , (3). It has been shown (4) that the series (1.1) converges absolutely and uniformly on compact subsets of the open ball $B_R = \{x: |x| < R\}$, where $|x| = (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2)^{1/2}$.

$$(1.2) \quad R^{-1} = \limsup_{m \rightarrow \infty} (\|\nabla_m H(0)\| / m!)^{1/m},$$

and the norm of the m 'th gradient of $H(x)$ is defined as follows:

For each n -tuple $a = (a_1, a_2, \dots, a_n)$ of non-negative integers, we define $|a| = a_1 + a_2 + \dots + a_n$ and $a! = a_1! a_2! \dots a_n!$. We also denote the

differential operator $D^a = \frac{\partial^{|a|}}{\partial x_1^{a_1} \partial x_2^{a_2} \dots \partial x_n^{a_n}}$. For each $f \in C^\infty(R^n)$ and

non-negative integer m , let the norm of the m 'th gradient of H be given by

$$(1.3) \quad \|V_m H(0)\| = \left\{ \frac{m!}{2^m} \sum_{a=0}^m \left(D^a H(0) \right)^2 / a! \right\}^{1/2}.$$

(See (5) for a similar definition).

Further, such convergence of the series (1.1) does not hold on a larger ball centered at the origin. Let $f(z) = \sum_{n=0}^{\infty} a_n z^{\lambda_n}$ be a non-constant entire function, where $\lambda_0 = 0$, and $\{\lambda_n\}_1^{\infty}$ is a strictly increasing sequence of positive integers such that no element of the sequence $\{a_n\}_1^{\infty}$ is zero.

To estimate the growth of a non-constant entire function $f(z)$, concepts of the order and type are used. Thus $f(z)$ is said to be of order ρ ($0 \leq \rho \leq \infty$) if

$$\rho = \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log \log M(r)}{\log r}, \text{ where } M(r) = M(r, f) = \max_{|z|=r} |f(z)|.$$

A constant function is taken to be of order zero by convention.

The concept of type has been introduced to determine the relative growth of two entire functions of same non-zero finite order. Thus, an entire function $f(z)$ of order ρ ($0 \leq \rho \leq \infty$) is said to be of type T if

$$(1.4) \quad T = \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log M(r)}{r^{\rho}}, \text{ for more details see (6,7).}$$

To further classify the entire functions of slow growth ($\rho = 0$) or fast growth ($\rho = \infty$) the concept of (p, q) -order and (p, q) -type was introduced by Juneja et al. ([8], [9]). Thus for integers $p \geq q \geq 0$, we set

$$(1.5) \quad \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p]} M(r)}{\log^{[q]} r} = \rho(p, q) = \rho.$$

Here $\log^{[p]} x = \log(\log \dots \log x)$, where logarithm is taken p times.

An entire function $f(z)$ is said to be of index-pair (p, q) , $p \geq q \geq 1$ if $b < \rho(p, q) < \infty$ and $\rho(p-1, q-1)$ is not a non-zero finite number, where $b=1$ if $p=q$ and $b=0$ if $p > q$. If $f(z)$ has index pair (p, q) , then $\rho = \rho(p, q)$ is called the (p, q) -order of $f(z)$. If $f(z)$ is of (p, q) -order ρ , the (p, q) -type of $f(z)$ is defined by

$$(1.6) \quad T = T(p, q) = \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} M(r)}{(\log^{[q-1]} r)^p}, \quad 0 \leq T \leq \infty.$$

For further definitions and notations, we shall refer to (8,9).

(It is well known that $M_\infty(h, r) \rightarrow \infty$ as $r \rightarrow \infty$. See, for example (10).

$$(1.7) \quad \rho_{(p,q)}(H, R) = \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p]} M(r)}{\log^{[q]} (R - r)},$$

where $\log^{[0]} M(r, H) = M(r, H)$ and $\log^p M(r, H) = \log \log^{p-1} M(r, H)$.

For an analytic function f with Taylor series expansion $f(z) = \sum_{n=0}^{\infty} a_n z^n$, where $R^{-1} = \limsup_{n \rightarrow \infty} |a_n|^{1/n}$, it has been shown (11) that $\rho_{(p,q)}(H, R)$ as defined by (1.7) with $M(r) = \max_{|z|=r} |f(z)|$ is given by the expression

$$(1.8) \quad \rho_{(p,q)}(R) + A = \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} n}{\log^q n - \log^+ \log^+ |a_n| R^n},$$

where $A=1$ if $p=q=2$, $A=0$ otherwise, and for $x>0$, we put $\log^+ x = \max(\log x, 0)$. Now we need the definition of (p, q) -type of the function $H(x)$. Suppose that $H(x)$ is of finite nonzero (p, q) -order $\rho_{(p,q)}(H, R)$ in the ball B_R . We define the (p, q) -type $T_{(p,q)}(H, R)$ of $H(x)$ just like the (p, q) -type of a function of complex variable analytic in the disc $|z| < R$, $0 < R < \infty$ (12). The (p, q) -type $T_{(p,q)}(H, R)$ of $H(x)$ is defined by the relation

$$(1.9) \quad T_{(p,q)}(H, R) = \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} M(r, H)}{[\log(R/(R-r))]^{\rho_{(p,q)}(H, R)}}.$$

where $M(r, H) = \max_{|x|=r} |H(x)|$. If the analytic function $f(z) = \sum_{n=0}^{\infty} a_n z^n$ is of finite non-zero (p, q) -order $\rho_{(p,q)}(R)$ in the disc $|z| < R$, then the explicit characterization of its (p, q) -type $T_{(p,q)}(R)$ in terms of the Taylor coefficients a_n is given by [12] by the relation

$$(1.10) \quad T_{(p,q)}(R) B_{(p,q)} = V_{(p,q)},$$

where $V_{(p,q)} = \limsup_{n \rightarrow \infty} \left(\log^{(p-2)} n \right) \left(\frac{\log^{(q-1)} |a_n| R^n}{n} \right)^{\rho_{(p,q)}(R) - \lambda_{(p,q)}}$,

$$B_{(p,q)} = (\rho_{(p,q)}(R) + 1)^{\lambda_{(p,q)}(R)/e} / (\rho_{(p,q)}(R))^{\lambda_{(p,q)}(R)} \quad \text{for } p = q = 2,$$

$$B_{(p,q)} = 1/e^{\rho_{(p,q)}(R)} \quad \text{if } p = 2, q = 1$$

$$\text{and } B_{(p,q)} = 1 \quad \text{if } p \geq 3.$$

Then $H(x)$ is said to have the index-pair (p, q) , $p \geq q \geq 1$ if $h < \rho_{(p,q)}(H, R) < \infty$, and $\rho_{(p-1, q-1)}(H, R)$ is not a nonzero finite number, where $h = 1$ if $p = q$ and $h = 0$ if $p > q$. If (p, q) is the index-pair of H then $\rho_{(p,q)}(H, R)$ and $T_{(p,q)}(H, R)$ are called (p, q) -order and (p, q) -type of $H = H(x)$ respectively.

The notions of index and (p, q) -order play a significant role in classifying the rapidly increasing functions analytic in B_R . However, these concepts fail to compare the rates of growth of any two functions analytic in B_R that have the same (p, q) -order. This paper gives the distinct parameters for the rates of growth of such functions. Our results extend and improve the results due to Devendra Kumar (13).

The text has been divided into two parts. Section 1, consists of introductory exposition of the topic and a lemma which is used in proving the main theorems. In section 2, we obtain expressions for the growth order and type of H , explicitly in terms of the m 'th gradients $|\nabla_m H(0)|$, interior to the ball B_R .

The following Lemma (14) gives upper and lower bounds on the maximum value attained by a harmonic function on the sphere $S(r)$ of radius r centered at the origin, in terms of analytic function of r .

Lemma A. Let $H = H(x)$ be a harmonic in a neighborhood of the origin in R^n . Then for all $r < R$

$$(1.11) \quad M_-(r, H) \leq M(r, H) \leq M_+(r, H),$$

$$\text{where } M_{\pm}(r, H) = \left[\frac{1}{c_n r^{n-1}} \int_{S(r)} H^2(x) d\sigma(x) \right]^{1/2}$$

$$= \left[\Gamma(n/2) \sum_{m=0}^{\infty} \frac{|\nabla_m H(0)|^2}{m! \Gamma(m + (n/2))} r^{2m} \right]^{1/2}$$

and

$$M_1(r, H) = \sqrt{\Gamma(n/2)} \sum_{m=0}^{\infty} \sqrt{d_m} \left(|\nabla_m H(0)| \sqrt{m! \Gamma(m + (n/2))} \right) r^m$$

where $d\sigma$ is the element of the surface area on the sphere $S(1)$, and ϵ_n is the surface area of the sphere $S(1)$.

MAIN RESULTS

Theorem 1. Let $H(x)$, $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)$ be harmonic in a neighborhood of origin in R^n , having index pair (p, q) , and suppose the radius R of harmonicity of $H(x)$ is given by (1.2). Then the (p, q) -order of $H(x)$ is given by the expression

$$\rho_{(p,q)}(H, R) + A(p, q) = \limsup_{r \rightarrow R} \frac{\log^{[p-1]} m}{\log^{(q-1)} m - \log^+ \log^+ (\nabla_m H(0) m!) R^m}$$

Proof. Let $M_2(r, H)$, $M(r, H)$ and $M_1(r, H)$ be as defined in Lemma A, we observe that $[M_2(r, H)]^2$ is an analytic function of r , and thus can be continued analytically to complex variables, where the radius of convergence R of

$$[M_2(r, H)]^2 = \Gamma(n/2) \sum_{m=0}^{\infty} \frac{|\nabla_m H(0)|^2}{m! \Gamma(m + (n/2))} r^{2m},$$

is given by the expression (1.2). Further $|M_2(z, H)|^2 \leq [M_2(r, H)]^2$, where $r = |z|$, and

$$\begin{aligned} \limsup_{r \rightarrow R} \frac{\log^{[p]} [M(r, H)]^2}{\log^{[q]} (R/(R-r))} &= \limsup_{r \rightarrow R} \frac{\log^{[p]} M_2(r, H)}{\log^{[q]} (R/(R-r))} \\ &\leq \limsup_{r \rightarrow R} \frac{\log^{[p]} M_2(r, H)}{\log^{[q]} (R/(R-r))} \end{aligned}$$

$$= \rho_{(p,q)}(H, R).$$

Thus the growth of the function $[M_1(z)]^2$ is less than or equal to the (p, q) -growth order of the harmonic function $H(z)$. Further, by the classical function theoretic result [11] the (p, q) -growth order of the function $[M_1(z)]^2$ can be expressed in terms of its Taylor coefficients as follows:

$$\rho_{(p,q)}(M_1^2, R) = A(p, q) = \limsup_{m \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} 2m}{\log^{(q-1)} 2m - \log^+ \log^+ \frac{\Gamma(n-2) |\nabla_m H(0)|^2}{m! \Gamma\left(m + \frac{n}{2}\right)} R^{2m}}.$$

Since $\Gamma\left(m + \frac{n}{2}\right)/m! \approx m^{(n-2)/2}$, so we get

$$\rho_{(p,q)}(M_1^2, R) = A(p, q) = \limsup_{m \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} n}{\log^{(q-1)} m - \log^+ \log^+ \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}.$$

Now we observe that $M_1(r, H)$ is also an analytic function of r , and thus can be continued to complex variables, where the radius of convergence of the power series

$$M_1(r, H) = \sqrt{\Gamma(n/2)} \sum_{m=0}^{\infty} \sqrt{d_m} \left(\nabla_m H(0) / \sqrt{m! \Gamma(m + (n/2))} \right) z^m$$

is also R given by the expression (1.2). Further applying the result of Lemma A, we obtain $M(r, H) = M_1(r, H) = \max_{|z|=r} M_1(z, H)$, and thus the (p, q) -growth order of $H(z)$ is less than or equal to the (p, q) -growth order $\rho_{(p,q)}(M_1, R)$ of the function $M_1(z, H)$. But in view of the result (1.8), (p, q) -order $\rho_{(p,q)}(M_1, R)$ is given by the expression

$$\rho_{(p,q)}(M_1, R) = A(p, q) = \limsup_{m \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} m}{\log^{(q-1)} m - \log^+ \log^+ \frac{\sqrt{\Gamma(n-2)} |\nabla_m H(0)| R^m}{\sqrt{d_m} \sqrt{m! \Gamma\left(m + \frac{n}{2}\right)}}}.$$

$$= \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} n}{\log^{(q-1)} m - \log^+ \log^+ \frac{|\nabla_m H(0)|}{\sqrt{m!} 4^{\left(m + \frac{n}{2}\right)}} R^m}$$

or

$$\begin{aligned} &= \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} m}{\log^{(q-1)} m - \log^+ \log^+ (|\nabla_m H(0)|/m!) R^m} \\ &= \rho_{(p,q)}(M_2, R) + A(p, q) \leq \rho_{(p,q)}(H, R) + A(p, q) \\ &\leq \rho(M_1, R) + A(p, q) \end{aligned}$$

$$= \limsup_{r \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-1]} m}{\log^{(q-1)} m - \log^+ \log^+ \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}.$$

Hence the theorem is proved.

Remark 1: For, $p = q = 2$ this theorem includes Theorem 1, by Fryant and Shankar (14).

Theorem 2. Let $H(x)$, $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)$ be harmonic in a neighborhood of origin in R^n , having index-pair (p, q) and suppose the radius of harmonicity of $H(x)$ is given by (1.2). Then the (p, q) -type of $H(x)$ is given by the expression

$$T_{(p,q)}(H, R) = \frac{1}{B_{p,q}(H)} \limsup_{r \rightarrow \infty} \left(\log^{[p-2]} m \right) \left[\frac{\log^{[q-1]} \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right]^{\rho_{(p,q)}(H, R) + A(p,q)}$$

where

$$\begin{aligned} B(p, q, H) &= (\rho_{p,q}(H, R) + 1)^{(\rho_{p,q}(H, R) + 1)} / (\rho_{p,q}(H, R))^{\rho_{p,q}(H, R)} \text{ for } p = q = 2, \\ B(p, q, H) &= 1 \text{ if } p \geq 3, \text{ and } \rho_{p,q}(H, R) > 0, q = 2, 3, \dots \end{aligned}$$

Proof. In the proof of Theorem 1 it has been shown that the (p, q) -order of $[M_2(z, H)]^2$, $H(x)$ and $M_1(z, H)$ are all equal. Thus the (p, q) -order of $[M_2(z, H)]^2$ is equal to $\rho_{p,q}(H, R)$, and so the (p, q) -type $T_{(p,q)}(M_2^2, R)$, according to (1.10), is given by

$$\begin{aligned}
T_{(p,q)}(M_2^2, R) &= \frac{1}{B(p,q,H)} \limsup_{m \rightarrow \infty} (\log [p-2] - 2m) \left[\frac{\log^q \frac{|\nabla_m H(0)|}{m! \Gamma(m+(p-2))} R^{2m}}{2m} \right]^{\rho_{(p,q)}(H,R)+A(p,q)} \\
&= \frac{1}{B(p,q,H)} \limsup_{m \rightarrow \infty} (\log [p-2] - 2m) \left[\frac{\log^q \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right]^{\rho_{(p,q)}(H,R)+A(p,q)}.
\end{aligned}$$

Since $[M_2(z, H)]^2$ has a Taylor series expansion with real, nonnegative coefficients $\max |M_2(z, H)|^2 = [M_2(z, H)]^2$. Thus:

$$\begin{aligned}
(2.1) \quad & \frac{1}{B(p,q,H)} \limsup_{m \rightarrow \infty} (\log [p-2] - 2m) \left[\frac{\log^q \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right]^\times \\
& \rho_{(p,q)}(H, R) + A(p, q) = \limsup_{m \rightarrow \infty} \frac{\log^{[p-2]} [M_2(r, H)]^2}{(R/R-r)^{\rho_{(p,q)}(H,R)}}
\end{aligned}$$

For $p=2$, $q=1$, it follows from (2.1) that

$$\begin{aligned}
& \left\{ (2\rho_2(H, R))^{\rho_2(H,R)+1} (\rho_2(H, R)+1)^{\rho_2(H,R)+1} \right\} \\
& \times \limsup_{m \rightarrow \infty} \left\{ \frac{\log^q \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right\}^{\rho_2(H,R)+1} / m^{\rho_2(H,R)} \Big\} \\
& = 2 \limsup_{m \rightarrow \infty} \frac{\log^q M_2(r, H)}{(R/R-r)^{\rho_2(H,R)+1}}. \text{ Using Lemma A, we get} \\
& \leq 2 \limsup_{r \rightarrow R} \frac{\log^q M(r, H)}{(R/R-r)^{\rho_2(H,R)+1}}.
\end{aligned}$$

For $p \geq 3$, $q = 1$ (2.1) gives

$$\begin{aligned} & \frac{1}{B(p, q, H)} \limsup_{r \rightarrow \infty} (\log^{[p-2]} 2m) \times \left[\frac{\log^q \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right]^{\rho_{(p,q)}(H, R)} \\ &= \limsup_{r \rightarrow R} \frac{\log^{(p-1)} M_2(r, H)}{(R, R-r)^{\rho_{(p,q)}(H, R)}}. \end{aligned}$$

Again using Lemma A, we have

$$\leq \limsup_{r \rightarrow R} \frac{\log^{(p-1)} M(r, H)}{(R, R-r)^{\rho_{(p,q)}(H, R)}}.$$

Next, the (p, q) -order of $M_1(z, H)$ is also $\rho_{(p,q)}(H, R)$, and thus by the relation (1.10) the (p, q) -type $T_{(p,q)}(M_1, R)$ is given by

$$\begin{aligned} T_{(p,q)}(M_1, R) &= \frac{1}{B(p, q, H)} \limsup_{m \rightarrow \infty} (\log^{[p-2]} m) \\ &\quad \times \left[\frac{\log^q \frac{\sqrt{\Gamma(n-2)}}{\sqrt{m! \Gamma(m+(n-2))}} \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right]^{\rho_{(p,q)}(H, R) + A(p,q)} \\ &= \frac{1}{B(p, q, H)} \limsup_{m \rightarrow \infty} (\log^{[p-2]} m) \left[\frac{\log^q \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right]^{\rho_{(p,q)}(H, R) + A(p,q)}. \end{aligned}$$

We thus have

$$T_{p,q}(M_2, R) \leq T_{p,q}(H, R) \leq T_{p,q}(M_1, R)$$

$$= \frac{1}{B(p, q, H)} \limsup_{m \rightarrow \infty} (\log^{[p-2]} m) \left[\frac{\log^q \frac{|\nabla_m H(0)|}{m!} R^m}{m} \right]^{\rho_{(p,q)}(H, R) + A(p,q)}$$

Hence the theorem is proved.

Remark 2: For, $p = 2$, $q = 1$, this theorem includes Theorem 2, by Fryant and Shankar (14).

ACKNOWLEDGMENT

The author is thankful to the referees for their helpful comments and suggestions for improving the paper.

REFERENCES

1. Fryant A.J., "Growth of entire harmonic functions in R^3 ", J. Math. Anal. Appl., 66, 599-605 (1978).
2. Fugard T.B., "Growth of entire harmonic functions in R^n , ($n \geq 2$)", J. Math. Anal. Appl., 74, 286-291 (1980).
3. Du Plessis N., "An Introduction to Potential Theory", Oliver and Boyd, Edinburg (1970).
4. Fugard T.B., "On the largest ball of harmonic continuation", J. Math. Anal. Appl., 90, 548-554 (1982).
5. Calderon A.P. and Zygmund A., "On higher gradients of harmonic functions", Studia Math., 24, 211-226 (1964).
6. Boas, R.P., "Entire Functions", Academic Press, New York (1954).
7. Whittakar J.M., "The lower order of integral functions", J. London Math. Soc., 8, 20-27 (1933).
8. Juneja O.P., Kapoor G.P. and Bajpai S.K., "On the (p,q) -order and lower (p,q) -order of an entire function", J. Reine. Angew. Math., 282, 53-67 (1976).
9. Juneja O.P., Kapoor G.P. and Bajpai S.K., "On the (p,q) -type and lower (p,q) -type of an entire function", J. Reine. Angew. Math., 290, 180-190 (1977).
10. Hayman W.K. and Kennedy P.B., "Subbharmonic Functions", Vol. 1, Academic Press, London (1976).
11. Kapoor G.P. and Gopal K., "On the coefficient of functions analytic in the unit disc having fast rates of growth", Ann. Pura. Appl., 61, 337-349 (1979).
12. Gopal K. and Kapoor G.P., "Coefficient characterization for functions analytic in the unit disc having fast rates of growth", Bull. Math. Soc. Sci. Math. R.S. Roumanie, 25(73) 1, 367-380 (1981).
13. Devendra K., "The growth of harmonic functions in hyper spheres", Demonstratio Mathematica, XXXII, 4, 717-724 (1999).
14. Fryant A.J. and Shankar H., "Growth of harmonic functions in hyper sphere", J. Math. Anal. Appl., 122, 453-462 (1987).

Stability and Instability of Interconnected Systems Using Symmetric Test Matrix

Adel Mohammad Hassan Rizaq AL-Rammahi

Assistant Professor (Math.); Technical Education Commission; Najaf-
Engineering Technical College, E-mail: adelr@naharpost.com

ABSTRACT

In this paper, stability and instability of interconnected system via Lyapunov direct method was studied, and new method for this purpose was introduced. In this method, a related test matrix was introduced as a symmetric matrix.

الخلاصة

في هذا البحث تم دراسة استقرارية النظام المتداخل من خلال طريقة ليابانوف المباشرة. طريقة جديدة لهذا الغرض قد تم تقديمها، حيث أن مصفوفة الاختبار قد قدمت على أنها مصفوفة متناظرة.

INTRODUCTION

A stability criterion in terms of Lyapunov direct method of interconnected system has applied in many problems. For update it is used in the robustness design of fuzzy controllers (1), relationship between stress and strain (2), the impact of the natural frequencies of vibration of the unperturbed system (3).

One common technique to analyze interconnected systems (or large-scale systems) is to decompose the interconnected system into a number of lower order free subsystems. The aim of the decomposition is to relate an overall system to $(n \times n)$ test matrix, where n denotes the number of interconnected subsystems (4). This test matrix may be as a positive definite (5), negative definite (6), Metzler (6) or M-matrix (7), direct

operator of matrices (8), or multi definite matrices (9, 10). Consequently, qualitative behavior of overall interconnected system can be deduced from the qualitative properties of related test matrix. In this paper, the related test matrix introduced as a symmetric only without needed definiteness, Metzler, M-matrix, or other properties.

Basic Concepts

Following are basic known concepts, which needed in this research:

Definition (1, (11)) The real symmetric $n \times n$ matrix $B = (b_{ij})$ is said to be positive definite if the leading principle minors of B are all positive, such that it satisfies the following sylvestor's condition:

$$\det(B_j) = \det \begin{bmatrix} b_{11} & b_{12} & \cdots & b_{1j} \\ b_{21} & b_{22} & \cdots & b_{2j} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ b_{j1} & b_{j2} & \cdots & b_{jj} \end{bmatrix} > 0, j = 1, 2, \dots, n,$$

where $\det(B_j)$ denotes the determinant of j by j matrix B .

Definition (2, (11)) The real symmetric $n \times n$ matrix $B = (b_{ij})$ is said to be negative definite iff $-B$ is positive definite, such that matrix B satisfies the following Hicks's condition:

$$(-1)^j \det(B_j) > 0 \text{ for } j = 1, 2, \dots, n.$$

Theorem (1, (12)) Let $B = (b_{ij})$ be $n \times n$ real symmetric matrix, then the following properties are equivalent

$$P_1: (-1)^j \det(B_j) > 0, j = 1, 2, \dots, n.$$

$$P_2: x'Bx < 0 \text{ for all vector } x \in R^n, \text{ where } x' \text{ is the transpose of } x.$$

$$P_3: \text{Eigenvalues of } B \text{ are all negative.}$$

Definition (3, (12)) When symmetric matrix $B = (b_{ij})$ satisfies one of properties of Theorem (1), then it is called **stable**.

Theorem (2, (12)) Let $B = (b_{ij})$ be $n \times n$ real symmetric matrix, then the following properties are equivalent:

$$C_1: \det(B_j) > 0 \text{ for } j = 1, 2, \dots, n.$$

$$C_2: x'Bx > 0 \text{ for all vector } x.$$

$$C_3: \text{Eigen values of } B \text{ are all positive.}$$

Definition (4, (12)) When symmetric matrix $B = (b_{ij})$ satisfies one of properties of Theorem (2), then it is called **unstable**.

Theorem (3, (13)) If $B = (b_{ij})$ is an $n \times n$ real symmetric matrix, then there exist non-singular matrix P such that $P^{-1}BP = \text{diag}(\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n)$, where λ_i represent eigenvalues of B , P^{-1} is the inverse of P , and $\text{diag}(\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n)$ is the diagonal matrix with diagonal entries λ_i 's.

Definition (5, (6)) The n - vector V is called **vector Lyapunove function** where $v'(t) = (v_1(t), \dots, v_n(t))$ if $V(0) = 0$ and $v_i(t) > 0$ for each $i = 1, 2, \dots, n$, where v' is the transpose of v , and v is defined as $v: (J \subset R^+) \times R^n \rightarrow R^n$.

Definition (6, (6)) A continuous function $\phi: [0, r_1] \rightarrow R^+$ is said to be belong to **class K** if $\phi(0) = 0$ and if ϕ is strictly increasing on $[0, r_1]$.

Theorem (4, (11)) The system $\dot{x} = h(t, x)$, $x \in R^n, t \in R^+$, is stable if there exist a vector Lyapunove function $V(t)$ satisfies that $\dot{v}(t) \leq 0$, where \dot{v} denotes the total time derivative of v , and $h: (J \subset R^+) \times R^n \rightarrow R^n$.

Theorem (5, (11)) The system $\dot{x} = h(t, x)$, $x \in R^n, t \in R^+$, is unstable if there exist a vector Lyapunove function $v(t)$ satisfies that $\dot{v}(t) > 0$ for some region $S \subset B(r)$, $B(r) = \{x \in R^n : \|x\| < r, r > 0\}$, where $\|x\|$ denotes the norm of x .

Definition (7, (14)) The real symmetric $n \times n$ matrix $B = (b_{ij})$ with non-positive off diagonal entries is said to be **M-Matrix** if it satisfies that $\det(B_j) > 0$ for $j = 1, 2, \dots, n$.

Definition (8, (14)) The real symmetric $n \times n$ matrix $B = (b_{ij})$ is said to be **Metzler** if $b_{ii} < 0$ and $b_{ij} > 0, i \neq j$ for all $i, j = 1, 2, \dots, n$.

Theorem (6, [14]) An $n \times n$ **Metzler** matrix $B = (b_{ij})$ is stable iff $(-1)^j \det(B_j) > 0, j = 1, 2, \dots, n$.

System Description

Let $\dot{x} = h(t, x)$ (3.1)

be a large- scale system where $x \in R^n, t \in R^+, \dot{x} = \frac{dx}{dt}$ and $h: B(r) \times R^+ \rightarrow R^n$ for some $r > 0$, $B(r) = \{x \in R^n : \|x\| < r, r > 0\}$, we assume that h is sufficiently smooth so that (3.1) possesses for every $x_0 \in B(r)$ and for every $t_0 \in R^+$ one and only one solution $x(t; x_0, t_0)$. We assume that $x = 0$ is an isolated equilibrium of (3.1), and thus $h(0, t) = 0$ for all $t \in R^+$.

When system (3.1) can be written as an interconnection of several lower order subsystems, then it can be modeled by equations of the form (interconnected system).

$$\dot{Z}_i = f_i(Z_i, t) + g_i(Z_1, \dots, Z_l, t), i = 1, 2, \dots, l \quad (3.2)$$

where $Z_i \in R^{n_i}, t \in R^+, f_i: R^{n_i} \times R^+ \rightarrow R^{n_i}, g_i: R^{n_1} \times \dots \times R^{n_l} \times R^+ \rightarrow R^{n_i}$

and $f_i: B_i(r_i) \times R^+ \rightarrow R^{n_i}, \dots, g_i: B_1(r_1) \times \dots \times B_l(r_l) \times R^+ \rightarrow R^{n_i}$, where

$$B_i(r_i) = \{Z_i \in R^{n_i} : \|Z_i\| < r_i\}, \text{ and } \sum_{i=1}^l n_i = n, x' = (Z_1', \dots, Z_l'),$$

$$f(x, t)' = [f_1(Z_1, t)', \dots, f_l(Z_l, t)']$$

$$g(x, t)' = [g_1(Z_1, \dots, Z_l, t)', \dots, g_l(Z_1, \dots, Z_l, t)']$$

$$\text{where } \begin{cases} \dot{Z}_i = f_i(Z_i, t) \\ \dot{Z}_i = f_i(Z_i, t) \end{cases} \quad (3.3)$$

represent free subsystem (1.2.6).

New Main Results

Two new results for stability and instability of large scale dynamic system are introduced in this section.

New Stability Result

Let $v_i(Z_i, t): R^{n_i} \times R^+ \rightarrow R$ be a positive definite function where $\phi_{ij}(\|Z_i\|) = v_i(Z_i, t) - \phi_{i2}(\|Z_i\|), \phi_{ij} \in \text{class } K$

then the total time derivative is

$$\dot{v}_i = (\nabla v_i)'(f_i + g_i) \quad (4.2)$$

$$\text{By taking } (\nabla v_i)'f_i \leq -\sigma_i \phi_{i1}(\|Z_i\|), \sigma_i \in R^+ \quad (4.3)$$

$$(\nabla v_i)'g_i \leq h_{i2} \phi_{i2}(\|Z_i\|), h_{i2} \in R \quad (4.4)$$

$$\text{and } A = (a_{ij}) = \begin{pmatrix} -\sigma_1 + h_{12} & 0 \\ 0 & -\sigma_2 + h_{22} \end{pmatrix} \in R \quad (4.5)$$

$$\text{therefore } \dot{V} = \Lambda w \quad (4.6)$$

where $\Lambda = (a_{ij})$ be a constant test matrix, $v' = (v_1, \dots, v_l)$

is the vector Lyapunove function, $w' = (\phi_{12}, \dots, \phi_{l2})$

is the comparison vector such that $\phi_{j3} \in \text{class } K$ for $j=1, \dots, \ell$

Now we introduce a symmetric test matrix \bar{A} where

$$\bar{A} = (a_{ij}) = \begin{cases} a_{ii} \\ \max\{a_{ij}, a_{ji}\} \end{cases} \quad (4.7)$$

The matrix \bar{A} in (4.7) is symmetric and is different from the matrix A in (4.5)

By using (4.3) and (4.6), we have

$$\dot{V} \leq \bar{A} w \quad (4.8)$$

Let us take $u: R^n \times R^+ \rightarrow R$ as a positive definite function where

$$u = b'v, b' = (1, \dots, 1) \quad (4.9)$$

then

$$\dot{u} = b' \dot{v} \quad (4.10)$$

By substituting (4.5) in (4.7), we have:

$$\dot{u} \leq b' \bar{A} w \quad (4.11)$$

Since \bar{A} is symmetric then by using theorem (3), there is an $\ell \times \ell$ non singular matrix P such that

$$\bar{A} = P^{-1} \Lambda P = \text{diag}(\lambda_1, \dots, \lambda_\ell) \quad (4.12)$$

where λ_i are eigenvalues of \bar{A}

By using (4.8) and (4.9), one can have:

$$\dot{u} \leq b' \text{diag}(\lambda_1, \dots, \lambda_\ell) w \quad (4.13)$$

$$\dot{u} \leq \sum_{j=1}^{\ell} \lambda_j \phi_{j3} \quad (4.14)$$

Assume that \bar{A} satisfies condition P_1 of theorem (1), then by equivalence it satisfies condition P_3 of theorem (1). That means all eigenvalues of \bar{A} are negative, which implies that

$$\dot{u} < 0 \quad (4.15)$$

That means, when we use u as a positive definite function, we have that

$\dot{u} < 0$, therefore by using theorem (4), system (3.2) is stable.

Note (1) To check stability of test matrix \bar{A} , one can use property (P₁) instead of (P₃) of theorem (1).

In the last, we are in a position to introduce the following new result for checking stability of interconnect system.

Proposition (1)

Interconnected system (3.2) is stable if the following assumptions are satisfied:

A₁) For free subsystem (3.3), there is a positive definite function $v_i(Z_i, t)$ such that:

$$\phi_i(\|Z_i\|) \leq v_i(Z_i, t) \leq \psi_i(\|Z_i\|) \quad \phi, \psi \text{ class K}$$

A₂) The total time derivative \dot{v} satisfies that

$$(\nabla v_i)' f_i \leq -\sigma_i \phi_i(\|Z_i\|), \sigma_i \in R$$

$$(\nabla v_i)' g_i \leq b_{ij} \phi_j(\|Z_j\|), b_{ij} \in R$$

Then the related test matrix $A = I - (a_{ij})$ has the form

$$A = \begin{pmatrix} -\sigma_i + b_{ii} \\ b_{ij} \end{pmatrix}$$

A₃) The related symmetric test matrix $\bar{A} = (a_{ij})$

$$\bar{A} = \begin{cases} a_{ii} \\ \max\{a_{ij}, a_{ji}\} \end{cases}$$

satisfies that $(-1)^j \det(\bar{A}_j) > 0$ for $j = 1, \dots, l$

New Instability Result

Now, we can study instability of system (3.2) where $v_i(Z_i, t)$ as defined in (4.1), and

$$(\nabla v_i)' f_i \geq -\sigma_i \phi_i(\|Z_i\|), \sigma_i \in R \quad (4.1.b)$$

$$(\nabla v_i)' g_i \geq b_{ij} \phi_j(\|Z_j\|), b_{ij} \in R \quad (4.2.b)$$

$$A = \begin{pmatrix} \sigma_i + b_{ii} \\ b_{ij} \end{pmatrix} \quad (4.5.b)$$

$$\text{So,} \quad \dot{V} \geq Av \quad (4.6.b)$$

The symmetric test matrix $\bar{A} = (a_{ij})$ becomes,

$$\bar{\Lambda} = \begin{cases} a_{ii} \\ \min\{a_{ij}, a_{ji}\} \end{cases} \quad (4.7.b)$$

By using the same manner taken in proof of proposition (1), we have $\bar{u} > 0$ consequently, and by using theorem (5), system (3.2) is unstable.

Note (2)

To check instability of symmetric test matrix $\bar{\Lambda} = (\bar{a}_{ij})$, one can use property (c_1) instead of (c_3) of theorem (2). So we introduce the following new result.

Proposition (2)

Interconnected system (3.2) is unstable if the following assumptions are satisfied

A₁) For free subsystem (3.3), there is a positive definite function $v_i(Z_i, t)$ such that

$$\phi_1(\|Z_i\|) \leq v_i(Z_i, t) \leq \phi_2(\|Z_i\|) \quad \phi \in \text{class K}$$

A₂) The total time derivative \dot{v} satisfies that

$$(\nabla v_i)' f_i \geq \sigma_i \phi_{i3}(\|Z_i\|), \sigma_i \in R^+$$

$$(\nabla v_i)' g_i \geq h_{ij} \phi_{j3}(\|Z_j\|), h_{ij} \in R$$

Then the related test matrix $\bar{\Lambda} = (a_{ij})$ has the form

$$\bar{\Lambda} = \begin{cases} \sigma_i + b_{ii} \\ b_{ij} \end{cases}$$

A₃) The related symmetric test matrix $\bar{\Lambda} = (\bar{a}_{ij})$

$$\bar{\Lambda} = \begin{cases} a_{ii} \\ \min\{a_{ij}, a_{ji}\} \end{cases}$$

satisfies that

$$\det(\bar{\Lambda}_j) > 0, \text{ for } j = 1, \dots, l$$

Examples

To clear above new results, we introduce the following examples

Example (1)

Let us study the following interconnected system

$$\dot{x}_1 = -x_1 - \frac{\sqrt{\alpha}}{2} e^{t\|x_1\|} \begin{pmatrix} x_{11} \\ x_{12} \end{pmatrix}$$

$$\dot{x}_2 = -x_2 - \frac{\sqrt{\alpha}}{4} e^{t\|x_1\|^2} \begin{pmatrix} x_{21} \\ x_{22} \end{pmatrix}$$

where $x_1 = (x_{11}, x_{12})'$, $x_2 = (x_{21}, x_{22})'$, $\alpha \in \mathbb{R}^+$

we can choose $v_i = \frac{1}{2}\|x_i\|^2$ as the positive definite function $\forall i = 1, 2, \dots$ then,

$$\nabla v_1 = x_1$$

with no interaction, we have:

$$(\nabla v_1)' f_1 = x_1'(-x_1) = -\|x_1\|^2$$

therefore we choose $\phi_{1i} = \|x_i\|$, $i = 1, 2, 3, \dots$

with interaction, we have:

$$\begin{aligned} (\nabla v_1)' g_1 &= x_1' \left[-\frac{\sqrt{\alpha}}{2} e^{t\|x_2\|} \begin{pmatrix} x_{11} \\ x_{12} \end{pmatrix} \right] \\ &= -\frac{\sqrt{\alpha}}{2} \|x_2\|^2 e^{t\|x_1\|^2} \end{aligned}$$

we put $\|x_1\|^2 = 1$

$e^1 \geq 1 \Rightarrow -e^1 \leq -1$, therefore

$$(\nabla v_1)' g_1 \leq -\frac{\sqrt{\alpha}}{2} \|x_2\|^2 = -\frac{\sqrt{\alpha}}{2} \phi_{12}$$

by the same way when we put $\|x_2\|^2 = 1$, we have

$$(\nabla v_2)' g_2 = -\frac{\sqrt{\alpha}}{4} \|x_1\|^2 = -\frac{\sqrt{\alpha}}{4} \phi_{12}$$

then the corresponding matrix Λ (according to (4.5)) becomes

$$A = \begin{pmatrix} -1 & \frac{-\sqrt{\alpha}}{2} \\ \frac{-\sqrt{\alpha}}{4} & -1 \end{pmatrix}$$

therefore the symmetric matrix Λ (according to (4.7)) is

$$\bar{A} = \begin{pmatrix} -1 & \frac{-\sqrt{\alpha}}{4} \\ \frac{-\sqrt{\alpha}}{4} & 1 \end{pmatrix}$$

then $|\Lambda_1| = -1 < 0$, and

$$|\Lambda| = 1 - \frac{\alpha}{16} > 0, \quad \text{for } 0 < \alpha < 16$$

That means condition A_3 of proposition (1) is satisfied ,consequently, given interconnected system is stable for $0 < \alpha < 16$.

From the other hand and for comparison with some of previous studies , one can take the following cases:

- 1) According to definition (7), A is not **Metzler** because that the off-diagonal entries are all negative.
- 2) $|A_1| = -1$.So A is not **M-Matrix** according to definition (6).
- 3) $|A_2| = 1 - \frac{\alpha}{8}$. So A is not **negative definite** for $\alpha > 8$ according to definition (2).

Example 2

Consider the following composite system

$$\dot{x}_1 = -x_1 + \frac{1}{2}x_{11}x_{22}^2$$

$$\dot{x}_2 = -x_2 + \begin{pmatrix} x_{21}x_{22}^2 \\ -x_{21}^2x_{22} \end{pmatrix}$$

where $x_1 = (x_{11}, x_{12})'$, $x_2 = (x_{21}, x_{22})'$

Then , the free subsystems are

$$\dot{x}_1 = -x_1$$

$$\dot{x}_2 = -x_2 + \begin{pmatrix} x_{21}x_{22}^2 \\ -x_{21}^2x_{22} \end{pmatrix}$$

One can choose $v_i = \frac{1}{2}\|x_i\|^2$ as the positive definite functions of free subsystems, therefore:

$$\forall v_i = x_i \quad i = 1, 2, \dots$$

with no interaction, we have

$$\dot{v}_1 = x_1'(-x_1) = -\|x_1\|^2$$

$$\begin{aligned} \dot{v}_2 &= x_2' \left(-x_2 + \begin{pmatrix} x_{21}x_{22}^2 \\ -x_{21}^2x_{22} \end{pmatrix} \right) \\ &= -\|x_2\|^2 \end{aligned}$$

we can choose $\phi_i = \|x_i\|^2 \quad i = 1, 2, 3, \dots$

with interaction, we have

$$\begin{aligned} (\nabla v_1)' g_1 &= x_1' \left(\frac{1}{2} x_{11} x_{22} \right) \\ &\leq \frac{1}{2} x_{11} x_{22} \\ &\leq \frac{1}{2} \|x_1\|^2 \|x_2\|^2 \end{aligned}$$

consequently,

$$\dot{V} \leq Aw \quad \text{where } V = (v_1, v_2), w = (\phi_1, \phi_2)$$

then the corresponding matrix A (according to (4.5)) becomes

$$A = \begin{pmatrix} -1 + \frac{1}{2} & \frac{1}{2} \\ 0 & -1 \end{pmatrix}$$

$$A = \begin{pmatrix} -\frac{1}{2} & \frac{1}{2} \\ 0 & -1 \end{pmatrix}$$

therefore the symmetric matrix Λ (according to (4.7)) is

$$\bar{A} = \begin{pmatrix} -\frac{1}{2} & \frac{1}{2} \\ \frac{1}{2} & -1 \end{pmatrix}$$

and

$$\left| \bar{\Lambda}_1 \right| = \frac{-1}{2} < 0, \text{ and } \left| \bar{\Lambda} \right| = \frac{1}{2} - \frac{1}{4} = \frac{1}{4} > 0$$

That means condition A_3 of proposition (1) is satisfied, consequently, given interconnected system is stable.

From the other hand and for comparison with some of previous studies, one can take the following cases:

- 1) Λ is **Metzler** and stable according to definition (7) and theorem (6), respectively.
- 2) Λ is not **M-Matrix** because the off-diagonal entries are positive according to definition (6).
- 3) Λ is **negative definite** and stable according to definition (2).

Example (3)

Consider the following composite system

$$\dot{x}_1 = x_1 - \frac{1}{2} x_{11} x_{22}^2$$

$$\dot{x}_2 = x_2 - \frac{1}{4} x_{11}^2 x_{21}$$

where $x_1 = (x_{11}, x_{12})$; $x_2 = (x_{21}, x_{22})$, and the two free subsystem are $\dot{x}_i = x_i$, $i = 1, 2, \dots$

one can choose the positive definite function

$$v_i = \frac{1}{2} \|x_i\|^2 \text{ for each free subsystem, } i = 1, 2, \dots$$

therefore we have

$$\nabla v_i = x_i$$

with no interaction, we have

$$(\nabla v_i)' f_i = x_i'(x_i) = \|x_i\|^2 \quad i = 1, 2, \dots$$

therefore we choose $\phi_i = \|x_i\|^2$, $i=1, 2, \dots$
 with interaction, we have

$$\begin{aligned} (\nabla u_1)' g_1 &= x_1' \left[\frac{-1}{2} x_{11} x_{22}^2, 0 \right]' \\ &= \frac{-1}{2} x_{11}^2 - x_{21}^2 \\ &\geq \frac{-1}{2} \|x_1\|^2 \|x_2\|^2 \end{aligned}$$

when we put $\|x\|^2 \leq 1$ then

$$(\nabla u_1)' g_1 \geq -\frac{1}{2} \|x_1\|^2 - \frac{1}{2} \|x_2\|^2$$

and

$$\begin{aligned} (\nabla u_2)' g_2 &= x_2' \left[-\frac{1}{4} x_{11}^2 - x_{21}, 0 \right]' \\ &= -\frac{1}{4} x_{11}^2 - x_{21}^2 \\ &\geq -\frac{1}{4} \|x_1\|^2 \|x_2\|^2 \\ &\geq -\frac{1}{4} \|x_1\|^2 - \frac{1}{4} \|x_2\|^2 \end{aligned}$$

consequently, and according to (4.5.b) , the corresponding test matrix is

$$A = \begin{pmatrix} 1 & \frac{1}{2} & \frac{1}{4} \\ \frac{1}{2} & 1 & \frac{1}{4} \\ \frac{1}{4} & \frac{1}{4} & 1 \end{pmatrix}$$

Following (4.7.b) , the symmetric test matrix is

$$\bar{A} = \begin{pmatrix} \frac{1}{2} & -\frac{1}{2} \\ \frac{1}{2} & \frac{3}{4} \\ -\frac{1}{2} & \frac{1}{4} \end{pmatrix}$$

Where

$$|\bar{\Lambda}_1| = \frac{1}{2} > 0, \text{ and } |\bar{\Lambda}| = \frac{3}{8} - \frac{1}{4} - \frac{1}{8} = 0$$

That means condition (1) of proposition (2) is satisfied, consequently, given interconnected system is unstable.

Conclusion

When stability of given interconnected system to be studied, then it related to constant test matrix. So, the qualitative behavior of given system is submitted to properties of test matrix, which may be has the form of definiteness, M-matrix or Metzler. In this paper, and for flexibility, the related test matrix was introduced and tacked as a symmetric matrix in regarded on the inequality and the comparison properties. Many examples are presented for the new results and for the comparison with some previous studies.

REFERENCES

1. Wu C.C., Ling C.L., Tech L.L. and Ken Y., "Robustness Design of Fuzzy Controllers for Nonlinear Interconnected TMD Systems With External Forces", Structural Control - I June 3 (2002).
2. Kishino Y., "The Incremental Nonlinearity Observed In Numerical Tests of Granular Media", Structural Control - I, June 3 (2002).
3. Bridge J., "Dynamic of A Stretched String With A Moving End", Structural Control - I, June 3 (2002).
4. Michel A.N., "On the Status of Stability of Interconnected Systems", IEEE Transaction Circuits Systems, Vol. cas-30, No. 6, pp. 326 (1983).
5. Kaddoura L.H., "A Procedure for Constructing Lyapunov Functions to Study Dynamic Systems", M. Sc. Thesis, University of Baghdad, Iraq (1986).
6. Grujic I.L. and Siljak B.D., "Asymptotic Stability and Instability of Large-Scale System", IEEE Transaction Automatic Control, Vol. AC-18, pp. 636 (1973).
7. Araki A. and Kondo B., "Stability and Transaction Behavior of Composite System", IEEE Transaction Automatic Control, Vol. AC-17, pp. 537 (1972).
8. Rizaq A.M.H., "A Procedure for Studying Stability of Autonomous LIDS Using Directness and Reduction of Definite Matrices", J. Al-Qadisiyya University, Pure sc. Vol. 6, No.2, pp.27-30 (2001).
9. Rizaq A.M.H., "On Stability of Composite System Using Two Definite Matrices", 8th Conference of Tech. Edu. Commission, March, pp.81-91 (2002).
10. Son Y.L., Shim H., Jo N.H. and Seo J.H., "Further Results on Pacification of Non-square Linear Systems Using Input-dimension Compensator", IEEE Trans. Fundamentals, Vol.E86-A, NO.8, PP.2139-2143, Aug. (2003).
11. Deo S.G., "Ordinary Differential Equations and Stability Theory", Tata, Mc Graw-Hill (1980).
12. Araki, A., "Stability of Large Scale Nonlinear Systems Quadratic-Order Theory of Composite System, Methods Using M-Matrix", IEEE Transaction Automatic Control, Vol. AC, 23, pp. 129 (1978).
13. Kolman B., "Introductory Linear Algebra with Applications", Mac Millan Publishing Company, New York (1984).
14. Barnett S. and Storey C., "Matrix Methods in Stability Theory", Nelson (1970).

Solvable Case of a Two Machine Flow Shop Scheduling Problem With No-Idle in Process

T.S. Abdul-Razaq

Mathematics Department, College of Science, AL-Mustansiriyah University

ABSTRACT

In this paper, the two machine flow shop due date assignment and scheduling problems with no-idle in process are considered. For these problems, the due dates are to be obtained from the processing times by adding a positive slack Q . A schedule on the two machines is feasible if no-idle time on the machines and there are no tardy jobs. For the due date assignment problem (DDAP), we are looking for Q which minimize a non-decreasing function $H(G, Q)$, where G is the objective of the corresponding flow shop scheduling problem (FSSP). In order to be able to solve (DDAP) we must know how to solve the corresponding (FSSP). In case of arbitrary due date the total earliness (FSSP) is shown to be NP-hard. If no-idle scheduling and SLK due dates constraints are used, then both (DDAP) and (FSSP) are proved solvable provided that G is the total earliness. For these problems, we design fast algorithms for their solutions.

الخلاصة

في هذا البحث نتناولنا مسألة تعيين الوقت المثالي والجدولة بدون توقف على ماكنتين بورشة انسيابية. بالنسبة لهاتين المسألتين فان الوقت المثالي يستخرج بإضافة معلمة موجبة Q . إن الجدولة على ماكنتين تدعى مقبولة إذا لم يكن هناك توقف ولا توجد نتائج متأخرة. بالنسبة لمسألة تعيين الوقت المثالي (DDAP) قمنا بالبحث عن Q التي تعطي اقل قيمة ممكنة للدالة غير المتناقصة $H(G, Q)$ حيث أن G هو هدف مسألة الجدولة المقابلة (FSSP). وفي حالة كون الوقت المثالي اختياريا فان (FSSP) بالتبكير الكلي تصبح من النوع الصعب

(NP-Hard). أما في حالة استخدام الجدولة بلا توقف، وجود شروط للوقت المثالي للمعلمة فإن كلا من (DDAP) و (FSSP) يرهت على أنها قابلة للحل بشرط أن يكون (i) هو التبكير الكلي. ولهاتين المسألتين صممتا خوارزميات سريعة للحل.

INTRODUCTION

In the problem under consideration, the objective is to find optimal values of due dates and related optimal schedule so that to minimize the total earliness. In production planning we look for the values of realistic due dates by which the product should be made or delivered to the customer. The due date assignment models where due dates depend on the jobs processing times are considered.

The just in time (JIT) concept in industry according to which jobs are to be completed neither too early nor too late, gave rise to scheduling research with non-regular measures of performance (1). The due dates are fixed, the higher are the chances that products will be made just in time, but the holding cost may also increase substantially (2).

In this paper we formulate mathematical models for the due date assignment and flow shop scheduling problems and propose algorithms that find optimal solutions under a certain assumption.

If the due dates are arbitrary, then the two machine flow shop scheduling problem (FSSP) is NP-hard since the corresponding problem for single machine is NP-hard (3). However, a local search algorithms and genetic algorithms can be used to find approximate solutions to such problems (4, 5, 6).

It should be noted that for a single machine, various objective functions of earliness or tardiness are among most popular, studied problems in scheduling see (7-14).

In this paper, to assign the due date a common slack is used which is added to the processing times of individual jobs on the second machine B. The SLK due date rule satisfying some conditions helps to make the assignment and the two machine flow shop problems solvable by fast and exact algorithms. In these problems, no tardy job is allowed. This kind of scheduling and due date assignment problems are found in situation where the tardiness cost is extremely high compared to earliness cost when tardy jobs are prohibited (13).

The reminder of the paper is organized as follows. In section (1) we describe the considered problems in details. In section (2) the problems formulation of (FSSP) and (DDAP) are given. Properties of feasible and

optimal schedules are given in section (3). In sections (4) and (5) we present general algorithms for the solutions of the due date assignment problem (DDAP), and the two machines flow shop scheduling problem (FSSP) respectively. The two machine flow shop with total earliness is given in section (6). Section (7) is the conclusion.

1. Problem Description

The two machine flow shop scheduling problem (FSSP) is considered. It may be stated as follows: each of n jobs (numbered $1, 2, \dots, n$) of a set N must be processed without interruption firstly on machine A and then on machine B. Job i ($i=1, \dots, n$) becomes available for processing at time zero and requires a positive processing time of a_i and b_i on machine A and B respectively. Each job i requires the due date d_i by which it is desirable to complete its processing on the second machine B. Given a schedule, let C_i^A and C_i^B be the completion times of job i on machine A and B respectively, then it is clear that job i is early if $C_i^B < d_i$, is tardy if $C_i^B > d_i$, is on time if $C_i^B = d_i$. The earliness of job i is $E_i = d_i - C_i^B$, while the tardiness of job i is $T_i = C_i^B - d_i$.

In this paper to assign the due dates a common slack Q is added to the processing times of individual jobs on the second machine B, i.e.,

$$d_i = b_i + Q \quad i = 1, \dots, n \quad \dots\dots\dots(1)$$

Where b_i is the processing time of job i on machine B. To solve the SLK due date assignment problem (DDAP), it is required to find the slack Q that minimize the non-decreasing function $H(G, Q)$ of its arguments, and G is a non-decreasing total earliness function of the correspond (FSSP). This (DDAP) and the corresponding two machine (FSSP) have not been considered by any researcher as much as we know.

The objective in the two machine (FSSP) is to find a feasible schedule on each machine that obeys the problem constraint, which minimize the total earliness for a given due dates with no tardy job and no-idle time. For the two machine (FSSP), it is well known (15), that is not necessary to consider schedules in which the processing orders on the two machines are not identical. Consequently, we shall restrict ourselves to permutation schedules, which have identical processing orders on the machines. The no-idle constraint means that machine A, B works continuously without idle intervals. This constraint arises in real life situations. Example of such schedule is under "no-idle constraint", use of very expensive equipment with the fee determined by the actual time consumption (16).

We look for the optimal value of Q over the set of schedules in which no jobs is tardy. Following standard notation for machine scheduling, we denote this (DDAP) by $F_2 \left| C_i^B \leq d_i, \text{No-idle} \right| H(G, Q)$. The associated two machine (FSSP) arises when Q is given a fixed value. Since H is a non-decreasing in the (FSSP), it is sufficient to minimize the function G and to denote this problem by $F_2 \left| C_i^B \leq d_i, \text{No-idle} \right| G$. In the (DDAP) above we look for the due dates so that no job is tardy. The earliness function is the holding cost function $G(E)$ represents the early completion of the jobs on machine B, hence the longer a product has to be stored, the larger associated holding cost should be, therefore G is non-decreasing function.

It should be noted that a strong NP-hardness for $F_2 \left| \sum_{i=1}^n C_i^B \right|$ problem established by Garey and Johnson (17). For n machine, we consider two ways of constructing a no-idle schedule. Both are used consecutively on the machines, starting with second machine, third, and so on until last machine (16).

(1) Right shifts, we shift to the right every operation that precedes an idle interval, until all idle intervals have been eliminated.

(2) Left shifts, at first we schedule the operations on M_k , $k \geq 2$ in a block without idle intervals, starting when the last job on M_{k-1} has been completed.

For the flow shop scheduling, it is defined in (16) a blocking job on M_k , $k \geq 2$ in no-idle schedule as the first job on M_k that prohibits shifting to the left.

In this paper, we consider the earliness function $G(E)$ which is important for inventory and scheduling, where $G(E) = \sum_{i=1}^n E_i$ the total

earliness, which is closely related to the so called priority generating function. It is well known in scheduling theory (18) that any priority = generating function can be minimized in $O(n \log n)$ time. As an example we use the priority = generating function for the two machine (FSSP)

$F_2 \left| \text{No-idle} \right| \sum_{i=1}^n C_i^B$ problem. For each $i \in N$, we are given the processing times a_i and b_i on machines A and B respectively, to minimize

total completion times on machine B, i.e. to minimize $\sum_{i=1}^n C_i^B$. Let $\sigma = (\sigma(1), \dots, \sigma(n))$ be a schedule, and let the blocking job is the last one, then the priority generating-function is given by

$$G(\sigma) = n \sum_{i=1}^n (a_i - b_i) + (n+1)b_{\sigma(n)} + \sum_{i=1}^{n-1} (n-i+1)b_{\sigma(i)} \quad \dots\dots\dots(2)$$

2. Problem Formulation

In this section, the mathematical model of the two machine (FSSP) with objective of minimizing the total earliness G is formulated. Let a_i, b_i denote the processing times on machine A, B, d_i due date, and C_i^A, C_i^B the completion times on machine A, B respectively for job i . The objective is to find a schedule σ of jobs that minimize $G(\sigma)$. The mathematical model of our (FSSP) can be stated as:

$$\begin{aligned} \text{Min} \{G(\sigma)\} &= \text{Min} \sum_{i=1}^n (d_i - C_i^B) \\ \text{s.t. } C_{\sigma(i)}^A &\geq a_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^A &= C_{\sigma(i-1)}^A + a_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 2, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B &\leq d_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B &\leq C_{\max}^B \quad , \quad i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B &\geq C_{\sigma(i)}^A + b_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 1, \dots, n \end{aligned} \quad \left. \vphantom{\begin{aligned} \text{Min} \{G(\sigma)\} &= \text{Min} \sum_{i=1}^n (d_i - C_i^B) \\ \text{s.t. } C_{\sigma(i)}^A &\geq a_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^A &= C_{\sigma(i-1)}^A + a_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 2, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B &\leq d_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B &\leq C_{\max}^B \quad , \quad i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B &\geq C_{\sigma(i)}^A + b_{\sigma(i)} \quad , \quad i = 1, \dots, n \end{aligned}} \right\} \text{(FSSP)}$$

Where $\sigma(i)$ denotes the position of job i in the ordering σ and S denotes the set of all sequences. It is well known (19) that C_{\max}^B is obtained by Johnson's algorithm for $F_2 \mid C_{\max}^B$ problem: the jobs for which $a_i < b_i$

are stored in non-decreasing order of a_i and sequenced first, followed by remaining jobs sorted in non-increasing order of b_i . Note that if we are able to solve the (FSSP) above, then we are able to solve the (DDAP) which can be stated as,

$$\left. \begin{array}{ll} \min_Q \{H(G, Q)\} \\ \text{s.t. } C_{\sigma(i)}^A \geq a_{\sigma(i)} & i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^A = C_{\sigma(i-1)}^A + a_{\sigma(i)} & i = 2, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B \leq d_{\sigma(i)} & i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B \leq C_{\max}^B & i = 1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)}^B \geq C_{\sigma(i)}^A + b_{\sigma(i)} & i = 1, \dots, n \end{array} \right\} \quad (\text{DDAP})$$

3. Properties of Feasible and Optimal Schedules

Suppose we have the two machine SLK (DDAP) $F_2 | C_i^B \leq d_i, \text{No-idle} | H(G, Q)$ and the corresponding two machine (FSSP) $F_2 | C_i^B \leq d_i, \text{No-idle} | G$ results when Q is given. We consider this two machine (FSSP) and show properties of feasible and optimal schedules. For the $F_2 | C_i^B \leq d_i, \text{No-idle} | G$ problem a schedule σ feasible if no job $j \in \sigma$ is tardy on the second machine B and no-idle times on the two machines.

If we have a schedule $\sigma = (\sigma(1), \dots, \sigma(n))$, then it is well known from the theory of flow shop that the corresponding C_{\max}^B for $F_2 | C_{\max}^B$ problem can be written for some $u \in N = \{1, \dots, n\}$

$$C_{\max}^B = \text{Max} \left\{ \sum_{i=1}^u a_{\sigma(i)} + \sum_{i=u}^n b_{\sigma(i)} \mid 1 \leq u \leq n \right\} \quad \dots\dots\dots(3)$$

Proposition (1): For the two machine (FSSP) $F_2 | C_j^B \leq d_j, No-idle | G$ problem a schedule, in which job J_ℓ is scheduled last, is feasible if and only if

$$d_\ell \geq C_{\max}^B \quad \dots\dots\dots(4)$$

Proof: Suppose we have a feasible schedule σ , hence in this schedule each job j is completed on machine B at $C_j^B \leq d_j$ and there are no-idle times on the machines. Then σ has the form (σ_1, J_ℓ) , where J_ℓ is the last job under σ , and σ_1 is a subsequence of the other $(n-1)$ jobs. To show that the job is processed last in σ must be completed on machine B no earlier than C_{\max}^B , suppose that inequality (4) does not hold for all the jobs j to be sequenced last, then job J_ℓ , assigned last, is completed on machine B at C_ℓ^B , where

$$C_\ell^B = \text{Max}\{C_\ell^A, C_{\ell-1}^B\} + b_\ell \quad \dots\dots\dots(5)$$

Hence job J_ℓ is tardy which is contradiction.

Now suppose that job J_ℓ satisfies the inequality (4) and σ has the form (σ_1, J_ℓ) . Sequence job J_ℓ last so that it is completed on the second machine B at time d_ℓ . Order the $(n-1)$ jobs of σ_1 so that the processing order on the two machines A and B is identical and such the sequence is feasible with respect to the given order. Schedule these jobs $N - \{J_\ell\}$ such that they completed on machine B in the time interval $[ST, Q]$, where

$$ST = \sum_{i=1}^k a_{(i)} - \sum_{i=1}^{k-1} b_{(i)} \quad \dots\dots\dots(6)$$

The blocking job is $J_{(k)}$ and these $(n-1)$ jobs must follow the chosen sequence. Hence these $(n-1)$ jobs are processed on the machines A and B respectively one after other without idle time and the last job in the sequence completes on machine B at the time job J_ℓ starts on machine B, i.e., at time $Q = C_{\max}^B - b_\ell = d_\ell - b_\ell$. This is done by considering the two ways of constructing a no-idle schedule. Therefore the last job of the $(n-1)$ jobs is completed on machine B at time Q , hence each job $j \neq \ell$ is completed on the second machine B by time $t = C_j^B \leq Q \leq b_j + Q = d_j, b_j > 0$, this means that each job j is early and

there are no-idle times. Hence the obtained schedule σ with its new form (σ_1, J_i) is feasible. \square

It is now relatively simple matter to deduce from the proof of proposition (1) the following remark.

Remark (1): For the (FSSP) $F_2[C_i^B \leq d_i, No-idle|G$ there exists a feasible schedule $\sigma = (\sigma_1, J_i)$ with $C_i^B \leq d_i$ for each job $j \in \sigma_1$, such that a job J_i with $C_{\max}^B \leq d_i$ is scheduled last, and finishes on the second machine B on time C_{\max}^B . While the $N - \{J_i\}$ jobs are scheduled, so that the processing order on the two machines A and B are identical and scheduled on machine B without idle in the time interval $[ST, Q]$.

The significance of remark (1) is that:

(1) In $F_2[C_i^B \leq d_i, No-idle|G$ problem with G regular we need only consider permutation schedules, i.e., find a permutation of the jobs J_1, J_2, \dots, J_n such that, when they are sequenced in that order, the value of G is minimized.

(2) The set of those schedules which are obtained in remark (1) contains an optimal schedule for $F_2[C_i^B \leq d_i, No-idle|G$ problem since G is regular function.

4. Algorithm for the Due date Assignment problem

We are now in position to begin solving the two machine flow shop SLK (DDAP) $F_2[C_i^B \leq d_i, No-idle|H(G, Q)$ and present a general algorithm for its solution. It is required to determine an optimal value of Q that minimize $H(G, Q)$ and the corresponding optimal schedule for the two machine (FSSP) $F_2[C_i^B \leq d_i, No-idle|G$ for the later (FSSP), if the value of Q is given, we shall assume $G(\sigma)$ be the value of G for a feasible schedule σ and $G(\sigma^*(Q)) = F^*(Q)$ denotes the minimum value of G when $\sigma^*(Q)$ be an optimal schedule and $N(Q) = \{j | j \text{ satisfies the conditions of proposition (1)}\}$, i.e., the set of jobs to be scheduled last.

Let $\{\Phi\} \neq N(Q^1) \neq N(Q^2), 1 \leq i < j \leq n$, and let $Q^{(1)} < Q^{(2)} < \dots < Q^{(k)}$, these values of Q are the breakpoints of the

function $H(G, Q)$. Our aim is to find the value of $Q^{(r)}$ and the corresponding optimal schedule $\sigma(Q^{(r)})$ for the function G that gives an optimal value of $H(G, Q)$. Hence to solve the (DDAP), it is sufficient to test the function $H(G, Q)$ only for these breakpoints $Q^{(r)}$, $r=1, 2, \dots, k$.

Proposition (2): If there exists a $Q^{(r)}$ and the corresponding optimal schedule $\sigma^*(Q^{(r)})$ for the (FSSP) that minimize G , then $H^*(G, Q^{(r)})$ is the optimal value for the (DDAP) $F_2 | C_j^B \leq d_j, No-idle | H(G, Q)$.

Proof: To minimize the non-decreasing function $H(G, Q)$ for $Q \in [Q^{(r)}, Q^{(r+1)}]$, $r = 1, \dots, k-1$, we need to compare the values $H(V^*(Q^{(r)}), Q^{(r)})$ and $H(V^*(Q^{(r+1)}), Q^{(r+1)})$ and to choose the smallest.

To find the optimal due data assignment, we need to compare the values of the function $H(G, Q)$ in all breakpoints Q and taking

$$H^*(G, Q^{(r)}) = \min \{ H(G, Q) \}, Q \in [Q^{(r)}, Q^{(r+1)}]$$

We consider the corresponding closely related two machine (FSSP) $F_2 | C_j^B \leq d_j, No-idle | G$. Let Q be a value of Q such that $Q^{(r)} < Q < Q^{(r+1)}$ for some r , $1 \leq r \leq k$ and let $Q^{(k+1)}$ is infinity. Now for (FSSP) with Q and $Q^{(r)}$ find optimal schedules $\sigma^*(Q)$ and $\sigma^*(Q^{(r)})$ respectively. The sets of jobs to be sequenced last are the same for $Q^{(r)}$ and Q , i.e., $N(Q^{(r)}) = N(Q)$. Let $\bar{\sigma}(Q^{(r)})$ be another feasible schedule for (FSSP) with $Q^{(r)}$.

$$\text{Hence } H(V^*(Q^{(r)}), Q^{(r)}) \leq H(G(\bar{\sigma}(Q^{(r)})), Q^{(r)})$$

Since our function $G = \sum_{i=1}^n E_i$, where $E_i = d_i - C_i^B$ the earliness

value of job $i \in N$, both schedules $\sigma^*(Q)$ and $\sigma(Q^{(r)})$ are corresponding equal, since both of them are feasible and the jobs are processed in the same order on the two machines. The earliness E_i of job $i \in \bar{\sigma}(Q^{(r)})$ is

$E_i = (d_i - \Delta) - (C_i^B - \Delta) = d_i - C_i^B, (\Delta = Q - Q^{(r)})$ which is the earliness of job $i \in \sigma^*(Q)$. Hence $V(Q) = G(\bar{\sigma}(Q^{(r)})) = G(\sigma^*(Q))$.

It is clear that $Q^{(r)} \leq Q$ leads to

$$H(V^*(Q^{(r)}), Q^{(r)}) \leq H(G(\bar{\sigma}(Q^{(r)})), Q^{(r)}) \leq H(V(\bar{Q}), \bar{Q}) \dots \dots \dots (7)$$

Hence we prove that (7) is true for all Q in the interval $[Q^{(r)}, Q^{(r+1)}], 1 \leq r \leq k-1, [1]$

Now to construct the algorithm to obtain the optimal value Q^* and the corresponding schedule $\bar{\sigma}$ that define an optimal value $H^*(G, Q)$. It can be described by the following:

Algorithm (A): Optimal Due Date Assignment

Step (1): Using Johnson's rule for partition N into the two subsets:

$$N^a = \{j \in N \mid a_j \leq b_j\}, N^b = \{j \in N \mid a_j > b_j\},$$

Step (2): For a schedule σ in which all jobs in N^a are precede each of those in N^b , the jobs in N^a are sequenced in non-decreasing order of a_j , while the jobs in N^b are sequenced in non-increasing order of b_j .

Step (3): Let $\sigma = (1, 2, \dots, n)$ be the sequence obtained by Johnson's rule and the minimum C_{\max}^B is given by

$$C_{\max}^B = \text{Max}\{C_{n-1}^A, C_n^A\} + b_n \text{ where } C_{n-1}^A \text{ is the completion time of job } (n-1) \text{ on machine A, } C_n^A \text{ is the completion of job } n \text{ on machine A and } b_n \text{ is the processing time of job } n \text{ on machine B.}$$

Step (4): Renumber the first ℓ jobs $1, 2, \dots, \ell$ where $\ell \leq n$ according to remark (1) to be sequenced last. Sequence $b^{(1)}, b^{(2)}, \dots, b^{(k)}, k \leq n$, which consist of all distinct values of processing times b_j on the second machine B. ($j = 1, 2, \dots, \ell + 1$) in decreasing order and then compute

$$Q^{(r)} = C_{\max}^B - b^{(r)}, r = 1, \dots, k$$

Step (5): For the jobs to be scheduled last, find the set $N(Q^{(1)})$ of jobs J_1, J_2, \dots, J_ℓ for which $b_j = b^{(1)}$. Find the solution of (PSSP) $F_2 \mid C_j^B \leq d_j, \text{ No idle} \mid G$ with $Q^{(1)}$ and the value of $V^*(Q^{(1)})$ and the

corresponding optimal schedule $\sigma^{(1)}$. Then find $H^* = H^*(V^*(Q^{(1)}), Q^{(1)})$ and set $Q^* = Q^{(1)}, \sigma^* = \sigma^{(1)}$ and $r=2$.

Step (6): Now repeat the previous step (4) again, that is find the set M of jobs consisting of all jobs $1, 2, \dots, \ell$ for which $b_i = b^{(r)}$. Let

$N(Q^{(r)}) = N(Q^{(r-1)}) \cup M$ and solve the $F_2 | C_i^B \leq d_i, No-idle | G$

problem with $Q^{(r)}$ and with jobs of M to be sequenced last. Find the smallest value $V^{(r)}$ of G and the corresponding schedule $\sigma^{(r)}$ of jobs.

If $V^*(Q^{(r-1)}) > V^{(r)}$ then set $V^*(Q^{(r)}) = V^{(r)}$, otherwise $V^*(Q^{(r)}) = V(Q^{(r-1)})$.

If $H^* > H(V^*(Q^{(r)}), Q^{(r)})$ then set $H^* = H(V^*(Q^{(r)}), Q^{(r)})$, $\sigma^* = \sigma^{(r)}$ and $Q^* = Q^{(r)}$. Set $r = r + 1$ and repeat step (6) if $r \leq k$, otherwise go to step (7).

Step (7): Stop with value Q^* of the parameter Q and the corresponding schedule σ^* that gives an optimal value

5. Algorithm for the Two Machine Flow Shop Scheduling Problem

Now we consider the two machine (FSSP)

$F_2 | C_i^B \leq d_i, No-idle | \sum_{i=1}^n E_i$ to minimize the total earliness $(\sum_{i=1}^n E_i)$, and

present a general procedure for its solution. Suppose $\sigma = (\sigma(1), \dots, \sigma(n))$ be a feasible schedule for this problem, job $J_{\sigma(n)}$ is completed on machine B at time $C_{\max}^B = d_{\sigma(n)}$ while the other $(n-1)$ jobs are processed in the order $(\sigma(1), \dots, \sigma(n-1))$ on the machines A and B respectively without intermediate idle time starting at machine B at time ST defined by Eq.(6). From the theory of flow shop scheduling we have:

$$C_{\sigma(i)}^B = d_{\sigma(n)} - C_{\max}^B + \text{Max}\{C_{\sigma(i)}^A, C_{\sigma(i-1)}^B\} + b_{\sigma(i)} \quad \dots\dots(8)$$

Hence the total earliness of the two machine flow shop can be written as:

$$G(\sigma) = \sum_{i=1}^n E_{\sigma(i)} = \sum_{i=1}^n (d_{\sigma(i)} - C_{\sigma(i)}^B)$$

$$\begin{aligned}
&= \sum_{i=1}^n (b_{\sigma(i)} + Q) - \sum_{i=1}^n C_{\sigma(i)}^{LB} \\
&= \sum_{i=1}^n (b_{\sigma(i)} + Q) - \sum_{i=1}^n d_{\sigma(i)} + nC_{\max}^B - \sum_{i=1}^n [\text{Max}\{C_{\sigma(i)}^A, C_{\sigma(i-1)}^B\} + b_{\sigma(i)}] \\
&= \sum_{i=1}^n (b_{\sigma(i)} + Q) - \sum_{i=1}^n (b_{\sigma(i)} + Q) + nC_{\max}^B - \sum_{i=1}^n [\text{Max}\{C_{\sigma(i)}^A, C_{\sigma(i-1)}^B\} + b_{\sigma(i)}] \\
&= \sum_{i=1}^n b_{\sigma(i)} - nb_{\sigma(n)} + nC_{\max}^B - \sum_{i=1}^n [\text{Max}\{C_{\sigma(i)}^A, C_{\sigma(i-1)}^B\} + b_{\sigma(i)}] - C_{\max}^B \\
&= \sum_{i=1}^n b_{\sigma(i)} - nb_{\sigma(n)} - nC_{\max}^B (1 - n) - \sum_{i=1}^{n-1} [\text{Max}\{C_{\sigma(i)}^A, C_{\sigma(i+1)}^B\} + b_{\sigma(i)}]
\end{aligned}$$

$$\text{Let } \alpha = \sum_{i=1}^n b_{\sigma(i)}, \beta_{\sigma(n)} = nb_{\sigma(n)} + C_{\max}^B (n-1)$$

$$\gamma(\sigma, n-1) = \sum_{i=1}^{n-1} [\text{Max}\{C_{\sigma(i)}^A, C_{\sigma(i+1)}^B\} + b_{\sigma(i)}] = \sum_{i=1}^{n-1} C_{\sigma(i)}^B$$

Hence:

$$G(\sigma) = \alpha - \beta_{\sigma(n)} - \gamma(\sigma, n-1) \quad \dots\dots\dots(9)$$

It is clear from Eq.(9) that the objective function $G(\sigma)$ for the two machine (FSSP) $P_2 \mid C^B \leq d, No-idle \mid \sum_{i=1}^n L_i$ does not depend on the original due dates and does not contain the parameter Q .

The function $\gamma(\sigma, n-1)$ in Eq.(9) is in fact the objective function of (FSSP) $P_2 \mid No-idle \mid \sum_{i=1}^n C_{\sigma(i)}^B$ with the set of jobs $N = \{J_{\sigma(i)}\}$.

Using remark (1) and Eq.(9), we get the following result describing the structure of an optimal schedule for (FSSP)

$$F_2 \left| C_i^B \leq d_i, No-idle \right| \sum_{i=1}^n E_i$$

Proposition (3): For the two machine (FSSP)

$$F_2 \left| C_i^B \leq d_i, No-idle \right| \sum_{i=1}^n E_i \text{ there exists an optimal schedule such that a}$$

certain job J_i that satisfies the conditions of proposition (1) is sequenced last, while the other (n-1) jobs are sequenced to solve the two machine

$$(FSSP) F_2 \left| No-idle \right| \sum_{i=1}^n C_i^B \text{ with set of jobs } N - \{J_i\}.$$

Proposition (3) suggests an algorithm for finding an optimal schedule for the two machine (FSSP) $F_2 \left| C_i^B \leq d_i, No-idle \right| \sum_{i=1}^n E_i$ which is stated formally below.

Algorithm (B): Optimal schedule for $F_2 \left| C_i^B, No-idle \right| \sum_{i=1}^n E_i$ problem.

Step (1): Sequence J_i last according to proposition (1). Yields the subproblem P_i which is the $F_2 \left| No-idle \right| \sum_{i=1}^n C_i^B$ problem with the set of jobs $N - \{J_i\}$. Now find the schedule $S_i = (\sigma_i, \ell)$ where σ_i is optimal sequence for the subproblem P_i .

Step (2): From the set of the schedules S_i , find the schedule S^* such that $G(S^*) = \min_i \{G(S_i)\}$

Step (3): Stop

It is clear from algorithm (B) that we can solve the $F_2 \left| No-idle \right| \sum_{i=1}^n C_i^B$ problem instead of solving the original $F_2 \left| C_i^B \leq d_i, No-idle \right| \sum_{i=1}^n E_i$ problem to minimize the total earliness for the two machine (FSSP).

To solve the $F_2|No-idle|\sum_{i=1}^n C_i^B$ problem. A blocking job on machine $M_k, k \geq 2$ is defined in (16) in a no-idle schedule as the first job on M_k that prohibits shifting to the left

6. Two Machine Flow Shop with Total Earliness

Now we consider the properties of the optimal schedule for $F_2|No-idle|\sum_{i=1}^n C_i^B$ problem. As proved in (15), fundamental theorem for flow shop scheduling state that an optimal schedule exists for $F_m|1/\gamma$ problem (γ any regular measure of performance) with the same processing order on the first two machines and the same processing order on the last two machines, holds for the case under discussion ($m = 2$). Hence in order to

solve the original two machine (FSSP) $F_2|C_i^B \leq d_i, No-idle|\sum_{i=1}^n E_i$ we

have to be able to solve the two machine (FSSP) $F_2|No-idle|\sum_{i=1}^n C_i^B$.

The following results establish the solution for the latter problem.

Theorem (1): (16) If in the optimal schedule for $F_2|No-idle|\sum_{i=1}^n C_i^B$ problem, the blocking job, is the last one, then the optimal schedule is according to SPT (Shortest Processing Time) on machine B, except for the blocking job that is the one with minimum processing time on B.

Theorem (2): (16) The jobs that (i) precede (ii) succeeded the blocking job in the optimal schedule for $F_2|No-idle|\sum_{i=1}^n C_i^B$ problem are ordered according to SPT on B provided the no-idle constraint is not violated.

Note that Theorem (1) is equivalent to the following result.

Theorem (3): (16) The optimal schedule for $F_2|No-idle|\sum_{i=1}^n C_i^B$ problem where $Min\{a_i\} \geq Max\{b_i\}$ is according to SPT on machine B except for the last job that is the one with minimum processing time on B. We use the above results (Theorems (1), (2) and (3)) to facilitate the solution procedure for the $F_2|C_i^B \leq d_i, No-idle|\sum_{i=1}^n E_i$ problem. We use them to indicate how to solve the sub problems P_i in step (1) of algorithm (B).

As we mention before that in order to be able to solve a due date assignment (DDAP) $F_2|C_i^B \leq d_i, No-idle|H(G, Q)$, we must know how to solve the corresponding two machine (FSSP) $F_2|C_i^B \leq d_i, No-idle|\sum_{i=1}^n E_i$.

Now we consider this (FSSP) with object to minimize the total earliness ($\sum_{i=1}^n E_i$) in which the jobs are independent. This two machine (FSSP) has not been considered by any researcher as much as we know.

For the flow shop scheduling, the sub problem P_i to be solved in step (1) of algorithm (B) is the flow shop $F_2|No-idle|\sum_{i=1}^n C_i^B$ problem with $N - \{J_i\}$ jobs, where job J_i satisfies Eq.(4). It should be noted that no need to solve each sub problem P_i , since all the required permutation σ_i can be obtained from one of the theorems (Theorem (1), Theorem (2), Theorem (3)) by a permutation according to SPT rule on the second machine B.

Let $P = (p(1), p(2), \dots, p(n))$ be a permutation that minimize $\sum_{i=1}^n C_i^B$ on the second machine B, where P can be found in $O(n \log n)$ time in SPT rule, i.e. by ordering the jobs in non-decreasing order of b_i , where b_i is the processing time of job i on the second machine B. The jobs are independent and ordered in SPT rule, hence σ_i that used to solve the sub

problem P_ℓ can be obtained from P by removing the index corresponding to job J_ℓ this means that if $\ell = p(k)$, then

$$\sigma_\ell = (p(1), p(2), \dots, p(k-1), p(k+1), \dots, p(n))$$

where σ_ℓ can be used in step (1) of algorithm (B).

7. CONCLUSION

This paper address the two machine flow shop scheduling and SLK due date assignment problems, where the objective is to minimize the total earliness subject to no tardy jobs and no-idle time.

In this paper we present polynomial time algorithms for solving a SLK due date assignment and the flow shop scheduling problems with objective to minimize the total earliness. These problems arise in production planning which is widely applied by many manufacturing companies and we design fast algorithms for their solutions. The total earliness object, which is closely, related to the priority generating function increase the existence of these algorithms.

REFERENCES

1. Gordon V., Proth J.M. and Chu C., "Scheduling Problems with Due Date Assignment", Internet, gordon@bas-net.by.
2. Qi X., Ya G. and Brad J.F., "Single Machine Scheduling with Assignable Due Date", *Discrete Applied Mathematics*, 122, 211-233 (2002).
3. Chand S. and Schneeberger H., "Single Machine Scheduling to Minimize Weighted Earliness Subject to no Tardy Jobs", *European Journal of Operation research* 34, 221-230 (1988).
4. Abdul-Razaq T.S. and Mohammed H.A., "Genetic and Local Search Algorithms as Robust and Simple Optimization Tools", To appear in AL-Mustansiriya J. of Science.
5. Crauwels H.A.J., Potts C.N. and Van Wassenhove L. N., "Local Search Heuristics for Single Machine Scheduling with Batch Set-up Times to Minimize Total Weighted Completion Time", *Annals of Operations Research*, 70, 261-279 (1997).
6. Valente J.M.S. and Alves R.A.F., "Improved Heuristic for the Early/tardy Scheduling Problem with no Idle Time", *Computer and Operations Research*, 32, 557-569 (2005).
7. Feldmann M. and Biskup B., "Single Machine Scheduling for Minimizing Earliness and Tardiness Penalties by Meta-Heuristic Approaches", *Computer and Industrial Engineering*, 44, 307-323 (2002).
8. Oguz C. and Dincer C., "Single Machine Earliness-Tardiness Scheduling Problems Using the Equal Slack Rule", *Opl. Res. Soc.*, 45(5), 589-594 (1994).
9. Baker K.R. and Scudder G.D, "Sequencing with Earliness and Tardiness Penalties: A Review", *Operations Research*, 38(1), 22-36 (1990).
10. Abdul-Razaq T.S. and Potts C.N., "Dynamic Programming State Space Relaxation for Single Machine Scheduling", *Journal of the Operational Research Society*, 39, 141-152 (1988).
11. Gordon V.S. and Strusevich, "Earliness Penalties on A Single Machine Subject to Precedence Constraints", *Computer and Operations Research*, 26, 157-177 (1999).
12. Hino C.M., Ronconi D.P. and Mendes A.B., "Minimizing Earliness and Tardiness Penalties in A Single-Machine Problem with A Common Due Date", *European Journal of Operational Research*, 166, 190-201 (2005).

13. Pathumnkul S. and Egbelu, "Algorithm for Minimizing Weighted Earliness Penalty in Single-Machine Problem", *European Journal of Operational Research*, 161, 780-796 (2005).
14. Abdul-Razaq T.S., Potts C.N. and Van Wassenhove L.N., "A Survey of Algorithms for the Single Machine Total Weighted Tardiness Scheduling Problem", *Discrete Applied Mathematics*, 26, 235-253 (1990).
15. Rinnooy van A.H.G., "Machine Scheduling Problems Classification, Complexity and Computations" Martinus Nijhoff, The Hague, Holland (1976).
16. Adri I. and Poloryles D., "Flow Shop/no-Idle or no-wait Scheduling to Minimize the Sum of Completion Times", *Naval Research Logistics Quarterly*, 29(3), 495-504 (1982).
17. Garey M.R. and Johnson D.S., "Computer and Intractability: A Guide to the Theory of NP-Completeness", Freeman, San Francisco (1979).
18. Monma C. and Sidney J., "Sequencing with Series Parallel Precedence Constraints", *Mathematics of Operations Research* 4, 215-234 (1979).
19. Johnson S.M., "Optimal Two and Three Stage Production Schedules with Set Up Times Included", *Naval Research Logistics Quarterly* 1, 61-68 (1954).

Analysis of the Generalized Repeated Measures Models

Sami D. Gabbara

Department of Mathematics, College of Science, AL- Mustansiriya University, Baghdad, Iraq

ABSTRACT

Arnold (1979) developed a general method to analyze a repeated measures model when the covariance matrix has certain pattern. In this paper a weaker assumption is used when the covariance matrix is arbitrary (i.e., unpatterned). Let $Y_k = (Y_{1k}, \dots, Y_{rk})'$ be the vector of observations on the k^{th} individual. It is assumed that the Y_k are independently normally distributed with mean μ_k and common arbitrary covariance matrix $\Sigma > 0$. We want to test hypotheses about μ_k . Two techniques are used, the first is based on the multivariate one sample model when each individual receives the same treatments and hence has the same mean vector. The second is based on the multivariate linear model when different individuals receive different treatments and hence have different mean vectors. For each technique a uniformly most powerful (UMP) invariant size α test is found.

Key words and phrases: Multivariate linear model, multivariate one sample model, repeated measures model.

الخلاصة

طور Arnold (1979) طريقة عامة لتحليل نموذج القياسات المكررة عندما تمتلك مصفوفة التباين المشترك بنية معينة. في هذه الدراسة نستخدم فرض اضعف عندما تكون مصفوفة التباين المشترك اعتباطية (أي لا تمتلك قالب معين). ليكن $Y_k = (Y_{1k}, \dots, Y_{rk})'$ يمثل متجه المشاهدات على الوحدة k . سنفترض بأن Y_k تكون مستقلة وتتوزع طبيعياً بمعدل μ_k ومصفوفة تباين مشترك Σ اعتباطية و $\Sigma > 0$. نرغب في اختبار فرضيات حول μ_k . لهذا

الغرض استخدم أسلوبان، الأول يعتمد على نموذج متعدد المتغيرات لعينة واحدة عندما تستلم كل وحدة نفس المعالجات وبالتالي يكون لها نفس متجه المعدل. الأسلوب الثاني يعتمد على نموذج متعدد المتغيرات الحظي عندما تستلم وحدات مختلفة معالجات مختلفة وبالتالي يكون لها متجهات معدل مختلفة. لكل أسلوب نجد اختبار الأكثر قوة المنتظم بحجم α غير متغير.

INTRODUCTION

We consider a design of experiments occurs in analysis of variance (ANOVA) in which each individual receives several treatments (or has several measurements, (e.g., height, weight, income, etc.)) and hence the observations cannot be assumed independent as they are assumed in the usual independent measures designs (1-4). Let $Y_k = (Y_{1k}, \dots, Y_{rk})'$ be the vector of observations on the k^{th} individual $k=1, 2, \dots, n$. It is assumed that the Y_k are independently normally distributed with mean μ_k and common arbitrary covariance matrix $\Sigma \geq 0$. Arnold (1979) (5), developed a general method to analyze a repeated measures model (RMM) when the covariance matrix Σ has the pattern

$$\Sigma = \sigma^2 A(\rho) = \sigma^2 \begin{bmatrix} 1 & \rho & \dots & \rho \\ \rho & 1 & \dots & \rho \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \rho & \rho & \dots & 1 \end{bmatrix}, \quad \sigma^2 > 0, \quad -\frac{1}{r-1} < \rho < 1 \quad (1)$$

To find optimal (i.e., UMP invariant, UMP unbiased, etc.) procedures for testing a large class of hypotheses about the μ_k . For the main body of this paper, we replace the assumption in (1) with the weaker assumption that $\Sigma > 0$ is arbitrary (i.e., unpatterned). We are primarily concerned in testing hypotheses about μ_k . Two techniques are used to do the testing. The first is based on the multivariate one sample model (MOSM), for testing that $A\mu = b$, where A is an $s \times r$ matrix of rank s , when each individual receives the same treatments and hence has the same mean vector, i.e., $\mu_k = \mu$ for each k (6-9). The second is based on testing the generalized linear hypothesis that $\mu \Lambda \in W$, where Λ is a known matrix and W is a subspace of V in the multivariate linear model (MLM). This is used when different individuals receive different treatments and hence have different mean vectors. For each of the two techniques, we find the UMP invariant size α test (6-10).

We call the model considered in this work the generalized repeated measures model (GRMM).

1. Notations

In this section we define the notations used in this paper. Let V be a subspace of R^m , and let $y \in R^m$. Then $P_V y$ is the orthogonal projection of y on V , and V^\perp is the orthogonal complement of V . If W is a subspace of V , then $V|W = V \cap W^\perp$.

The following special matrices are used. I_n is the $n \times n$ identity matrix, J_n is the $n \times n$ matrix of 1's

$$M_n = (1/n)I_n I_n' = (1/n)J_n, \quad N_n = I_n - M_n \quad (2)$$

and I_n is the $n \times 1$ vector of 1's.

If A and $B = (b_{ij})$ are $m \times p$ and $n \times q$ matrices, then the Kronecker product of A and B , written as $A \otimes B$ is the $mn \times pq$ matrix $C = (C_{ij})$, where $C_{ij} = b_{ij}A$, $i=1, \dots, n$; $j=1, \dots, q$. (11.12). A' is the transpose of A and A^{-1} is the inverse of A when A is a nonsingular square matrix.

2. Testing hypothesis about μ

We now consider testing two different hypotheses about μ for the GRMM.

2.1 Testing that $A\mu=b$.

The first testing problem we consider is testing that $A\mu=b$, where A is $s \times r$ matrix of rank s . For this problem the (MOSM) technique is used in which we observe Y_1, \dots, Y_n independently distributed r -dimensional random vectors such that

$$Y_k \sim N_r(\mu, \Sigma), \quad -\infty < \mu < \infty, \quad \Sigma > 0 \quad (3)$$

The test for this problem is UMP invariant size α test for testing that $A\mu=b$ against μ unrestricted in the (MOSM) and is given in the following form

$$F_1 = \frac{(n-s)}{s(n-1)} (AY - b)'(AS A')^{-1} (AY - b) \\ \Phi_1(F_1) = \begin{cases} 1 & \text{if } F_1 > F_{s,n-s}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } F_1 \leq F_{s,n-s}^{\alpha} \end{cases} \quad (4)$$

where Y is $n \times r$ matrix whose rows are Y_k and

$$\bar{Y}' = \frac{1}{n} I_n' Y, \quad (n-1)S = Y'Y - n\left(\frac{1}{n} I_n' Y\right)\left(\frac{1}{n} I_n' Y\right) = Y'(I_n - \frac{1}{n} J_n)Y \quad (5)$$

This test is used when each individual receives the same treatments and hence has the same mean vector. Applications of this technique are shown below.

2.1.1 The 1-way ANOVA model

Consider a one-way ANOVA model with r treatment levels in which each of n individuals receives each treatment level. Let $Y_k = (Y_{1k}, \dots, Y_{rk})'$ be the vector of observations on the k^{th} individual $k = 1, \dots, n$. Then the model would be given by

$$Y_{ik} = \theta + \alpha_i + e_{ik}, \quad \sum_i \alpha_i = 0, \quad e_k = (e_{1k}, \dots, e_{rk})' \sim N_r(0, \Sigma), \quad \Sigma > 0 \quad (6)$$

and the e_k are independent. (Note that we have replaced the assumption of ex.1 of (5), i.e. $e_k \sim N_r(0, \Sigma)$, where $\Sigma = \sigma^2 \Lambda(\rho)$ and $\Lambda(\rho)$ has the pattern given in (1), with a weaker assumption that Σ is unpatterned.). We want to test that $\alpha_i = 0$. Let

$$\mu = E(Y_k) = (\theta + \alpha_1, \dots, \theta + \alpha_r)' = \theta 1_r + \alpha, \quad k = 1, \dots, n \quad (7)$$

where $\alpha = (\alpha_1, \dots, \alpha_r)' \perp 1_r$. Then $Y_k \sim N_r(\mu, \Sigma)$ independent. Let

$$A = (I_{r-1} : -1_{r-1}) \quad (8)$$

Then

$$A\mu = (I_{r-1} : -1_{r-1}) \mu = (\alpha_1 - \alpha_r, \alpha_2 - \alpha_r, \dots, \alpha_{r-1} - \alpha_r)'$$

Therefore, the $\alpha_i = 0$ if and only if $A\mu = 0$. Hence, according to (4), the UMP invariant size α test that the $\alpha_i = 0$ for the 1-way ANOVA model with unpatterned covariance matrix $\Sigma > 0$ and $n = n$, $s = r - 1$ and A as defined in (8) is

$$F_1 = \frac{n-r+1}{(r-1)(n-1)} (A\bar{Y})'(ASA')^{-1}(A\bar{Y})$$

$$\Phi(F_1) = \begin{cases} 1 & \text{if } F_1 > F_{r-1, n-r+1}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } F_1 \leq F_{r-1, n-r+1}^{\alpha} \end{cases} \quad (9)$$

We note that this test is different from the test that was derived for the 1-way ANOVA model (ex.1) of the RMM of (5). We also note that we need to assume that $n > r > 1$ to do the test in this work. Whereas, it is only necessary to assume that $n > 1$ to do the test suggested in (5).

2.1.2 The 2-way ANOVA model with interaction

As a second application of the first technique, we consider a 2-way ANOVA model with interaction with r rows and c columns in which each of n individuals receives every pair of treatments levels. Let

$Y_k = (Y_{11k}, \dots, Y_{r1k}, \dots, Y_{rck}, \dots, Y_{1ck})'$ be the vector of observations on the k^{th} individual, $k = 1, \dots, n$. Then the model is given by

$$Y_{ijk} = \theta + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + e_{ijk},$$

$$\sum_i \alpha_i = 0, \quad \sum_j \beta_j = 0, \quad \sum_i \gamma_{ij} = 0 = \sum_j \gamma_{ij}$$

$$e_k = (e_{11k}, \dots, e_{r1k}, \dots, e_{rc k})' \sim N_{rc}(0, \Sigma), \quad \Sigma > 0 \quad (10)$$

and the e_k are independent. Let

$$\mu = E(Y_k) = \begin{bmatrix} \mu_{11} \\ \vdots \\ \mu_{1c} \\ \vdots \\ \mu_{rc} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \theta + \alpha_1 + \beta_1 + \gamma_{11} \\ \vdots \\ \theta + \alpha_i + \beta_1 + \gamma_{i1} \\ \vdots \\ \theta + \alpha_r + \beta_c + \gamma_{rc} \end{bmatrix} = \theta 1_r + \alpha \otimes 1_c + 1_r \otimes \beta + \gamma \quad (11)$$

where $\alpha = (\alpha_1, \dots, \alpha_r)' \perp 1_r$, $\beta = (\beta_1, \dots, \beta_c)' \perp 1_c$, $\gamma = (\gamma_{11}, \dots, \gamma_{r1}, \dots, \gamma_{rc})' \perp$ every column of the matrix $1_r \otimes 1_c$ and every column of the matrix $1_r \otimes 1_c$.

(i) **Testing that $\alpha_i = 0$.** Let

$$A_1 = (I_{r-1} : -1_{r-1}) \otimes I'_c, \quad (12)$$

and using the orthogonality of γ with every column of the matrix $1_r \otimes 1_c$, then

$$A_1 \mu = [(I_{r-1} : -1_{r-1}) \otimes I'_c] \mu = (\alpha_1 - \alpha_r, \alpha_2 - \alpha_r, \dots, \alpha_{r-1} - \alpha_r)'$$

For illustration, take $r=3$ and $c=4$, then

$$\mu = \theta 1_3 \otimes 1_4 + \begin{pmatrix} \alpha_1 \\ \alpha_2 \\ \alpha_3 \end{pmatrix} \otimes 1_4 + 1_3 \otimes \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \beta_3 \\ \beta_4 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \gamma_{11} \\ \gamma_{21} \\ \gamma_{31} \\ \gamma_{12} \\ \vdots \\ \gamma_{34} \end{pmatrix} \quad (13)$$

Hence,

$$\begin{aligned} A_1 \mu &= [(I_2 : -1_2) \otimes I'_4] \mu = \left[\begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & -1 \end{pmatrix} \otimes (1 \ 1 \ 1 \ 1) \right] \mu \\ &= \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 & 1 & 0 & -1 & 1 & 0 & -1 & 1 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 1 & -1 & 0 & 1 & -1 & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} \alpha_1 - \alpha_3 + \gamma_{11} - \gamma_{31} + \gamma_{12} - \gamma_{32} + \gamma_{13} - \gamma_{33} + \gamma_{14} - \gamma_{34} \\ \alpha_2 - \alpha_3 + \gamma_{21} - \gamma_{31} + \gamma_{22} - \gamma_{32} + \gamma_{23} - \gamma_{33} + \gamma_{24} - \gamma_{34} \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} \alpha_1 - \alpha_3 + (\gamma_{11} + \gamma_{12} + \gamma_{13} + \gamma_{14}) - (\gamma_{31} + \gamma_{32} + \gamma_{33} + \gamma_{34}) \\ \alpha_2 - \alpha_3 + (\gamma_{21} + \gamma_{22} + \gamma_{23} + \gamma_{24}) - (\gamma_{31} + \gamma_{32} + \gamma_{33} + \gamma_{34}) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_1 - \alpha_3 \\ \alpha_2 - \alpha_3 \end{pmatrix} \end{aligned}$$

Therefore, the $\alpha_i = 0$ if and only if $A_1 \mu = 0$. Hence, according to (4) the UMP invariant size α test that the $\alpha_i = 0$ for the 2-way ANOVA model with unpatterned covariance matrix $\Sigma > 0$ and $n=n$, $s=r-1$ and A_1 as defined in (12) is

$$F_1 = \frac{(n-r+1)}{(r-1)(n-1)} (A_1 \bar{Y})' (A_1 S A_1')^{-1} (A_1 \bar{Y})$$

$$\Phi(F_1) = \begin{cases} 1 & \text{if } F_1 > F_{r-1, n-r+1}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } F_1 \leq F_{r-1, n-r+1}^{\alpha} \end{cases} \quad (14)$$

(ii) **Testing that $\beta_i = 0$.** In a similar way to (i) above with $A_2 = I_r' \otimes (I_{c-1} : -I_{c-1})$ the UMP invariant size α test that the $\beta_i = 0$ is

$$F_2 = \frac{n-c+1}{(c-1)(n-1)} (A_2 \bar{Y})' (A_2 S A_2')^{-1} (A_2 \bar{Y})$$

$$\Phi(F_2) = \begin{cases} 1 & \text{if } F_2 > F_{c-1, n-c+1}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } F_2 \leq F_{c-1, n-c+1}^{\alpha} \end{cases} \quad (15)$$

(iii) **Testing that $\gamma_{ij} = 0$.** We can do this test in two different ways

(a) Let A_{31} be $r(c-1) \times rc$ matrix such that

$$A_{31} = I_r \otimes (I_{c-1} : -I_{c-1}) \quad (16)$$

When $r=3$ and $c=4$, then

$$A_{31} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & -1 \end{bmatrix} \quad (17)$$

Hence, using (13) and (17), then

$$A_{31} \mu = (\gamma_{11} - \gamma_{14}, \gamma_{12} - \gamma_{14}, \gamma_{13} - \gamma_{14}, \gamma_{21} - \gamma_{24}, \gamma_{22} - \gamma_{24}, \gamma_{23} - \gamma_{24}, \gamma_{31} - \gamma_{34}, \gamma_{32} - \gamma_{34}, \gamma_{33} - \gamma_{34})'$$

Therefore, the $\gamma_{ij} = 0$ if and only if $A_{31} \mu = 0$. Hence according to (4), the UMP invariant size α test that the $\gamma_{ij} = 0$ for the 2-way ANOVA model

with unpattrented covariance matrix $\Sigma > 0$ and $n=n$, $s=r(c-1)$ and A_{31} as defined in (16) is

$$F_{31} = \frac{[n - r(c-1)]}{r(c-1)(n-1)} (A_{31} \bar{Y})' (A_{31} S A_{31}')^{-1} (A_{31} \bar{Y})$$

$$\Phi(F_{31}) = \begin{cases} 1 & \text{if } F_{31} > F_{r(c-1), n-r(c-1)}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } F_{31} \leq F_{r(c-1), n-r(c-1)}^{\alpha} \end{cases} \quad (18)$$

(b) Let A_{32} be $rc \otimes (r-1)c$ matrix such that

$$A_{32} = (I_{r-1} : -I_{r-1}) \otimes I_c \quad (19)$$

When $r=3$ and $c=4$, then

$$A_{32} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & -1 \end{pmatrix} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} 1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{bmatrix} \quad (20)$$

Hence, using (13) and (20), then

$$A_{32} \mu = (\gamma_{11} - \gamma_{31}, \gamma_{21} - \gamma_{31}, \dots, \gamma_{24} - \gamma_{34})'$$

Therefore, the $\gamma_{ij} = 0$ if and only if $A_{32} \mu = 0$. Hence according to (4), the UMP invariant size α test that the $\gamma_{ij} = 0$ for the 2-way ANOVA model with unpattrented covariance matrix $\Sigma > 0$ and $n=n$, $s=(r-1)c$ and A_{32} as defined in (19) is

$$F_{32} = \frac{[n - (r-1)c]}{(r-1)c(n-1)} (A_{32} \bar{Y})' (A_{32} S A_{32}')^{-1} (A_{32} \bar{Y})$$

$$\Phi(F_{32}) = \begin{cases} 1 & \text{if } F_{32} > F_{(r-1)c, n-(r-1)c}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } F_{32} \leq F_{(r-1)c, n-(r-1)c}^{\alpha} \end{cases} \quad (21)$$

2.2 Testing that $\mu \mathbf{A} \in \mathbf{W} \subset \mathbf{V}$

In this section, we use the (MLM) technique to make hypothesis testing about μ . Let μ be an $n \times r$ matrix, and let \mathbf{V} be a p -dimensional subspace of \mathbb{R}^n . We say that $\mu \in \mathbf{V}$ if the columns of μ are in \mathbf{V} . Let \mathbf{Y} be an $n \times r$ random matrix such that

$$\mathbf{Y} = \begin{bmatrix} Y_1' \\ \vdots \\ Y_n' \end{bmatrix}, \quad \mu = \begin{bmatrix} \mu_1' \\ \vdots \\ \mu_n' \end{bmatrix}, \quad Y_k' = (Y_{1k}, \dots, Y_{nk}), \quad \mu_k' = (\mu_{1k}, \dots, \mu_{nk})$$

The (MLM) is the model in which we observe

$$\mathbf{Y} \sim N_{n,r}(\mu, \mathbf{I}, \Sigma), \quad \mu \in \mathbf{V}, \quad \Sigma > 0 \quad (22)$$

Then, the Y_k are independent and $Y_k \sim N_r(\mu_k, \Sigma)$. In the above formulation of the linear model, therefore, the independent replication is represented by the rows of the \mathbf{Y} matrix.

We now consider the problem of testing the null hypothesis that $\mu \in \mathbf{W}$ against the alternative that $\mu \in \mathbf{V}$, where \mathbf{W} is a k -dimensional subspace of \mathbf{V} , we assume that $n-p \geq r$, so that $\hat{\Sigma}$ is positive definite. Let

$$S_2 = \mathbf{Y} \mathbf{P}_{V|W} \mathbf{Y}', \quad S_3 = \mathbf{Y} \mathbf{P}_V \mathbf{Y}', \quad \mathbf{Y}' \mathbf{Y} = (n-p) \hat{\Sigma}, \quad \delta = \mu' \mathbf{P}_{V|W} \mu \quad (23)$$

(Note that S_2, S_3 and δ are all $r \times r$ matrices.). Let $b = \min\{p-k, r\}$. A maximal invariant for the testing problem $\mu \in \mathbf{W}$ against $\mu \in \mathbf{V}$ is the set of nonzero roots $t_1 \geq \dots \geq t_b$ of

$$|A' S_2 A - t A' S_3 A| = 0 \quad (24)$$

When $b=1$, i.e., the case in which there is only one nonzero root t_1 . In this case

$$t_1 = \frac{\|\mathbf{P}_{V|W} \mathbf{Y}\|^2}{\|\mathbf{P}_V \mathbf{Y}\|^2}, \quad \frac{n-p}{p-k} t_1 \sim F_{p-k, n-p} \quad (25)$$

Where $p-k = \dim(\mathbf{V}|\mathbf{W})$ and $n-p = \dim(\mathbf{V}^\perp)$ and the UMP invariant size α test is

$$\Phi(t_1) = \begin{cases} 1 & \text{if } t_1 > \frac{p-k}{n-p} F_{p-k, n-p}^{1-\alpha} \\ 0 & \text{if } t_1 \leq \frac{p-k}{n-p} F_{p-k, n-p}^{1-\alpha} \end{cases} \quad (26)$$

When $b>1$, there is no UMP invariant test. However, the following four tests are available;

$$\begin{aligned}
\lambda_1 &= \prod_{i=1}^h (1 + t_i) = \frac{|A'S_2A + A'S_3A|}{|A'S_3A|} \cdot \lambda_2 = \sum_{i=1}^h t_i = tr(A'S_2A)(A'S_3A)^{-1}, \\
\lambda_3 &= t_1, \quad \lambda_4 = \sum_{i=1}^h \frac{t_i}{1 + t_i} = tr(A'S_2A)(A'S_2A + A'S_3A)^{-1} \\
\Phi_i(\lambda_i) &= \begin{cases} 1 & \text{if } \lambda_i > c_i'' \\ 0 & \text{if } \lambda_i < c_i'' \end{cases} \quad (27)
\end{aligned}$$

Where c_i'' is the upper α point of distribution of λ_i . All the four tests are invariant, unbiased [13], [14], [15] and admissible [16]. These tests are used when different individuals receive different treatments and hence have different mean vectors. Application of this technique is shown below.

2.2.1 The 2-way ANOVA model with interaction

Consider now a 2-way ANOVA model with r rows and c columns in which each individual receives each row treatment but only one column treatment (this could occur, for example, if columns represented race, sex, degrees of illness, etc.). We assume that there are n individuals who receive each column treatment. Let $Y_{jk} = (Y_{1jk}, \dots, Y_{rjk})'$ be the vector of observations on the K^{th} person who receives the j^{th} column treatment, $j=1, \dots, c$, $k=1, \dots, n$. The model would then be

$$\begin{aligned}
Y_{ijk} &= \theta + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + e_{ijk}, \quad \sum_i \alpha_i = 0, \quad \sum_j \beta_j = 0, \quad \sum_i \gamma_{ij} = 0 = \sum_j \gamma_{ij}, \\
e_{jk} &= (e_{1jk}, \dots, e_{rjk})' \sim N_r(0, \Sigma) \quad (28)
\end{aligned}$$

and the e_{jk} are independent. Now, let

$$Y = \begin{bmatrix} Y'_{11} \\ \vdots \\ Y'_{1n} \\ Y'_{21} \\ \vdots \\ Y'_{cn} \end{bmatrix}, \quad \mu = E(Y)$$

Then $Y \sim N_{n,r}(\mu, I, \Sigma)$. Let V be the c -dimensional subspace of R^{cn} consisting of vectors whose first n components are the same, whose next n components are the same, etc. Then the only restriction on μ is that $\mu \in V$, so that this model is (MLM).

(i) Testing that $\beta_j = 0$.

We first consider testing the hypothesis that $\beta_j = 0$, then

$$\mu 1_r' = r(\theta + \beta_1, \dots, \theta + \beta_c)' = r\theta 1_c' + r\beta'$$

where $\beta' = (\beta_1, \dots, \beta_c)' \perp 1_c$. Now, let W_1 be the 1-dimensional subspace of V consisting of vectors all of whose elements are the same. Then

$$\beta_j = 0 \text{ if and only if } \mu 1_r' \in W_1$$

Therefore, this hypothesis is in the form of the generalized multivariate linear hypothesis. Also $s=1$ for this model so that there is a UMP invariant size α test for this model. Let

$$S_2 = Y P_{1_r n_1} Y = \sum_{i=1}^r n(Y_i - \bar{Y})(Y_i - \bar{Y})' \quad (29)$$

$$S_3 = Y P_{1_r} Y = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c n(Y_{ij} - \bar{Y}_{i.})(Y_{ij} - \bar{Y}_{i.})'$$

Then according to (24) a maximal invariant for this model is

$$t = \frac{1_r' S_2 1_r}{1_r' S_3 1_r} \quad (30)$$

Since $\dim(V|W_1) = c-1$, $\dim V^\perp = cn-c = c(n-1)$, the UMP invariant size α test is given by

$$\Phi(t) = \begin{cases} 1 & \text{if } t_1 > \frac{c-1}{c(n-1)} F_{c-1, c(n-1)}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } t_1 \leq \frac{c-1}{c(n-1)} F_{c-1, c(n-1)}^{\alpha} \end{cases} \quad (31)$$

(ii) Testing that $\alpha_i = 0$. Now, consider testing that $\alpha_i = 0$. Let X be a basis matrix for the space orthogonal to 1_r . Then

$$\mu X = \begin{bmatrix} \alpha_1 + \gamma_{11}, \dots, \alpha_c + \gamma_{r1} \\ \alpha_1 + \gamma_{12}, \dots, \alpha_c + \gamma_{r2} \\ \vdots \\ \alpha_1 + \gamma_{1c}, \dots, \alpha_c + \gamma_{rc} \end{bmatrix} X$$

Let W_2 be the $(c-1)$ -dimensional subspace consisting of vectors whose components sum to 0. Then

$$\alpha = 0 \text{ if and only if } \mu X \in W_2$$

So that this hypothesis is also in the form of the generalized multivariate linear hypothesis. In this case, $p-k=1$, so that there is again a UMP size α F-test for this hypothesis. A maximal invariant for this problem is the one nonzero root of

$$|X Y P_{1_r n_2} Y X - t X' S_3 X| = 0 \quad (32)$$

which is

$$t = 1_{cn}' Y X (X' S_3 X)^{-1} X' Y' 1_{cn} / cn \quad (33)$$

To show that t of (33) is the nonzero root of (32). Let Z be the orthogonal basis matrix for V/W_2 . Then

$$P_{V/W_2} = ZZ', \quad Z = \frac{1}{\sqrt{cn}} I_{cn} \quad (34)$$

Then

$$\begin{aligned} 0 &= |X'Y'P_{V/W_2}YX - tX'S_3X| = |X'Y'ZZ'YX - tX'S_3X| = |H'H - tX'S_3X|, \quad H = Z'YX \\ &= |H'(X'S_3X)^{-1}H - tI| \end{aligned} \quad (35)$$

Hence, the nonzero root of (34) is

$$\begin{aligned} t &= H(X'S_3X)^{-1}H' \\ &= Z'YX(X'S_3X)^{-1}X'YZ \\ &= I'_{cn}YX(X'S_3X)^{-1}X'YI_{cn}/cn \end{aligned}$$

Therefore, the UMP invariant size α test for this model is given by

$$\phi(t) = \begin{cases} 1 & \text{if } t > \frac{r-1}{c(n-1)-r} F_{r-1, (n-1)-r}^{\alpha} \\ 0 & \text{if } t \leq \frac{r-1}{c(n-1)-r} F_{r-1, (n-1)-r}^{\alpha} \end{cases} \quad (36)$$

(iii) Testing that $\gamma_n = 0$. Finally, we consider testing that $\gamma_n = 0$. Let W_1 be defined as in (i). Then

$$\gamma_n = 0 \quad \text{if and only if} \quad \mu'X \in W_1$$

Therefore, this hypothesis is also a generalized multivariate linear hypothesis. For this problem $b = \min\{c-1, r-1\} > 1$, so that there is no UMP invariant size α test. A maximal invariant is the set of nonzero roots of

$$|X'S_2X - tX'S_3X| = 0$$

where S_2 and S_3 are defined in (29). And any one of the four tests ϕ_i , $i=1,2,3,4$ of (27) can be used for this hypothesis.

CONCLUSIONS

1. We note that the test given in (9) is different from the test that was derived for the (RMM) of (5) for testing that the $\alpha_i = 0$.
2. We note also that we need to assume that $n > r$ to do the test in section 2.2.1, whereas it is only necessary to assume that $n > 1$ to do the test suggested in (5).
3. The (MOSM) technique presented in section 2.2.1 can be applied to analyze any generalized (RMM) in which every individual gets the same treatments as long as the mean vector μ is unrestricted under the alternative hypothesis.

4. It appears that the maximal invariants for the last two testing problems of section 3.2.1 could depend on the choice of the basis matrix, in fact they do not. In particular, it is not necessary to choose an orthonormal basis matrix as it is shown below.

If X and X^* are basis matrices for a subspace V , then there exists an invertible matrix B such that

$$X^* = XB \quad (37)$$

The maximal invariant for testing $\alpha_i = 0$ in the (GRMM) is given in (36), and X is the basis matrix for the space orthogonal to 1_r . Suppose, we use X^* as a basis matrix for the space orthogonal to 1_r . Then the maximal invariant is

$$t^* = l'_{cm} Y X^* (X^{*'} S_3 X^*)^{-1} X^{*'} Y' l_{cm} / cm \quad (38)$$

then using (37) in (38), we get

$$\begin{aligned} t^* &= l'_{cm} Y X B (B' X' S_3 X B)^{-1} B' X' Y' l_{cm} / cm \\ &= l'_{cm} Y X B B^{-1} (X' S_3 X)^{-1} B' B' X' Y' l_{cm} / cm \\ &= l'_{cm} Y X (X' S_3 X)^{-1} X' Y' l_{cm} / cm \\ &= t \end{aligned}$$

Now, for testing that $\gamma_{ij} = 0$, the maximal invariant is the set of nonzero roots of

$$|X' S_2 X - t X' S_3 X| = 0$$

When we use X^* , we get

$$\begin{aligned} |X^{*'} S_2 X^* - t^* X^{*'} S_3 X^*| = 0 &\Leftrightarrow |B' X' S_2 X B - t^* B' X' S_3 X B| = 0 \\ \Leftrightarrow |B'| |X' S_2 X - t^* X' S_3 X| |B| = 0 &\Leftrightarrow |X' S_2 X - t^* X' S_3 X| = 0 \end{aligned}$$

and $A > 0$ and $|A| \neq 0$.

Hence, they have the same set of nonzero roots. That is, the tests do not depend on which basis is chosen.

5. For testing that $\alpha_i = 0$ for the 2-way ANOVA model of section 3.2.1, we note that, if we assume that this model treated as ordinary linear model (OLM) or as (RMM) of (5) or as (GRMM) of the present work, we note that the three F statistics are UMP invariant size α test, the numerator degrees of freedom for all is the same and equal to $r-1$, but the denominator degrees of freedom are $rc(n-1)$, $c(r-1)(n-1)$ and $[c(n-1)-r]$, respectively. We note that the drop in degrees of freedom from OLM to RMM is much smaller than the drop from RMM to GRMM. This fact indicates that if the OLM is true and we analyze the data using the RMM, we lose a moderate amount of power. However, if the RMM is true, and we analyze the data using the GRMM we lose considerably more power.

6. For testing that $\beta_j=0$ for the 2-way ANOVA model of section 3.2.1, we note that the drop in degrees of freedom from the OLM to the RMM is much greater than it is for the GRMM [$rc(n-1)$ to $c(n-1)$], but there is no drop at all from the RMM to the GRMM.
7. The test that $\beta_j=0$ for the GRMM treated in section 3.2.1 is the same as the test for the RMM derived in (5), which can be shown below. In fact, we have to show that the t of (30) is the same as the test

$$\text{constant} \frac{\sum_{j=1}^c (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y})^2}{\sum_{j=1}^c \sum_{k=1}^n (\bar{Y}_{jk} - \bar{Y}_{.j})^2}$$

of Arnold (1979). We will outline the proof. We know that

$$S_2 = n \sum_{j=1}^c (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y})(\bar{Y}_{.j} - \bar{Y})'$$

$$S_3 = \sum_{j=1}^c \sum_{k=1}^n (Y_{jk} - \bar{Y}_{.j})(Y_{jk} - \bar{Y}_{.j})', \quad Y_{jk} = (Y_{1jk}, \dots, Y_{rjk})'$$

Now,

$$Y_{jk} - \bar{Y}_{.j} = (Y_{1jk} - \bar{Y}_{1j}, \dots, Y_{rjk} - \bar{Y}_{rj})'$$

Hence,

$$S_3 = \sum_{j=1}^c \sum_{k=1}^n \begin{bmatrix} Y_{1jk} - \bar{Y}_{1j} \\ \vdots \\ Y_{rjk} - \bar{Y}_{rj} \end{bmatrix} (Y_{1jk} - \bar{Y}_{1j}, \dots, Y_{rjk} - \bar{Y}_{rj})' = \sum_{j=1}^c \sum_k (Y_{jk} - \bar{Y}_{.j})(Y_{jk} - \bar{Y}_{.j})',$$

α

$$\text{and } 1_r' S_3 1_r = r^2 \sum_{j=1}^c \sum_k (\bar{Y}_{jk} - \bar{Y}_{.j})^2 \quad \text{Similarly, } 1_r' S_2 1_r = r^2 \sum_{j=1}^c (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y})^2$$

$$\Rightarrow t = \frac{\sum_{j=1}^c (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y})^2}{\sum_{j=1}^c \sum_k (\bar{Y}_{jk} - \bar{Y}_{.j})^2}$$

and the constant is 1 and

$$F = \frac{c(n-1)}{c-1} t \sim F_{c-1, c(n-1)}$$

Hence, the test is the same in both case.

REFERENCES

1. Girden A. R., "ANOVA Repeated Measures ", Thousand Oaks, CA. Sage Publications. Quantitative Applications in the Social Sciences, Series, No. 84 (1992).
2. Millikan G.A. and Johnson D. E., "Analysis of Messy Data ", Vol. 1, Designed Experiments. NY. Chapman and Hall (1992).
3. Overall J.E., "How Many Repeated Measurements are Useful?", *Journal of Clinical Psychology*, 52, 243-252 (1996).
4. Cortina J.M. and Hossein N., "Effects Size for ANOVA Designs", Thousand Oaks, CA. Sage Publications. Quantitative Applications in the Social Sciences. Series No. 129 (2000).
5. Arnold S.F., "A Coordinate-free Approach to Repeated Measures Designs", *Ann. of Stat.*, 7, 812-822 (1979).
6. Anderson T.W., "An Introduction to Multivariate Statistical Analysis", John Wiley, New York (1984).
7. Morrison D.F., "Multivariate Statistical Method", McGraw-Hill Book Company (1977).
8. Akritas M.G. and Arnold S.F., "Fully Nonparametric Hypothesis for Factorial Design I: Multivariate Repeated Measures Designs", *JASA*, 89, 336-343 (1994).
9. Griffiths P.L., Brown P. and Smith W.F., "A Comparison of Univariate and Multivariate Multilevel Models for Repeated Measures of Use of Antenatal Case in Uttar Pradesh", *Journal of the Royal Statistical Society. Series A*, 164, 4. 597-611 (2004).
10. Duntelman G.H. and Moon-HoR H., "An Introduction to Generalized Linear Models", Thousand Oaks, CA. Sage Publications, Quantitative Applications in the Social Sciences, Vol. 145 (2005).
11. Rogers G. S., "Kronecker Products in ANOVA – A First Step". *The American Statistician*, 38,3,197-202 (1984).
12. Dauxois J., Romain Y. and Viguier-Pla S., "Tensor Products and Statistics". *Linear Algebra Journal*, 210,59-88 (1994).
13. Das Gupta S., Anderson T.W. and Maudholkar G.S., "Monotonicity of the Power Function of some Tests of the Multivariate Linear Hypothesis", *Ann. Math. Stat.*, 35, 200-205 (1964).
14. Bradley D.R. and Russell R.L., "Some Cautions Regarding Statistical Power in Split-Plot Designs", *Behavior Research Methods, Instruments and Computers* (1998).
15. Bradley D.R. and Orfaly R.A., "Statistical Power of Completely Randomized and Split-Plot Factorial Designs". *Behavioral Neuroscience* (1999).
16. Schwartz R., "Admissible Tests in Multivariate Analysis", *Ann. Math. Stat.*, 38, 698-710 (1967).

The Polar "Blowing Up" of Quadratic Vector Fields

Abbas Fadhel Abbas AL-Shimmary

Lecturer, Electric Engineering Department, College of Engineering,
AL-Mustansiriya University

ABSTRACT

The main aim of this paper is to classify the singularities of quadratic vector fields (i.e. those singularities which occur in 2 parameter families of zero linear part vector fields) into two kinds depending on its quadratic part. The next thing to be done is to study and gives the polar blowing up of the first kind.

الخلاصة

الهدف الرئيسي من هذا البحث هو تصنيف النقاط الانفرادية للحقول المتجهية التربيعية (تلك النقاط الانفرادية التي تحصل في عائلة تحتوي على متغيرين للحقول المتجهية التي جزئها الخطي يساوي صفرا) إلى صنفين معتمدين على جزئها التربيعي. الشيء الآخر الذي عملناه هو دراسة وإعطاء النفخ القطبي للصنف الأول منه.

INTRODUCTION

In (1) F. Dumurtier study the singularity of vector fields using polar blowing up and successive blowing up methods F.Takens gives in (2) the blowing up construction and consider the kind of singularities can occur of two succeeding points. In (3) H. Mohemmed gives conditions for some vector fields to be with sequent ional direction. In this paper, we classify the quadratic vector fields into two kinds and gives the polar blowing up of its first kind.

1. Preliminaries

Definition (1.1) (2): Let X be a C^∞ -vector field on the plane R^2 , with $X(0)=0$. We say that X has a singularity at 0. If the eigenvalues of the matrix associated with the linear part of X at 0 are all with nonzero real part then this singularity is called a *hyperbolic singularity*, otherwise it is called an *elliptic singularity*.

Definition (1.2) (2): Let X, Y be two vector fields on R^2 with $X(0) = Y(0) = 0$. We say that X and Y are germ-equivalent in 0. If they coincide on some neighborhood of 0. The equivalence class for this equivalence relation are called *Germ*s vector fields in 0, and denoted by G^2 .

Definition (1.3) (2): Let $X, Y \in G^2$, then X and Y are *k-jet equivalent* if all partial derivatives up to, and including the order k of the component functions of X in 0 coincide with those of Y . The equivalence classes are called *k-jets*; the *k-jet* of a C^∞ -vector field X in 0 being denoted by $J_k(X)(0)$.

Definition (1.4)(2): Let X_k denote the vector field whose component functions are homogeneous polynomials of degree k and which has in 0 the same *k-jet* as X . Let $X = \sum_{i=1}^k X_i \frac{\partial}{\partial x}$, If $X_1 = 0, X_2 \neq 0$, then we call X a

quadratic vector fields

We classify it into two kinds depending on its 2-jet, the first kind is the quadratic vector fields which is one of the components is zero, and the second kind is the vector fields of nonzero components. The 2-jet of the first kind concerning the following sense:

1. $(a x^2 + b xy + c y^2, 0)$.
2. $(0, \alpha x^2 + \beta xy + \lambda y^2)$.

we can omit the xy term to become as:

1. $(p x^2 + q y^2, 0)$,

where p and q are the eigenvalues of the matrix $\begin{pmatrix} a & b/2 \\ b/2 & c \end{pmatrix}$

2. $(0, r x^2 + s y^2)$,

where r and s are the eigenvalues of the matrix $\begin{pmatrix} \alpha & \beta/2 \\ \beta/2 & \lambda \end{pmatrix}$

The formulas $(p x^2 + q y^2, 0)$ and $(0, r x^2 + s y^2)$ is algebraically equivalence by reflex about the line $y = x$, so we will study only the formula $(p x^2 + q y^2, 0)$ and classify into the following possible sense:

1. The jet $(p x^2, 0)$, where $p \neq 0$.
2. The jet $(q y^2, 0)$, where $q \neq 0$.
3. The jet $(p x^2 + q y^2, 0)$, where $p \neq 0$ and $q \neq 0$.

2. Normal forms of quadratic vector fields

Let X be a C^k -vector field on R^n with $X(0) = 0$, it is possible to bring the 1-jet of X in a simple form by means of a C^∞ -change of coordinates. Let X_1 be the vector field, whose component functions are linear, and such that $J_1(X_1)(0) = J_1(X)(0)$. Let H^h denote the vector space of the vector fields on R^n given by homogeneous polynomials of degree h .

Let $[X_1, -]_h: H^h \rightarrow H^h$ be the linear map which assigns to each $Y \in H^h$ the Lie product $[X_1, Y]$ where

$$\text{If } X = \sum_{i=1}^k X_i \frac{\partial}{\partial x_i} \text{ and } Y = \sum_{i=1}^k Y_i \frac{\partial}{\partial x_i}$$

$$\text{Then } [X, Y] = \sum_{i=1}^k \left(\sum_{j=1}^k \left(\frac{\partial Y_j}{\partial x_i} X_i - \frac{\partial X_i}{\partial x_j} Y_j \right) \right) \frac{\partial}{\partial x_i}$$

Consider the splitting $H^h = B^h \oplus G^h$, where $B^h = \text{Im}([X_1, -]_h)$ and G^h is some complementary space.

Takens' normal form theorem (2):

Let X, X_1, B^h and G^h be as above, then for $i < k < \infty$, there is a C^∞ -diffeomorphism $\phi: (R^n, 0) \rightarrow (R^n, 0)$ such that $X' = \phi_*(X)$ is of the form

$X' = X_1 + g_2 + g_3 + \dots + g_i + R_i$ where $g_i \in G^i$, $i=1, 2, \dots, i$ and $J_1(R_i)(0)=0$, X' is called the normal form of the vector field X .

In (5) P. Hartman gives the normal forms of vector fields with hyperbolic singularities, F. Takens consider one class of elliptic case and gives the normal form in (2) of the singularity $x \frac{\partial}{\partial x}$. In (6) R. Shakory gave the normal forms of all possible classes of vector fields on the plane with elliptic singularity. In (3) the normal forms of quadratic vector fields was given by the following theorem:

Theorem (3.1) (1):

If 2-jet of the vector fields X define on the plane by

1. $(p x^2, 0)$, where $p \neq 0$.
2. $(q y^2, 0)$, where $q \neq 0$.
3. $(p x^2 + q y^2, 0)$, where $p \neq 0$ and $q \neq 0$.

Then there is a C^∞ -transformation of coordinates in which the 1-jet of X is given by:

$$\begin{aligned} \text{i)} & p x^2 \frac{\partial}{\partial x} + \sum_{k=3}^n [(a_k x^3 y^{k-3} + b_k y^k) \frac{\partial}{\partial x} + (c_k x y^{k-1} + d_k y^k) \frac{\partial}{\partial y}] \\ \text{ii)} & q y^2 \frac{\partial}{\partial x} + \sum_{k=3}^n [(a_k x^k + b_k x^{k-1} y) \frac{\partial}{\partial x} + (c_k x^k + d_k x^{k-1} y) \frac{\partial}{\partial y}] \\ \text{iii)} & (p x^2 + q y^2) \frac{\partial}{\partial x} + \sum_{k=3}^n [a_k x^k y^{k-3} \frac{\partial}{\partial x} + (b_k x y^{k-1} + c_k y^k) \frac{\partial}{\partial y}] \end{aligned}$$

3. The (blowing up) construction for vector fields

Proposition (4.1) (2):

Let X be a C^∞ -vector field on \mathbb{R}^2 , with $X(0) = 0$. Let $\phi : S^1 \times \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^2$ be the map defining polar coordinates, where $S^1 = \{(x, y) : x^2 + y^2 = 1\}$ and r is the coordinates function on \mathbb{R} . Then there is a C^∞ -vector field \hat{X} on $S^1 \times \mathbb{R}$ such that in each $q \in S^1 \times \mathbb{R}$, $\phi_*(\hat{X}(q)) = X(\phi(q))$ (or $\phi_*(\hat{X}) = X$).

Now we explain above by the following example:

Let $X = (X^1, X^2) : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ be a C^∞ -vector field with $X(0) = 0$.

Let $\phi : S^1 \times \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^2$, $\phi = (\phi_1, \phi_2)$ be a map where

$$\phi(\alpha, r) = (r \cos \alpha, r \sin \alpha), \text{ then there is } \hat{X} = \begin{pmatrix} \dot{\phi}_1 \\ \dot{\phi}_2 \end{pmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} \dot{\phi}_1 \\ \dot{\phi}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial \phi_1}{\partial \alpha} \dot{\alpha} + \frac{\partial \phi_1}{\partial r} \dot{r} \\ \frac{\partial \phi_2}{\partial \alpha} \dot{\alpha} + \frac{\partial \phi_2}{\partial r} \dot{r} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial \phi_1}{\partial \alpha} X^1 + \frac{\partial \phi_1}{\partial r} X^2 \\ \frac{\partial \phi_2}{\partial \alpha} X^1 + \frac{\partial \phi_2}{\partial r} X^2 \end{bmatrix}$$

$$\hat{X} = \begin{bmatrix} \frac{\partial \phi_1}{\partial \alpha} & \frac{\partial \phi_1}{\partial r} \\ \frac{\partial \phi_2}{\partial \alpha} & \frac{\partial \phi_2}{\partial r} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X^1 \\ X^2 \end{bmatrix}$$

$$\hat{X} = D\phi X$$

$$\text{Where } D\phi = \begin{bmatrix} \frac{\partial \phi_1}{\partial \alpha} & \frac{\partial \phi_1}{\partial r} \\ \frac{\partial \phi_2}{\partial \alpha} & \frac{\partial \phi_2}{\partial r} \end{bmatrix} \quad (\text{or } \phi_*(\hat{X}) = X)$$

Also we can use the following technique: There is $\hat{X} = \begin{pmatrix} \dot{\alpha} \\ \dot{r} \end{pmatrix}$, where

$$\dot{\alpha} = \frac{1}{r^2} \langle X, (-y, x) \rangle$$

$$\bar{r} = 1/r \cdot X(x, y) =$$

And a map $\phi : S^1 \times \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^2$ such that $\phi_*(\hat{X}) = X$

Now we define $\bar{X} = (1/r^k) \hat{X}$, where k is the largest number such that $x_k \neq 0$, \bar{X} is called the "**polar blowing up**" of the vector field X , the blowing up method used quite often in studying singularities of vector fields.

Let X be a vector field on \mathbb{R}^2 which is at least C^{k+2} and such that the k -jet of X in $0 \in \mathbb{R}^2$ is zero (i.e. $J_k(X)(0) = 0$). We consider the following two functions:-

$f = \langle X^2, (-y, x) \rangle$, $g = \langle X^2, (x, y) \rangle$. Then

\bar{X} gets the form: $\bar{X} = 1/r^k \hat{X}$

$$= 1/r^{k+1} f(r \cos \alpha, r \sin \alpha) \frac{\partial}{\partial \alpha} + 1/r^{k+1} g(r \cos \alpha, r \sin \alpha) \frac{\partial}{\partial r}$$

because f, g are in general position $\bar{X}|_{S^1 \times \{0\}}$ is a Morse-Smale system and also. In each point $(\alpha_0, 0) \in S^1 \times \{0\}$ where x_1 is zero, \bar{X} has a hyperbolic singularity.

4. The main results

Theorem (5.1):

Let X be a C^3 -vector field on \mathbb{R}^2 , with $X_1 = 0$ such that it's 2-jet as the following forms:

- (i) $(p x^2, 0)$, $p \neq 0$
- (ii) $(q y^2, 0)$, $q \neq 0$
- (iii) $(p x^2 + q y^2, 0)$, $p \neq 0$, $q \neq 0$

Then there is a map $\phi : S^1 \times \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^2$ such that \bar{X} has the following forms:

$$(i) \bar{X} = r p \cos^3 \alpha \frac{\partial}{\partial r} - p \sin \alpha \cos^2 \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha}$$

$$(ii) \bar{X} = r q \sin^2 \alpha \cos \alpha \frac{\partial}{\partial r} - q \sin^3 \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha}$$

$$(iii) \bar{X} = r(p \cos^3 \alpha + q \cos^2 \alpha \sin \alpha) \frac{\partial}{\partial r} - (p \cos^2 \alpha \sin \alpha + q \sin^3 \alpha) \frac{\partial}{\partial \alpha}$$

Proofs of the results

Case (i):

Let X be a C^3 -vector field on \mathbb{R}^2 , with $X_1 = 0$ and $X_2 = j_2(X) = (p x^2, 0)$, $p \neq 0$

Consider the following calculation:

$$\begin{aligned}
\mathcal{F}_1(\alpha, r) &= 1/r^{k+2} \langle X_2, (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^3 \langle (p x^2, 0), (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^3 (-p r^3 \sin \alpha \cos^2 \alpha) \\
\mathcal{F}_2(\alpha, r) &= 1/r^{k+1} \langle X_2, (x, y) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^2 \langle (p x^2, 0), (x, y) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^2 (p r^3 \cos^3 \alpha)
\end{aligned}$$

So the polar blowing up of X is

$$\begin{aligned}
\bar{X} &= \mathcal{F}_1(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial \alpha} + \mathcal{F}_2(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial r} \\
\bar{X}(\alpha, r) &= -p \sin \alpha \cos^2 \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha} + p r \cos^3 \alpha \frac{\partial}{\partial r}
\end{aligned}$$

The singularities on $S^1 \times \{0\}$ are exactly the points where $\mathcal{F}_1(\alpha, 0) = 0$
 $-p \sin \alpha \cos^2 \alpha = 0$, where $p \neq 0, (0, 0), (\pi/2, 0), (\pi, 0), \dots$

Case (ii):

Let X be a C^3 -vector field on \mathbb{R}^2 , with $X_1 = 0$ and $X_2 = j_2(X) = (q y^2, 0)$, $q \neq 0$. Consider the following calculation

$$\begin{aligned}
\mathcal{F}_1(\alpha, r) &= 1/r^{k+2} \langle X_2, (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^3 \langle (q y^2, 0), (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^3 (-q r^3 \sin^3 \alpha) \\
\mathcal{F}_2(\alpha, r) &= 1/r^{k+1} \langle X_2, (x, y) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^2 \langle (q y^2, 0), (x, y) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^2 (q r^3 \sin^2 \alpha \cos \alpha)
\end{aligned}$$

So that polar blowing up of X is

$$\begin{aligned}
\bar{X} &= \mathcal{F}_1(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial \alpha} + \mathcal{F}_2(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial r} \\
&= -q \sin^3 \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha} + q r \sin^2 \alpha \cos \alpha \frac{\partial}{\partial r}
\end{aligned}$$

With singularities $(0, 0), (\pi, 0), (2\pi, 0), \dots$

Case (iii):

Let X be a C^3 -vector field on \mathbb{R}^2 , with $X_1 = 0$
and $X_2 = j_2(X) = (p x^2 + q y^2, 0)$, $p \neq 0, q \neq 0$

Consider the following calculation

$$\begin{aligned}
\mathcal{F}_1(\alpha, r) &= 1/r^{k+2} \langle X_2, (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^3 \langle (p x^2 + q y^2, 0), (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^3 \langle (-p r^3 \cos^3 \alpha \sin \alpha - q r^3 \sin^3 \alpha) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^3 (-p \cos^3 \alpha \sin \alpha - q \sin^3 \alpha) \\
\mathcal{F}_2(\alpha, r) &= 1/r^{k+1} \langle X_2, (x, y) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^2 \langle (p x^2 + q y^2, 0), (x, y) \rangle_{(\alpha, r)} \\
&= 1/r^2 \langle (p r^3 \cos^3 \alpha + q r^3 \cos^2 \alpha \sin \alpha) \rangle_{(\alpha, r)}
\end{aligned}$$

So that polar blowing up of X is

$$\begin{aligned}\bar{X} &= \bar{X}_1(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial \alpha} + \bar{X}_2(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial r} \\ &= (-p \cos^2 \alpha \sin \alpha + q \sin^3 \alpha) \frac{\partial}{\partial \alpha} + r(p \cos^3 \alpha + q \cos^2 \alpha \sin \alpha) \frac{\partial}{\partial r}\end{aligned}$$

CONCLUSION

F. Dumortier study the singularity of vector fields using polar blowing up method; F. Taken's gives the blowing up construction and consider the kind of singularities can occur of two succeeding points. H. Mohemmed gives conditions for some vector fields to be with sequent ional direction. In this paper, we classify the quadratic vector fields into two kinds depending on the non zero quadratic part, and gives the blowing up of its first kind.

REFERENCES

1. Dumortier F., "Singularities of Vector Fields on the Plan", J. Differential equation, 23, 53-106 (1977).
2. Takens F., "Singularities of Vector Fields". Inst. Haute Sic. Pub. Math., 43, 47-100 (1979).
3. Abbas A.F., "On the Normal of Quadratic Vector Fields", M. Sc. Thesis, Baghdad University, Iraq (1988).
4. Mohammad H.A., "On the Parameter Vector Fields", M. Sc. Thesis, Baghdad University, Iraq (1989).
5. Hartman P., "On the Local Linearization of Differential Equation", Proc. A.M.S., 14, 568-573 (1963).
6. Farhan A., "On the Normal From of Vector Fields", M. Sc. Thesis, Baghdad University, Iraq (1987).

Implementation of Wavelet Based Steganography

Saad M. Khalifa U. O. T

Ass. Prof. Lecturer in AL Rasheed College

Masab R. U.O.Almustansyra

ABSTRACT

Wavelet transforms are relatively new concept. There is a push toward the use of wavelets in signal processing, and analysis in place of (or in addition to).

The Discrete Cosine Transform (DCT), which is used in the JPEG standard for image compression. Recently, many algorithms have been proposed to use wavelets for image compression such as JPEG 2000. The techniques that are currently being used in working with image can be generalized for use with wavelet transforms. There are numerous applications for wavelets, and the uses of wavelets in signal processing seem to endless. This paper will discuss wavelet - based techniques for steganography in pgm (portable gray map) files.

Steganography essentially means "covered writing". In implementing steganography, want the data to hidden in the image so that the visual quality of the image is not perceptively affected. Because the emphasis is on "security by obscurity", we can make the simplifying assumption that the image is not going to processed. Thus the method for hiding data in the images does not need to be robust. The algorithms propose involve a simple wavelet transform called the Haar transform. In this paper begin with a general overview of the various Haar transforms used in the proposal.

الخلاصة

تعتبر تحويلة (wavelet) من المفاهيم الحديثة نسبياً وتبدو تطبيقاتها غير متناهية في مجال معالجة الإشارة الرقمية وفي مجال معالجة الصور الرقمية وكمثال على ذلك خوارزمية (JPEG 2000).

في هذا البحث تم استخدام تحويلة (wavelet) في مجال إخفاء البيانات (Steganography) وذلك باستخدام إحدى أنواع تحويلات الـ (wavelet) وتدعى Haar في إخفاء البيانات (إشارة رقمية، نص، صورة) في صورة دون التأثير على وضوحية الصورة مع

التأكيد على الأمانة العالية لهذه البيانات ودون الدخول في معالجة معقدة لهذه الصورة، كذلك تم التطرق إلى أنواع مختلفة من تحويل Haar.

INTRODUCTION TO HAAR TRANSFORMS

The Haar transform is one of the simplest transforms in wavelet mathematics. The Haar transform uses square pulses to approximate the original function. The bases functions for Haar wavelets at some level all look like a unite pulse shifted along the x - axis. The bases functions are called scales in wavelet terminology to get from the lower resolution space back to the higher resolution space, [we can use] wavelets, or the functions that span the space that contains the information we have discarded in moving from one resolution to another. The wavelet can be expressed as a linear combination resolution space, which is spanned by those bases functions. While this definition is actually pretty simple in terms of the abstract equations that come about when studying wavelet transformations, it still seems esoteric and complex to those uninitiated in higher level mathematics. In this paper ignored the formal definition of Haar transformations and the properties they provide. Instead of, show how to implement the Haar transformation, and how propose to use it for steganography and watermarking. In addition we will explain the reasons of successful or fail Haar transformation in our algorithms.

The 1D Haar transform

The 1D Haar transform works on a set of 4 pixel. The transformation of a set of pixels:

A	b	c	d	is	$A=(e+f)/2$	$B=(e-f)/2$	$C=(a-b)/2$	$D=(c-d)/2$
---	---	---	---	----	-------------	-------------	-------------	-------------

Where $e = (a+b)/2$ and $f = (c+d)/2$

The inverse transformation is:

$A+B+C$	$A+B-C$	$A-B+D$	$A-B-D$
---------	---------	---------	---------

Generalizing it to two dimensions, we take 1D Haar transform first along the rows, the along the columns of the image If the width or height are not multiples of 4, then the borders are ignored in the transform. We found the transform to be relatively ineffective in stenography. The hear transform generalized to two dimensions allows more data to be stored in a regular image.

The 2D Haar (2nd Level) Transform

The 2D Haar transform also works on a set of 4 pixel, but is considered "2D" because there is additional processing on a 2 x 2 block after the initial row and column transformations are completed. The transformation of a set of pixels (1).

a	b	c	d	is	$A=(e+b)/2$	$B=(c+d)/2$	$C=(a-b)/2$	$D=(c-d)/2$
---	---	---	---	----	-------------	-------------	-------------	-------------

Again borders for an image with width or height that are not multiples of four are ignored. As in 1D transform, the information is generalized to two dimensions, first along the rows, then along the columns. Additionally, after this computation is complete, we need to work on the upper left -hand corner (2 x 2 pixels) of each 4 x 4 block.

e	f	becomes	$E=(a+b)/2$	$F=(a-b)/2$
---	---	---------	-------------	-------------

The same computation is done for the second row of pixels and then again for each column of this 2 x 2 block.

The inverse is first computed for each group of 4 x 4 pixels. To do this we take the inverse for the first two columns in the 2 x 2 block, then take the inverse for the first two rows in the 2 x 2 block. The inverse

$E+F$	$E-F$
-------	-------

For the E and F shown above. Finally, the inverse is taken for each group of 4 pixels; first by columns, then by rows, as follows:

$A+C$	$A-C$	$B+D$	$B-D$
-------	-------	-------	-------

For the A, B, C and D above these transforms were used in wavelet -based Steganography. The amount of data that can be hidden in an image depends up on the number of "low" coefficients generated by the transform.

Wavelet Based Steganography

Wavelet-Based Steganography is a new idea in the application of wavelets. However, the standard technique of storing in the least significant bits (LSB) of a pixel still applies. The only difference is that the information is stored in the wavelet coefficients of an image, instead of changing bits of actual pixels (2). The idea is that storing in the least

important coefficients of each 4×4 Haar. Transformed block will not perceptually degrade the image. While this thought process is inherent in most Steganographic techniques, the difference here is that by storing information in the wavelet coefficients, the change in the intensities in images will be imperceptible. For this project, we only show the effectiveness of storing data in grayscale (pgm) files.

1. Algorithm

The Haar transformation returns many coefficients that are, or close to. After taking a Haar transform of some image, the idea is to hide bits in the coefficients that are below some threshold value, then save the Haar inverse of the modified data. Theoretically (3), since we are hiding bits in significant coefficients, this should not greatly modify the image.

Encoding

1. Take the (2D Haar) wavelet transform of an image.
2. Find the coefficients below a threshold value.
3. Replace these bits with bits of data to be hidden.
4. Take the inverse transform.
5. Store it as a regular image, in any standard format, such as pgm.

Decoding

1. Take the wavelet transform of the image.
2. Find the coefficients that are below a threshold value.
3. Extract the bits of data from these coefficients.
4. Combine the extracted data bits into an actual message.
5. Output the message or data.

2. Implementation

After analyzing both the 1D Haar transform and the 2D Haar transform, it was determined that the 2D Haar transform would be able to store more data (4). One or two bits of information can be stored for each Haar coefficient below a threshold value. This threshold value depends on the number of bits hidden in each coefficient. For example, when hiding 2 bits in each coefficient, we can hide in coefficients ranging from 0 to 3. When hiding 1 bit in each coefficient, we can hide in coefficients ranging from 0 to 1. Obviously, there is more degradation in the image when hiding in a greater number of bits, but the amount of data that can be stored is more than tripled.

The degradation of an image storing in 2 bits is so light that there is almost no advantage is storing in only 1 bit.

The main problem encountered in implementing this algorithm was the error caused by truncating the values of coefficients after a Haar transform. To hide bits, the floats introduced in the transform need to be truncated to integers (by rounding or by truncating). Taking the inverse Haar transform immediately after truncation results in errors caused by values greater than 255 or less than 0. The solution for this problem involves what we call the "range" and "base" of an image. The range of an image limits the minimum and maximum values of the histogram. The application statistically maps all values above 255 range to the value of 255 range. It also maps all values below range to the value of range when reading in the original image. After the data is hidden, this slight modification takes care of the values that fell above 255, but it didn't take into consideration the negative values that are introduced. This is where the bias comes in. The bias statically shifts each value by bias just before writing out the image. This shift does not introduce any values above 255 because of the range mapping that was done previously (as long as the range and bias are chosen intelligently).

Hiding the data was relatively straightforward. The first three bits of the hidden data are part of the "magic number" - - The method used to determine if there is data hidden within the image. The fourth byte tells us the number of bits of the Haar coefficients in which the data is to be hidden. The fifth byte is the number of bytes of the length of the message (say n). Then the next n bytes determine the length of the message. So for any given data that needs to be hidden, there is at least six bytes of overhead. This header is always stored in the last two bytes of relevant coefficients. In returning the number of bytes that can be stored by any given image, we always allow for 20 bytes of overhead (5), and check the number of bytes which need to be hidden before storing any hidden data. The actual data was hidden by systematically taking the first n bits of the data stream, and modifying the last n bits of the next Haar coefficient which falls within the given range. This continues until the data is completely hidden in the Haar coefficients of the image (6). Taking the inverse Haar transform, standard pixel values are returned, and written out in ((portable gray map (pgm) format)).

3. Analysis

The research aspects of steganography deal mainly with experimentation on where to hide the data and how much data can be successfully hidden without visual distortion (7). In our algorithm, we hide the data in the last bit or the last two bits of insignificant coefficients of the Haar wavelet transform. The amount of data that can actually be hidden in

a regular image ranges from 6% to 7% of the size of the image. This is, of course, image specific, but the ranges are approximately correct for the images we tested. The sizes of the test images ranged from 120 x 120 to 1073 x 790, with various sizes in between. Again steganography is not meant to be robust. Any modifications to the file-conversions between file types and standard image processing will remove the hidden bits from the file.

For each sample image, two sets of data were hidden:

- a random string between 1 and 1024 characters.
- a binary file - a small audio file, a GIF or JPEG image file, or a simple text file (8).

In each case, the algorithm extracts the correct string and binary file if there was enough bytes in the image to store the entire string or file. The 876 Kb image file (1073 x 790) could store just over 55Kb of information.

RESULTS AND CONCLUSION

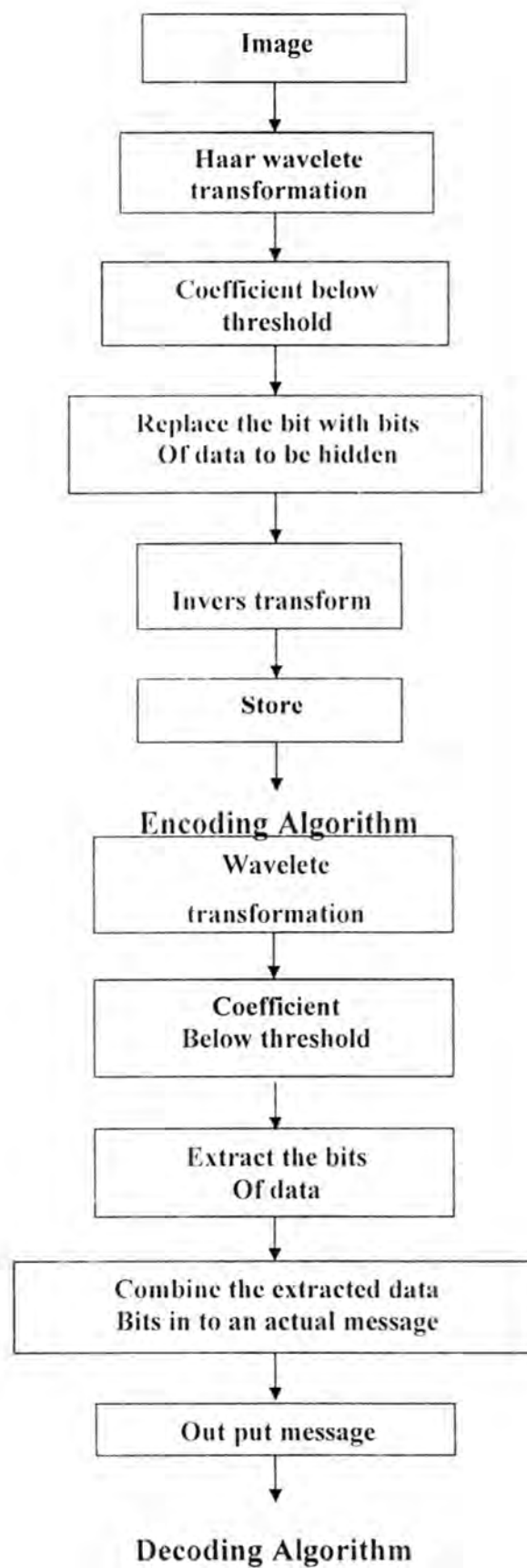
We implement our proposed system by Delphi language using Bitmap image 24 bit / pixel. The proposed system consist of the following procedures:

1. Procedure TForm1.openclick: open bitmap file Header and distribute the Data to three band (red, gray, blue).
2. Procedure Haariclick: perform Haar transform on a specific image.
3. Procedure invHaariclick: perform inverse Haar transform on image.
4. Procedure TForm. codingiclick: perform the Hiding of text in a specific image. Using threshold value. The operation performs by split the real coefficient to integer and Hide the (bit, 2 bits) in the integer part.
5. Procedure TForm. Decodingiclick: Extract the text from the coding image.

The efficiency of the program is very high but some time the extract text contains error in character or 2 characters.

The conclusion is:

1. The size of Hidden data depended on the Threshold value and the size.
2. The error rate is very low one or two character for 1000 character as result of truncation or rounding of error.
3. The degree of degradation is very low.



FUTURE MODIFICATIONS

Improvements to the current design include:

- The application should allow the user or the program to dynamically choose the number of bits in which to hide data. Hiding data in one bit will give a smaller degradation of the image, but it allows much less data to be hidden in the image. However, if the amount of data to be hidden is slight compared to the number of coefficients that could hide data, the program should modify the algorithm to hide in a smaller number of bits. Possibly, the application should also be able to hide in a greater number of bits if image quality is not a primary concern.
- The program should dynamically choose the range and biasing when hiding data.
- The application should allow the user to store and extract a file that spans multiple images (if the amount of data is greater than the amount that can be hidden inside an image).
- Functionally should be extended to work with GIF and JPEG format images, and modified for color images if needed.

REFERENCES

1. Kristain, S.B., "The Haar Wavelet Transform", Dept. of Applied Mathematics, University of Colorado at Boulder (2000).
2. Areepongsa, S., Syed, Y.F., Haewkamred N. and Rao, K. R., "Steganography for Low Bit. Wavelet Based Image Coders", University of Texas (2000).
3. Lisa M.M., Caries G.B. and Charles T.R., "Spreading Spectrum Image Steganography", Internet Survey (1999).
4. Neil, F.J. and Sushel, J., "Steganalysis of Image Created Using Current Steganography Software", Information Hiding, Second International Workshop, Springer (1998).
5. Neil, F.J., Duric, Z. and Sushel J., "Information Hiding: Steganography and Watermarking. Attacks and Countermeasures", Kluwer Academic Published (2001).
6. Katzenbeisser, S. and Petitcolas, F., "Information Hiding Techniques", Artech House Pub., USA (2000).
7. Neil, F.J., "History and Steganography", Internet Survey (2000).
8. Neil, F.J., Duric, Z. and Sushel J., "Exploring Steganography: Seeing the Unseen", IEEE Computer, pp 26-34 (1998).

New Search for Video Compression

Asmaa Sadiq

Assistant Lecture, Department of Computer Science, College of
Science, AL-Mustansiriya University

ABSTRACT

The current research work aims to implement the video compression by developing all the required programs. Through the implementation work of video compression most of the well-known motion search methods were tested and their performance was investigated.

In this work an adaptive mechanism was proposed and implemented to handle the time delay associated with all searching methods. However the proposed mechanism did not affect the compression efficiency and image quality.

الخلاصة

الهدف من البحث هو تطبيق الضغط الفديوي Video Compression باستخدام جميع البرامج المتاحة. ومن خلال تنفيذ العمل في طرق الضغط الفديوي تم تطبيق طرق البحث المعروفة واختبار كفاءتها.

في البحث تم اقتراح وتطبيق تقنية من اجل تقليل الوقت المرافق لعمليات البحث التي تم التطرق إليها. والنتائج تشير إلى أن الطريقة المقترحة لا تؤثر على كفاءة الضغط ومواصفات الصورة.

INTRODUCTION

Abstract motion estimation and compensation is of great importance for compression of video sequence. Motion estimation techniques can be broadly classified as Pel Recursive Algorithms (PRA), and block matching algorithms (BMA). Netravali and Robbins (1979) developed a pel recursive technique which estimates the displacement vectors for each pixel

recursively from its neighboring pixels using an optimizing method. Limb and Murphy (1975), Rocca and Zanoletti (1972), Cafforio and Rocca (1976) and Brofferio and Rocca (1977) developed techniques for the estimation of displacement vectors of a block of pixel (1).

1. Classical methods

1.1 (2-D) Logarithmic Search Algorithm

This algorithm, proposed by Jain and Jain (2), uses the MSD cost function and performs a logarithmic 2-D search along a virtual direction of minimum distortion (DMD) on the data within the search area. The modified version of the algorithm described by srinivasan and Rao (3), uses the MAD cost function, and can be described using the following steps, as illustrated in Figure (1). The 2-D logarithmic search algorithm consists of the following steps:

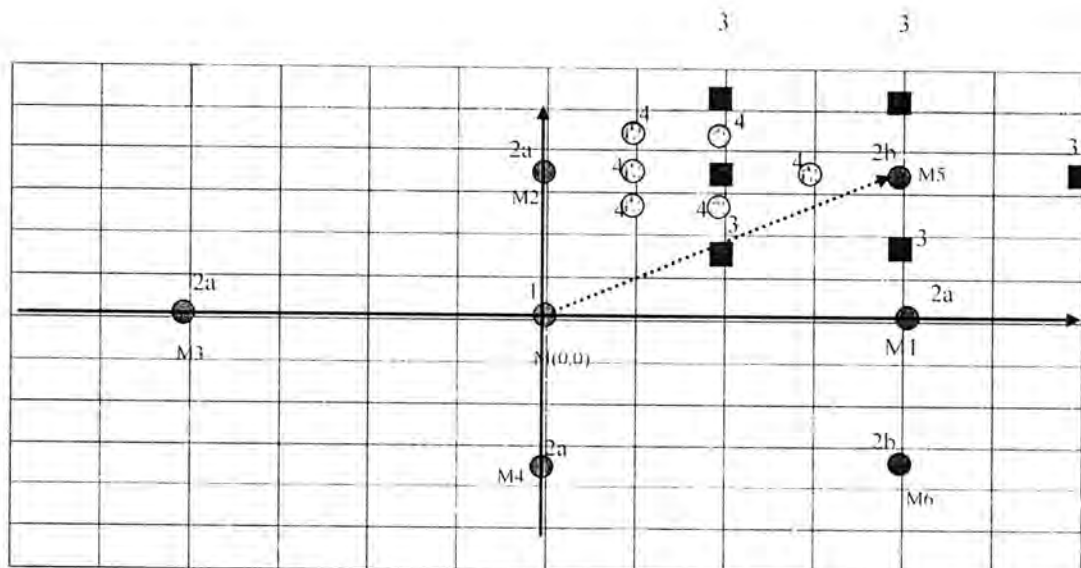


Fig. (1): An example about the modified 2-D logarithm search algorithm

Step1: The MAD function is calculated for $dx=dy=0$, $M(0,0)$, and compared with a threshold (lets say the value is 4 out of 255): $M(0,0) < T$. If this is satisfied, the tested block is unchanged and the search is completed.

Step2a: The next four cost functions are calculated, $M1 (4,0)$, $M2 (0,4)$, $M3 (-4,0)$, and $M4 (0,-4)$, and their minimum (M) is found and compared to $M (0,0)$:

$$M = \min (M1, M2, M3, M4)$$

If the minimum ($M > M (0, 0)$) then go to step3, otherwise this value is compared against the threshold (T). If ($M < T$) the value M is the minimum and the search ends. Otherwise, the algorithm continues with step 2b.

Step2b: Assuming that in the previous step 2a, the minimum $M = M1 (4,0)$ then next two surrounding positions are calculated: $M5 (4,4)$ and $M6 (4,-4)$. As indicated in figure (1) the test for minimum and threshold are performed again, and if the minimum is found, the procedure is complete. Otherwise, step3 continues.

Step3: Assuming that the new minimum location is $M5 (4, 4)$, a similar search procedure (steps 2a and 2b) is continued. except the step is divided by 2. In Figure (1), the new minimum is assumed at $M (2, 4)$.

Step4: The step is further reduced by 2, and the final search (steps 2a and 2b) is performed. The minimum (dx, dy) is found; in Figure (1).

1.2 The Conjugate Direction Search Algorithm

This algorithm is designed for motion vector estimation, it is proposed by Srinivasan and Rao (3). It is an adaptation of the traditional iterative conjugate direction search method can be implemented as one-at-a-time search method, as illustrated in Figure (2).

In Figure (2), the direction of search is parallel to one of coordinate axes, and each variable is adjusted while the other is fixed. This method has been adapted for motion vector estimation [32], as illustrated in Figure (2) the algorithm consists of the following three steps:

Step1: The values of the cost function MAD in the dx direction are calculated, until the minimum is found. The calculation is as follows: (a) $M (0,0)$, $M (1,0)$, and $M (-1,0)$; (b) If $M (1,0)$ is the minimum, $M (2,0)$ is computed and evaluated, and so on. This step completes when a minimum in the dx direction is found in Figure (2) the minimum is assumed $M (2,0)$.

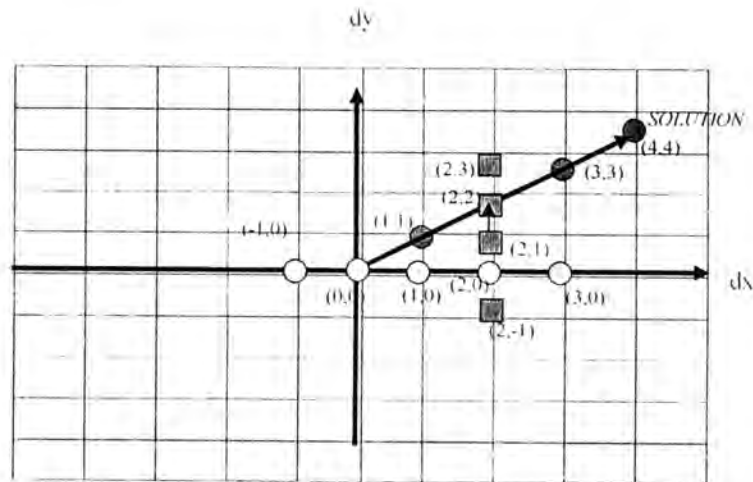


Fig. (2): An example about the conjugate direction search method for motion vector estimation

Step2: The search now continues in the dy direction by calculating cost functions $M(2,-1)$ and $M(2,1)$. A minimum in the dy direction is then found at $M(2, 2)$ in Figure (2).

It may happen that the dx and dy vectors obtain in steps 2 and 3, do not constitute a square as given in Figure (2). In that case, the nearest grid points on the direction joining $(0, 0)$ and the obtained minimum point are selected (3).

1.3 The Three-Step Search Algorithm

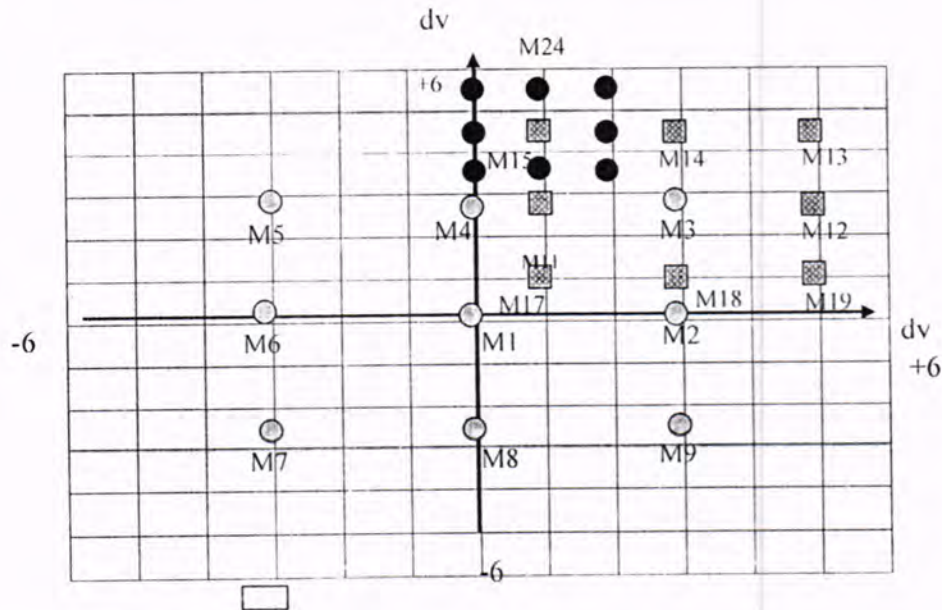
The three-step search algorithm was proposed by Koga et al (4), and implemented by Lee et al (5). In this algorithm first calculate the cost function at the center and eight surrounding locations in the search area. The location that produces the smallest cost function (typically MSD function is used) becomes the center location for the next step, and the search range is reduced by half.

For illustration, a three-step motion vector estimation algorithm for $p=6$ is shown in Figure (3). It consists of the following steps:

Step1: In the first step, nine values for the cost function MAD (simplification purposes denoted as M) are calculated: $M1 = M(0,0)$, $M2 = M(3,0)$, $M3 = M(3,3)$, $M4 = M(0,3)$, $M5 = M(-3,3)$, $M6 = M(-3,0)$, $M7 = M(-3,-3)$, $M8 = M(0,-3)$, $M9 = M(3,-3)$, as illustrated in Figure (3), assuming that M3 gives the smallest cost function, it becomes the location for the next step.

Step2: Nine new cost functions are calculated, for M3 and its surrounding 8 locations, using a smaller step equal to 2. These nine points are denoted in Figure (3) as M11, M12, M13, and M19.

Step3: In the last step, the location with the smallest cost function is selected as a new center location (in the example shown in figure (3.4) the location is assumed M15), and 8 new cost functions are calculated surrounding this location: M21, M22, M23, and M29. The smallest value is the final estimate of the motion vector. In the example in figure (3), it is assumed M24, which gives the motion vector $b \{dx, dy\}$ equal to $\{1, 6\}$. Note that the total number of computations of the cost function is: $9 \times 3 - 2 = 25$, which is much better than 169 in the exhaustive search algorithm.



The range of search {i.e., dx & dy } for each block was taken $\{-6, +6\}$. The choice of the search points was chosen randomly with the limit of the search range.

In the first step the macroblock (16×16) is partitioned into four 8×8 sub-macroblock, and for each sub-macroblock compute the matching criterion value (MAD or MSD) for the center position and compared criterion value with threshold specified by the user of the program. If the criterion value for center sub-macroblock less or equal threshold then the search for sub-macroblock is completed, otherwised, four points from each sub-block will be chosen randomly, since the first point is in the first quarter of search area, second point in the second quarter, third point in the three quarter, and fourth point in the four quarter, in the case of locating the minimum in the first choice, the search will be terminated, otherwise, the range will be minimized to the half and the another four random points will be determined in this new range, this process will be continued until the range is equal to zero, then the search will be terminated.

The above process will be applied to four blocks and then the minimum will be taken for each block, and then will a certain threshold specified by the user of the program.

In the case where the average differences is less than a threshold, then these blocks will not be compressed, and the search for macroblock will stop.

Figure (4) presents an example for choosing the pixels for a sub-macroblock. The following are steps of this example.

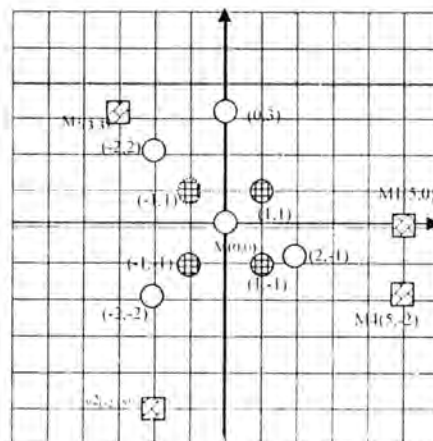


Fig. (4): The Suggested adaptive algorithm-an example

step1● step2⊗ step3○ step4⊠

RESULTS AND DISCUSSION

The results of applying the OTS method, 2-D Logarithmic search method and suggested method on women dins video illustrated in figures 5,6,7 and on women merge video sequence is illustrated in figures 8,9,10. Tables 1 and 2 illustrate the comparison between the three methods results and in this tables we obtain the compression ratio, PSNR, search time for each method and number of blocks in each method.

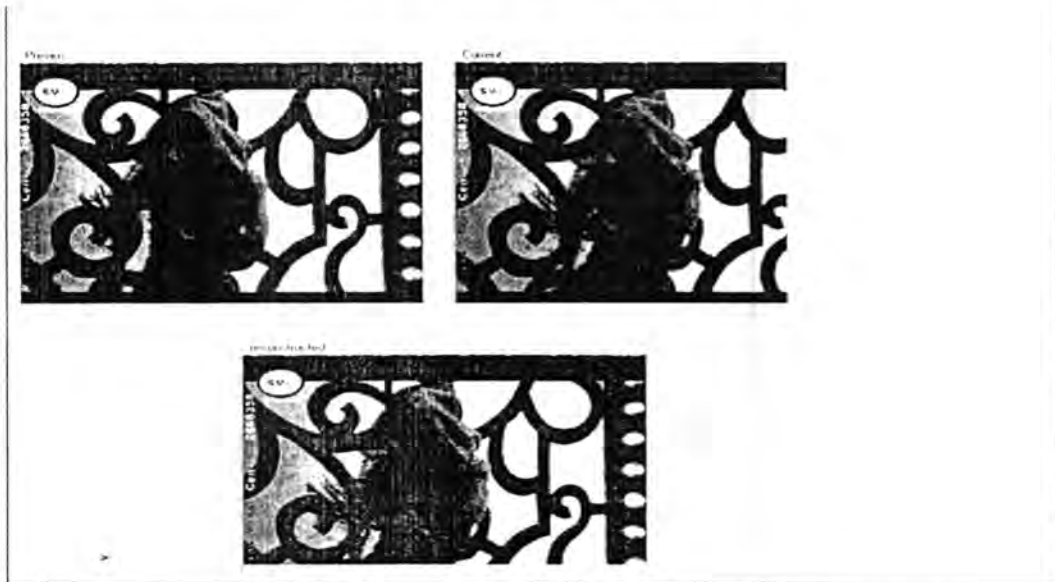


Fig. (5): Some reconstructed frames for the women video sequence using the OTS matching method

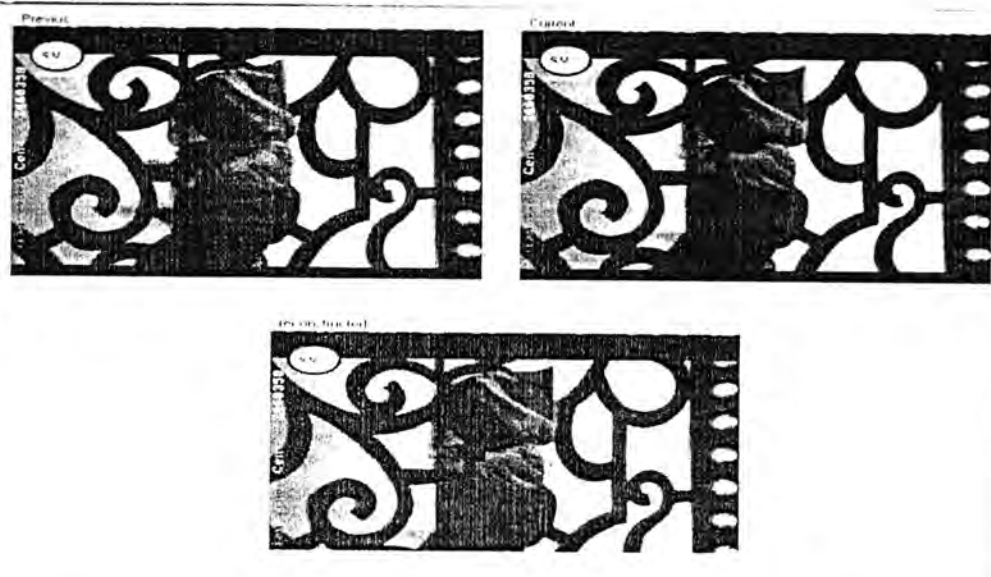


Fig. (6): Some reconstructed frames for the women video sequence using the 2D-log matching method

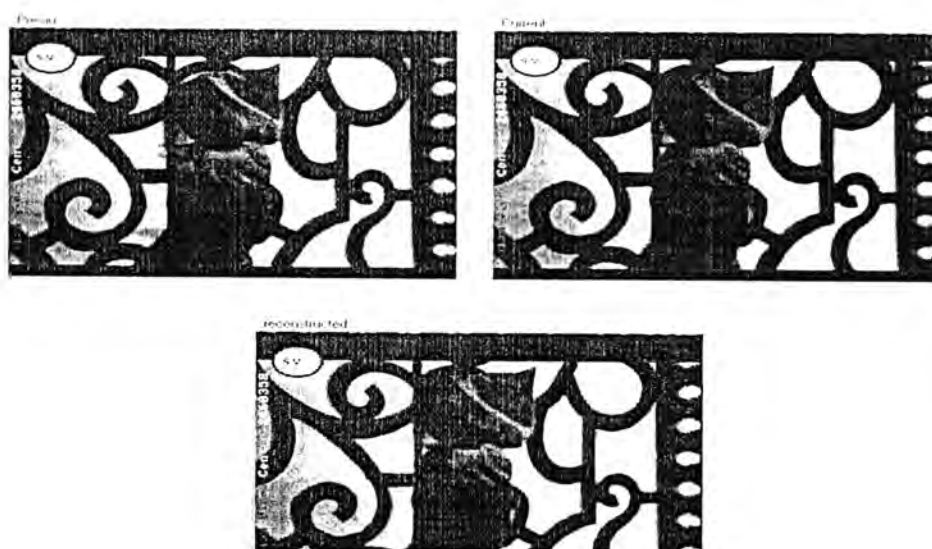


Fig. (7): Some reconstructed frames for the women dins video sequence using the suggested method

Table (1)
Results for women image

Method-name	Cr	PSNR	Search-Time	Number of Block
Three-step search	24.77	35.01	0:0:70msec	8055
(2-D) Logarithmic search	26.27	34.26	0:0:55msec	7956
The Conjugate Direction search	25.89	34.63	0:0:23msec	8076
Suggested Search	25.83	34.56	0:0:7msec	8088

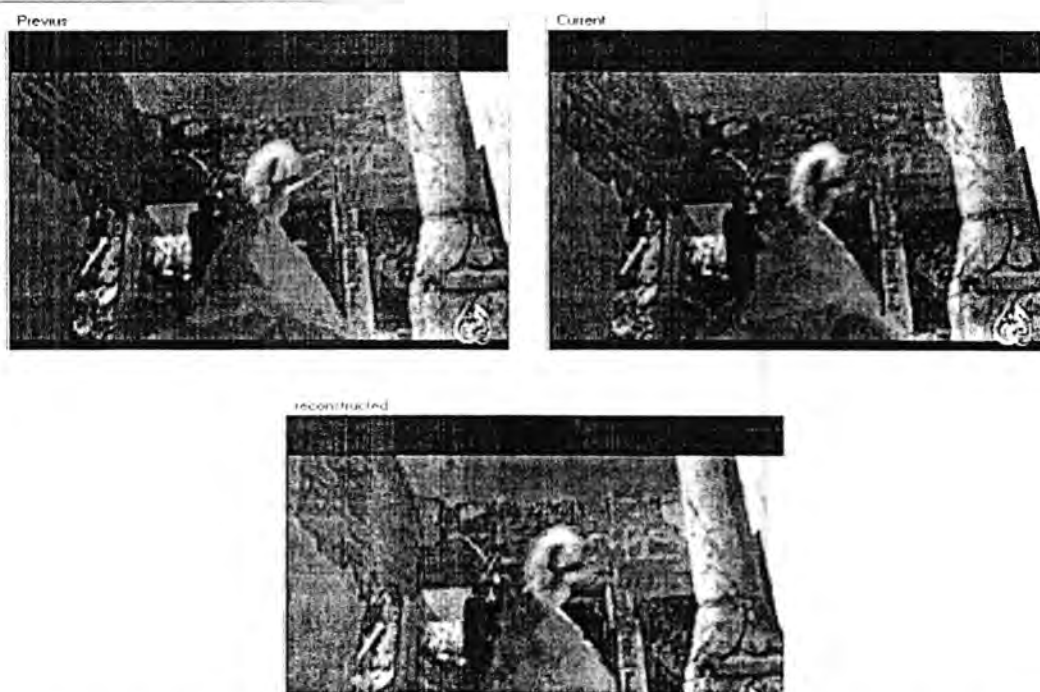


Fig. (8): Some reconstructed frames for the women merge video sequence using the OTS matching method

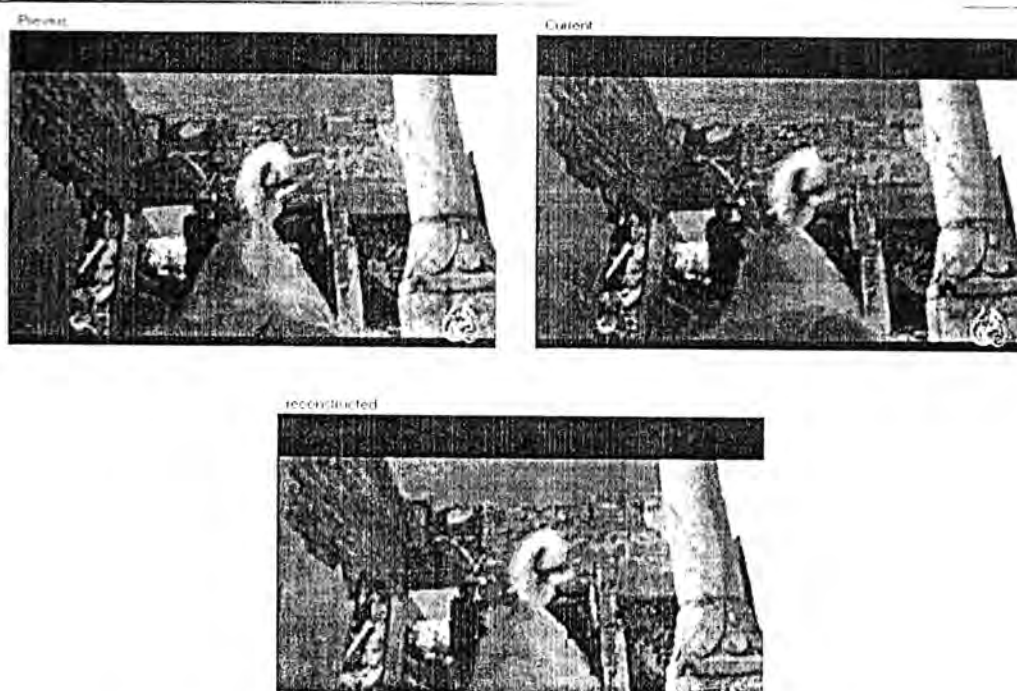


Fig. (9): Some reconstructed frames for the women merge video sequence using the 2D-log matching method

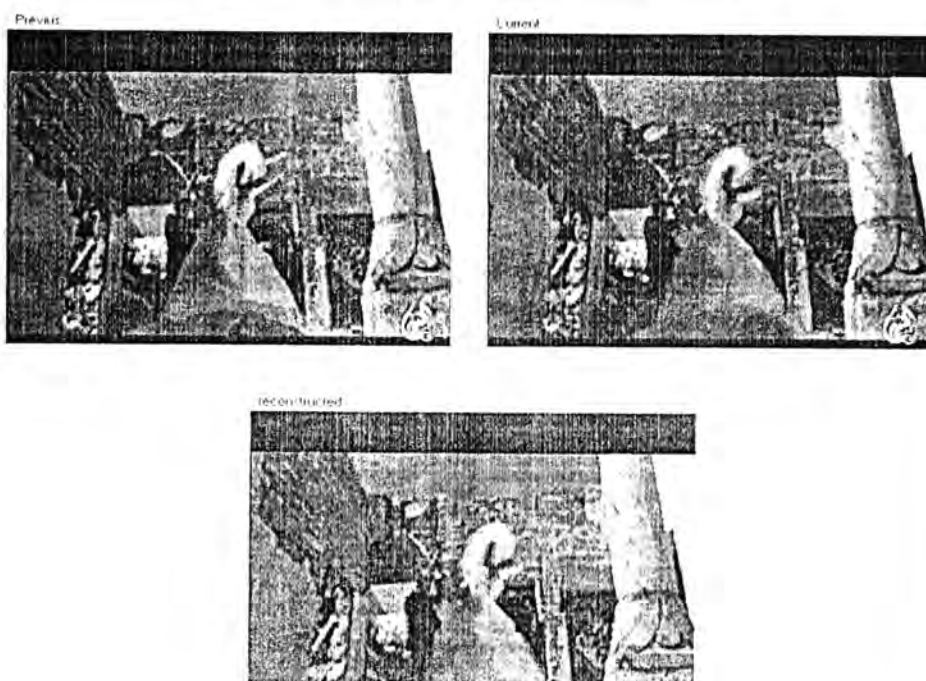


Fig. (10): Some reconstructed frames for the merge video sequence using the suggested method

Table (2)
Results for merge

Method-name	Cr	PSNR	Search-Time	Number of Block
Three-step search	32.02	34.01	0:0:71mse	7855
(2-D) Logarithmic search	31.96	35.61	0:0:45mse	7548
The Conjugate Direction search	31.12	35.73	0:0:32mse	77 76
Suggested Search	31.08	35.86	0:0:22 mse	7740

The results can discussed at the following points:

1. A comparison between the results of OTS method and 2-D logarithmic search method indicate the compression ratio is smaller in a little ratio, but the total PSNR is the larger, the number of compressed block is greater, the search time is less on the average by 60%.
2. A comparison between the results of the suggested method with the result of both methods (2-D logarithmic and OTS), indicated that the compression ratio is less by small ratio, but the total PSNR is higher, the number of compressed blocks is greater or equal to number of blocks in OTS, the search time is smaller on the average by 60% - 80%.

CONCLUSION

1. The suggested method is found faster than classical methods, without causing a significant degradation in PSNR or compression ratio.
2. The number of blocks in the suggested method is smaller than the number of blocks in OTS, and 2-D logarithmic search.
3. The search time for the suggested method is faster in average by about 60 - 80 % than the previous methods.

LIST OF ABBREVIATIONS

Cr	Compression Ratio
NB	Number of Block
PSNR	Peak Signal-To-Noise Ratio
ST	Search time

REFERENCE

1. Shi Y. Q. and Huifong H., "Image and Video Compression for Multimedia Engineering: Fundamentals, Algorithms, and Standards", CRC Press LLC, 1st Ed. (2000).
2. Jain J. R., and Jain A. K., "Displacement Measurement and Its Application in Interframe Image Coding", IEEE Transactions on Communications, 29, 1799-1808 (1981).
3. Srinivasan R. and Rao K. R., "Predictive Coding Based On Efficient Motion Estimation", IEEE Transactions on Communications, 33, 888-896 (1985).
4. Koga J., Iinuma K., Hirano A., Iijima Y. and Ishiguro T., "Motion Compensated Interframe Coding for Video Conferencing", Proc. Of the National Telecommunication Conference, pp.G5.3.1-5.3.5 (1981).
5. Lee W., Kim Y., Gove R. J. and Read G. J., "Media Station 5000, Integrating Video and Audio", IEEE Multimedia, 1(2), 50-61 (1994).

مجلة علوم المستنصرية

مدير التحرير

الأستاذ الدكتور رضا إبراهيم البياتي

رئيس التحرير

الأستاذ الدكتور إحسان شفيق دميرداغ

هيئة التحرير

عضو

أ. د. صبحي كمال حسون

عضو

أ. د. نجاة جواد العبيدي

عضو

أ. م. د. قيس جميل لطيف

عضو

أ. م. د. إنعام عبد الرحمن ملوكي

عضو

أ. م. د. نعمة محسن لفقة

عضو

أ. م. د. إيمان ناطق البياتي

مجلة علوم المستنصرية / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

الفقرات أدناه تذكير بتعليمات النشر لمجلة علوم المستنصرية يرجى مراجعتها والتقيّد بها مع جزيل الشكر.

1. تقوم المجلة بنشر البحوث الرصينة التي لم يسبق نشرها في مكان آخر بعد إخضاعها للتقويم العلمي من قبل مختصين وبأي من اللغتين العربية أو الإنكليزية.

2. يقدم الباحث طلباً تحريراً لنشر البحث في المجلة على أن يكون مرفقاً بأربع نسخ من البحث مطبوعة على الحاسوب ومسحوب ببطابعة ليزيرية وعلى ورق أبيض قياس (A4) مع قرص مرّن (Disk) محمّل بأصل البحث ويرفض البحث الذي يكون عدد صفحاته أكثر من 15 صفحة وبضمنها الأشكال والجداول على أن لا يكون الحرف أصغر من قياس 12.

3. يطبع عنوان البحث وأسماء الباحثين (كاملة) وعناوينهم باللغتين العربية والإنكليزية على ورقة منفصلة شرط أن لا تكتب أسماء الباحثين وعناوينهم في أي مكان آخر من البحث، وتعاد كتابة عنوان البحث فقط على الصفحة الأولى من البحث.

4. تكتب أسماء الباحثين كاملة بحروف كبيرة وفي حالة استخدام اللغة الإنكليزية وكذلك الحروف الأولى فقط من الكلمات (عدا حروف الجر والإضافة) المكونة لعنوان البحث، وتكتب عناوين الباحثين بحروف اعتيادية صغيرة.

5. تقدّم خلاصتان وافيتان لكل بحث، إحداها بالعربية والأخرى بالإنكليزية وتطبع على ورقتين منفصلتين بما لا يزيد على (250) كلمة لكل خلاصة.

6. تقدّم الرسوم التوضيحية منفصلة عن مسودة البحث، وترسم على ورق شفاف (Tracing Paper) بالحبر الصيني الأسود، وترفق ثلاث صور لكل رسم وتكتب.

7. يشار إلى المصدر برقم يوضع بين قوسين بمستوى السطر نفسه بعد الجملة مباشرة وتطبع المصادر على ورقة منفصلة، ويستخدم الأسلوب الدولي المتعارف عليه عند ذكر مختصرات أسماء المجلات.

8. يفضل قدر الإمكان تسلسل البحث ليتضمن العناوين الرئيسية الآتية: المقدمة، طرائق العمل، النتائج والمناقشة، الاستنتاجات، المصادر، وتوضع هذه العناوين دون ترقيم في وسط الصفحة ولا يوضع تحتها خط وتكتب بحروف كبيرة عندما تكون بالإنكليزية.

9. يتبع الأسلوب الآتي عند كتابة المصادر على الصفحة الخاصة بالمصادر: ترقيم المصادر حسب تسلسل ورودها في البحث، يكتب الاسم الأخير (اللقب) للباحث أو الباحثين ثم مختصر الاسمين الأولين فعنوان البحث، مختصر اسم المجلة، المجلد أو الحجم، العدد، الصفحات، (السنة). وفي حالة كون المصدر كتابا يكتب بعد اسم المؤلف أو المؤلفين عنوان الكتاب، الطبعة، الصفحات، (السنة) الشركة الناشرة، مكان الطبع.

10. بخصوص أجور النشر يتم دفع مبلغ (15000) خمسة عشر ألف دينار عند تقديم البحث للنشر وهي غير قابلة للرد ومن ثم يدفع الباحث (15000) خمسة عشر ألف دينار أخرى عند قبول البحث للنشر وبهذا يصبح المبلغ الكلي للنشر ثلاثون ألف دينار.

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
12-1	تأثير المستخلصات المائية منفردة أو مجتمعة لنباتات الكرفس <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. والحلبة <i>Apium graveolens</i> L. <i>Foeniculum vulgare</i> في تثبيط بعض الغزلات البكتيرية المسببة لالتهاب المجاري البولية (خارج وداخل الجسم الحي) إحسان شفيق دميرداغ الوندأوي، سؤدد عبد الإله السامرائي و محمد هاشم الجنابي
22-13	خمج الأذن الوسطى المزمن: المسببات الجرثومية وحساسيتها للمضادات الحيوية د. سمير فتح الله سمعان، د. نزار أدور ناصر و رنا مجاهد عبد الله
29-23	تقييم كفاءة المعالجة الأولية للمحتوى البكتيري في محطة الرستمية علي حسون حمادي، د. خالد عباس رشيد، د. احمد عبد الله رمضان، كمال برزان ندا، زينب حسين علي و أمل ياسين علي
37-30	دراسة التنظيم الحال للبروتين المنتج من العزلة المحلية <i>Staphylococcus aureus</i> المعزولة من خمج السبل البولية في بغداد حسن علي السعدي، محمد فرج المرجاني، مصطفى طه محمد و عبد القادر محمد نوري
49-38	اعادة تأهيل الخلية القاعدية (Ni-Cd) د. عماد فاضل عبد الهادي
59-50	قدرة إيقاف البروتونات باستخدام نظرية التشتت الثنائي نضير جاسم محمد العبيدي

تأثير المستخلصات المائية منفردة أو مجتمعة لنباتات الكرفس

Trigonella foenum- والحلبة Apium graveolens L.

graecum L. وحبه الحلوة Foeniculum vulgaris في تثبيط بعض

العزلات البكتيرية المسببة لالتهاب المجاري البولية

(خارج وداخل الجسم الحي)

إحسان شفيق دميرداغ الوندأوي قسم علوم الحياة، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية
سؤدد عبد الإله السامرائي وزارة العلوم والتكنولوجيا، مركز المستحضرات الطبية الصيدلانية
محمد هاشم الجنابي مركز أبحاث الأجنة وعلاج العقم

الخلاصة

من إدرار 35 مريض بالتهاب المجاري البولية عزلت وشخصت خمسة أجناس بكتيرية *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staph. aureus* ثم درست تأثير مستخلصات بذور نباتية في منع نمو هذه البكتيريا حول حفر في آكار مولر-هنتون Moller-Hinton agar وضعت فيها هذه المستخلصات. كما قدرت قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC في وسط المرق المغذي Nutrient borth لكل من المستخلصات المائية لبذور وثمار النباتات الآتية منفردة أو مجتمعة:

1. أوراق الأس Myrtus communis

2. الحلبة Trigonella foenum-graecum L.

3. ثمار الكرفس Apium graveolens L.

4. ثمار حبة حلوة Foeniculum vulgaris L.

وكانت قيمة التركيز المثبط الأدنى لهذه المستخلصات ضد البكتيريا *Staph. aureus* هي (2.5 ملغم/مل) و (11.7 ملغم/مل) و (26.7 ملغم/مل) و (26.6 ملغم/مل) لكل من أوراق الأس وبذور الحلبة ثمار الكرفس ثمار حبة حلوة على التوالي، في حين كانت قيمة MIC هي (1.25 ملغم/مل) ضد هذه البكتيريا باستعمال مزيج من مستخلص بذور الكرفس وبذور الحلبة. وحصلت نتائج مشابهة عند مزج المستخلصات الأخرى ضد العزلات الأخرى.

واستناداً على هذه النتائج تم اختيار مزيج من مستخلص ثمار الكرفس وبذور الحلبة لمعالجة مرضى بالتهاب المجاري البولية تطوعوا للاختبار، وكانت النتيجة شفاء عشرة مرضى من مجموع 15 مريضاً بعد أن شربوا المستخلص يومياً لمدة ثلاثة أيام مقابل شفاء ثلاث أشخاص من مجموع 15 لم يشربوا المستخلص (السيطرة) وتوافقت هذه النتيجة مع نتائج الفحص المختبري البكتيري للكشف عن وجود البكتيريا والخلايا القياسية في الإدرار.

ABSTRACT

From urine samples of 35 patients suffering from urinary tract Infection we isolated and identified five genera of bacteria: *Escherichia coli*; *Staph. aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Proteus vulgaris* and *Klebsiella sp.* We prepared water extracts from leaves of *Myrtus communis*, seeds of *Trigonella foenum-graecum*; fruits of *Apium* fruits L., and seeds of *Foeniculum vulgaris*. The minimum inhibitory conc. (MIC) of these extracts individually against *Staph. aureus* were 2.5 mg/ml; 11.7 mg/ml; 26.7 mg/ml and 26.6 mg/ml for *Myrtus communis* leaves, *T. f. graecum*, *A. graveolens*, and in *F. vulgaris* respectively, whereas the (MIC) against the same bacteria using *A. graveolens* and *T. f.-graecum* dropped to 1.25 mg/ml. Similar results were obtained using mixture of other extracts.

A hot water extract of a mixture of *Apium* fruits in the ratio of 3 g to 1g was prepared. One cup of such extracts was given orally twice aday for three days to volunteers suffering from urinary tract infection. The patients were under clinical observations and their urine cultures were followed. Results showed recovery of ten patients out of 15 who drank the extract, in contrast to only three recovery out of 15 who drank placebo. The difference was significant at p. 0.01 between treated and non-treated patients in the number of puss cells in urine and the CFU/ml of urine.

المقدمة

تعد حالة التهاب المجاري البولية من الأمراض البكتيرية الشائعة في الإنسان وفي جميع الأعمار. وقد حاول الإنسان منذ القدم معالجة الأمراض التي يتعرض إليها باستعمال النباتات بطرائق مختلفة وتراكت لديه الخبرة عن استعمالات الأعشاب في الطب. وبعد اكتشاف البنسلين وما أعقب ذلك من إنتاج وفير لمضادات حيائية مختلفة سريعة التأثير وسهلة التناول عزف

الإنسان عن النباتات واستعمل المضادات الحيوية وبكثرة (1)، ونتيجة لكثرة الاستعمال وربما لأسباب أخرى بدأت تظهر سلالات بكتيرية مقاومة للمضادات الحيوية (2،3) وبسبب استمرار ظهور السلالات المقاومة لجأ الباحثون مرة أخرى إلى النباتات للحصول على مواد مثبطة للبكتريا المرضية. وهناك أبحاث كثيرة في العالم وفي العراق حول ذلك (4-6).

وقد يكون بعض المركبات المستخلصة من النباتات مانعاً لنمو سلالات البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية (7)، ومع اتجاه الباحثين إلى إجراء أبحاث علمية ودقيقة حول استعمال النباتات للمعالجة مثل استعمال زيت نبات الأس لعلاج الحصى في المرارة (8) وظهور الأبحاث العلمية عن مركبات دوائية في النباتات (9،10) نجد أن بعض الكتب والمؤلفات تشجع كثيراً ولكن بدون إسناد علمي استعمال النباتات للمعالجة مما قد يشكل خطورة على صحة المريض، لذا نجد من الضروري إجراء الاختبارات العلمية المترافقة مع الفحوصات المخبرية قبل إرشاد المريض إلى استعمال الأعشاب للمعالجة.

وبناء على ذلك فقد استهدفت الدراسة الحالية عزل وتشخيص بعض البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية ثم اختبار حساسيتها ضد مستخلصات مائية خام من ثمار الكرفس وثمار حبة حلوة وبذور الحلبة وأوراق الأس ثم معرفة تأثير مستخلص "التآزر" في تثبيط نمو البكتريا المعزولة من إدرار المصابين بحالة التهاب المجاري البولية في وسط غذائي ثم اختبار تأثير مزيج من بذور الحلبة وثمار الكرفس في شفاء مرضى تطوعوا لاختبار المستخلص فيهم ضد التهاب المجاري البولية مع مراقبة ظهور البكتريا والخلايا القيقحية في الإدرار.

المواد وطرائق العمل

العينات

جمعت عينات الإدرار من المرضى المراجعين إلى مستشفى الكرامة والذين كانوا يشكون من التهاب المجاري البولية والمحالين إلى المختبر من قبل الطبيب المعالج وتم التأكد من الحالة المرضية بإجراء الفحص البكتريولوجي لنموذج الإدرار وثبات وجود خلايا قيقحية ووجود (10^3 وحدة تكوين المستعمرة/مل CFU/ml) أو أكثر على وسط إكار الدم (11،12)، ثم انتخبت عينات الإدرار من 35 مريضاً لغرض العزل والتشخيص وإجراء الاختبارات اللاحقة وشم التشخيص الدقيق لأنواع البكتريا باتباع الطرائق البكتريولوجية الزرعية والمجهريّة واختبارات الكيمياء الحيوية (13).

المستخلصات النباتية

استحضرت المستخلصات النباتية من النماذج النباتية الآتية:

1. أوراق الأس
2. بذور الحلبة
3. ثمار الكرفس
4. ثمار حبة حلوة.

غسلت العينات جيداً بماء الحنفية ثم عقت سطحياً بمحلول هايوكلورات الصوديوم (تركيز 0.5%) ثم غسلت عدة مرات بالماء المقطر المعقم ثم جففت تحت (40 °م) لمدة 2-4 أيام وطحنت إلى مسحوق. أضيف لكل غرام واحد من المسحوق 16 مل من الماء المقطر الحار (85-90 °م) ونقعت لمدة نصف ساعة (5). بعد ذلك فصلت الأجزاء غير الذائبة في الماء بواسطة النبذ المركزي (2500 دورة/دقيقة) لمدة ربع ساعة ثم رشح الرائق من خلال ورق ترشيح وإتمان رقم (1). بعد ذلك تم تبخير المحلول تحت الفراغ Vacuum evaporation في درجة الحرارة (40 °م) لحين الحصول على سائل كثيف الذي نقل إلى وعاء صغير ثم جفف في الحاضنة بدرجة (40 °م) خلال (1-2 يوم) للحصول على مسحوق جاف أطلق عليه المستخلص المائي الخام المجفف (4).

تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC للمستخلصات النباتية ضد البكتريا

باستعمال المرق المغذي Nutrient broth تم تحضير سلسلة من التخفيف النصفية من محلول المستخلص المائي الخام المجفف ابتداءً من التركيز (160 ملغم/مل) نزولاً إلى التركيز (1.25 ملغم/مل) في أنابيب اختبار معقمة ثم أضيف إلى كل أنبوبة (0.1 مل) من المعلق البكتيري الحاوي على (10^6 CFU/ml) مأخوذة من مزرعة بعمر 18-24 ساعة حضنت الأنابيب لمدة 24 ساعة تحت (37 °م) واستعملت أنبوبيتين إضافيتين للسيطرة إحداهما تحتوي على البكتريا بدون المستخلص النباتي والأخرى تحتوي على المستخلص النباتي بدون البكتريا. حددت قيمة MIC بأنها أقل تركيز من المدة المضافة التي تمنع ظهور عكورة واضحة للعين المجردة بعد مدة الحضانة. وفي حالة اختبار تأثير مزيج من المستخلصات النباتية تم مزج حجوم متساوية وبتركيزات متساوية من كل من مستخلص مائي خام مجفف. ولغرض تحديد التركيز القاتل الأدنى MBC أخذ مقدار (0.1 مل) من الأنابيب التي لا تظهر فيها عكورة وزرعت في طبق من الاكار المغذي وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة (37 °م)، وحسبت قيمة MBC بأنها أقل تركيز من المادة المضافة الذي سبب تخفيض عدد المستعمرات CFU بمقدار 99% من المزروع الأصلي (13).

تأثير المستخلصات في الشفاء من التهاب المجاري البولية

تطوع ثلاثون مريضاً بحالة التهاب المجاري البولية لمواقع مختلفة في بغداد بين عمر 20-40 سنة. شخّصت الإصابة لديهم بعد إحالتهم إلى المختبر من قبل الطبيب المعالج وإجراء الفحوصات البكتريولوجية للإدرار.

وبناءً على موافقة المركز الوطني لطب الأعشاب واستناداً إلى التجارب العملية الموضحة في جدول (1) تم تحضير خلطة من ثمار الكرفس وبذور الحلبة بنسبة 3 كرفس إلى 1 حلبة (وزناً) ولم يوافق المركز على استعمال أوراق الأس، تم طحن البذور والثمار إلى هيئة مسحوق. أعطى المسحوق المحضر إلى المريض ليستعمل بتقنيع (4 غم) منه (الجاهز في عبوة خاصة لديه) في كوب من الماء الحار (85-90 °م) لمدة ربع ساعة ثم شربه وتكرار ذلك ثلاث مرات في اليوم الواحد (أي يحضر ثلاث مرات يومياً) لمدة ثلاثة أيام وسميت هذه المجموعة بالمعاملة أما المقارنة (السيطرة) فلم يتناولوا أي شراب. وتمت متابعة كل مريض يومياً للتأكد من التزامه بالتعليمات، كما أجري فحص بكتريولوجي للإدرار كل مريض قبل المعالجة (ساعة الصفر) وفي اليوم الثالث من المعالجة لغرض معرفة وجود المسببات البكتيرية المرضية والخلايا القيقحية بالمستوى التي تعد مرضياً.

التحليلات الإحصائية

تم تحليل النتائج إحصائياً بطريقة ANOVA واختبار -تي T-test عند مستوى الاحتمالية 0.05 ومستوى 0.01 في مركز الحاسبة الإلكترونية في الجامعة المستنصرية.

النتائج

تشخيص العزلات البكتيرية

تم الحصول على 30 عزلة بكتيرية من 35 عينة إدرار وتم تشخيص الأجناس والأنواع التالية *E. coli* بواقع 11 عزلة، *Klebsiella sp.* بواقع 8 عزلات، *Proteus vulgaris* بواقع 5 عزلات، *Pseudomonas aeruginosa* بواقع 4 عزلات، *Staph. Aureus* بواقع عزلتين.

أ. تقدير التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC: يوضح الجدول رقم (1) قيم التركيز المثبط الأدنى MIC للمستخلصات النباتية منفردة أو مجتمعة ضد العزلات البكتيرية المسببة للتهاب المجاري البولية. ولم تكتب قيم التركيز القاتل الأدنى MBC في الجدول لأن هذه القيم كانت دائماً ضعف تركيز الـ MIC بسبب استعمال التخفيف النصفية للمستخلصات، وكما هو واضح في الجدول (1). وقد انتخب عزلتان لكل نوع بكتيري أحدهما حساسة والأخرى مقاومة لكل أو لمعظم المضادات الحيوية (14). ومن تدقيق الجدول (1) يتضح وجود تباين بين الأنواع وبين عزلات النوع الواحد في حساسيتها تجاه المستخلصات النباتية، ويبدو بشكل عام أن العزلة البكتيرية التي كانت مقاومة للمضادات الحيوية بشكل كبير حساسة تجاه المستخلصات النباتية بدرجة أكبر من العزلات الحساسة للمضادات الحيوية. كذلك تباين تأثير المستخلصات النباتية في الأنواع البكتيرية المستعملة، كما يلاحظ أن المستخلص المائي المجفف لأوراق الأس يحمل تأثيراً مثبطاً أقوى من كل المستخلصات النباتية الأخرى التي استعملت في هذه التجربة. من الملفت للنظر في هذا الجدول هو التآزر الواضح بين مستخلصي نباتين مختلفين في التأثير في نمو البكتيريا. فمثلاً قيمة MIC لثمار الكرفس ضد عزلات بكتيريا *E. coli* كانت (40 ملغم/مل)، والقيمة لبذور الحلبة ضد البكتيريا نفسها كانت (16.6 ملغم/مل) في حين انخفضت هذه القيمة إلى (5.8 ملغم/مل) لكل من المستخلصين في حالة استخدام مزيج المستخلصين من بذور الكرفس وبذور الحلبة. ومن الممكن ملاحظة الأرقام الأخرى في الجدول.

ب. دور المستخلصات في الشفاء من حالة التهاب المجاري البولية: أوضحت النتائج في الجدول (2) تآزراً واضحاً بين ثمار الكرفس وبذور الحلبة ولو أن مستخلص الأس كان أقوى تأثيراً إلا أن مستخلص الأس لم يستعمل بسبب عدم موافقة مركز طب الأعشاب وبسبب احتمال سمية أوراق الأس (15) فقد استعمل مزيج بذور الكرفس والحلبة للمعالجة. ويظهر في الجدول رقم (2) وبموجب التحليلات الإحصائية أن هناك فروقاً معنوية في نسبة الشفاء بين المجموعة التي عولجت بالمستخلص بنسبة شفاء 66.6% (10 من مجموع 15) وبين مجموعة المقارنة التي لم تتناول العلاج بنسبة شفاء 20% (3 من مجموع 15) كذلك كانت هناك فروقاً معنوية في عدد الخلايا القيقحية Puss cell وفي ظهور وعدد الوحدات المكونة للمستعمرة CFU/مل في إدرار المرضى. ويلاحظ في الجدول (2) أن

البكتريا *E. coli* والبكتريا *Klebsiella sp.* هما النوعان السائدان في إدرار كلتا المجموعتين من المرضى.

المناقشة

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن بكتريا *E. coli* (وبنسبة 37%) والبكتريا *Klebsiella sp.* (بنسبة 27%) هي أكثر المسببات البكتيرية ظهوراً في إدرار المرضى بحالة التهاب المجاري البولية وانهما ظهرا سوياً في إدرار مريض واحد في الأقل وهذه متفقة مع ما وجدته ليسلي (16). وكانت معظم العزلات الثلاثين مقاومة لعدد من المضادات الحيوية (14) ولهذا نجد الباحثين في جميع أنحاء العالم يحاولون استكشاف مستخلصات نباتية أو مركبات في النباتات مانعة لنمو البكتريا (17، 5-19) وفي هذه الدراسة تأكدت نتائج سابقة بأن المستخلص المائي لأوراق الأس ذو فعالية قوية ضد عدد من البكتريا، وبدرجة أكبر من ثمار الكرفس وبذور الحلبة سوياً، ربما بسبب كثرة المواد الفينولية والدباغية في هذه الأوراق (18)، ولكن بسبب مخاطر السمية لم تستعمل هذه الأوراق (6). كما وجدنا أن مستخلص بذور الحلبة كان أكفاً من أي المستخلصات الأخرى ضد البكتريا *E. coli* المقاومة لثلاث مضادات حيوية (14). كما أن مزيج مستخلص ثمار الكرفس وبذور الحلبة قد أعطت نتائج جيدة في الشفاء من حالة التهاب المجاري البولية (جدول رقم 2) وهذه النتائج تؤكد نقطتين أولهما صحة استعمال مزيج من الأعشاب وليس عشب واحد بمفرده وهذا ما ينصح به المختصون بالنباتات الطبية، وثانيهما وجود تآزر بين المستخلصين كما تبين ذلك واضحاً خلال الاختبارات في الأوساط الزرعية، جدول (1)، وهذه حالة مشار إليها في أبحاث سابقة (19).

كما لاحظنا بشكل عام أن العزلات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية هي أكثر حساسية إلى المستخلصات النباتية من العزلات الحساسة للمضادات الحيوية، فإن تأكدت هذه الحالة فقد يكون من الأفضل معالجة المريض بالمضادات الحيوية والمستخلصات النباتية في نفسه. ومن الضروري التعمق في دراسة ميكانيكية التآزر بين مستخلصات نباتية مختلفة ومعرفة طبيعة المركبات العاملة في التآزر ثم التأكد من أن العزلات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية هي أكثر حساسية للمستخلصات النباتية ثم محاولة إيجاد تفسير علمي لهذه الحالة مما سيؤدي حتماً إلى تصنيع أفضل للأدوية.

أما النباتات المستخدمة في البحث يحتوي كل منها على مواد فعالة خاصة بها وهذه المواد قد تكون هي السبب في الفعالية التثبيطية ضد البكتريا فمثلاً بذور الحلبة غالباً ما تحوي على القلويدات ويسمى القلويد الموجود في هذا النبات Trigonellin (20) أما ثمار الكرفس وحبّة الحلوة هي إحدى أفضل المصادر المعروفة عن مادة الكومارين والتي تتصف بفعاليتها المضادة للميكروبات (21) وعن نبات الأس اكتشف الباحثان (22) الفعالية المضادة للميكروبات وبتأثير مثبت Bacteriostatic من المواد المستخلصة وهي الفينولات ومتعدد الفينولات وهي من المكونات المهمة بالأوراق.

لقد تباينت النباتات المستخدمة فيما بينها من جهة الفعالية التثبيطية على البكتريا على الرغم من أن جميع النباتات المستخدمة في البحث تحوي على الزيوت الطيارة كمادة فعالة (23) ويمكن تفسير التباين بين المستخلصات المائية (أوراق الأس، بذور الحلبة، ثمار الكرفس، ثمار حبة الحلوة) من جهة تأثيرها في البكتريا هو اختلاف المكونات الكيميائية لكل منها سواء كانت زيوتاً طيارة أو قلويدات أو غيرها فضلاً عن اختلاف الجزء النباتي المستخدم كأن يكون أوراقاً أو بذوراً. لقد تم التركيز على تحضير المستخلص النباتي بطريقة بسيطة وهي الاستخلاص بالماء ودراسة التأثير في البكتريا في ظروف التجربة *In Vitro* بشكل نقيع في ماء مغلي وذلك لأن الأعشاب تستعمل من قبل المرضى أي داخل الجسم الحي *In Vivo* بهذه الطريقة البسيطة وعلى الباحث أن يأخذ بالحساب عند القيام بأي تجربة العوامل المهمة التي تؤثر فيها فمثلاً من خلال التجارب خارج الجسم الحي لوحظ أن زيادة درجة الحرارة إلى (100 °م) ولمدة أكثر من ربع ساعة تؤدي إلى تناقص الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية المجففة عدا المستخلص المائي لأوراق الأس. إن هذه النتيجة تتصح باستخدام العشب بشكل نقيع في ماء مغلي كالشاي أي أن التسخين يفضل أن يكون لمدة قليلة تجنباً لتلف المادة الفعالة في النبات كما أن مدة الخزن لأكثر من ثلاثة أسابيع في الثلاجة أيضاً تؤدي إلى تناقص الفعالية التثبيطية. ونستنتج أن المستخلصات النباتية تمتلك فعالية قاتلة Bacteriocidal أو مثبطة Bacteriostatic ولكن قد أثناء الاستخلاص أو الخزن وإن طريقة الاستخلاص والوقت ودرجة الحرارة ومدة الخزن وتركيز المستخلص تعد من العوامل الرئيسية في التأثير في فقدان الفعالية المضادة للبكتريا للعصائر الخضرية (24،25).

جدول (1)

التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC مقدراً بـ (ملغم/مل) للمستخلصات المانوية المجففة على العزلات البكتيرية المسببة لالتهاب المجاري البولية، وتشير الحروف المتشابهة إلى انعدام الفرق المعنوي بين عزلي الجنس البكتيري الواحد وبتأثير المستخلص الواحد (للعמוד الواحد) في مستوى احتمالية 0.05

رقم العزلة	اسم العزلة	المستخلصات المانوية المجففة					
		ياس	حلبة	كرفس	حبة حلوة	كرفس مع حبة	حبة حلوة مع كرفس
18	E. coli (R)	a 5.8	a 16.7	a 40	a 40	a 5.8	a 11.7
31	E. coli (S)	a 10	a 33.3	a 40	a 40	a 10	a 33.3
9	Klebsiella spp. (R)	a 5	a 20	a 40	a 40	a 13	a 11.7
17	Klebsiella spp. (S)	b 20	a 26.7	a 40	— —	a 16.7	a 26.7
	P.vulgaris (R)	a 5	— —	— —	— —	a 20	a 33.3
	P.vulgaris (S)	b 16.7	— —	— —	— —	a 33.3	a 40
	P.aeruginosa (R)	a 33.3	— —	— —	— —	a 20	a 33.3
	P.aeruginosa (S)	a 20	— —	— —	— —	a 26.7	a 33.3
	S.aures (R)	a 2.5	11.7	26.7	26.6	a 1.25	a 2.5
	S.aures (s)	a 2.5	— —	— —	— —	a 10	a 20
	المعدل الكلي	12.04	21.56	37	37	15.6	22.97

- * لم تكتب قيم MBC فقد كانت دائماً ضعف قيمة MIC.
- * ————— يعني أن المستخلص لم يكن مؤثراً في كل التراكيز.

جدول (2)

تأثير مستخلص الكرفس والحلبة في البكتيريا المسببة لالتهاب المجاري البولية داخل الجسم الحي والحروف المختلفة a, b تعني وجود فرق معنوي بين مجموعتي المعاملة والسيطرة عند

مستوى الاحتمالية 0.01

الشفاء	اسم البكتيريا	الفحص الثاني (بعد 3 أيام)		الفحص الأول (ساعة الصفر)		ت مج السيطرة
		Cfu/m/x 10 ⁻³	عدد الخلايا القيقية	Cfu/m/x 10 ⁻³	عدد الخلايا القيقية	
-	<i>E. coli</i>	70	25	72	36	1
-	<i>E. coli</i>	22	25	5	17	2
+	<i>Klebsiella spp.</i>	لا يوجد نمو	4	23	28	3
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	2	4	15	4
-	<i>E. coli</i>	26	27	2	14	5
-	<i>Klebsiella spp.</i>	3	14	2	13	6
-	<i>E. coli</i>	23	26	5	17	7
-	<i>E. coli</i>	4	16	2	13	8
-	<i>E. coli</i>	20	26	21	25	9
-	<i>E. coli</i>	4	16	4	15	10
-	<i>E. coli</i>	5	16	5	71	11
-	<i>E. coli</i>	4	15	2	14	12
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	3	26	27	13
-	<i>Klebsiella spp.</i>	22	26	22	25	14
-	<i>Klebsiella spp.</i>	4	15	5	16	15
%20	نسبة الشفاء (3من15)	12×10 ² a	18a	13×10 ²	19	المعدل الكلي
						المعاملة
-	<i>E. coli</i>	5	17	8	18	1
+	<i>Klebsiella spp.</i>	لا يوجد نمو	2	5	16	2
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	1	22	27	3
+	<i>Klebsiella spp.</i>	لا يوجد نمو	2	4	16	4
-	<i>E. coli</i>	5	16	5	17	5
+	<i>Klebsiella spp.</i>	لا يوجد نمو	2	3	16	6
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	2	5	16	7
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	2	4	16	8
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	3	22	26	9
-	<i>E. coli</i>	21	27	22	27	10
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	3	6	17	11
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	1	4	15	12
+	<i>E. coli</i>	لا يوجد نمو	2	20	24	13
-	<i>E. coli</i>	5	17	3	15	14
-	<i>Klebsiella spp.</i>	21	27	19	25	15
%66.6	نسبة الشفاء (10من15)	4×10 ¹ b	3b	9×10 ¹	19	المعدل الكلي

المصادر

1. Smith H., "Antibiotics in Clinical Practice", Pitman medical (1977).
2. Ward P.B., Johnson P.D., Grabsch E.A., Mayall B.C. and Grayson M.L., "Treatment Failure Due to Methiciline-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with Reduced Susceptibility to Vancomycin", Med. J. Australia, 175(9), 480-483 (2001).
3. Ofleyn D.C., Power R.F., Murphy D.M., "Antimicrobial Resistance Amongst Microorganisms Causing Urinary Tract Infection in Iraq", The Iraq Medical Association, 32, 27-37 (1984).
4. Damirdagh I.S., "Curing Trichophyton Mentagrophytes Lesion in Guinea Pigs by Extract of Harmala Seeds", Al-Mustansiriya J. Sci. 11(2), 35-39 (2000).
5. Anesini C. and Perez C., "Screening of Plants Used in Argentine Folk Medicine for Antimicrobial Activity", J. of Ethnopharmacology, 39, 119-128 (1993).
6. Tawij Hasni A.A., Sayed Ali H.M. and Al-Zohyri A.M., "Pharmacological Phytochemical and Antimicrobial Studies on Myrtus Communis. Part 2: Glycaemic and Antimicrobial Studies", J. Biol. Sci. Res. (Iraq), 19(1), 41-52 (1988).
7. Sato Y., Oketani H., Yamada T. and etal, "A Xanthanolide with Potent Antibacterial Activity Against Methycilin Resistant *S. aureus*", J. Pharmacol., 49(10), 1042-1044 (1979).
8. Nishimura M., "Using of Myrtus Communis Essential Oil in Treatment of Gall-bladder Stones", Jap. J. Surg., 2, 62-68 (1992).
9. Ayoub M.T., Rashan L.J., Khazaji A.T. and Adaay M.H., "An Oxamide from *Peganum Harmala* Seeds", Phytochemistry, 28(7), 2000-2001 (1989).
10. Al-Shamma A. and Mitscher L.A., "Comprehensive Survey of Mdiginous Iraqi Plants for Potential Economics", Vol. I, Screening Results of 327 Species for Alkaloids and Antimicrobial Agents. Liodyia 42(6), 633-642 (1979).
11. Ballows A. and Wandepitte J., "Bench-level Procedure Manual on Basic Bacteriology", W.H.O./ Lab/87.1 (1987).
12. السامرائي، سؤدد عبد الله محمد، تأثير بعض المستخلصات النباتية في الجراثيم المعزولة من المصابين بالتهاب المجاري البولية والقناة الهضمية . رسالة ماجستير/ قسم علوم الحياة/ علوم الجامعة المستنصرية (2000).
13. Atlash R.M., Parks L.C. and Broun A.E., "Experimental Microbiology", Laboratory Manual, Mosby-Year Book Inc., U.S.A. (1995).

14. السامرائي، سؤدد عبد الله محمد والوندائي، إحسان شفيق دميرداغ، المقارنة بين المستخلصات النباتية والمضادات الحيوية في التأثير في البكتريا المسببة لالتهابات المجاري البولية، المجلة العراقية للعلوم والتكنولوجيا المجلد (1) العدد 1 ص 19-28 سنة 2004.
15. Al-Asady A.A.N. "Some Antibacterial and Antifungal Action of *Myrtus Communis*", M. Sc. Thesis, College of Medicine, Baghdad University (1995).
16. Lesley E. "The Pathogenesis of Urinary Tract Infection Associated with *E. coli*", J. Med. Microbial., 32, 135-139 (1990).
17. Jawad A.M., Al-Zohyri A.M. and Al-Jebory A.A... "Cardiovascular and Antimicrobial; Effects of *Myrtus Communis*", J. Biol. Sci. Res., (Iraq), 19(2), 307-317 (1988).
18. El-Sissi H.I. and El-Ansary M.A., "Tannins and Polyphenols of the Leaves of *Myrtus Communis*", Planta medica. 15(1), 41-51 (1967).
19. Damirdagh I.S., "Synergistic Inhibitory Action of Mixture of Two Plants Extracts on the Growth of Trichophyton Mentagrophytes", Al-Fath J. of Diyala University, 3(5), 73-82 (1999).
20. مجيد، شامل هاشم ومحمود، مهند جميل، النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي، الطبعة الأولى، مطبعة دار الثورة (1988).
21. Torres R., "Coumarins and Cinnamic Acid from Gymnophyton is Atidicarpum", Lioydia., 42(5), 532-533 (1979).
22. Degtyarova A.P. and Poeninok V. Ya., "Physiochemical and Antibacterial Properties of Crystalline Sub. S. Isolated from the Leaves of *Myrtus Communis*, *F. Leaveopinea* and *E. Wilkinsoniana*", Pharm. J., 15(6), 47-52 (1960).
23. الزبيدي، زهير نجيب؛ بابان، هدى عبدالكريم وفليح، فارس كاظم، دليل العلاج بالأعشاب الطبية العراقية، مركز طب الأعشاب (1996).
24. بابنه ، باسم فؤاد عواد، العوامل التي تؤثر على فعالية مستخلص الثوم في هلاك بكتريا *Staphylococcus Aureus* رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد (1979).
25. Al-Delaimy K.S. and Ali S.H. "Antibacterial Action of Vegetable Extracts on the Growth of Pathogenic Bacteria", J. Sci. Food Agric., 21, 110-112 (1970).

خمج الأذن الوسطى المزمن: المسببات الجرثومية وحساسيتها

للمضادات الحيوية

- د. سمير فتح الله سمعان الجامعة المستنصرية، كلية العلوم، قسم علوم الحياة
د. نزار أدور ناصر الجامعة المستنصرية، كلية العلوم، قسم علوم الحياة
رنا مجاهد عبد الله جامعة بغداد، كلية التربية-ابن الهيثم، قسم علوم الحياة

الخلاصة

جمعت (120) مسحة أذن من مرضى يعانون من التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن والمراجعين للعيادات الاستشارية والخارجية لمستشفى الكاظمية التعليمي في بغداد خلال الفترة من (1-10-2000) ولغاية (30-1-2001). كانت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* الممرضة السائدة في التهاب الأذن الوسطى المزمن حيث كانت تمثل (48) عزلة ونسبة (40 %) تليها كل من بكتريا *Proteus mirabilis* فتمثل (17) (14.2 %) ثم *Staphylococcus aureus* تمثلت (15) بنسبة (12.5 %). اجري اختبار الحساسية للبكتريا المعزولة باستخدام المضادات الحيوية مثل الامبسلين، الاموكسسلين، الكلوكساسلين، البيراسلين، الكلنداميسين، الكاربنسولين، الفانكوميسين، الاميكاسين، التوبراميسين، الافلوكساسين، السبرروفلوكساسين، السيفوتاكسيم والجنتاميسين.

ABSTRACT

A total of 120 ear swab samples were obtained from patients suffering from chronic suppurative otitis media (CSOM), visiting the ENT out patient clinic at Al-Kadhymia Teaching Hospital in Baghdad city. The period of study was from October 2000 to the end of January 2001. Results exhibited that *Pseudomonas aeruginosa* was the most common bacteria (48) isolates represent (40 %), followed by *Proteus mirabilis* (17) represent (14.2 %) and *Staphylococcus aureus*, which constituted 15 represent (12.5 %) of the total isolates. These isolate were tested against thirteen

antibiotic discs namely Ampicillin, Amoxycillin, Cloxacillin, Clindamycin, Ciprofloxacin, Ofloxacin, Piperacillin, Vancomycin, Cefotaxime, Carbencillin, Gentamicin, Tobramycin and Amikacin in order to determine their susceptibility to these drugs.

المقدمة

يعتبر التهاب الأذن الوسطى Otitis media من الأمراض المهمة التي تصيب كلا من البالغين والأطفال. إذ تعد البكتيريا من مسببات المهمة لحدوثه (1). إن مرض التهاب الأذن الوسطى الناتجة عن التهابات الجهاز التنفسي العلوي لدى الأطفال والبالغين. وإن الإصابات المتكررة للأذن تؤدي إلى حدوث مضاعفات وتشوهات تشريحية لأنبوب أوستاكي (2). يعتبر مرض التهاب الأذن الوسطى الحاد من الأمراض الشائعة بين الأطفال ولكن النوع المزمن يكون من الأمراض الأكثر شيوعاً بينها (3) ويكون العلاج أحياناً صعب بسبب نشوء المقاومة في البكتيريا للمضادات الحيوية المستعملة إضافة إلى الطبيعة المتكررة للإصابة بالمرض بشكل دوري وهناك حالات اختلاط مهمة قد ترافق المرض مثل قلة أو فقدان السمع (4). وتكون البكتيريا من أكثر مسببات لهذا المرض ومنها بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* من مسببات الرئيسية لهذا النوع من الإصابات (5). أما في حالة الإصابة بالتهاب الأذن الوسطى المزمن فإن أكثر الأنواع البكتيرية المسببة للمرض تكون *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* وبعض أنواع البكتيريا من عائلة Enterobacteriaceae (6). وجاءت هذه الدراسة لتهدف إلى التعرف على مسببات البكتيرية الرئيسية لالتهاب الأذن الوسطى المزمنة مع دراسة حساسية العزلات للمضادات الحيوية المختلفة.

المواد و طرائق العمل

جمعت (120) مسحة أذن من مرضى يعانون من التهاب الأذن الوسطى الفيحي المزمن والمراجعين للعيادات الاستشارية الخارجية لاختصاص الأنف والحنجرة في مستشفى الكاظمية التعليمي في بغداد خلال الفترة من (1-10-2000) ولغاية (30-1-2001). زرعت العينات على الأوساط الزرع الإغمائية والتفريقية لغرض عزل مسببات البكتيرية حيث استعمل وسط اكار الدم ووسط الماكونكي ووسط المانتول الملحي وحضنت

الأطباق بدرجة 37 °م ولمدة 18-24 ساعة. ومن ثم أخضعت العزلات البكتيرية إلى الفحوصات المجهرية والبايوكيمياوية لغرض تشخيصها حيث استعمل فحص الكاتاليز وإنزيم مخثر للبلازما والاكسيداز واليوريز والاندول والمثل الأحمر والفوكس بروسكاور واستهلاك السترات. تم استعمال عدة التشخيص API 20 E لغرض التشخيص النهائي للبكتريا السالبة لصبغة كرام (Bio Merieux France)، أما عن المضادات الحيوية المستخدمة في فحص الحساسية فقد استعمل كل من:

Ampicillin (AM) 10 µg, Amikacin (AK) 30 µg, Amoxycillin (AMX) 10 µg, Piperacillin (IP) 100 µg, Vancomycin (VA) 30 µg, Cefotaxime (CTX) 30 µg, Gentamicin (CN) 10 µg, Tobramycin (TOP) 100 µg, Carbencillin (CAR) 100 µg, Clindamycin (CM) 2 µg, Ofloxacin (OFX) 10 µg, Ciprofloxacin (CIP) 5 µg, Cloxacillin (CX) 10 µg.

واعتماداً على طريقة Kirby Bauer المذكورة في (7).

استخدم اختبار Chi-square test (X2) لغرض اختبار معنوية الإصابة بين الذكور والإناث ولمعرفة معنوية الفروق لنسب الإصابة بين الفروق العمرية. واستعمل الاختبار أيضاً لمعرفة معنوية الإصابة بأنواع البكتريا المرضية المتواجدة.

النتائج

أظهرت النتائج إن أكثر أنواع السائدة والمسببة لالتهاب الأذن الوسطى كانت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* إذ ظهرت (48) عزلة بنسبة (40 %)، تليها بكتريا *Proteus mirabilis* والتي مثلت (17) عزلة أي نسبة (14.2 %)، أما في المرتبة الثالثة فكانت بكتريا *Staphylococcus aureus* ومثلت (15) عزلة أي نسبة (12.5 %). عزلت بعض أنواع البكتريا والفطريات، ونظراً إلى إن البكتريا *S.epidermidis* تعتبر من الأنواع غير مسببة للمرض لذلك لم يتم دراستها أما الفطريات فتركزت لدراسة مستقبلية لأن الهدف من البحث هو دراسة المسببات البكتيرية الرئيسية للمرض، وكما موضح في الجدول (1).

كانت أكثر فئة عمرية مصابة بالمرض محصورة بين الأعمار (21-30) سنة إذ شكلت (41) حالة أي بنسبة (34.2 %) أما الفئة العمرية بين (31-40) سنة فكانت تمثل (30) حالة وبنسبة (25 %)، ثم مجموعة الأعمار بين (41-50) سنة إذ مثلت (15) حالة وبنسبة (12.5 %)، وجاءت مجموعة الأعمار بين (1-20) سنة فمثلت (13) حالة وبنسبة (10.9 %).

ثم الفئة (أقل من 10) سنوات إذ كانت تمثل (11) حالة وبنسبة (9.2 %) أما الفئة العمرية بين (51- 60) سنة فسجلت نسبة (8.4 %) إصابة وكما موضح بالجدول (2).

جدول (1)

يمثل العدد والنسب المئوية لأنواع البكتيريا المسببة لالتهاب الأذن الوسطى المزمن

المسبب المرضي	الذكور (%)	الإناث (%)	المجموع (%)
<i>P. aeruginosa</i>	21 (42)	27 (38.6)	48 (40)
<i>Proteus mirabilis</i>	5 (10)	12 (17.2)	17 (14.2)
<i>S. aureus</i>	5 (10)	10 (14.3)	15 (12.5)
<i>S. epidermidis</i>	4 (8)	8 (11.4)	12 (10)
Other G-ve	2 (4)	2 (2.9)	4 (3.3)
<i>Aspergillus spp.</i>	1 (2)	3 (4.3)	4 (3.3)
<i>Candida spp.</i>	1 (2)	1 (1.4)	2 (1.7)
No growth	11 (22)	7 (10)	18 (15)
Total	50 (41.6)	70 (58.4)	120 (100)

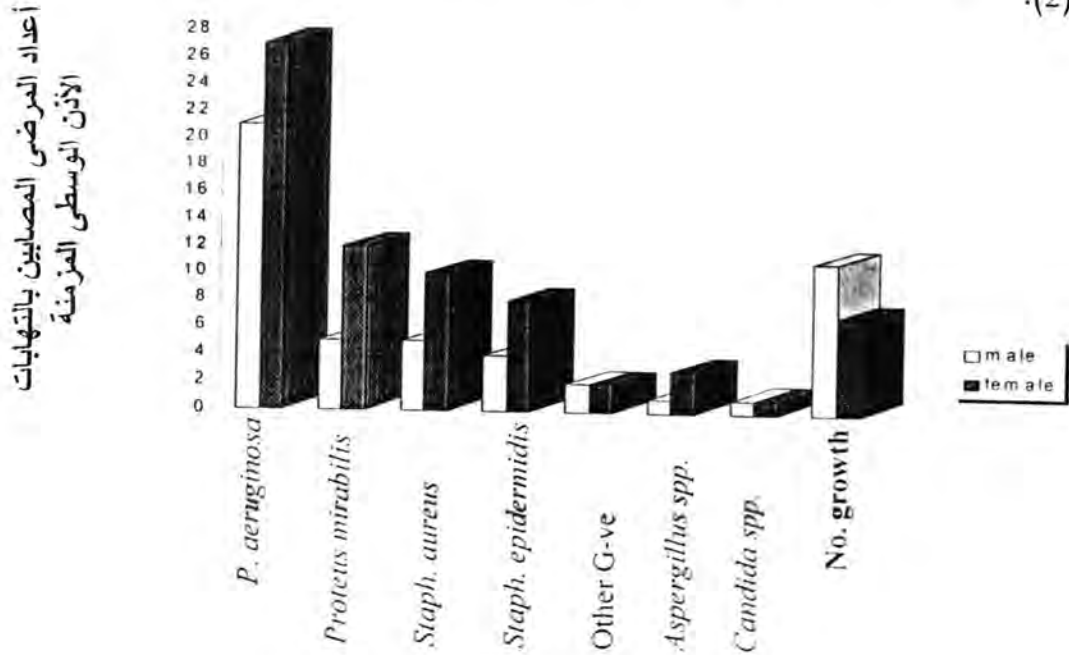
جدول (2)

توزيع الفئات العمرية للمصابين بالمرض مع النسبة المئوية لكل فئة

الفئة العمرية (سنة)	الذكور	الإناث	المجموع (%)
أقل من 10	3	8	11 (9.2)
11-20	5	8	13 (10.9)
30-21	19	22	41 (34.2)
40 - 31	13	17	30 (25)
50 - 41	5	10	15 (12.5)
60-51	5	5	10 (8.4)
المجموع	50	70	120 (100)

نسبة إصابة الإناث إلى الذكور 1:1.4.

أما بالنسبة إلى الجنس فقد بينت الدراسة الحالية إن إصابة الإناث كانت أكثر من نسبة إصابة الذكور بالمرض إذ تشكل حالة إصابة الإناث (70) مريضة مراجعة بنسبة (58.4%) أما الذكور فكانت الإصابة في (50) مريضاً مراجعاً بنسبة (41.6%) كما موضح بالجدول (2).



شكل (1): يمثل حالات الإصابة حسب الجنس

أظهرت العزلات تبايناً واضحاً وبنسب مختلفة في مقاومتها للمضادات الحيوية. أظهرت بكتريا *P. aeruginosa* مقاومة عالية تجاه مضادات Ampicillin و Amoxycillin و Clindamycin و Cloxacillin حيث شكلت نسبة المقاومة (100%) لكل منها. يليها مضادي Piperacillin و Vancomycin حيث بلغت نسبة المقاومة (87.5%) و (85.4%) على التوالي. بعدها جاءت نسبة المقاومة لمضادي Cefotaxime و Carbencillin حيث بلغت (75%) و (73%) على التوالي. ثم تليها المقاومة لمضادي Gentamicin و Tobramycin حيث كانت (41.6%) و (29.16%) على التوالي. أظهرت هذه البكتريا أقل مقاومة لمضاد Amikacin حيث كانت نسبة المقاومة لهذا المضاد (6.25%) فقط. ولم تظهر العزلات مقاومة تجاه مضادي Ofloxacin و Ciprofloxacin حيث كانت المقاومة (0%). أما بالنسبة لبكتريا *Proteus mirabilis* فقد أظهرت أعلى مقاومة لمضاد Vancomycin حيث بلغت (94.11%) وبعدها جاء مضادي Clindamycin و Cloxacillin حيث كانت المقاومة لهما

بنسبة (88.23%) و (82.35%) على التوالي، يليها مضاد Piperacillin حيث كانت نسبة المقاومة له (76.47%)، بعدها جاء مضادى Ampicillin و Amoxycillin حيث شكلت (70.5%) لكل منهما. وجاء مضاد Carbencillin حيث كانت نسبة المقاومة له (58.8%)، ثم مضادات Cefotaxime (7.05%) و Gentamicin (35.29%) و Tobramycin (11.76%). لم تظهر جميع عزلات *Proteus mirabilis* أي مقاومة تجاه أي من مضادات Amikacin و Ofloxacin و Ciprofloxacin حيث كانت نسبة المقاومة (0) لكل منهم. أما بالنسبة لبكتريا *Staph. aureus* فقد أظهرت مقاومة عالية لمضاد Ampicillin حيث شكلت نسبة (100%)، يليها مقاومة مضاد Cloxacillin بنسبة (93.33%) و Amoxycillin كانت (80%)، ثم مضادى Piperacillin و Clindamycin حيث كانت نسبة المقاومة لهما تبلغ (66.6%) و (60%) على التوالي. كانت مقاومة مضاد Carbencillin بنسبة (46.66%) و المقاومة لمضادات Vancomycin (40%) و Cefotaxime (33.33%) و Gentamicin (20%) فقط. ولم تظهر جميع العزلات أي مقاومة لمضادات Amikacin و Tobramycin و Ofloxacin و Ciprofloxacin حيث كانت نسبة المقاومة (0) لكل منهم كما موضح بالجدول (3).

جدول (3)

يمثل عدد العزلات والنسبة المئوية للمقاومة لمجموعة من المضادات الحيوية

المضاد المستخدم	<i>P. aeruginosa</i> عدد العزلات (النسبة المئوية للمقاومة %)	<i>Proteus mirabilis</i> عدد العزلات (النسبة المئوية للمقاومة %)	<i>Staph. aureus</i> عدد العزلات (النسبة المئوية للمقاومة %)
	48 (40%)	17 (14.2%)	15 (12.5%)
Ampicillin	48 (100)	12 (70.5)	15 (100)
Amoxycillin	48 (100)	12 (70.5)	12 (80)
Amikacin	3 (6.25)	0	0
Cefotaxime	36 (75)	8 (47.05)	5 (33.33)
Carbencillin	35 (73)	10 (58.8)	7 (46.66)
Cloxacillin	48 (100)	15 (88.23)	14 (93.33)
Clindamycin	48 (100)	14 (82.35)	9 (60)
Ciprofloxacin	0	0	0
Gentamicin	20 (41.6)	6 (35.29)	3 (20)
Tobramycin	14 (29.16)	2 (11.76)	0
Ofloxacin	0	0	0
Piperacillin	41 (85.4)	13 (76.47)	10 (66.6)
Vancomycin	42 (87.5)	16 (94.11)	6 (40)

المناقشة

أظهرت النتائج أن أعلى نسبة إصابة كانت ببكتريا *P. aeruginosa* وجاءت بعدها ببكتريا *P. mirabilis* تليها ببكتريا *Staph. Aureus* وهذه النتائج جاءت متفقة مع الكثير من الباحثين الذين بينوا أن المسبب الرئيسي لالتهابات الأذن الوسطى هي ببكتريا *P.aeruginosa* وتسجل أعلى نسبة لأحداث المرض بين الأنواع الأخرى من البكتريا (2،8).
أوضح التحليل الإحصائي باستعمال مربع كاي إن هنالك فروقاً معنوية ($P<0.001$) بالنسبة للأنواع البكتيرية المسببة للمرض.

وكانت أعلى نسبة إصابة في الفئة (21-30) سنة تليها الفئة (31-40) سنة ثم الفئة من (41-50) سنة، وجاءت بعدها الفئة المحصورة من (11-20) سنة ثم الفئة العمرية (أقل من 10) سنوات، أما أقل نسبة إصابة بالمرض فقد ظهرت في الفئة العمرية المحصورة بين (51-60) سنة. وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما ذكره (9) الذين بينوا إن الفئة العمرية المحصورة بين (51-60) سنة كانت أقل إصابة بالمرض واعزى السبب إلى قلة مراجعتهم للعيادات بسبب تقدمهم بالسن. أما بالنسبة للجنس فقد بينت الدراسة الحالية إن إصابة الإناث كانت أكثر من نسبة إصابة الذكور بالمرض إذ تشكل حالة إصابة الإناث (70) مريضة مراجعة بنسبة (58.4 %)، أما الذكور فكانت الإصابة في (50) مريضاً مراجعاً بنسبة (41.6 %) وجاءت هذه النتيجة متفقة مع (9)، إذ وضحوا أن نسبة إصابة الذكور إلى الإناث كانت تشكل (2:1).

أما نتائج فجاءت مختلفة مع (2) الذين بينوا إن إصابة الإناث كانت أقل من إصابة الذكور. وهناك رأي آخر يبين أنه لا يوجد اختلاف معنوي بين الإصابات في الذكور والإناث (10). وأشار التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي (X^2) إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) بين الجنسين في الدراسة الحالية.

بينت العديد من الدراسات إن العديد من الأنواع البكتيرية أظهرت مقاومة عالية لمضادات البيتا لاكتام حيث وجد (11) إن نسبة (70 %) من ببكتريا *P. aeruginosa* كانت مقاومة لمضادات البيتا لاكتام وأظهرت الدراسة التي قام بها (12) إن ببكتريا *Staph. aureus* كانت لها مقاومة عالية لمضاد الامبسلين Ampicillin.

أما بالنسبة لأنواع البكتريا العائدة لعائلة Enterobacteraceae فكانت حساسيتها واطئة لمضاد Ampicillin وكانت بنسبة (24.5 %). ويعود سبب مقاومة البكتريا إلى عدة أسباب منها إنتاجها لإنزيمات البيتا لاكتاميز أو قابلية البكتريا على تغيير نفاذية الغشاء الخارجي لها أو تغيير موقع هدف عمل هذه المضادات وغيرها.

أما أكثر المضادات الحيوية التي أظهرت تأثيراً واضحاً على العزلات البكتيرية المحلية فكانت لمضادَي Ciprofloxacin و Ofloxacin، حيث يعتبر هذان المضادان من مجموعة الفلوروكوينولونات Fluoroquinolones التي تكون واسعة الفعالية ضد البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام (13). كانت جميع العزلات في هذه الدراسة حساسة لهذين المضادين وبنسبة (100 %). جاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج (14) و (15) الذين وجدوا فعالية عالية لهذين المضادين على العزلات المرضية من بكتيريا *P. aeruginosa*، *Proteus mirabilis* و *Staph. aureus*.

و اختلفت نتائجنا مع بعض الدراسات التي أظهرت أن بعض البكتيريا كانت مقاومة لهذين المضادين، حيث وجد (16) أن حساسية البكتيريا لمضاد Ofloxacin كانت بنسبة (73.5 %)، أما (17) فقد بينوا أن حساسية أنواع البكتيريا المعزولة من التهابات الأذن الوسطى المزمنة مثل بكتيريا *P. aeruginosa*، *Proteus mirabilis* و *Staph. aureus* لمضاد Ciprofloxacin كانت (95 %). أما الباحثون (18) فوجدوا أن مقاومة بكتيريا *P. aeruginosa* لمضاد Ciprofloxacin كانت منخفضة وبلغت (21 %).

أما عن فعالية مضادات مجموعة الامينوكلاوسايد ضد العزلات المرضية، فكانت فعالية مضاد Amikacin عالية على بكتيريا *P. aeruginosa* وأظهرت نسبة مقاومة واطئة (6.25 %). أما عزلات كل من *Proteus mirabilis* و *Staph. aureus* فقد أظهرت حساسية عالية تجاه هذا المضاد ولم تظهر أي مقاومة لأي منهم. وتتفق نتائجنا هذه مع ما ذكره (19) أن بكتيريا *P. aeruginosa* أظهرت حساسية عالية تجاه مضاد Amikacin. أما بالنسبة لمضادَي Gentamicin و Tobramycin فكانت مقاومة *P. aeruginosa* بنسبة (41.6 %)، (29.16 %) على التوالي. أما بكتيريا *Proteus mirabilis* فكانت نسبة مقاومتها لمضاد Gentamicin (35.29 %) ولمضاد Tobramycin (11.76 %). أما بكتيريا *Staph. aureus* فلم تظهر أي مقاومة لمضاد Tobramycin، في حين كانت مقاومتها لمضاد Gentamicin واطئة (20 %). وهذه النتائج جاءت متفقة مع ما ذكره (9) وأشار (14) وصف هذا المضاد لحالات التهابات الأذن الوسطى المزمنة للمرضى لفعالية العالية في العلاج. أما بالنسبة لمضاد Tobramycin فقد كانت مقاومة كل من بكتيريا *P. aeruginosa* و *Proteus mirabilis* له عالية. في حين كانت بكتيريا *Staph. aureus* مقاومة لهذا المضاد بنسبة (40 %) فقط.

من نتائج هذه الدراسة نوصي باستخدام عملية الزرع للجراثومة والفحص للمضاد الحيوي الملائم لتجنب ظهور عزلات محلية تكتسب صفة المقاومة لها في المستقبل. وإجراء المزيد من الدراسات الوراثية والجزيئية للبكتريا المسببة لالتهابات الإذن الوسطي ودراسة انتقال صفة المقاومة بين أفراد النوع الواحد والأنواع القريبة لمعرفة الجينات المسؤولة عن صفة المقاومة للمضادات الحيوية.

المصادر

1. Jung, T.T.K. and Hanson, J.B., "Classification of otitis media and surgical principles", *Otolaryngologic Clinics of North America*, 32(3), 369-383 (1999).
2. Kangsanarak, J., Navacharoen, N., Fooanant, S. and Ruckphaopunt, K., "Intracranial complications of supportive otitis media: 13 years experience", *The American Journal of Otology*, 16(1), 104-109 (1995).
3. Vartiainen, E. and Kansanen, M., "Tympanomastoidectomy for chronic otitis media without cholesteatoma", *Otolaryngol Head and Neck Surgery*, 106(3), 230-234 (1992).
4. Gehanno, P., "Multicenter study of the efficacy and safety of oral ciprofloxacin in the treatment of chronic supportive otitis media in adults", *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 117(1), 83-90 (1997).
5. Clark, W.B., Brook, I., Nianki, D. and Thompson, D.H., "Microbiology of otitis extern", *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 116(1), 23-25 (1997).
6. Kenna, M.A., Bluestone, C.D., Reilly, J.S. and Lusk, R.P., "Medical management of chronic supportive otitis media without cholesteatoma in children", *Laryngoscope*, 96(4), 146-151 (1986).
7. Vandepitte, J., Engback, K., Piot, P. and Heuck, C.C., "Basic laboratory procedures in clinical bacteriology", WHO, Geneva, PP. 78-95 (1991).
8. Jones, R.N., Milazzo, J. and Seidlin, M., "Ofloxacinotic solution for treatment of otitis externa in children and adults", *Arch. Otolaryngol. Head and Neck Surgery*, 123(11), 1193-2000 (1997).
9. Al-Faris, E.A., Abdulghani, H., Mukdomi, G.J., Kambal, A. and Al-Muhaimed, H.S., "Microbiology and antimicrobial sensitivity of supportive otitis media", *Saudia Medical Journal*, 19(4), 417-422 (1998).

10. Oyeka, C.A., Oyeka, I.C. and Okeke, G.N., "Prevalence of bacterial otitis media in primary school children in Enugu suburb, Enugu State Nigeria", West Afr. J. Med., 14(2), 78-81 (1995).
11. Shawar, R.M., Macleod, D.L., Garber, R.L., Burns, J.L., Stapp, J.R., Clausen, C.R. and Tanaka, S.K., "Activities of tobramycin and six other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis", Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 43(12), 2877-2880 (1999).
12. Campos, M.A., Arlas, A., Rodriguez, C., Dorta, A., Betancor, L., Lopez-Aguado, D. and Sierra, A., "Etiology and therapy of chronic supportive otitis", Journal of Chemotherapy, 7(5), 427-431 (1995).
13. Yamada, H., Kursoe-Hamada, S., Fukuda, Y., Mitsuyama, J., Takahata, M., Minami, S., Watanabe, Y. and Narita, H., "Quinolone susceptibility of *nor* Adisrupted *Staphylococcus aureus*", Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 41(10), 2308-2309 (1997).
14. Sumitsawan, Y., Prawatmuang, W., Tharavichitkul, P., Ingsuwan, B. and Sriburi, P., "Ofloxacin otic solution as treatment of chronic supportive otitis media and diffuse bacterial otitis externa", J. Med. Thai., 78(9), 455-459 (1995).
15. Supiyaphun, P., Koranasophonepun, J., Kerekhanjanarong, V. and Sastarasadhit, V., "Comparison of ofloxacin otic solution with oral amoxycillin plus chloramphenicol ear drop in treatment of chronic supportive otitis media with acute exacerbation", J. Med. Assoc. Thai., 83(1), 61-68 (2000).
16. Dincer, A.D., Tekeli, A., Ozturk, S. and Turgut, S., "Microorganisms isolated from chronic supportive otitis media and their antimicrobial sensitivities", Mikrobiyol. Bul., 26(2), 131-138 (1992).
17. Lorente, J., Sabater, F., Maristany, M., Jimenez, R., Menem, J., Vinas, J., Quesada, P., Traserra, J., Dicenta, M., Abello, P. and Villar, E., "Multi-center study comparing the efficacy and tolerance of topical ciprofloxacin (0.3 %) versus topical gentamicin (0.3 %) in the treatment of simple non-cholesteatomatous chronic otitis media in the supportive phase", An. Otorrinolaringol Lbero. Am., 22(5), 521-533 (1994).
18. Carmeli, Y., Troillet, N., Eliopoulos, G.M. and Samore, M.H., "Antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa* comparison of risk associated with different antipseudomonal agents", Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 43(6), 1379-1382 (1999).
19. Segatore, B., Setacci, D., Perilli, M., Franceschini, N., Santis, A.D., Marchetti, F. and Amicosante, G., "Italian survey on comparative levofloxacin susceptibility in 334 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*", Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 43(2), 428-431 (1999).

تقييم كفاءة المعالجة الأولية للمحتوى البكتيري في محطة الرستمية

علي حسون حمادي، د. خالد عباس رشيد، د. احمد عبد الله رمضان، كمال برزان ندا،

زينب حسين علي، أمل ياسين علي

دائرة تكنولوجيا المياه، وزارة العلوم والتكنولوجيا

الخلاصة

درس التلوث البكتيري لتقييم كفاءة المعالجة الأولية لمشروع التصفية في الرستمية (التوسع الثالث). حيث جمعت النماذج من أحواض الترسيب المرحلة الأولى وأحواض الترسيب المرحلة الثانية ومياه المصب لنهر ديالى. تم استخدام معدل انتشار البكتيريا القولونية (Coliform Bacteria)، القولونية البرازية (Faecal Coliform)، المسبقيات (Streptococcus)، المسبقيات البرازية (Faecal Streptococcus)، والعدد الكلي للبكتيريا (Total Plate Count) كدالات للتلوث البكتيري من خلال حساب العدد الأكثر احتمالاً (Most Probable Number) كما درست بعض العوامل الكيماوية والبيولوجية مثل المتطلب الكيماوي للأوكسجين COD والمتطلب البيولوجي للأوكسجين BOD، والمواد العالقة والنترات ومن خلال تقييم النتائج ظهر بأنها أعلى من المحددات المسموح بها للمياه الثقيلة والتي تفوق المحددات العراقية لنهر ديالى ودجلة.

ABSTRACT

The bacteriological pollution was studied to determine the primary treatment efficiency of AL-Rystimya municipal wastewater treatment plant (third expansion). Samples were collected from the primary sedimentation tank (primary & secondary) and at the final disposal point at Dyala River. Bacteriological coliform densities TC and waste perform FC and TS and FS and total bacterial count as bacteriological pollution indicators. The

most probable number (MPN) method was studied in test. Also some of the chemical and biological characteristics of the wastewater like COD, BOD, total suspended solid TSS and nitrate NO₃ was examined. From the results it was seen that all the values were exceeding the allowed Iraqi permissible limits of Tigris and Dyala River.

المقدمة

تعد البكتيريا جزءاً من النظام البيئي المائي الطبيعي وعند تردي نوعية هذه المياه بسبب تغيير حالتها بطريقة مباشرة وغير مباشرة بحيث تصبح أقل صلاحية للاستعمالات الطبيعية المخصصة لها، إذ أن معظم المياه السطحية ملوثة بمياه الصرف الصحي وهي المصدر الرئيسي للتلوث البكتيري وعلى الأخص قرب التجمعات السكانية الكبيرة (1). إن هذه المشكلة تزداد وتتضخم عندما تطلق مياه الصرف الصحي مباشرة إلى المياه السطحية دون معالجة غير كفوءة وهي الحالة العامة في العراق (2).

إن مشروع تصفية الرستمية يخدم ما يقارب (1.5) مليون ونصف المليون مواطن في جانب الرصافة من بغداد حيث يقوم بتصفية وتعقيم المياه الثقيلة الواردة إليه من شبكات المجاري الرئيسية حيث تم التصفية بإزالة المواد الصلبة العضوية والغير عضوية العالقة وتتم هذه بطريقتين رئيسيتين للمعالجة وأبرزها:

1. وحدة إزالة الروائح عن طريق الهواء المضغوط الموزع بواسطة عدة صمامات مثبتة في قصر المجمع والغرض منها هو إعادة نشاط المياه الثقيلة بعد ركودها.
2. وحدة الشبكات.
3. أحواض الترسيب الصلبة.
4. أحواض التهوية الأولية.
5. أحواض الترسيب الأولية.

إن معالجة المياه القذرة قبل تصريفها تعد ضرورة ملحة شريطة عدم إحداث تأثيرات ضاره أو غير مرغوب فيها، اجري البحث لأهميته في تحسين أداء منظومة المعالجة والوصول إلى مقترحات تؤدي إلى تحسين مستوى بيئة القطر.

منطقة الدراسة

توجد في محافظة بغداد محطتين لمعالجة المياه الثقيلة أولهما في جانب الرصافة (الرستمية) بمشروعها القديم والجديد (التوسع الثالث) وقد بلغت طاقة استيعاب مشروع الرصافة 300000 ألف م³/يوم، أما طاقة المشروع القصوى فهي 450000 م³/يوم، أن قطر المجرى الرئيسي هو (3 م) وبزاوية ميلان (1.250 م) وبعمق (7.5 م) تحت مستوى سطح الأرض. توزعت محطات النمذجة من أحواض الترسيب الأولية والحاوية على المواد الطافية وأحواض الترسيب النهائية التي رسبت بها المواد العالقة وقد تخلصت من أكبر نسبة ممكنة من العكارة والمواد العضوية (للماء النهائي قبل طرحه في نهر ديارى).

المواد وطريقة العمل

أجريت الفحوصات البكتريولوجية لعينات المياه مرة واحدة كل شهرين في فصل الشتاء والصيف من عام 2002 واستخدمت طريقة العدد الأكثر احتمالاً (Most Probable Number) باستخدام الوسط الزرعي MacConkey Broth لكل من بكتريا القولون وبكتريا القولون البرازية واستخدام الوسط الزرعي Glucose azide لبكتريا المسبقيات وبكتريا المسبقيات البرازية واستخدام الوسط Nutrient Agar لحساب العدد الكلي للبكتريا الهوائية. استخدمت قناني ونكر (Winkler) سعة 250 مل لقياس المتطلب الحيوي للأكسجين BOD₅ والمتطلب الكيماوي للأكسجين COD وكذلك المواد العالقة والنترات NO₃ (3).

النتائج

أظهرت نتائج الفحص الميكروبي لعينات محطة الرستمية (التوسع الثالث) كما في الجدول (1) أن أعلى تلوث سجل في مرحلة الترسيب الأولي حيث بلغ عدد بكتريا القولون 46×10^7 خلية/100 مل في شهر نيسان وكذلك بكتريا القولون البرازية Faecal Coliforms 24×10^6 خلية/100 مل في الأشهر شباط ونيسان وتموز، جدول (1)، أما مرحلة الترسيب الأولي فقد بلغت كثافة مجموعة البكتريا القولونية Coliform group بحدود

24×10^6 خلية/100 مل في شهر نيسان، جدول (1)، وأوطأ كثافة سجلت في مرحلة الترسيب النهائي حيث بلغ عدد بكتريا القولون 11×10^4 خلية/100 مل في شباط وأيلول و 23×10^4 خلية/100 مل في شهر نيسان، جدول (1).

أما بكتريا القولون البرازية Faecal Coliforms سجلت أعلى قيمة لها في مرحلة الترسيب الأولي إذ بلغت 24×10^6 خلية/100 مل خلال شهر نيسان لعام 2002، أما أقل قيمة لها كانت في مرحلة الترسيب الثانوي إذ بلغت 24×10^3 خلية/100 مل خلال شهر شباط من عام 2002. لم تتجاوز معدل أعداد بكتريا المسبقيات Streptococcus أكثر من 10^6 خلية/100 مل في مرحلة الترسيب الأولي حيث بلغ 21×10^5 خلية/100 مل في شهر نيسان وأصبح بعد المعالجة في مرحلة الترسيب النهائي للأشهر شباط ونيسان وتموز 24×10^2 خلية/100 مل، جدول (1).

أما بكتريا المسبقيات البرازية Faecal Streptococcus فأعلى حدود بلغ في مرحلة الترسيب الأولي في شهري أيلول ونيسان وبلغ 21×10^5 خلية/100 مل، وأقلها عدداً في مرحلة الترسيب النهائي وبلغ 11×10^2 خلية/100 مل لشهر تموز، جدول (1).

أما أعداد البكتريا الكلي Total Plate Count فكانت معدلات النمو للبكتريا كبيرة جداً Heavy growth في مرحلة الترسيب الأولي وأقل من ذلك في مرحلة الترسيب النهائي، جدول (1).

جدول (2) يوضح قيم BOD_5 و COD حيث بلغ (450) و (650) ملغم/لتر على التوالي والحال نفسه بالنسبة للنترات NO_3 التي وصلت إلى 45 ملغم/لتر، في مرحلة الترسيب النهائي.

المناقشة

إن مياه المجاري محملة بالملايين من الأحياء المجهرية ومنها الخطرة وتزداد أعدادها مع ظهور أنواع ممرضة عند تلوث هذه المياه (1).

أما محطة الرستمية (التوسيع الثالث) تتضمن ثلاث مراحل حيث بانخفاض كفاءة منظومات معالجة مياه الصرف الصحي يزداد التلوث (4).

يوضح الجدول (1) أن هناك انخفاض قليل في كثافة الأحياء المجهرية من مراحل المعالجة الثلاثة إذ سجلت بكتريا القولون، القولونية البرازية، المسبقيات، المسبقيات البرازية لمرحلة الترسيب الأولي 4.6×10^7 , 24×10^6 , 24×10^5 , 21×10^5 خلية/مل، أما في مرحلة الترسيب النهائي سجلت أدنى قيمة لها إذ بلغت 11×10^4 , 24×10^3 , 24×10^2 , 11×10^2 خلية/مل على التوالي، جدول (1)، حيث في هذه العملية يتم تنشيط البكتريا الهوائية بواسطة هذه الطريقة الفعالة سهل وذلك لان البكتريا النشيطة تقوم بعملية أكسدة المواد العضوية بصورة سريعة جداً وبكفاءة عالية وبالتالي تسهل عملية الترسيب في أحواض الترسيب النهائي (5). وبالنتيجة سوف تطرح مياه ملوثة أيضاً إلى نهر ديالى ولكن بمعدلات اقل مما كانت في المراحل الأولية، كما أن الجدول (2) يوضح أن هناك أدلة أخرى لكشف الملوثات هي المواد الصلبة، المتطلب الكيماوي والبيولوجي للأوكسجين (COD) و (BOD_5) إذ بلغت 660 و 450 ملغم/لتر على التوالي في حين أن القيم المسموح بها في المياه المطروحة من المحطة إلى النهر هي 15 و 7 ملغم/لتر على التوالي لكيهما والحال نفسه بالنسبة للنترات التي وصلت إلى 46 ملغم/لتر مما يهين وسط ملائم لتكاثر فطريات المجاري والطحالب وأحياء مجهرية أخرى وهذا يتناقض مع المحددات العراقية (6) لكنه يتفق مع دراسة سابقة (7) لكن عموماً أن مراحل أحواض المعالجة الأولية ليس لها القدرة أو الكفاءة لاستيعاب الكميات الكبيرة من المياه التي تفوق قدرة محطة الرستمية (التوسع الثالث) وبالتالي سوف تزداد حالة التلوث غير المسموح بها والتي تسبب تلوث واضحا لمياه المسطحات المائية في نهري ديالى ودجلة (7) ويجب في هذه الحالة اتخاذ الإجراءات الملائمة والسريعة لوقف هذا التلوث الكبير.

جدول (1)

أعداد بكتريا القولون والبرازية وبكتريا المسبقيات والمسبقيات البرازية والعدد الكلي للبكتريا في محطة الرستمية خلال عام 2002 خلية / 100 مل

Total plate count		Faecal Streptococcus		Streptococcus		Faecal Coliform		Coliform		الشهر
الترسيب الثاني	الترسيب الأولي	الترسيب الثاني	الترسيب الأولي	الترسيب الثاني	الترسيب الأولي	الترسيب الثاني	الترسيب الأولي	الترسيب الثاني	الترسيب الأولي	
8×10^5	19×10^5	21×10^2	24×10^2	24×10^2	24×10^4	24×10^3	11×10^4	11×10^4	24×10^6	شباط
Heavy growth	Heavy growth	24×10^2	21×10^5	24×10^2	21×10^5	43×10^3	24×10^6	93×10^4	46×10^7	نيسان
Heavy growth	Heavy growth	11×10^2	93×10^2	24×10^2	24×10^2	46×10^5	24×10^6	46×10^5	24×10^6	تموز
Heavy growth	Heavy growth	24×10^4	21×10^5	24×10^3	24×10^4	11×10^5	24×10^5	11×10^5	24×10^5	أيلول

جدول (2)

معدلات بعض العناصر للمياه المتدفقة في محطة الرستمية من الناحية البكتيرية لعام 2002. ملغم / لتر

Location	S.S	BOD5	COD	No3
Final effluent	650	450	660	45

المصادر

1. لافون، روبرت، "التلوث"، ترجمة ناديّة القباني، شركة تراوكسم، جنيف (1997).
2. المنيفي، عبد اللطيف احمد، "معالجة مياه الصرف الصحي لغرض استخدامها في الري"، المؤتمر التكنولوجي السابع الجامعة التكنولوجية، ص 323-340 (2001).
3. WHO, World Health Organization, "Guidelines for Drinking Water Quality Health Criteria and Other Supporting Information", Vol. 2, 2nd Ed., Geneva (1973, 1996).
4. الميالي، ايثار كامل، "تأثير التلوث البكتيري لنهر ديالى في بيئة نهر دجلة"، رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة بغداد (2000).
5. الحديثي، هديل توفيق، "الأحياء المجهرية المائية"، دار للطباعة والنشر، جامعة الموصل (1986).
6. القانون رقم 25، محددات المياه والأنهر، وزارة الصحة (1967).
7. الحديثي، عزام حمودي خلف وعبد الرزاق، إبراهيم بكري، "تأثير إضافة مياه مجاري الرستمية على محتوى العناصر الصغرى والثقيلة"، المؤتمر التكنولوجي العراقي السابع، الجامعة التكنولوجية، بغداد، العراق، ص 457-466 (2001).

دراسة الانظيم الحال للبروتين المنتج من العزلة المحلية

Staphylococcus aureus

المعزولة من خمج السبل البولية في بغداد

قسم علوم الحياة والأحياء المجهرية، كلية العلوم، جامعة ديالى	حسن علي السعدي
قسم علوم الحياة، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية	محمد فرج المرجاني
قسم الكيمياء، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية	مصطفى طه محمد
قسم الكيمياء، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية	عبد القادر محمد نوري

الخلاصة

تم الحصول على أربعة عزلات تعود لبكتريا *Staphylococcus aureus* من مجموع 70 عينة ادرار وسطي من مرضى مصابين بخرمج السبل البولية وقد درست حساسية هذه العزلات لبعض المضادات الحيوية فكانت جميعها مقاومة لمضادات البنسلين والارثرومايسين والنترا سايكليين بينما كان جميعها حساسة لل سيفوتاكسيم والكلندا مايسين. أظهرت نتائج التحري عن إنتاج الانظيم الحال للبروتين أن جميع هذه العزلات منتجة له وقد تميزت العزلة (2) *S. aureus*، بنتاجها العالي لهذا الانظيم، وقد اختيرت هذه العزلة لتنقية الانظيم الحال للبروتين بواسطة الترسيب بكبريتات الأمونيوم والترشيح الهلامي باستخدام عمود Sephadex G-100، وقد تم قياس فعالية الانظيم وتركيز البروتين فكانت على التوالي (30.4) وحدة/مللتر، (0.51) ملغم/مللتر.

نبين من نتائج الترحيل الكهربائي احتواء جميع هذه العزلات على أكثر من حزمة بلازميدية صغيرة الحجم واحتواء العزلة (2) *S. aureus* على حزمتين بلازميدية صغيرة وقد تم تحييد هذه العزلة باستخدام مادة الـ SDS وبعد اختبار هذه العزلة المحييدة ظهر أنها حساسة للبنسلين والارثرومايسين وغير منتجة للانظيم الحال للبروتين مما قد يشير إلى ارتباط المؤشرات الوراثية لهذه الصفات بالحزم البلازميدية الصغيرة في هذه العزلة.

ABSTRACT

Four isolates were obtained which belongs to *Staphylococcus aureus* from seventy urine samples of patients with urinary tract infection. Sensitivity of isolates for antibiotics reveals resistance for penicillin, Erythromycin and Tetracycline, while all isolates were sensitive for cefotaxime and Clindamycin. The results of detection about enzyme producers showed that all of these isolates were protease production. The isolate no. (2) of *S.aureus* characterized with high production for this enzyme. This isolate selected for protease purification using ammonium sulfate precipitation and gel filtration with Sephadex G-100, protease activity and protein concentrations were (30.4) U/ml, (0.51) mg/ml respectively.

Results of electrophoresis showed that all of these isolates contained more than small one band of plasmid, isolate (2) contained two bands of small plasmids which this isolate no. (2) carried with using SDS, after testing of carried isolate which showed was sensitive for penicillin and Erythromycin which was non-protease producing, that indicated to found of genetic markers for these characters with small bands of plasmids.

المقدمة

تعد بكتيريا *Staphylococcus aureus* من أهم أنواع المكورات العنقودية الأخرى كونها سبباً للعديد من الحالات المرضية للإنسان والحيوان والتي تؤدي إلى الوفاة أحياناً، فقد تم عزل المكورات العنقودية *S. aureus* لأول مرة من كلية شخص مريض توفي بمرض التقيح الدموي (Pyemia) من قبل Von Recking عام (1871) وتمكن Wablyer عام (1871) من عزلها من أشخاص مصابين بخمج السبل البولية (1)، يتراوح قطرها (0.8-1.4) مايكرون، موجبة لصبغة غرام وغير متحركة ولا تنتج ابواغ (2)، تمتلك العديد من عوامل الأمراض مثل: المحفظة (Capsule)، جدار الخلية، الانظيمات (Coagulase, Staphylokinase, Proteases, Phosphatase, Hyaluronidase, Dnase, Lipase) الليفانات (leucocidin, δ -toxin, γ -toxin, β -toxin, α -toxin, Epidermolytic toxin, Toxic shock syndrome, Enterotoxin, Toxin-1).

تنتج الانظيمات السيرينية من قبل البكتريا موجبة لصبغة غرام التي تحلل البروتين بخطوتين مع فقدان حامض أميني أو قطعة ببتيدي كما هو الحال في الانظيم المنتج من قبل بكتريا *Clostridium spp.* (3).

أما الانظيمات الحالة للبروتين المعدنية فهي ايضا تطلق على هذا النوع من الانظيمات المنتجة من قبل البكتريا الموجبة لصبغة غرام فإنها تحتوي على تسلسلات (H G X X H) (His- Glu-Xaa -Xaa His) كما هو الحال *Clostridium spp.* (4).

ولغرض دراسة الخصائص الأساسية للانظيم الحال للبروتين المنتج من العزلات المحلية بكتريا *S.aureus*، ودراسة العوامل الوراثية المحددة لإنتاجه جاءت هذه الدراسة لتهدف إلى: عزل بكتريا *S.aureus* من حالات خمج السبل البولية و التحري عن إنتاجها للانظيم الحال للبروتين وتقوية هذا الانظيم ودراسة فعاليته، إضافة إلى دراسة محتوى الدنا للعزلة المنتجة بغزارة لهذا الانظيم وإجراء تجارب التحديد للبلازميدات للتحري عن موقع المؤشرات الوراثية المسؤولة عن إنتاج الانظيم في هذه العزلات.

طرائق العمل

1. عزل وتشخيص بكتريا *S.aureus*:

تم جمع 70 عينة من الإدرار من المرضى الراقدين في مستشفى بغداد/مدينة الطب بعد أن شخصوا سريريا من قبل الطبيب المختص للمدة من 1/ 12/ 2004 لغاية 1/ 3/ 2005 وتم زرع العينات على أوساط العزل الأولية المتمثلة بوسط اكار الدم ثم نقلت المستعمرات إلى أوساط الاكار المغذي للحصول على مستعمرات نقية ومفردة إذ تم تشخيصها اعتمادا على مصنف بركي (2).

2. اختبار حساسية عزلات *S.aureus* للمضادات الحيوية:

اختبرت حساسية عزلات الدراسة للمضادات التالية والمجهزة من شركة Oxoid (England) وهي البنسلين ج (10 مايكرو غرام/قرص)، السيفوتاكسيم (30 مايكرو غرام/قرص)، الكلنداميسين (10 مايكرو غرام/قرص)، اثرومايسين (15 مايكرو غرام/قرص)، التتراسايكلين (30 مايكرو غرام/قرص)، الجنتاميسين (10 مايكرو غرام/قرص).

3. التحري عن العزلات البكتيرية المنتجة للانزيم الحال للبروتين:

استخدام وسط اكار حليب الفرز الموصوف من قبل (5) الذي يتكون (10%) حليب فرز و (2%) اكار ونقلت مستعمرات نقية بوساطة عروة الناقل إلى وسط اكار الحليب وحضنت لمدة (24) ساعة بدرجة (37 °م) وقيس قطر منطقة التحلل وانتخبت العزلات التي أعطت أعلى نسب تحلل.

4. استخلاص وتنقية الانزيم الحال للبروتين (6):

تم تنمية العزلة المنتجة للانزيم على وسط (Nutrient broth) ثم وضعها في حاضنة هزازة بدرجة (37 °م) لمدة (24) ساعة وبسرعة 150 دورة/دقيقة. وفي اليوم التالي تم التحري عن فعالية الانزيم وتم التخلص من الخلايا البكتيرية بالنبذ المركزي بسرعة (7000) دورة/دقيقة ولمدة (20) دقيقة بعدها أهمل الراسب واخذ الراشح اجري ترسيب الانزيم بإضافة كبريتات الأمونيوم بتسبع (60%) واخذ الراسب وأهمل الراشح وتم ديلزة الراسب باستعمال أكياس الديلزة لمدة (24-48) ساعة ضد محلول Tris-HCl (50) ملي مولاري وأضيف الانزيم الخام الناتج من عملية الترسيب بمقدار (5) مليلتر إلى عمود الترشيح الهلامي Sephadex G-100 وبأبعاد (2×50) سم وبإضافة محلول Tris-HCl (50) ملي مولاري وجمع محلول والاسترداد المار خلال عمود الترشيح في أنابيب الجمع وبمعدل (3) مليلتر/أنبوب وقيست الامتصاصية عند (280, 260) نانوميتر ورسم المنحنى الذي يظهر قمم الامتصاصية.

5. تقدير فعالية الانزيم:

تم تقدير الفعالية الانزيمية (7) وذلك بأخذ (50) مايكروليتر من المرق المغذي المفلتر خلال أوراق ترشيح (0.45) مايكروميتر ووضعها في أنبوبة اختبار تحتوي على (1) مليلتر من (0.5%) البومين المصل البقري و (2) مليلتر من بفر (PBS) ذو أس هيدروجين 7.2. بعد الخلط حضنت بدرجة (37 °م) لمدة ساعة واحدة، بعدها أضيف (0.5) مليلتر من (5%) TCA. ومن تعريف الفعالية الانزيمية:

كمية الانزيم التي تسبب زيادة في الامتصاصية (0.01) عند (280) نانوميتر تحت الظروف نفسها.

الفعالية الانزيمية (وحدة/مليلتر) = $\frac{A_{(280)} \times 0.01 \times (0.05)}{(60) \text{ دقيقة}}$

6. تقدير تركيز البروتين:

تم تقدير تركيز البروتين (8). وذلك بتطبيق القانون التالي:
 تركيز البروتين (ملغم/مليتر) = $1.55 \times \text{الامتصاصية (280)} - 0.77 \times \text{الامتصاصية (260)}$
 7. استخلاص الدنا:

تم عزل الدنا الكلي لبكتريا *S. aureus* (9) التي تتطلب انظيم اللايسوزايم بدلاً عن الـ Lysostaphin.

8. الترحيل الكهربائي للدنا:

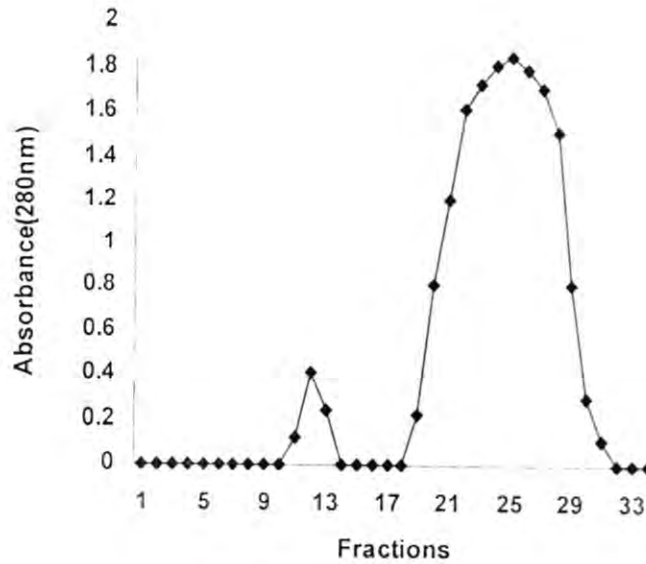
أجريت عملية الترحيل الكهربائي لقطع الدنا باستخدام هلام الاكاروز (10).
 9. تحييد اليلازميدات:

استخدمت مادة الـ SDS كعامل محيد (11) إذ نمت السلالات المراد تحييدها في الأوساط السائلة وتحتوي على العامل المحييد بتركيزات 5، 10، 15، 20، 25، 30، 35، 40، 50 مايكرو غرام/مليتر.

النتائج والمناقشة

تم الحصول على أربعة عزلات تعود لبكتريا *S. aureus* من مجموع 70 عينة إدار من المرضى المصابين بخرج السبل البولية وبنسبة (5.7%) وقد شخّصت العزلات (12). أظهرت جميعها مقاومتها لمضادات البنسلين والارثرومايسين وبنسبة (100%) وهذا يتفق مع نتائج سابقة بأن نسبة مقاومة البنسلين في العزلات *S. aureus* هي (98.6%) بينما كانت جميع عزلات الدراسة حساسة لمضادات الكلندامايسين والسيوفوتاكسيم. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن جميع العزلات (2، 3، 4، 1) كانت منتجة للانظيم الحال للبروتين من خلال ملاحظة منطقة التحلل الشفافة حول المستعمرات البكتيرية وكانت أقطارها على التوالي (35، 30، 32، 30) ملم واختبرت العزلة (2) *S. aureus* لاستخلاص وتنقية هذا الانظيم كونها أعطت أعلى إنتاجية من بين العزلات وقد تم ترسيب الانظيم باستخدام كبريتات الأمونيوم بتسبّع مقداره (60%) وثم ديلزته خلال (48) ساعة وتبين من خلال أنابيب الفصل المحتوية على محلول الاسترداد Tris-HCl أنها كانت تحتوي على البروتينات من خلال القمم التي تم الحصول عليها بعد قراءتها على الطول الموجي (280) نانوميتر، وأكد الفحص باستخدام اكار الحليب أن الأنابيب

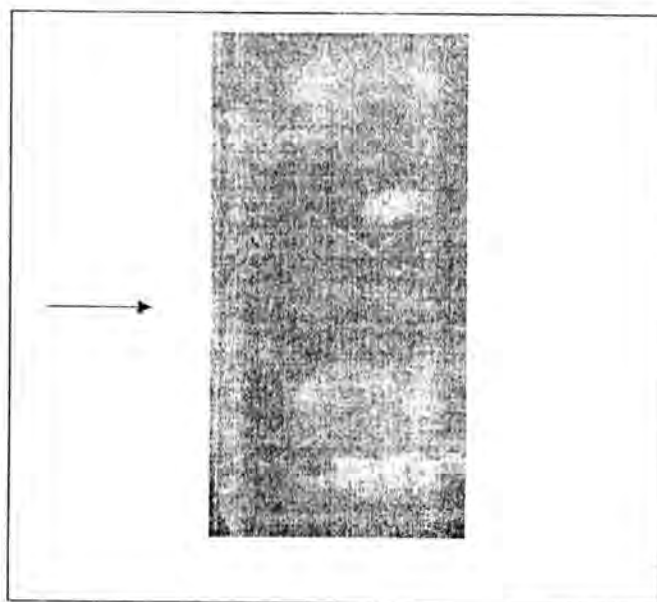
(20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28) كانت محتوية على الانظيم الحال للبروتين وتم قياس فعاليته وتركيز البروتين فكانت على التوالي (30.4) وحدة/مليتر، (0.51) ملغم/مليتر. الشكل (1) يظهر منحي الامتصاصية لأنابيب الفصل المحتوية على الانظيم المذكور.



شكل (1) تنقية الأنظيم الحال للبروتين المنتج من بكتريا *S.aureus* باستخدام الترشيح الهلامي Sephadex G-100

أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي بهلام الاكاروز احتواء جميع هذه العزلات على اكثر من حزمة بلازميدية صغيرة الحجم (شكل 2) قد تمثل ثلاثة أشكال فيزيائية لبلازميد واحد أو بلازميدين أو ربما تمثل ثلاثة بلازميديات مختلفة. وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى إمكانية احتواء سلالات بكتيريا *S.aureus* على بلازميدات صغيرة بأحجام مختلفة إضافة إلى إمكانية احتوائها على بلازميدات كبيرة بأحجام مختلفة، فقد أشار Kloos وجماعته (12) عند دراسته للنسق البلازميدي لـ 40 سلالة من بكتيريا *S.aureus* المعزولة من الإنسان والقروء بان (40%) من هذه السلالات قد احتوت على البلازميدات صغيرة جداً (أقل من 2 كيلو

زوج قاعدة) واحتوى (30%) منها على بلازميدات صغيرة (2-4 كيلو زوج قاعدة) واحتوى (28%) منها على بلازميدات بحجم (5-14 كيلو زوج قاعدة) وأشار O'Rielly وجماعته (13) عند دراسته للنسق البلازميدي لـ 34 سلالة من بكتيريا *S.aureus* إلى احتواء النسق البلازميدي لهذه السلالات على بلازميدات ذات أحجام مختلفة تراوحت بين كبيرة الحجم (42 كيلو زوج قاعدة) إلى صغير الحجم (4.2 كيلو زوج قاعدة).



شكل (2) المحتوى البلازميدي لبعض عزلات *S.aureus*

استخدمت مادة الـ SDS لتحديد بلازميدات العزلة (2) *S.aureus* وقد وجد أن تركيز (30 مايكرو غرام/مل) هو افضل تركيز لتحديد عزلات *S.aureus* مادة الـ SDS . كانت هذه العزلة مقاومة لمضاد البنسلين والارثرومايسين والتتراسايكلين ومنتجة للانظيم الحال للبروتين بغزارة . في حين كانت العزلة المحيدة (*S.aureus* 2C) حساسة للبنسلين والارثرومايسين وغير منتجة للانظيم الحال للبروتين قد اتضح من نتائج الترحيل الكهربائي أنها تحتوي على أكثر من حزمة من البلازميدات (شكل 2) مما قد يشير إلى ارتباط المؤشرات الوراثية لمقاومة البنسلين والارثرومايسين وإنتاج الانظيم في هذه العزلة بالحزم البلازميدية الصغيرة فيها. أشار Dyke وجماعته (14) إلى احتواء عدة سلالات من بكتيريا *S.aureus* المقاومة للبنسلين على بلازميدات صغيرة بحجم (4.5 كيلو زوج قاعدة).

1. Myrvik, N.Q. and Weiser S.R., "Fundamental of Medical Bacteriology & Mycology", 2nd Ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1988).
2. Holt, J.G., Kreig, N.R. Sheath, P.H.A, Staley, T.T., and Williams, S.T., "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 9th Ed., Williams & Wilkns, U.S.A (1994).
3. Gilles, A.M., J.M. Imhoff and B.kell, " α -Clostripain: Chemical Characterization, Activity and Thiol Content of the Highly Active Form of Clostripain", J. Biol. Chem., 254, 1462-1468 (1979).
4. Holmes, M.A. and Mathews, B.W., "Binding of Hydroxamic Acid Inhibitors to Crystalline Thermolysine Suggests a Pentacoordinate Zinc Intermediate in Catalysis", Biochemistry, 20, 6912-6920(1981).
5. Harrigan, M.F. and MacCance, M.E., "Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology", Academic Press, New York (1976)
6. Plaut, A.G., Genco, R.J. and Tomasi, T.B., "Isolation of an Enzyme From *Streptococcus Sanguis* Which Specifically Cleaves IgA", J. of Immunol., 113, 289-291 (1974).
7. Iwalokun, B.A. and Akinwumi, B.O., "Swarming Modulatory Effects of Some Amino Acids on *Proteus* Strains From Lagos, Nigeria", African J. of Biotechnol., 1, 10-16 (2002).
8. Johnstone, A. and Thorpe, R., "Immunochemistry in Practice", 3rd Ed., Blackwell Science, U.S.A. (1996).
9. Lema, M.W., Brown, A. and Calkins, J.H., "A General Method for the Extraction of DNA From Bacteria", J. Microb. Meth., 19, 167-172(1994).
10. Maniatis, T., Fritsch, E. and Sambrook, J., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Gold Spring Harbor Laboratory Gold Spring Harbor, New York (1982).
11. Jetten, A.M. and Vogels, G.D, "Nature and Properties of a *Staph. aureus* Bacteriocin", J. Bacteriol., 112(1), 243-250 (1972).
12. Kloos, W.E., Orban, B.S. and Walker, D.D., "Plasmid Composition of *Staphylococcus* Species", Can. J. Microbial., 27, 271-278 (1981).
13. O'Reilly, M., Dongan, G., Foster, T.J. and Arbuthnott, J.P., "Plasmids in Epidermolytic Strain of *S.aureus*", J. Gen. Microbiol., 124, 99-107 (1981).
14. Dyke, K.G.and Noble, W.C., "Plasmids of Phage-Group II *Staphylococcus aureus*", J. Med. Microbiol., 17, 325-334 (1984).
15. Roger, M., Dorman, D.C. and Gapes, M., "A Three Years Study of Impetigo in Sydney", Med. J. Aust., 147, 63-65 (1987).

اعادة تأهيل الخلية القاعدية (Ni-Cd)

د. عماد فاضل عبد الهادي

قسم الكيمياء، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية، بغداد، العراق

الخلاصة

جرى تأهيل البطارية القابلة للشحن المسماة بالبطارية القاعدية (Ni-Cd) اشتملت خطوات تأهيل البطارية على اجراء الاتي:

فتح الخلايا واستخراج المحلول الالكتروليتي (KOH) منها ثم اجريت المعاملات الفيزيائية والكيميائية الضرورية لها. طلي قطب الكادميوم في محلول يتكون من CdO و NaCN باستخدام كثافة تيار 0.069 A/cm^2 وبدرجة حرارة الغرفة مع الخلط الجيد ثم طلي قطب النيكل في محلول يتكون من NiSO_4 وحامض البوريك وكثافة التيار كانت 0.046 A/cm^2 وبدرجة حرارة 65°C . بعد ذلك عزلت الاقطاب كهربائيا بقطعة قماش خاصة ثم اعيد غلق الخلية حراريا واضيف المحلول الالكتروليتي KOH 30% وشحنت البطارية المؤهلة لمدة 5 ساعات باستخدام تيار ثابت مقداره 5A حتى استقر جهد الخلية عند قيمة 1.3V. بعد ذلك تم حساب كفاءة التفريغ باستخدام مقاومة ثابتة مقدارها 4Ω ثم جرى حساب سعة البطارية بتفريغ الخلية عن طريق سحب تيار ثابت مقداره 24A ولمدة 50 دقيقة، اي ان سعة البطارية (18) امبير . ساعة.

ABSTRACT

Recycling the rechargeable alkaline (Ni-Cd) battery involved opening the cell which was sealed and the plates inside the cell were treated physically & chemically. Cadmium plates were electroplated using (CdO+NaCN) solution & a current density of 0.069 A/cm^2 at room temperature with good stirring. Nickel plates were electroplated using

(NiSO₄+Boric acid) solution & a temperature of 65°C, the current density was 0.046 A/cm². The plates were then electrically isolated using a cellulose cloth. A 30% KOH solution was added to the cell then it was sealed back.

The cell was charged for 5hrs using a constant current of 5A, the voltage read 1.3V.

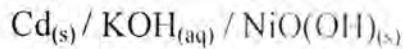
The discharge efficiency was calculated using a load of 4Ω. The battery capacity was 18A.hr.

الهدف من البحث

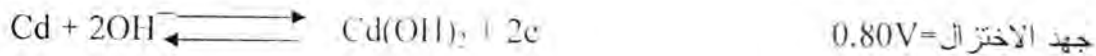
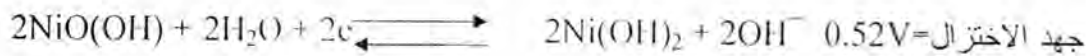
اجري هذا البحث بطلب رسمي عام 2002 وذلك بسبب ظروف الحصار انذاك ولعدم تمكن الجهة الرسمية من الاستيراد وكان لديهم اعداد كبيرة من البطاريات التالفة والمستهلكه حيث تعتبر مصدر تلوث بيئي (1).

المقدمة

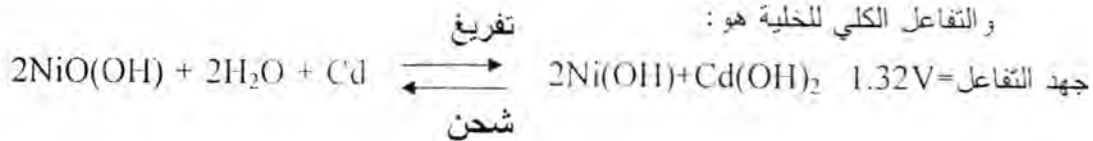
تتمثل هذه الخلية الكلفانية بالآتي:



وتتكون الخلية من قطب النيكل مع اوكسيدده (قطب الكاثود) وقطب الكاديوم (قطب الانود) مغمورين في المحلول القاعدي KOH 30%. وتفاعلات الاقطاب كما يلي:



والتفاعل الكلي للخلية هو:



عند التفريغ يستهلك جزء من الاوكسجين النشط الموجود في اكاسيد النيكل على قطب الكاثود، أما الكادميوم الموجود على قطب الانود فيتأكسد.

وعند الشحن تزداد نسبة الاوكسجين في قطب الكاثود مرة أخرى، لأن $Ni(OH)_2$ يتحول الى جزيئات $NiO(OH)$ ، أما $Cd(OH)_2$ الموجود على قطب الانود فيختزل الى الكادميوم النقي. وعند التفريغ تنفصل المجموعة $(OH)_2$ عن قطب الكاثود الى الالكتروليت، كما تنتقل هذه المجموعة الى الالكتروليت من قطب الانود، وتكون العملية عند الشحن في الاتجاه المعاكس والالكتروليت لا يتغير في كلا الحالتين.

تتألف الخلية (2) من حاوية مصنوعة من البلاستيك تحتوي على مجموعتين من الألواح، مجموعة الكاثود وعددها (11) لوح من النيكل ومجموعة الانود وعددها (12) لوح من الكادميوم تتداخل المجموعتان ببعضهما البعض بحيث يلي كل لوحة انود كاثود وهكذا تكون اللوحتين الخارجيتين جزء من الانود، تعزل الألواح كهربائياً حسب الشركة المنتجة فبعضها تعزل بمادة تعمل كأسفنجية تمتص المحلول الألكتروليتي وتقلل من حركته وتزيد من التهوية بين الألواح وبعضها الآخر يستعمل مادة إضافية من البولي أميد أو من السلفون للتأكد من العزل. وتوصل ألواح الخلية مع الدائرة الخارجية بواسطة المسامير التي تجمع الألواح والتي تمرر خلال فتحات في غطاء الحاوية، الشكل رقم (1).

توجد ثلاث طرق في صناعة الأقطاب (3,4):

- 1- طريقة الجيب،
- 2- طريقة الرش.
- 3- طريقة اللصق.

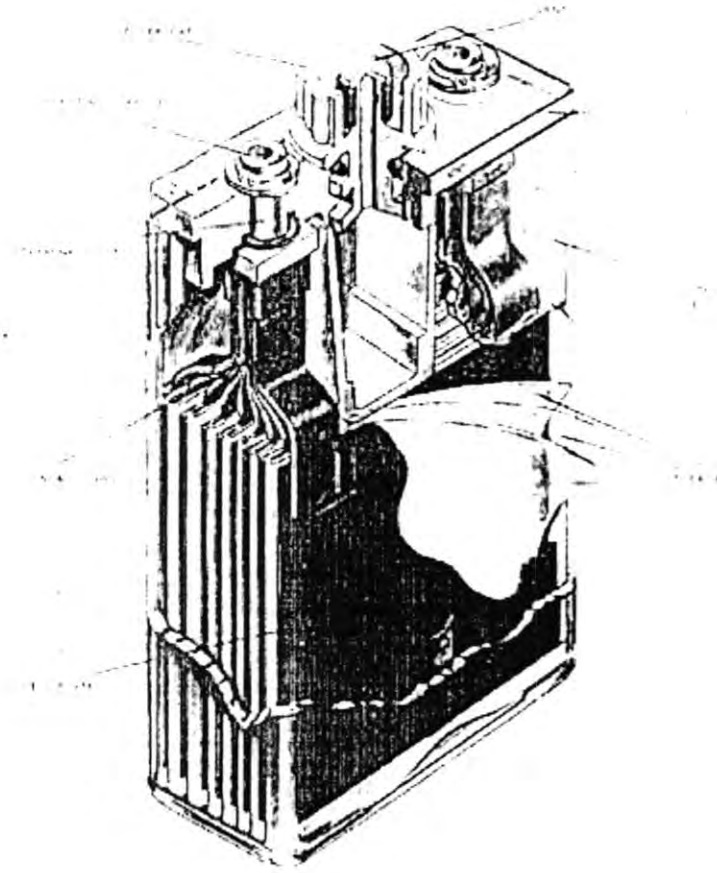
وهذه الطرق صناعية تحتاج إلى أجهزة ومعدات غير متوفرة لذا يهدف هذا البحث إيجاد

طريقة سهلة وباستخدام أجهزة ومعدات متوفرة محلياً يتم من خلالها إعادة تأهيل الخلايا

المستهلكة من خلال تعويض النقصان في المادة الفعالة للأقطاب وتبديل المادة العازلة التالفة،

هذا بالإضافة إلى تنظيف الألواح بطريقة كيميائية وفيزيائية للتخلص من أملاح الكربونات

الملتصقة بالألواح وبقياء العازل الملتصق أيضاً. ثم وضع محلول KOH جديد.



الشكل رقم (I)

الجزء العملي

تم فتح حاوية الخلية وإخراج ألواح النيكل والكادميوم وفصلها عن بعضها البعض وإزالة المادة العازلة عنها باستخدام فرشاة التنظيف ومادة منظفة، ثم تم غمرها في محلول مخفف من حامض HCl للتخلص من الأملاح المترسبة ثم غسلها بالماء المقطر للتخلص من آثار الحامض ثم تركت لتجف.

تم طلاء ألواح النيكل باستخدام محلول يحتوي على 1/100 كبريتات النيكل و 45g/l حامض البوريك، حيث يوضع هذا المحلول في حوض الطلاء وتربط ألواح النيكل المستهلكة ككاثود وتغمر في المحلول أما الأنود في هذا المحلول فكان لوح من معدن النيكل النقي ثم تطلى ألواح النيكل المستهلكة. من الواضح، أن الكاثود في خلية الطلاء هذه هو القطب السالب (في حين كان الكاثود في الخلية الكلفانية قطباً موجباً)، كذلك تم طلاء ألواح الكادميوم باستخدام محلول يحتوي على 1/60g أكسيد الكادميوم و 110g/l سيانيد الصوديوم. حيث يوضع هذا المحلول في حوض طلاء ثاني وتربط ألواح الكادميوم المستهلكة ككاثود وتغمر في المحلول، أما الأنود في هذا المحلول فكان لوح من معدن الكادميوم النقي. ثم تطلى ألواح الكادميوم المستهلكة. بعد طلاء الألواح تم غسلها بالماء المقطر ثم تم عزلها باستخدام قماش له القابلية على امتصاص المحلول وبطبقتين بين كل لوحين ثم أعيدت الألواح إلى الحاوية البلاستيكية حيث تم لحام الخلية مرة أخرى ثم أضيف إليها محلول KOH بعد ذلك تم شحن مجموعة من الخلايا الموهلة بالطريقة أعلاه بعد تركها لمدة (24) ساعة لكي يتم ترطيب أقطابها بتيار ثابت مقداره 5A لمدة (5) ساعات وبدرجة حرارة 25°C ويستقر جهد الخلية عند 1.3V.

تم تفريغ الخلية باستخدامها كجزء من بطارية تحتوي على (20) خلية وذلك عن طريق تشغيل طائفة سميثة تابعة للدولة ولمرتني متتاليتين. الملحق شهادة الفحص والقبول (الفحص الميداني) وشهادة الفحص والقبول (الفحص المختبري). حيث أنخفض جهد البطارية من 27V إلى 20V وعند وقف التشغيل يبدأ جهد البطارية بالارتفاع مرة أخرى. وتم تفريغ البطارية أيضاً بسحب تيار ثابت مقداره 24A ولمدة (50) دقيقة باستخدام جهاز شركة SAFT لصناعة البطاريات. أي أن سعة البطارية (18) أمبير. ساعة.

بسم الله الرحمن الرحيم

شهادة الفحص والقبول

وزارة الدفاع
رئاسة أركان الجيش
مديرية الفحص والقبول

تحت سر / ٢٩
التاريخ: ١٩ / ٢ / ٢٠٠٣

رقم العقد: ٢٠٠٢ / ط ١٨ / ١٨
موضوع العقد: تأهيل الخلايا القاعدية
الكمية: ستون خلية
سنة انتهاء: ٢٠٠٣

اسم المادة	الفحص المختبري	الفحص الميداني	الملاحظات
خلايا قاعدية نوع Ni-Cd	مقبول	مقبول	
ضارز Saft في الحاويات المرقمة F-2275, H-0440, B1339			

النتيجة النهائية: مقبولة

العقيد المهندس
باسم صالح ياسين
مديرية الفحص والقبول

العقيد المهندس
محمود سعيد حمود
قيادة طيران الجيش

المكثور
عماد فاضل عبد الهادي

العقيد المهندس
سليمان روضان
مديرية الفحص والقبول

العقيد المهندس
سلام خليل حاتم
قيادة طيران الجيش

الدكتور
فيس جميل لطيف
مدير مكتب المستنصرية للاستشارات
العلمية

العقيد المهندس
فارس فاضل كبطان
قيادة طيران الجيش



النتائج والمناقشة

كانت الظروف المثلى لعملية الطلاء الكهربائي للنكل (5):

1. درجة الحرارة 65°C .
2. المسافة بين الأقطاب 10cm.
3. التيار لوحدة مساحة القطب $0.046\text{A}/\text{cm}^2$.
4. زمن الطلاء $\frac{1}{4}$ دقيقة.

أما الظروف المثلى لعملية الطلاء الكهربائي للكاديوم (6):

1. درجة الحرارة 25°C .
2. المسافة بين الأقطاب 10cm.
3. التيار لوحدة مساحة القطب $0.069\text{A}/\text{cm}^2$.
4. زمن الطلاء $\frac{1}{4}$ دقيقة.

هذا وقد اعتمد زمن الطلاء أعلاه لأن زيادته تؤدي إلى فقدان الألواح لمساميتها (التي لم تقاس في هذا البحث) وبالتالي عدم الحفاظ على الشحنة.

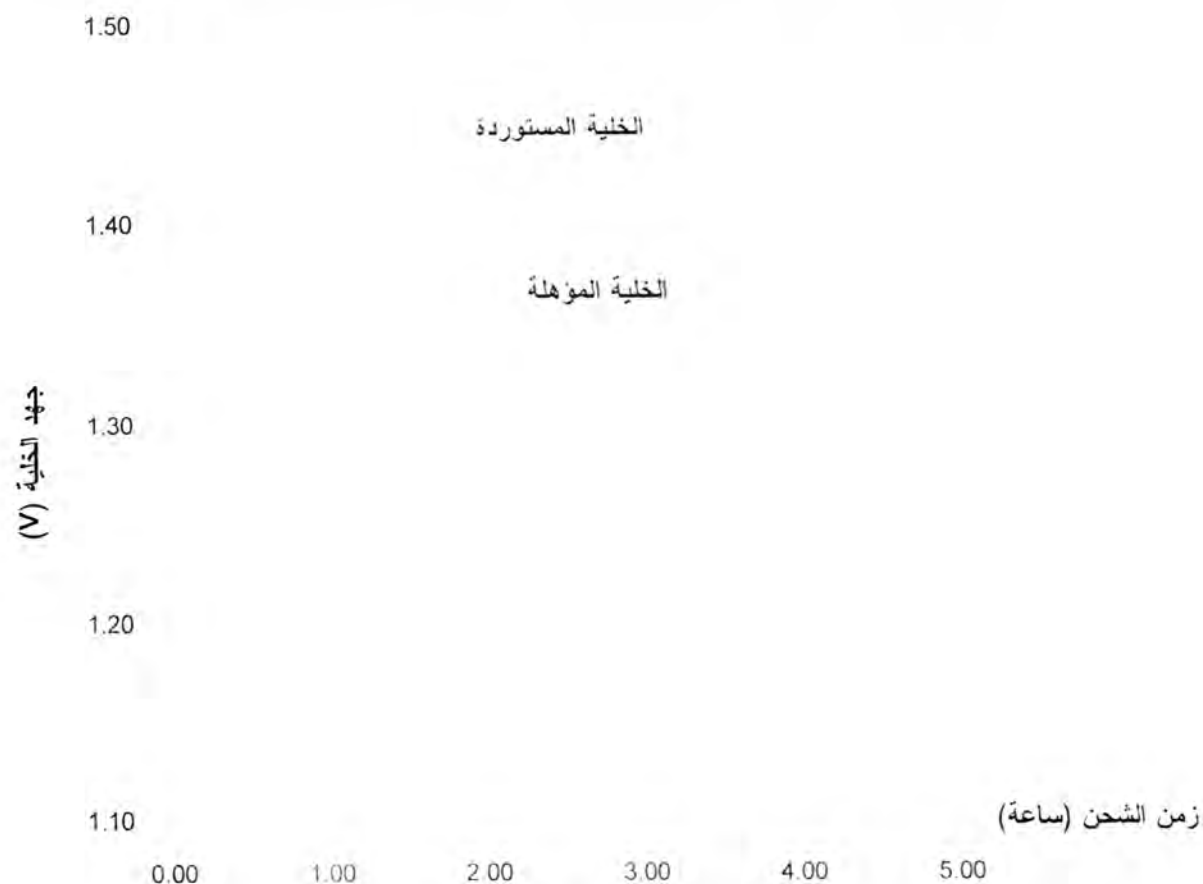
شحن الخلية المؤهلة (7)

تمت دراسة عملية شحن الخلية بعد إجراء عملية الطلاء الكهربائي للألواح وربطها مع بعضها على التوالي وعزلها. تم الحصول على الشكل (2) الذي يوضح علاقة الجهد الذي تصل إليه الخلية المؤهلة والمستوردة مع مرور زمن الشحن. يلاحظ أن أقصى جهد يمكن أن تصل إليه الخلية المؤهلة بعد عملية الشحن ولمدة (5) ساعات هو 1.45V ثم تبدأ بالتناقص مع مرور الزمن بعد توقف عملية الشحن إذ تستقر عند 1.3V بعد مرور (17) ساعة من توقف عملية الشحن. يستنتج من نتائج شحن الخلية المستوردة أنها مطابقة تقريباً مع نتائج شحن الخلية المؤهلة وقد احتفظت بجهد مقداره 1.3V لمدة أكثر من شهر.

جدول (1)

علاقة جهد الخلية المؤهلة والمستوردة مع زمن الشحن

زمن الشحن t(hrs)	جهد الخلية المؤهلة V	جهد الخلية المستوردة V
0.5	1.13	1.35
1	1.36	1.38
1.5	1.39	1.4
2	1.41	1.41
2.5	1.41	1.41
3	1.43	1.42
3.5	1.43	1.42
4	1.44	1.43
4.5	1.44	1.44
5	1.45	1.46



شكل رقم (2) يمثل شحن خلية مؤهلة مقارنة مع شحن خلية مستوردة

تفريغ الخلية المؤهلة (9،8)

تم استخدام مقاومة ثابتة مقدارها 4Ω وتم الحصول على النتائج الموضحة في الشكل رقم (3) الذي يبين إنخفاض جهد الخلية المؤهلة مع زيادة زمن التفريغ وكذلك مقارنة تفريغ الخلية المؤهلة مع تفريغ الخلية المستوردة الذي يتم بسحب نيار ثابت، وجد إن هناك تقارب في النتائج.

وقد استنتج من ذلك ما يلي:

1. أن طلاء أقطاب الخلية المستهلكة أدى إلى الحصول على خلية تعطي مواصفات قريبة جداً من مواصفات الخلية المستوردة.
2. المواد المستخدمة في طلاء الألواح متوفرة وذات كلفة قليلة.
3. عملية التأهيل التي أشتملت على عزل الألواح المطلوبة من جديد واستخدام محلول ألكتروليتي نقي، ومن ثم لحام الخلية أعطت خلية تصاهي بمواصفاتها الخلية المستوردة.
4. هنالك مردود اقتصادي واضح للبلد من خلال تأهيل البطاريات المستهلكة بدلاً من استيرادها بالعملة الصعبة.

جدول (2)

تفريغ الخلية باستخدام مقاومة ثابتة

No.	جهد الخلية المؤهلة	زمن التفريغ (دقيقة)	جهد الخلية المستوردة	زمن التفريغ (دقيقة)
	V	t	V	t
1-	1.35	0	1.4	0
2-	1.32	1.2	1.383	0.9
3-	1.3	4.2	1.36	2.4
4-	1.294	7.2	1.344	3
5-	1.288	10.8	1.328	4.2
6-	1.28	15.6	1.308	7.2
7-	1.274	19.8	1.3	12.6
8-	1.27	24.6	1.288	18.6
9-	1.268	30	1.282	24
10-	1.262	34.8	1.274	30.3
11-	1.254	39.6	1.272	34.2
12-	1.25	44.4	1.27	39.6
13-	1.24	49.2	1.266	45
14-	1.244	54	1.262	49.8
15-	1.2	59.7	1.258	54.6
16-	1.168	64.8	1.25	60
17-	1.14	66.6	1.246	62.4
18-	1.108	67.8	1.23	64.8
19-	1.044	67.8	1.21	67.2
20-			1.19	70.2
21-			1.15	76
22-			1.124	75
23-			1.096	77.4
24-			1.06	79.8



شكل رقم (3) يمثل تفريغ خلية مؤهلة مقارنة مع تفريغ خلية مستوردة

المصادر

1. Battery Recycling, Last Update December 07, 1998
<http://www.Umwelt.bundesamt.de/Uba-info-daten-e/batteries.rwertung.htm>.
2. Saft & Varta Manufacturing Company Catalogues, PP. 1-10 (1996).
3. Falk S.U. and Salkind A.J., Alkaline Batteries John Wiley, New York, PP. 9-14 (1969).
4. G. Vinal, Storage Batteries, John Wiley, New York, PP. 66-81 (1955).
5. Rodgers T.M., Handbook of Practical Electroplating, New York, PP. 47-50, 217-220 (1959).
6. Ruff W. and Boucher H., Patent U.S.A. (3442,776), PP. 1-4 (1969).
7. Milner P.C. and Thomas G.B., The Nickel-Cadmium Cell, in Advances in Electrochemistry and Electrochemical Engineering, Vol.5, John Wiley New York, P.1 (1967).
8. Bauer P., Batteries for Space Power Systems NASA Report SP-172 (1968).
9. Zimmerman A.H. and Elfa P.K., Nickel-Cadmium Cell Performance Recovery & reconditioning Los Angeles Air Force Station Calif., PP. 3-12 (1982).

قدرة إيقاف البروتونات باستخدام نظرية التشتت الثنائي

نضير جاسم محمد العبيدي

قسم الفيزياء، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية

الخلاصة

في هذا البحث تم دراسة المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات القريبة (S_{close}) والمقطع العرضي للإيقاف للتصادمات البعيدة (S_{dist}) لتفاعل البروتونات مع الهيدروجين الجزيئي (H_2) والألومنيوم (Al). فالمقطع العرضي للإيقاف للتصادمات البعيدة أمكن تصنيفه إلى نوعين اعتماداً على الزخم المنقول للإلكترونات الهدف وهما المقطع العرضي للإيقاف العمودي على اتجاه مسار الجسيم الساقط (S_{\perp}) والمقطع العرضي للإيقاف الموازي لاتجاه مسار الجسيم الساقط (S_{\parallel}). لذلك تم دراسة هذين النوعين من المقطع العرضي للإيقاف ومعرفة مدى تأثيرهما تبعاً لتغير سرعة الجسيم الساقط حيث تبين أنه عند السرعة القليلة فإن قدرة الإيقاف للتصادمات القريبة هي السائدة عن التصادمات البعيدة والمتمثلة بالمقاطع العرضية للإيقاف الموازية والعمودية المتساوية التأثير. وعند نقطة التقاطع (p_0) والتي تمثل معامل التصادم الحرج (critical impact parameter) "تبدأ ميكانيكية التفاعل بالتغير، فزيادة سرعة الجسيم الساقط يزداد تأثير التصادمات البعيدة نسبة للتصادمات القريبة، في نفس الوقت يكون تأثير التصادمات الموازية والعمودية متميزاً مع تغلب تأثير التصادمات العمودية.

ABSTRACT

In this search studies of stopping cross-section for close collisions (S_{close}) and distant collisions (S_{dist}) for proton interaction with hydrogen molecule (H_2) and aluminium (Al). The stopping for distant collisions can be classified in to tow kinds according to momentum transfer to target electrons, this kinds are perpendicular stopping cross-section on direct path incident particle (S_{\perp}) and parallel stopping cross-section to direct path

incident particle ($Sd_{||}$). This studies to explain influence of this kinds follows to variance velocity incident particle to conclusion that at low velocity predominate stopping power for close collisions comparing with distant collisions, and at cross point (p_*) that denoted to critical impact parameter, the mechanism of interaction change with increasing velocity incident particle and influence distant collisions increase rate to close collisions. In the same time can be seen influence of parallel and perpendicular collisions with predominating distant collisions.

المقدمة

نظرية الإيقاف لبور فصلت تفاعلات (جسيمة-هدف) إلى تصادمات بعيدة وقريبة طبقاً لمعامل التصادم (p , impact parameter) وذلك لمعرفة مدى تأثير هذه التصادمات على حساب قوة الإيقاف (stopping force). فالتفاعلات القريبة (close interactions) وصفت بأنها تفاعلات كولوم الحرة الثنائية (binary free coulomb interactions) بإهمال ارتباط الإلكترون داخل الذرة (1)، حيث يفقد الجسيم المشحون طاقته خلال هذه التفاعلات، لذلك فإن الطاقة المنتقلة (T_{close} , close energy transfer) إلى إلكترونات ذرات الهدف كدالة لمعامل التصادم (p) والناجمة عن التصادمات القريبة تعطى بالعلاقة الآتية (2):

$$T_{close} = \frac{2Z_1^2 e^4}{mv^2 p^2} \cdot \frac{1}{1 + \left(\frac{b}{2p}\right)^2} \quad (1)$$

حيث أن (b) هو قطر التصادم (collision diameter) ويعطى بالعلاقة:

$$b = \frac{2Z_1 e^2}{mv^2}$$

وأن:

e, Z_1 : العدد الذري للجسيم الساقط وشحنة الإلكترون على التوالي.

v, m : كتلة الإلكترون وسرعة الجسيم الساقط على التوالي.

أما التفاعلات البعيدة (distant interactions) فقد تم وصفها في نظرية التفريق الكلاسيكية (classical dispersion theory) كتأثير للمجال الكهربائي المعتمد على الزمن والمتولد بواسطة اختراق جسيم مشحون "على إلكترون الهدف" (1) ناتج عنه طاقة منتقلة إلى ذرة الهدف (distant energy transfer, T_{dist}) كدالة لمعامل التصادم (p) تعطى بالعلاقة الآتية (2):

$$T_{dist} = \frac{2Z_1^2 e^4}{mv^2 p^2} \left\{ \left[\frac{\omega p}{v} k \left(\frac{\omega p}{v} \right) \right]^2 + \left[\frac{\omega p}{v} k_1 \left(\frac{\omega p}{v} \right) \right]^2 \right\} \quad (2)$$

k_1, k_{II} : دوال بسل المعدلة (3) .

ω : التردد الرنيني (resonance frequency).

الأساس النظري

تفترض نظرية بور على أن التفاعل بين الجسيم الساقط وإلكترونات ذرات الهدف صنف إلى تصادمات بعيدة وقريبة طبقاً لمعامل التصادم (p) (4). لذلك وبالاعتماد على معادلة (2) يمكن إعادة كتابتها بالشكل الآتي:

$$T_{dist} = \frac{2Z_1^2 e^4 \omega^2}{mv^4} \left\{ \left[k_0 \left(\frac{\omega p}{v} \right) \right]^2 + \left[k_1 \left(\frac{\omega p}{v} \right) \right]^2 \right\} \quad (3)$$

حيث أن معامل التصادم (p) يكون كبيراً.

ففي التصادمات البعيدة وبالاعتماد على تقريب الزخم (momentum approximation) لنظرية التشتت الكلاسيكية (classical scattering theory) أي: نظرية الاضطراب من المرتبة الأولى (first order perturbation theory) والتي أنتجت زخماً منتقلاً (momentum transfer, P) عمودياً (P_{\perp}) وموازيًا (P_{\parallel}) لاتجاه الحزمة الساقطة (5) وبذلك يمكن تجزئة معادلة (3) وإعادة كتابتها بالشكل الآتي:

$$T_{dist} = T_{\parallel} + T_{\perp} \quad (4)$$

حيث أن:

T_{\parallel} : الطاقة المنتقلة (parallel energy transfer) لإلكترونات ذرات الهدف عندما يكون الزخم المنتقل موازياً لاتجاه الحزمة الساقطة والمعبر عنها بالشكل الآتي:

$$T_{\parallel} = \frac{2Z_1^2 e^4 \omega^2}{mv^4} k_1^2 \left(\frac{\omega p}{v} \right) \quad (4a)$$

وان:

T_{\perp} : الطاقة المنتقلة (perpendicular energy transfer) لإلكترونات ذرات الهدف عندما يكون الزخم المنتقل عمودياً على اتجاه الحزمة الساقطة والمعبر عنها بالشكل الآتي:

$$T_{\perp} = \frac{2Z_1^2 e^4 \omega^2}{mv^4} k_1^2 \left(\frac{\omega p}{v} \right) \quad (4b)$$

أما في التصادمات القريبة ومن خلال تعويض قطر التصادم (b) في معادلة (1) لتصبح بالشكل الآتي:

$$T_{close} = \frac{2mv^2}{1 + (pmv^2 / Z_1 e^2)^2} \quad (5)$$

وبذلك تكون الطاقة الكلية المنتقلة لإلكترونات ذرات الهدف معبر عنها بالشكل الآتي:

$$T_{tot.} = T_{close} + T_{dist.} \quad (6)$$

وبما إن المقطع العرضي يمكن التعبير عنه بالمعادلة الآتية (6):

$$S_{tot.} = \int_0^{\infty} 2\pi T_{tot.} p dp \quad (7)$$

وبتعويض معادلة (6) في معادلة (7) ينتج:

$$S_{tot.} = \int_0^{p_0} 2\pi T_{close} p dp + \int_{p_0}^{\infty} 2\pi T_{dist.} p dp \quad (8)$$

حيث أن (p_0) معامل التصادم الحرج ويعطى بالعلاقة الآتية:

$$p_0 = \left(C v b / 2\omega \right)^{1/2}$$

وان:

$$C = 2e^{-0.5772}$$

و عند نقطة التقاطع (p_0) فان المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات البعيدة (S_{dist}) يساوي المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات القريبة (S_{close}).
وبتعويض معادلة (4) في معادلة (8) ينتج:

$$S_{tot} = S_{close} + \int_p^{\infty} 2\pi [T_{||} + T_{\perp}] p dp \quad (9)$$

وبذلك تنتج معادلة يمكن من خلالها إيجاد المقطع العرضي الكلي (S_{tot}) للإيقاف يعبر عنها بالصيغة الآتية:

$$S_{tot} = S_{close} + (S_{d||} + S_{d\perp}) \quad (10)$$

حيث أن:

$S_{d||}$: المقطع العرضي للإيقاف (parallel stopping cross-section) للتصادمات البعيدة عندما يكون الزخم المنتقل موازياً لاتجاه الحزمة.

$S_{d\perp}$: المقطع العرضي للإيقاف (perpendicular stopping cross-section) للتصادمات البعيدة عندما يكون الزخم المنتقل عمودياً على اتجاه الحزمة.

الحسابات والنتائج

عند سقوط جسيم مشحون فإنه يفقد طاقته بمرحلتين، الأولى عندما تكون سرعته عالية حيث يفقد طاقته نتيجة للتصادمات البعيدة (T_{dist}) والتي تتضمن طاقة منتقلة موازية ($T_{||}$) وطاقة منتقلة عمودية (T_{\perp}). أما المرحلة الثانية فتكون عند السرعة الواطئة حيث يفقد طاقته نتيجة للتصادمات القريبة (T_{close}). لذلك يمكن حساب الطاقة المنتقلة للإلكترونات ذرات الهدف بإعادة كتابة المعادلات (4a), (4b), (5) بالصيغ الآتية:

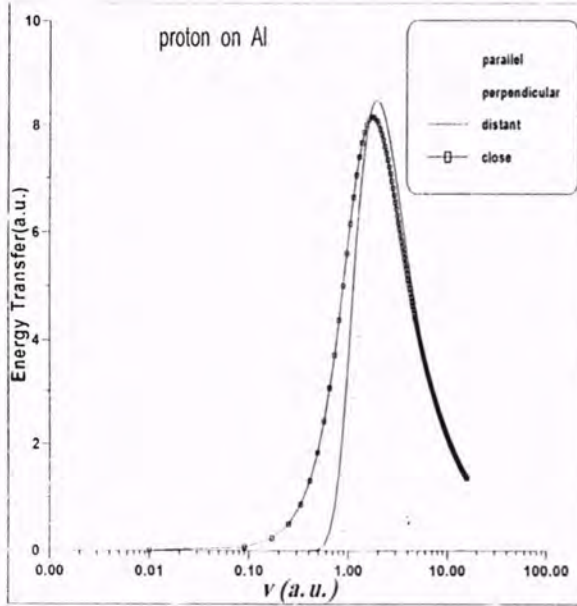
$$T_{||} = \frac{2\omega^2}{v^4} k_o^2(x) \quad (11)$$

$$T_{\perp} = \frac{2\omega^2}{v^4} k_l^2(x) \quad (12)$$

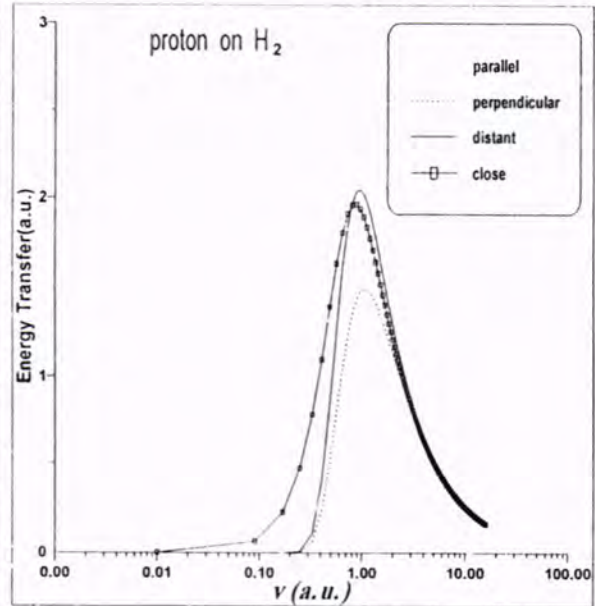
$$T_{close} = \frac{2\omega^2}{v^4} \left[\frac{1}{x_o^2 + (b\omega/2v^2)^2} \right] \quad (13)$$

$$x_o = \frac{\omega p}{v} \quad \text{حيث أن:}$$

فمن خلال المعادلات (11)، (12)، (13) تم حساب الطاقة المنتقلة عند تفاعل البروتونات مع الهيدروجين الجزيئي (H_2) والألمنيوم (Al) بالوحدة الذرية (atomic unit, a.u.) في السرعة العالية والواطئة ضمن برنامج (NstopBIN) والذي تمت كتابته بلغة فورتران (FORTRAN-90) وكما في الشكل (1 و 2) على التوالي. حيث تكون الطاقة المنتقلة نتيجة تأثير التصادمات البعيدة ($T_{dist.}$) مساوية للطاقة المنتقلة نتيجة تأثير التصادمات القريبة (T_{close}) عند نقطة التقاطع (p_o).



شكل (2)



شكل (1)

وعند نقطة التقاطع (p_o) تكون سرعة البروتونات المتفاعلة مع الهيدروجين الجزيئي شكل (1) مساوية إلى ($v=0.75 \text{ a.u.}$) حيث تكون الطاقة المنتقلة نتيجة تأثير التصادمات القريبة مساوية إلى الطاقة المنتقلة نتيجة تأثير التصادمات البعيدة ($T_{close}=T_{dist.}=1.95 \text{ a.u.}$)، وبزيادة سرعة الجسم الساقط ($v \geq 1 \text{ a.u.}$) يظهر تأثير الطاقة المنتقلة ($T_{dist.}$) واضحاً نسبةً إلى الطاقة المنتقلة (T_{close}) ويقل هذا التأثير بنقصان سرعة الجسم الساقط ($v \geq 0.25 \text{ a.u.}$) ليظهر

تأثير الطاقة المنتقلة (T_{close}) بصورة واضحة. كذلك نلاحظ عدم تمايز الطاقة المنتقلة نتيجة للتصادمات البعيدة الموازية والعمودية عندما تقل سرعة الجسيم الساقط ($v \leq 0.25 \text{ a.u.}$)، وعند زيادة سرعة الجسيم الساقط ($v \geq 2 \text{ a.u.}$) يظهر واضحاً تغلب الطاقة المنتقلة للتصادمات البعيدة العمودية نسبة إلى الموازية التي تضمحل بصورة نهائية في السرع العالية.

و عندما يكون الألمنيوم (Al) وسطاً موقفاً شكل (2) وعند نقطة التقاطع (p_0) تكون قيمة الطاقة المنتقلة متساوية ($T_{close} = T_{dist} = 8.125 \text{ a.u.}$) عند السرعة ($v = 0.75 \text{ a.u.}$) حيث نلاحظ زيادة قيمة الطاقة المنتقلة للتصادمات القريبة والبعيدة مقارنة بهدف الهيدروجين الجزيئي. كذلك يظهر واضحاً تغلب الطاقة المنتقلة (T_{dist}) بزيادة سرعة الجسيم الساقط ($v \leq 2 \text{ a.u.}$) مع تمايز الطاقة المنتقلة للتصادمات البعيدة العمودية والموازية مع تغلب تأثير التصادمات البعيدة العمودية عند السرعة ($v \geq 0.5 \text{ a.u.}$) وبنقصان سرعة البروتونات الساقطة يظهر واضحاً تغلب الطاقة المنتقلة (T_{close}) نسبة للطاقة المنتقلة (T_{dist}).

أما في حسابات المقطع العرضي لقدرة الإيقاف أسكن الحصول على صيغ لحساب المقاطع العرضية للإيقاف للتصادمات البعيدة الموازية ($S_{d||}$) والعمودية ($S_{d\perp}$) بتعويض المعادلات (4a)، (4b) في معادلة (7) كالآتي:

$$S = \int_{p_0}^{\infty} 2\pi T p dp, \quad (14)$$

$$= \frac{4\pi Z_1^2 e^4 \omega^2}{m v^4} \int_{p_0}^{\infty} k^2 \left(\frac{\omega p}{v} \right) p dp,$$

وبنفس الطريقة فإن:

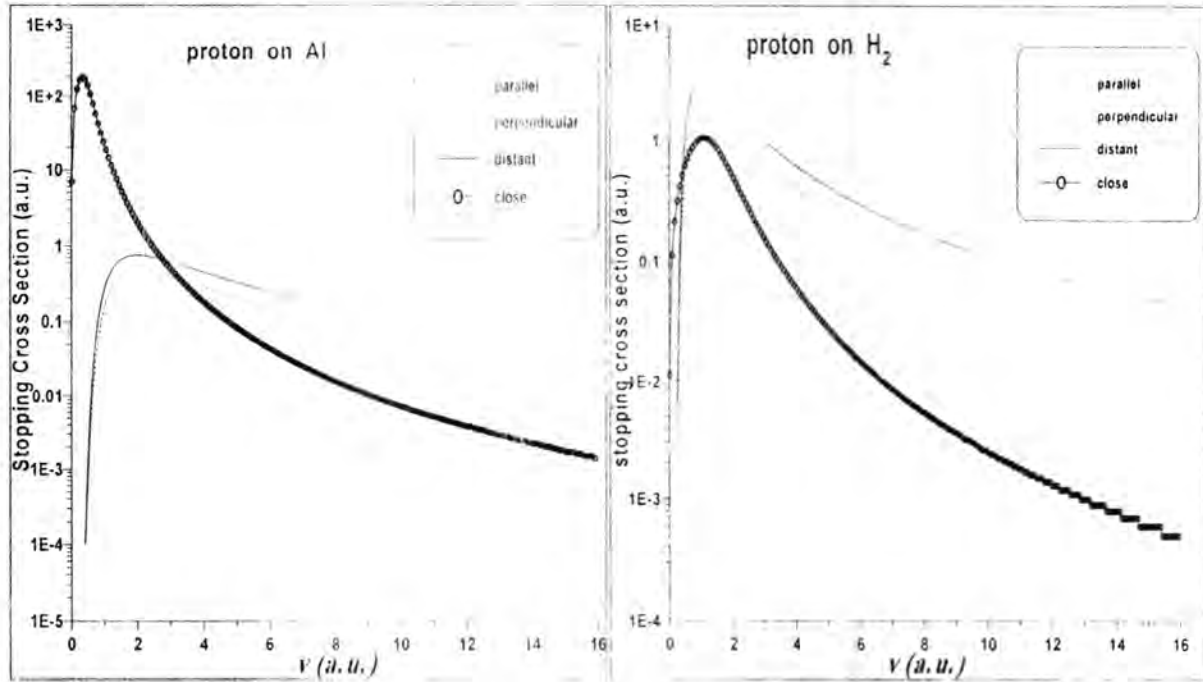
$$\therefore S_{d||} = \frac{4\pi}{v^2} \int_{x_0}^{\infty} k^2 (x_0) \cdot x_0 \cdot dx_0$$

$$S_{d\perp} = \frac{4\pi}{v^2} \int_{x_0}^{\infty} k_{\perp}^2 (x_0) \cdot x_0 \cdot dx_0 \quad (15)$$

وللحصول على المقطع العرضي للإيقاف نتيجة للتصادمات القريبة نعوض معادلة (13) في معادلة (7) لنحصل على الصيغة الآتية:

$$S_{close} = \frac{4\pi}{v^2} \int_0^x \left[\frac{1}{(x/v^2) + (1/v^4 \omega)^2} \right] x \cdot dx \quad (16)$$

فبالاعتماد على المعادلات (14)، (15)، (16) أمكن حساب المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات القريبة والبعيدة (الموازية والعمودية) للبروتونات المتفاعلة مع الهيدروجين الجزيئي (H_2) والألمنيوم (Al) بوحدات (a.u.) في السرعة العالية والواطئة ضمن برنامج (NstopBIN) كما موضح في الشكل (3)، (4) على التوالي.



شكل (3)

شكل (4)

حيث نلاحظ من الشكل (3) عند تفاعل البروتونات مع هدف الهيدروجين الجزيئي (H_2) يكون عند نقطة التقاطع (p_{00}) المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات البعيدة مساوياً للمقطع العرضي للإيقاف للتصادمات القريبة ($S_{close}=S_{distant}=0.51 a.u.$) عند السرعة ($v=0.41 a.u.$)، وبزيادة سرعة البروتونات الساقطة يزداد المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات البعيدة ويقل تدريجياً ليصبح ثابتاً تقريباً في السرعة العالية مع اضمحلال المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات القريبة في السرعة العالية. كذلك نلاحظ عند السرعة الواطئة ($v \leq 1 a.u.$) فإن المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات البعيدة (الموازية والعمودية) يكون متساوي التأثير، وبزيادة سرعة الجسم الساقط ($v \geq 1 a.u.$) يختلف تأثير كل منهما حيث يكون تأثير المقطع العرضي للإيقاف العمودي ($S_{d\perp}$) سائداً نسبة إلى المقطع العرضي الموازي ($S_{d\parallel}$) في السرعة العالية.

أما في حالة تفاعل البروتونات مع هدف الألمنيوم والذي يوضحه الشكل (4) نلاحظ عند نقطة التقاطع (p_0) فإن المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات القريبة مساوياً إلى المقطع العرضي للإيقاف للتصادمات البعيدة ($S_{close} - S_{dist} = 0.66 \text{ a.u.}$) عند السرعة ($v = 2.75 \text{ a.u.}$)، وعند نقصان سرعة الجسم الساقط ($v \geq 3 \text{ a.u.}$) يزداد المقطع العرضي للإيقاف (S_{close}) ليصل إلى أعلى قيمة له في السرعة الواطئة، ويقل هذا التأثير بزيادة سرعة الجسم الساقط ($v \leq 3 \text{ a.u.}$) ليظهر تأثير المقطع العرضي للإيقاف (S_{dist}) واضحاً ويصبح سائداً مع تمايز المقطع العرضي العمودي نسبة للموازي في السرعات العالية.

المنافشة

في حسابات قدرة الإيقاف باستخدام نظرية التشتت الثنائي آلية جيدة وواضحة، حيث تم في هذا البحث تجزئة قيمة الطاقة المنقولة التي يفقدها الجسم الساقط عند تفاعله مع إلكترونات ذرات هدف معين في السرعة العالية والواطئة، ومن ثم حساب المقطع العرضي للإيقاف ومدى تأثير التفاعلات القريبة والبعيدة عليه.

فمن خلال الشكل (1) و (2) لاحظنا أن الطاقة المنقولة في كل أنواع التصادمات عندما يكون الألمنيوم وسطاً موقفاً أكبر مما لو كان الهيدروجين الجزيني وسطاً موقفاً، ويمكن تفسير ذلك بأنه كلما يزداد العدد الذري للوسط الموقوف (Z_2) تزداد الطاقة المنقولة بزيادة إلكترونات ذرات الهدف، كذلك نلاحظ في حالة كون الهدف هيدروجين جزيني فإن معدل جهد التأين ($I = 19.67 \text{ eV}$) وللألمنيوم ($I = 166 \text{ eV}$) (7)، ليظهر لنا أن الطاقة المنقولة تتناسب طردياً مع معدل جهد التأين (I).

أما في حسابات المقطع العرضي للإيقاف وعندما يكون الهيدروجين الجزيني وسطاً موقفاً فإن المقطع العرضي للإيقاف (S_{close}) يزداد بزيادة سرعة الجسم الساقط ويضمحل في السرعة العالية لكن يبقى المقطع العرضي للإيقاف (S_{dist}) سائداً مع تمايز المقطع العرضي للإيقاف الموازي والعمودي ويصبح تأثيرهما سائداً نسبة للمقطع العرضي للإيقاف (S_{close}) في السرعة العالية. وبزيادة العدد الذري للوسط الموقوف (Z_2) عندما يكون الهدف (Al) نلاحظ التأثير الكبير والواضح للتصادمات القريبة على المقطع العرضي للإيقاف نسبة للتصادمات البعيدة والتي يمكن أن تكون عديمة التأثير في السرعة الواطئة. فالقيمة الكبيرة للمقطع العرضي للإيقاف في السرعة الواطئة تظهر نتيجة لتأثير التصادمات القريبة حيث يصبح الجسم الساقط بطيئاً جداً وتصبح فرصة فقدانه للطاقة كبيرة عند هذه المنطقة من السرعة، وتقل احتمالية فقدان الطاقة في

السرع العالية وبذلك يقل المقطع العرضي للإيقاف حيث أن الطاقة المنتقلة تتناسب طردياً مع المقطع العرضي للإيقاف ($S\alpha T$).

ومن خلال هذا البحث أصبح واضحاً مدى تأثير التصادمات القريبة بصورة عامة والبعيدة بصورة خاصة في حسابات قدرة إيقاف الجسيمات المشحونة (البروتونات) من خلال نظرية التشتت الثنائي.

المصادر

1. Sigmund, P., "Shell Correction in Bohr Stopping theory", Eur. Phys. J., D12, 111-116 (2000).
2. Sigmund, P., "Low-Speed Limit of Bohr's Stopping-Power Formula", Phys. Rev., A54, 3113 (1996).
3. Abramowitz, M. and Stegun, I.A., "Handbook of Mathematical Function", Dover, New York (1964).
4. Sigmund, P., "Charge-Dependent Electronic Stopping of Swift Non-Relativistic Heavy Ions", Phys. Rev., A56, 3781 (1997).
5. Brinkman, J.A., J. Appl. Phys., 25, 961 (1954).
6. Sigmund, P. and Schinner, A. "Binary Stopping Theory for Swift Heavy Ions", Eur. Phys. J., D12, 425-434 (2000).
7. ICRU, Stopping Power and Range for Proton and Alpha Particles (ICRU, International Commission of Radiation Units and Measurements, Vol. 49 (1994).