

# IJST

## INTERNATIONAL

Journal for Sciences and Technology

Vol. (7), No. (3) SEPTEMBER 2012

ISSN: 1816-2509

[www.ijst-jo.com](http://www.ijst-jo.com)

# IJST International Journal for Sciences & Technology

**I**nternational **J**ournal for **S**ciences and **T**echnology

المجلة الدولية للعلوم والتقولوجيا

---

**Volume 7. No. 3/ September 2012 / ISSN: 1816-2509**

---

***A Refereed Scientific Journal Since 2006***

مجلة علمية محكمة منذ عام 2006

***Issued By:***

***The International Centre for Advancement of Sciences and Technology***

IJST contact Information:  
P.O. Box 2793 Amman 11953 Jordan  
Tel. +96265602285  
E-mails: [info@ijst-jo.com](mailto:info@ijst-jo.com) / [info.icast@yahoo.com](mailto:info.icast@yahoo.com)  
URL: [www.ijst-jo.com](http://www.ijst-jo.com)

## EDITORIAL BOARD - 2012

---

**Al- Shammari , Abdul- Jabbar N.**

**(Editor-in- Chief)**

Professor of Microbiology / Faculty of  
Pharmacy / Al- Isra University / P.O. Box  
2793. Amman 11953 Jordan  
*shammari@ijst-jo.com*

**Abbas, Jamal A.**

Professor of Plant Ecophysiology /  
College of Agriculture / Kufa University /  
Iraq  
*phdjamal@yahoo.com*

**Abdul- Ghani, Zaki G.**

Professor of Microbiology / Faculty of  
Pharmaceutical Sciences / Amman Private  
University / Jordan  
*zaki\_abdulghani@yahoo.com*

**Abdul- Hameed, Hayder M.**

PhD in Environmental Engineering /  
Environmental Engineering Dept./ Faculty  
of Engineering/ Baghdad University/ Iraq  
*hayder3almunshi@yahoo.com*

**Al – Banna , Anton S. A**

Professor in Microbiology and Virology/  
Faculty of Veterinary Medicine/ Baghdad  
University / Iraq  
*albanaantoon@yahoo.com*

**Al- Dabbagh, Riadh H.**

Professor of Engineering Hydrology/ UAE  
*riadhdabbagh@yahoo.com*

**Al- Douri, Atheer A. R**

PhD in Microbiology/Faculty of  
Veterinary Medicine/ Baghdad University/  
Iraq  
*aaldouri96@yahoo.com*

**Al- Jashami, Najim A.**

Professor of Nuclear Material Sciences /  
Dept. of Physics / College of Sciences /  
Kufa University / Iraq  
*na\_phys@yahoo.com*

**Al- Mashaykhi, Akram Othman**

PhD in IT / Amman Arab University for  
Graduate Studies / Jordan  
*akram.othman@gmail.com*

**Al- Murrani, Waleed K.**

Professor of Genetics and Biostatistics /  
University of Plymouth/ UK  
*profmurrani@yahoo.com*

**Al- Saqur, Ihsan M.**

Professor of Parasitology/ Faculty of  
Sciences / Baghdad University/ Iraq  
*drihsanalsagur@yahoo.com*

**Al- Shamaony, Loai**

Professor of Biochemistry / Faculty of  
Pharmacy / Misr University for Sciences  
and Technology / Egypt  
*loaialshamaony@yahoo.com*

**Al- Shebani, Abdullah S.**

PhD in Dairy Sciences and Technology /  
Food Sciences Dept./ College of  
Agriculture / Kufa University / Iraq  
*Agrifood43@yahoo.com*

**Alwachi, Sabah N.**

Professor of Physiology / Biology Dept./  
College of Sciences/ Baghdad University/  
Iraq  
*sabahalwachi@yahoo.com*

**Daws, Kasim M.**

Professor of Mechanical Engineering /  
Faculty of Engineering / Baghdad  
University / Iraq  
*kasim\_daws@yahoo.com*

**Khamas, Wael**

Professor of Anatomy and Histology /  
College of Vateriaary Medicine / Western  
University of Health Sciences / Ponomia -  
California/ USA  
*wael\_khamas@yahoo.com*

**Mohammed, Ramadhan H.**

PhD in Geology / College of Sciences /  
Duhok University / Iraq  
*ramadhan56\_2000@yahoo.com*

**Editorial Board Secretary**

**Deema Elian**

*info.icast@yahoo.com*

---

## FORWARD

---

*With well- established ambitious steps on continuing success way, IJST is coming for you all today in its new issue of the seventh year 2012.*

*Year after year, IJST proves its strength and faithful belief in developing our scientific communities among Arab World, especially in Iraq by giving an opportunity to all researchers to present their fruitful achievements in main vital fields to let all world knows that we are still the first leaders in civilized scientific life, despite all the unfortunate situations or constraints.*

*It is my pleasure to welcome you and present you a new issue of our Journal, Volume 7, No. 3 (2012), the third issue of this year, with diversity of researches and elite experts of the Editorial Board and Advisory Group. The members of Editorial Board, the ICAST and TSTC teamwork and I hope you will find this collection of research articles useful and informative.*

*In this year 2012, IJST is honored to welcome a new Editorial Board member, **Dr. Abdullah Al- Shebani** from Al- Kufa University, who presented great efforts in evaluating researches and gave the journal another prestigious dimension with his patience and faithful attitudes toward IJST. On behalf of the Editorial Board members and the Editorial Board secretary, I present my deep thanking and appreciation for Dr. Abdullah.*

*Also, we present a special thanking for **Dr. Atheer Al-Douri** for his valuable endless support and efforts regarding the publicity of the journal in Iraq, and it is our pleasure to announce that Dr. Atheer Al- Douri is the corresponding representative of IJST in Iraq.*

*The journal is one of the scientific contributions offered by **the International Centre for Advancement of Sciences and Technology** in cooperation with **Treasure Est. for Scientific Training and Consultations** to the science and technology community (Arab region with specific focus on Iraq and International).*

*Finally, on behalf of the International centre, I would like to express my gratitude and appreciation to the efforts of the Editorial Board, Advisory group with their valuable efforts in evaluating papers and the Editorial Board Secretary for managing the scientific, design, technical and administrative aspects of the Journal and for preparing this issue for final printing and publishing.*

**Abdul- Jabbar N. Al- Shammari**  
**Editor-in-Chief**  
**IJST**



---

### The Referees for This Issue

---

*\* The referees and advisory group below are listed according to alphabetical order, with deep appreciation for all.*

**Prof. Abdul- Jabbar N. Al- Shammari**

*Faculty of Pharmacy, Al- Isra University. Jordan*

**Dr. Abdullah Sh. M. Al- Shebani**

*Dept. of food sciences, Faculty of Agriculture, Al- Kufa University. Iraq*

**Dr. Atheer A.R. Al- Douri**

*College of Veterinary Medicine, Baghdad University. Iraq*

**Dr. Ayad J. Al- Khafaji**

*Faculty of Agriculture, Al- Kufa University. Iraq*

**Dr. Hayder M. Abdul- Hameed**

*Environmental Engineering Dept., Faculty of Engineering, Baghdad University. Iraq*

**Dr. Hilal J. Al- Thwaini**

*General Director of the Centre of Occupational Health & Safety- Ministry of Labor & Social Affairs- Baghdad. Iraq*

**Prof. Jamal A. Abbas**

*Faculty of Agriculture, Al- Kufa University. Iraq*

**Dr. Khalid Al- Azzawi**

*Faculty of Pharmacy, Al- Isra University. Jordan*

**Prof. Loai Al- Shamaony**

*Faculty of Pharmacy, Misr University for Sciences and Technology. Egypt*

**Prof. Mahmoud M. Othman Matar**

*College of Medicine, Al- Najah National University. Palestine*

**Dr. Mohammed A.M. Al- Hajaj**

*College of Sciences . Basra University. Iraq*

**Prof. Nazeera K.D. Hamdan**

*Statistics Dept. College of Sciences. Al- Kufa University. Iraq*

**Dr. Ramadhan H. Mohammed**

*College of Sciences, Duhook University. Iraq*

**Dr. Suhail N. Abdullah**

*Statistics Dept. College of Sciences. Al- Kufa University. Iraq*

**Prof. Taha Al- Samaraei**

*Crown Research Institutes, Palmerston North. New Zealand*

**Prof. Zaki G. Abdul- Ghani**

*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Amman Private University, Jordan*

---

## TABLE OF CONTENTS

---

*\* Articles in this issue are listed below according to field specialties order, starting by English section and followed by Arabic section.*

### **(I) ENGLISH SECTION:**

#### **AGRICULTURE**

**The effectiveness of plow types on weed populations in fallow lands**

*Nahla M. S. Ramadan*

#### **CHEMISTRY**

**Preparation, Characterization and biological activity of some Tridentate ligands with some Transition Metal Complexes : A preliminary Study**

*Omar H. Al-Obaidi*

**Synthesis, Characterization, And Antibacterial Activities Of Manganese (II), Cobalt(II), Copper(II), Iron (II), Nickel (II) And Cadmium(II) Mixed- Ligand Complexes Containing Amino Acid( L- Lysine) And 1,10-Phenanthroline**

*Taghreed H. Al-Noor , Ibtihaj K. Malih , & Atheer A. Mahmood*

**Synthesis, (Spectroscopic and Antibacterial) Studies of Tin (II) and Lead - (Anthranilic acids and nicotinamide) complexes**

*Taghreed H. Al- Noor , Ibtisam Dawood & Ibtihaj K. Malih*

#### **ENGINEERING SCIENCES**

**Analysis of chemical reaction kinetics for liquid propellants in combustion chamber**

*Mohammed A.H. Al- Zuhairi*

#### **MEDICAL SCIENCES**

**Approval of the presence of the inhibitory action of PGF<sub>2</sub>-alpha on human uterine smooth muscles at term**

*Raed S. Al-Naemi & Shereen A. Ibrahim*

**Effect of Iron deficiency anemia in children with Asthma among patients attending pediatric clinic in Baquba – Diyala – Iraq**

*Dawood S. Al- Azzawi*

**Face mask in emergency department: is there a risk?**

*Abd Al-Kareem Falih, Montaha A. AL-Kareem & Sabah J. Ameen*

**Salivary immunoglobulin (A, G and M) in Relation to dental caries among group of kindergartens children**

*Nada J. Radhi & Dunia W. Alfayad*

#### **MICROBIOLOGY**

**Biofilm and levan production by *Bacillus* species isolated from human feces**

*Mahdi S. AL-Rubaie, Adnan H.Abbas, Isam Sh.Hamza, Amir Kh. Abbas, Saad S. Fakhary & Farked F. Abdelhameed*

**Isolation and Molecular study of *Acinetobacter* spp. Degrading phenol from oil contaminated soil in Basrah , Iraq**

*Adnan A.H. AL-Mousawi*

**Species specific PCR for detection of *salmonella typhi* in some samples of food**

*Khulod I. Hassan*

**PHARMACEUTICAL SCIENCES**

**Antibacterial and Antioxidant activity of fresh and dried Aloe vera gels**

*Alia F. Hachim, Sundus H. Ahmed & Mona Qadoori*

**Novel Synthesis of 7-MercaptoBenzo[b]thiophen and 7- Mercaptobenz[1,2]isothiazole**

*Loai Q. Abdul- Rahman , Adel Al- Ramahi & Khaled A. Abu- Hammour*

**STATISTICAL AND MATHEMATICAL SCIENCES**

**Minimax Estimation of the Scale Parameter of the Laplace Distribution under Quadratic Loss Function**

*Nadia H. Al- Noor & Huda A. Rasheed*

## ARABIC SECTION – قسم الدراسات والبحوث العربية –

### العلوم الزراعية

تأثير اضافة فيتامين C وازهار نبات الكجرات الى عليقة فروج اللحم في الاداء الانتاجي  
سنبل جاسم حمودي، لمى خالد بندر، فراس مزاحم الخيلاني، رعد فاضل حمد

### العلوم الصيدلانية والطبية

فعالية مستخلصات بذور نبات حب الدبق *Loranthus europeus linn* في علاج الحروق  
جنان علي عبيد، سندس حميد احمد، قاسم محمد الساعدي

القيمة التشخيصية لأضداد الأنزيم النسيجي المخاطي واَضداد الكليادين من نوع IgA, IgG في الأطفال المشتبه  
بإصابتهم بالداء الزلاقي في مدينة الرمادي - العراق  
نهاده محمد حامد، محمد قيس العاني، محمد ماهر مشرف، سليم عبيد كاطع

### علم الطفيليات

التحري عن طفيلي *Balantidium coli* في المياه المعبأة  
أمير خضير عباس، عصام شاكر حمزة، سندس علي جاسم، سعد صباح فخري، فرقد فرحان عبد الحميد

### الكيمياء التحليلية

أثر تراكيز عنصري الزئبق والرصاص المقاسة عمليا من عينات بيئية وبيولوجية على صحة العاملين  
في شركة الفرات العامة في جمهورية العراق  
وعد عماد الدين قاصد، فرقد عبدالله رشيد، سهير خلف نجم، بيداء مال الله علي، علاء طه ياسين، سهى غالب صبري

استخدام التقنيات الكهروكيميائية في ترسيب الكروم من المياه الصناعية  
وعد عمادالدين قاصد، عصام احمد عطية، سهير خلف نجم، أسيل طامي عبدالجبار، أنعام عبد الواحد حسان

## ***ENGLISH SECTION***

## The Effectiveness of Plow Types on Weed Populations in Fallow Lands

Nahla M. S. Ramadan

School of plant production/ Faculty of Agriculture & Forestry/ University of Duhok / Kurdistan Region of Iraq

E-mail: nahla\_nms@yahoo.com

### ABSTRACT

A weed is an important factor effecting plant growth, especially under dry farming condition. Therefore, different factors, such as mulch and different soil tillage application, effecting on weed populations and weed seedbank. methods of soil tillage is important, because its effecting may vary farm region to region. among these practices, different methods of soil tillage; mulch and mulch tillage (post harvest tillage with mulcher), and different plough types (no tillage as control, moldboard, chisel, vertical disc and mulcher plough) effect on weed populations and weed species changes in the soil seed bank at dry farming at the fields of Faculty of Agriculture & forestry,, Duhok University, Iraqi, and Kurdistan Region during the growing season 2010-2011. The data were analyzed statistically according to a factorial in randomize complete block design (RCBD) with three replication. The statistical results of the study indicated that mulch tillage post harvest significantly effected in narrow spring weeds were decreased to 306.93 plant /m<sup>2</sup>. Also type of plough significantly effected in number of total plant were indicated minimum in moldboard plough 93.33 plant /m<sup>2</sup> also indicated that in treatment moldboard plough after mulch tillage post harvest were 299.33 plant /m<sup>2</sup> lead to reduction weed seedbank to 2.66 plant /m<sup>2</sup>. Moreover, highest proportion of the weed seedbank is located in soil layers (0-15) cm. there for the effect of type of plough may vary to great extent.

**Keywords:** mulch, plough, weeds, seed bank

### الملخص باللغة العربية

تعتبر وجود الأدغال من العوامل المؤثرة في الزراعة وخاصة في الزراعة الدائمة، وتؤثر نوع الحراثة وبقايا المحصول بعد الحصاد على كثافة الأدغال، وتختلف نوع الحراثة والمحراث من منطقة إلى أخرى، ومن خلال هذه الدراسة التي أجريت في حقل ديمي لكلية الزراعة والغابات /جامعة دهوك، العراق/ إقليم كردستان للموسم 2010-2011 في تربة مزيجية طينية حيث استخدم نوعان من طرق الزراعة (حراثة بدون حراثة) بعد الحصاد، وتم استخدام أنواع مختلفة من المحارث منها (محراث مطرحي، محراث خفار، محراث قرصي عامودي، mulcher) ودراسة تأثيرها على كثافة الأدغال وبنك البذور في التربة. صممت التجربة بترتيب القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) بثلاث مكررات، خللت النتائج وأظهرت بأن هناك فرق معنوي للحراثة بعد الحصاد على كثافة الأدغال الربيعية، حيث سجل أقل قيمة وكانت (306.93) نبات/م<sup>2</sup> وأيضا ظهر فرق معنوي لنوع المحارث، حيث لوحظ أقل قيمة لكثافة الأدغال عند استخدام محراث مطرحي وكانت (93.33) نبات/م<sup>2</sup>. إن استخدام المحراث المطرحي بعد استخدام mulcher بعد الحصاد سجل أقل قيمة نامية للأدغال وكانت (299.33) نبات/م<sup>2</sup>، وأظهرت النتائج أيضا بأن أعلى قيم للبذور النامية في بنك البذور كانت عند الطبقة السطحية (0-15) سم وكانت (2.66) نبات/م<sup>2</sup>.

## INTRODUCTION

Tillage is among the many factors that are likely to affect the ability of planted fallows to suppress weeds. Tillage practices may be broadly classified into conservation and conventional tillage systems, (1) Conservation tillage is based on the principle of causing the least disturbance and leaving some plant residue on the soil surface. Conservation tillage practices include no-till where vegetation is slashed and burned without any tillage, and minimum tillage where shallow cultivation is carried out without turning the soil upside down. Conventional tillage systems include ridging or mounding where plant residues are incorporated into the soil. The effect of tillage on weed density and composition is well-documented in the temperate regions of the world. It has been reported to cause shifts in weed communities, species composition, and weed densities. For example, (2) found that weed density was greater in conventional tillage than in no-tillage systems. The authors attributed the higher weed density to ploughing which could have brought weed seeds from lower soil profiles to a depth that was favorable for germination and emergence. Tillage also alters the size and composition of the seedbank (3). In no-till systems, most weed seedlings emerge from the seedbank near the soil surface (0-10 cm) soil depth- while in conventional tillage systems; a high proportion of the seedbank is located in deeper soil layers (10-30 cm). Information on the effect of tillage on the seedbank in the tropics is sparse. Because the seedbank is the main source of weed infestation in arable fields, there is a need to understand how tillage affects it, there is also a need to understand how tillage combined with planted fallows affects the size and composition of the seedbank. In dried district moisture content is a limited factor for agriculture production; thus leaving the soil fallow to control weeds is used to keep soil moisture content and increases soil nutritional through decomposition of organic matter. The objective of the study was to assess the effect type of tillage on the weed seedbank and weed populations under in fallow lands.

## MATERIALS AND METHODS

This experiment was implemented at the fields of faculty of Agricultural and forestry College, Duhok University, Iraqi, and Kurdistan Region during the growing season 2010-2011 (situated

between longitudes 43.01° E, latitudes 36.847° N, and altitude 583 meters). The average rainfall for the months January, February, March, April, May, and June were 321.5mm; the soil of the experimental site was silt clay loam. The data were analyzed statistically according to a factorial in randomize complete block design (RCBD) with three replication was design using the statistical analysis system (4); Duncan (1955) test was used for means verification and for discussion of the results under probability level of 0.05(5).

Two donum after harvesting barley crop, half of this area (stalk) will leave un tilled and others will be tilled by mulcher and then Two donum was plowed as strips after first effective rain (around 50 mm) by specific ploughs (Mouldboard plow, Chisel plow, Vertical disc Plow, Mulcher) and compared with Control (no tillage) at 19/12/2010. There after those traits was measure: Type of Weed (weed identification), Number of Weed/ m<sup>2</sup>, Dry weight of Weed/ m<sup>2</sup>, Germinate Soil Seedbank at depth (0-15), (15-30) cm.

Samples of weeds were taken at 16/5/2011 and at 14/7/2011 from each replication and they were sorted into narrow or broad leaved and then incubated in oven at 75 C □ for 48 hrs. The most common weeds found in field were

### weeds

*Vicia narbonensis*, *Pisum sativum*, *Coronilla scorpiades*, *Astragalus hamosus* L. , *Melilotus indicus* L. , *Trifolium incarnatum*, *Trifolium resupinatum*, *Trifolium campestre* schreb, *Trifolium alexandrinum*, *Lactuca sativa*, *Centaurea pallescens*, *Carthamus oxyacanthus*, *Polygonum aviculare* L., *Gallium tricornes* stockes, *Sinapis arvensis* L., *Anagallis arvensis* L., *Alhagi maurorum* medie, *Plantago lanceolata* L., *Convolvulus arvensis* L., *Cephalaria syriaca* L., *Hippocrepis ciliata*, *Capsella bursa-pastoris* L., *Carthamus ianatus*, *Lathyrus satirus*, *Lathyrus annuus*, *Medicago hispida*, *Medicago noeana* boiss, *Vicia villosa*, *Vicia sativa*, *Xanthium strumarium*, *Sonchus oleraceus* L., *Ammi majus* L., *Daucus carrota* L. , *Silene conica* L. , *Schanginia aegyptiaca*, *Atriplex extataricum* L., *Cynodon dactylon* L.pers, *Lagonychium farctum*, *Vaccaria pyramifata*, *Hordium* ssp., *Avena fatua* L., *Cynodon dactylon* L.pers., *Lolium temuletum* L., *Phalaris minor* retz, *Lolium rigidum* goud, *Aegilops speltoides*, *Pea annua*. *Heliotropium europaeum* L., *Veronica* sp., *Chrozophora verbascifolia* (wild) Jass.

Seedbank analysis, Soil samples were taken on august 10, 2011. Cores were sampled from each of the replication. The cores were collected every 1m. We used at depth (0-15), (15-30) cm. Each sample was placed separately in 3cm deep. The containers were placed in a growth room ( $T = 25^{\circ}\text{C}$ ; photoperiod = 16:8 light: dark), and watered daily (5). Seedling emergence was monitored over a period of and the soil was stirred once per month.

## RESULTS AND DISCUSSION

Mulch tillage significantly affected on total spring weeds population (Table 1). The highest number of plant was obtained for the no-tillage (489.73 plant /m<sup>2</sup>) there was non significant effected on summer weeds and seed bank weeds. (6) Mention tillage will kill seasonal weeds and also (7) who observed that an increase in tillage intensity reduced weed growth.

A significantly effected of different type of plough treatments on total dry eight of spring weeds, Also found on total number of seed bank weeds (Table 2). The highest total dry Wight weeds of (540.87 gm/m<sup>2</sup>) was obtained for the vertical disc plough treatment and lowest (363.24 gm/m<sup>2</sup>) for the mulcher plough treatment, Opposite that highest of total seed bank weed (345.58 plant/m<sup>2</sup>) found it, but lowest was noted on mouldboard plough treatment (93.33plant/m<sup>2</sup>). While, there was none significantly effected on the number of weeds per square meter of field, these results are agreement with of (8), who indicated that ploughs types have no significant effect on number of weeds, also 9), obtained there the seed bank was greatest in plots under minimum tillage.

The interaction of mulch with plough types was significant for spring weeds population and seedbank weeds (Table 3), the maximum number of total spring weeds and seedbank, (526.00 plant/m<sup>2</sup>, 362.70 plant/m<sup>2</sup>) respectively was noted incase of treatment stand stubble mulch with mulcher plough , while minimum number of total spring weeds, (299.33 plant/m<sup>2</sup>)in mulcher tillage (post harvest) with mouldboard plough, but minimum number of seedbank weeds obtained in mulch tillage with vertical disc plough treatment (64.30 plant/m<sup>2</sup>).also, non significant effected on summer weeds population. This result are agreement with of (10),reported weed density and diversity were significantly higher for no tillage compared with other system of tillage

and dry weight of weeds were also noted in no-tillage.

Concerning soil depth seed bank sample (Table 4) shows that a significantly effected on, the highest number of total weeds (303.70 plant/m<sup>2</sup>) at soil layer (0-15) cm, but lowest (139.67 plant/m<sup>2</sup>) noted at soil layer (15-30) cm. (11) also, (12),noted highest number of seed weeds in surface soil layer and value decreased when soil depth deeper.

A significantly effected of incorporated mulch tillage with surface soil layer (Table5), highest number of total seed bank weed (358.93 plant/m<sup>2</sup>) at stubble mulch in soil layer (0-15) cm, while the lowest number of weeds (120.00 plant/m<sup>2</sup>)at soil layer (15-30)cm in mulch tillage treatment. (13) Obtained the seed bank was greatest in no tillage compare with tillage and highest number of total seed bank weed were in surface soil layer.

The interaction of plough types with soil sample depth was also significant for seedbank weeds (Table6); the highest total seedbank (476.50 plant/m<sup>2</sup>) was obtained for the surface soil layer (0-15) cm with mulcher plough treatment and lowest (54.70 plant/m<sup>2</sup>) at soil layer (15-30)cm with mouldboard plough treatment. (3), noticed in no-tillage system, most weed seedling emerge from the seedbank near the soil surface 10 cm soil depth. In anther study (14) noticed seed density was greater under no-tillage and in near the soil surface.

The statistical results of the study In (Table7); indicated that third interaction of mulch tillage with types of plough and soil surface layer significantly effected on seedbank. The maximum number of total plant/m<sup>2</sup> was 600 at surface soil layer (0-15) cm with mulcher plough after stubble mulch post harvest treatment, but minimum number of seedbank (26.70 plant/m<sup>2</sup>) was obtained in case of mulcher plough post harvest with vertical disc plough at soil layer (15-30) cm that result non significantly with mouldboard plough after stubble mulch at sime layer. (15) and (13) indicated the density of seedbank increases in no tillage system and seedbank decreases in deep tillage, most of seeds to accumulate in surface soil layer.



Table (1): Effect of mulch tillage in weed population

Properties Factors	Spring weed				Summer weed				Seed bank		
	No. of narrow weed/m <sup>2</sup>	No. of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>	Dry total weight gm/m <sup>2</sup>	No. of narrow weed/m <sup>2</sup>	No. of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>	Dry total weight gm/m <sup>2</sup>	No. of narrow weed/m <sup>2</sup>	No. of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>
Mulch tillage	306.93 B	46.66	353.60 B	448.99	2.66	11.60	14.66	4.30	201.33	2.86	203.90
no-tillage	444.53 A	45.00	489.73 A	396.31	5.33	6.00	11.33	6.02	232.93	6.43	239.47

Note: - Means of the main factors or their interaction shared by the same letter are not significantly different at the probability 0.05 Duncan's MRT (the smaller figure is better values).

Table (2): Effect of type of plough in weed population

Properties Factors	Spring weed				Summer weed				Seed bank		
	No. of narrow weed/m <sup>2</sup>	No. of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>	Dry total weight gm/m <sup>2</sup>	No. of narrow weed/m <sup>2</sup>	No. of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>	Dry total weight gm/m <sup>2</sup>	No. of narrow weed/m <sup>2</sup>	No. of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>
no-tillage	380.67	41.83	423.00	416.87 AB	3.33	6.33	9.66	2.60	304.33 A	4.58	309.17 AB
mulcher plough	406.00	43.67	449.67	363.24 B	2.66	9.33	12.00	7.60	337.33 A	9.00	345.58 A
Chisel plough	347.33	59.33	406.67	381.83 B	4.66	10.66	15.33	6.76	197.67 AB	5.16	202.83 ABC
mouldboard plough	357.33	41.67	399.00	410.43 AB	4.00	10.00	14.00	4.20	90.33 B	3.00	93.33 C
Vertical disc plough	387.33	42.67	430.00	540.87 A	5.33	7.66	14.00	4.66	156.00 B	1.50	157.50 BC

Note: - Means of the main factors or their interaction shared by the same letter are not significantly different at the probability 0.05 Duncan's MRT (the smaller figure is better values).

Table (3): Effect of interaction of mulch with plough types in weed population

Properties Factors		Spring weed				Summer weed				Seed bank		
		Number of narrow weed/m <sup>2</sup>	Number of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>	Dry total weight gm/m <sup>2</sup>	Number of narrow weed/m <sup>2</sup>	Number of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>	Dry total weight gm/m <sup>2</sup>	Number of narrow weed/m <sup>2</sup>	Number of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>
Mulch tillage	no-tillage	313.33 ABC	60.67 AB	374.00 AB	446.33 B	6.66	10.66	17.33	4.73 AB	322.00 A	7.00 AB	329.00 AB
	mulcher plough	319.33 ABC	54.00 AB	373.33 AB	331.95 B	0.00	8.00	8.00	4.40 AB	329.30 A	0.66 B	328.50 AB
	Chisel plough	294.00 BC	43.33 AB	337.33 AB	395.27 B	4.00	12.00	16.00	6.80 AB	185.30 AB	2.33 B	187.70 ABC
	mouldboard plough	259.33 C	40.00 AB	299.33 B	423.27 B	2.66	16.00	18.66	2.53 AB	104.30 AB	2.66 B	110.00 ABC
	Vertical disc plough	348.67 ABC	35.33 AB	384.00 AB	648.13 A	0.00	11.33	13.33	3.06 AB	62.70 B	1.66 B	64.30 C
no-tillage	no-tillage	448.00 ABC	23.00 B	472.00 AB	387.40 B	0.00	2.00	2.00	0.46 B	286.70 AB	2.16 B	289.30 ABC
	mulcher plough	492.67 A	33.33 AB	526.00 A	394.53 B	5.33	10.66	16.00	10.80 A	345.30 A	17.33 A	362.70 A
	Chisel plough	400.67 ABC	75.33 A	476.00 AB	368.40 B	5.33	9.33	14.66	6.73 AB	210.00 AB	8.00 AB	218.00 ABC
	mouldboard plough	455.33 AB	43.33 AB	498.67 A	397.60 B	5.33	4.00	9.33	5.86 AB	73.30 B	3.33 B	76.70 BC
	Vertical disc plough	426.00 ABC	50.00 AB	476.00 AB	433.60 B	10.66	4.00	14.66	6.26 AB	249.30 AB	1.33 B	250.70 ABC

Note: - Means of the main factors or their interaction shared by the same letter are not significantly different at the probability 0.05 Duncan's MRT (the smaller figure is better values).

Table (4): Effect of soil depth seed bank in seed population

Properties Factors	Seed bank		
	Number of narrow weed/m <sup>2</sup>	Number of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>
(0-15)cm	296.00 A	7.90 A	303.70 A
(15-30)cm	138.27 B	1.40 B	139.67 B

Note: - Means of the main factors or their interaction shared by the same letter are not significantly different at the probability 0.05 Duncan's MRT (the smaller figure is better values).

**Table (5): Effect of incorporated mulch tillage with soil depth seed bank in seed population**

Properties Factors		Seed bank		
		Number of narrow weed/m <sup>2</sup>	Number of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>
Mulch tillage	(0-15)cm	244.27 AB	4.800 AB	248.47 AB
	(15-30)cm	158.40 <b>B</b>	0.93 <b>B</b>	159.33 B
no-tillage	(0-15)cm	347.73 A	11.00 A	358.93 A
	(15-30)cm	188.13 B	1.86 B	120.00 <b>B</b>

Note: - Means of the main factors or their interaction shared by the same letter are not significantly different at the probability 0.05 Duncan's MRT (the smaller figure is better values).

**Table (6): Effect of interaction of plough types with soil depth seed bank in seed population**

Properties Factors		Seed bank		
		Number of narrow weed/m <sup>2</sup>	Number of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>
no-tillage	(0-15)cm	396.67 AB	7.16	404.30 AB
	(15-30)cm	212.00 BC	2.00	214.00 BC
mulcher plough	(0-15)cm	464.00 A	14.00	476.50 A
	(15-30)cm	210.67 BC	4.00	214.70 BC
Chisel plough	(0-15)cm	266.67 ABC	9.33	276.00 ABC
	(15-30)cm	128.67 C	1.00	129.70 C
mouldboard plough	(0-15)cm	126.00 C	6.00	132.00 C
	(15-30)cm	54.67 <b>C</b>	0.00	54.70 <b>C</b>
Vertical disc plough	(0-15)cm	226.67 BC	3.00	229.70 BC
	(15-30)cm	85.33 C	0.00	85.30 C

Note: - Means of the main factors or their interaction shared by the same letter are not significantly different at the probability 0.05 Duncan's MRT (the smaller figure is better values).

**Table (7): Effect of third interaction of mulch tillage with types of plough and soil depth seed bank in seed population**

Properties Factors			Seed bank		
			Number of narrow weed/m <sup>2</sup>	Number of board weed/m <sup>2</sup>	total weed/m <sup>2</sup>
<b>Mulch tillage</b>	no-tillage	(0-15)cm	393.30 AB	10.00 AB	403.30 AB
		(15-30)cm	250.70 ABC	4.00 B	254.70 BC
	mulcher plough	(0-15)cm	354.70 ABC	1.33 B	353.00 ABC
		(15-30)cm	304.00 ABC	0.00 B	304.00 ABC
	Chisel plough	(0-15)cm	233.30 BC	4.00 B	237.30 BC
		(15-30)cm	137.30 BC	0.66 B	138.00 BC
	mouldboard plough	(0-15)cm	141.30 BC	5.33 B	146.70 BC
		(15-30)cm	73.33 BC	0.00 B	73.30 BC
	Vertical disc plough	(0-15)cm	98.70 BC	3.33 B	102.00 BC
		(15-30)cm	29.70 C	0.00 B	26.70 C
<b>no-tillage</b>	no-tillage	(0-15)cm	400.00 AB	4.33 B	405.30 AB
		(15-30)cm	173.30 BC	0.00 B	173.30 BC
	mulcher plough	(0-15)cm	573.30 A	26.66 A	600.00 A
		(15-30)cm	117.30 BC	8.00 B	125.30 BC
	Chisel plough	(0-15)cm	300.00 ABC	14.66 AB	314.70 ABC
		(15-30)cm	120.00 BC	1.33 B	121.30 BC
	mouldboard plough	(0-15)cm	110.70 BC	6.66 AB	117.30 BC
		(15-30)cm	36.00 C	0.00 B	36.00 C
	Vertical disc plough	(0-15)cm	354.70 ABC	2.66 B	357.30 ABC
		(15-30)cm	144.00 BC	0.00 B	144.00 BC

Note: - Means of the main factors or their interaction shared by the same letter are not significantly different at the probability 0.05 Duncan's MRT (the smaller figure is better values).

## CONCLUSION

Mulch tillage significantly affected on total spring weeds population, the lowest of total seed bank weed was noted on mouldboard plough treatment. The interaction of mulch with plough types was significant for spring weeds population and seedbank weeds, minimum number of total spring weeds in mulcher tillage (post harvest) with mouldboard plough, but minimum number of seedbank weeds obtained in mulch tillage with vertical disc plough treatment. The highest number of total weeds at soil layer (0-15) cm.

## REFERENCES

1. Antapa PL. and Angen TV. (1990) Tillage practices and residue management in Tanzania. In: Pushparajah E. Latham M. and Elliot C.R. eds., Organic matter management and tillage in humid and subhumid Africa. Bangkok, Thailand: International Board for Soil Research and Management, IBSRAM Proceedings no. 10.
2. Shrestha A., Knezevic SZ., Roy RC., Ball-Coelho BR. and Swanton CJ. (2002) Effect of tillage, cover crop, and crop rotation on the composition of weed flora in a sandy soil. *Weed Res.* 42: 76–87.
3. Swanton CJ., Shrestha A., Knezevic SZ., Roy RC. and Ball-Coelho BR. (2000) Influence of tillage type on vertical weed seedbank distribution in a sandy soil. *Canad. J. Plant Sci.* 80: 455–457.
4. SAS. (2001) SAS/STAT User's Guide for personal computers. Release 6.12. SAS Institute Inc, Cary, Nc, USA
5. Duncan DE. (1955) Multiple ranges and multiple F-test biometrics 11:1-42.
6. Bostrom U. (1999) Type and time of autumn tillage with and without herbicide at reduce rates in southern Sweden. 1- Yields and weed quantity. *J. Soil and Tillage Res.* 50(9):271-281.
7. Bhagat RM., Bhuiyan SI, and Moody K. (1999) Water, tillage and weed management options for wet seeded rice in the Philippines. *J. Soil Tillage Res.* 52:51–58.
8. Emenky AO, Saleem NM, and Khalaf AS. (2010) Influence of tillage and weed management methods on chickpea (*Cicer arietinum* L.). II. Effect on weeds. *Pak. J. Weed Sci. Res.* 16(2): 199-206,
9. Ekeleme F., Chikoye D, and Akobundu IO. (2005) Weed seedbank response to planted fallow and tillage in southwest Nigeria. *Agroforestry Forum* . 63: 299–306.
10. Arif M., Munif F, Waqas M, and Ali IAK (2007) Effect of Tillage on Weeds and Economics of Fodder Maize Production. *Pak. J. Weed Sci. Res.* 13 (3-4):167-175.
11. Kakarash SA. (2007) Eco physiological study of soil seedbank for different arable system at Erbil Governorate. MSc. Thesis. College of Agriculture, University of Salahaddin- Erbil. Iraq
12. Benvenuti S., Macchia M, and Miele S. (2001) Quantitative analysis of emergence of seeding from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Sci*, 49(4): 528-535.
13. Cardina JCP, Herms P, and Douglas JD. (2002) Crop rotation and tillage system effect on weed seed bank. *Weed Sci.* 50(4): 448-460.
14. Conn JS. (2005) Weed seed bank affected by tillage intensity for barley in Alaska, USDA-ARS, 319 O'Neil Building, University of Alaska, Fairbanks, AK 99775, USA. *Soil & Tillage Res.* 90 : 156–161.
15. Yanish JP., Doll JD, and Buhler DD. (1992) Effect of tillage on vertical distribution and viability of weed seed in soil. *Weed Sci*, 40(3):429-433.

## Preparation, Characterization and Biological Activity of Some Tridentate Ligands with Some Transition Metal Complexes : A Preliminary Study

Omar H. Al-Obaidi

Chemistry Dept./ Education College for Women/ Al-Anbar University/ Iraq

E-mail: laith21973@yahoo.com

### ABSTRACT

New metal salts of ( Co, Ni ,Fe and Cu) complexes of tridentate ligand (Naphthal Hydroxamic Acid (NHA)) have been synthesis and characterized on the basis of their FTIR, UV-Vis, molar conductivity measurements and magnetic moment measurements . It has been found that the ligand (NHA) with all metal ions forming complexes (1:2) ( metal: ligand) stoichiometry. Octahedral environment is suggested for metal complexes. All the prepared complexes are non-electrolyte by the conductivity data.

A theoretical treatment of the formation of complexes in the gas phase was studied, this was done using the HYPERCHEM-6 program for the Molecular mechanics and Semi-empirical calculations.

Also includes , the study of biological effect for these complexes on different pathogenic species : (*Staphylococcus aureus*) where it is gram positive . while the others are gram negative (*Escherichia coli*) , by using agar well diffusion methods . Finally , it was found that these compounds show different activity of inhibition on the growth of the bacteria.

### الملخص باللغة العربية

تم تحضير ستة معقدات جديدة مع الليكند ثلاثي السن، حامض نافتال هايدروكساميك (NHA) مع أيونات بعض أملاح العناصر الانتقالية (الكوبلت ، النيكل ، الحديد والنحاس ثنائية التكافؤ). تم تشخيص المعقدات المحضرة بواسطة طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) وطيف الأشعة فوق البنفسجية المرئية (UV-Vis) وتقنية الامتصاص الذري للهبلي للعناصر والحسية المغناطيسية ومحتوى الكلور فضلاً عن التوصيلية المولارية حيث كانت المعقدات غير الكتروليتية. وأظهرت النتائج أن الليكند حامض نافتال هايدروكساميك (NHA) يسلك كليكند ثلاثي السن ونسبة (1:2) (ليكند : فلز) ، وأن جميع المعقدات المحضرة ذات شكل ثماني السطوح .

كذلك تم معالجة تكوين المعقدات نظرياً في الطور الغازي، وباستخدام برنامج HYPERCHEM-6 بواسطة الحسابات الشبه - تجريبية.

يتضمن البحث أيضاً دراسة بعض جوانب التأثير البيولوجي للمعقدات المحضرة في نمو أجناس بكتيرية مرضية المجموعة الأولى منها موجبة لصبغة الغرام وهي : (*Staphylococcus aureus*) ، والمجموعة الثانية سالبة لصبغة الغرام وهي : (*Escherichia coli*) وباستخدام طريقة الحفر بالأكار وقد وجد أن لهذه المركبات فعالية متفاوتة القوة في تثبيط نمو البكتيريا المدروسة.

## INTRODUCTION

Hydroxamic acid containing two or more potential donor centers play an important role in the competitive reactivity of ambidentate ligand systems (1). Hydroxamic acid derivatives are known to act as bidentate or tridentate ligands when coordinated to metal ions (2). Hydroxamic acid derivatives also showed the effectiveness of anti-fungal and anti-disease malaria and bacterial activities (3). It also played an important role in the absorption of iron during the metabolic processes (4) through its special session in conjunction with trivalent ferric ion and then moved and carried across the cell membranes and thus movement of ferric source of non-organic areas needed by the cell which gives a complex octahedral by (3:1) (5).

Monohydroxamic acids (such as acetohydroxamic acid,  $\text{CH}_3\text{CONHOH}$ ) after deprotonation acts as bidentate ligands forming octahedral complexes with a series of metal ions via co-ordination through the two oxygen atoms of the  $-\text{CONHO}^-$  group (6). This type of co-ordination has been characterized in previous studies with  $\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{Cr}^{\text{III}}$ ,  $\text{Ni}^{\text{II}}$ ,  $\text{Co}^{\text{II}}$ , and  $\text{Zn}^{\text{II}}$  ions, which indicated the formation of octahedral complexes both in the solid state and in solution (7). With  $\text{Cu}^{\text{II}}$  ions, the co-ordination again occurs via the two oxygen atoms but the geometry is tetragonal (8,9).

This paper describes the synthesis, spectral and biological activity study of  $\text{Cu}(\text{II})$ ,  $\text{Co}(\text{II})$ ,  $\text{Ni}(\text{II})$  and  $\text{Fe}(\text{II})$  complexes with Naphthal Hydroxamic Acid.

## MATERIALS AND METHODS

### Instrumentation

Infrared spectra were recorded over the range  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  using KBr on FT-IR 100 fisher company thermo scientific. UV-VIS spectra were measured by jenway 6405 spectrophotometer. Electrical conductance was measured on a digital conductivity meter (LASSCO). The melting points were determined by an electric heated block apparatus (Gallen Kamp) and were uncorrected. Determination of all metals percentage by atomic absorption spectrophotometry on AA-680G (Shimadzu). Room temperature magnetic susceptibility measurements were carried out on a B.M 6 BRUKER type magnets, balance, Diamagnetic correction was done using pascal constants (10).

### Materials

All the chemicals used were reagent grade (BDH chemicals or Aldrich).

General procedure for preparation of complexes :

To a hot solution of ligand (2 mmole) in absolute ethanol (5 ml), a hot solution of metal chloride (1 mmole) in absolute ethanol (5 ml) was added and the resultant mixture was stirred and refluxed for 2 hours, the color of the solution changed immediately. The precipitates obtained were filtered off, washed with ethanol and dried in vacuum to give colored complexes. The physical properties of prepared complexes are listed in table (1).

### Antibacterial studies

The biological activity of the metal complexes were studied against two selected type of bacteria which included *Escherichia coli*, as gram negative (-Ve) and *Staphylococcus aureus* as gram positive (+Ve) to be cultivated and as control for the disc sensitivity test (11), this method involves the exposure of the zone of inhibition toward the diffusion of micro-organism on agar plat. The plates were incubated for (24 hours), at  $37^\circ\text{C}$ , the zone of inhibition of bacteria growth around the disc was observed.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Micro analysis

The analytical data of the complexes table (1) show the formation of the complexes in the ratio of (2:1) (L:M). It is found that the theoretical values are in agreement with the found values.

Spectral analysis are in good agreement with the proposed stoichiometry of the complexes. the ligand (NHA) on reaction with metal ions yields complexes corresponding to the formula  $[\text{M}(\text{NHA})_2]$  (M= Co, Ni, Fe and Cu (II)), the metal-to-ligand ratio of the complexes were found to be (1:2).

Semi-empirical methods are done on hyperchem program version (6) running on a windows XP work station with a Pentium IV PC. Geometry optimization has been carried out by using a conjugate gradient method (12).

### Molar conductance measurements :

The molar conductance value of the complex which was carried out in DMSO solvent indicates that the complex under study is non - electrolytic nature. the obtained value suggests that no anions present outside the coordination sphere.

Table (1):Physical properties and spectral data of the prepared complexes

No.	Compound	Yield %	Colour	$\Delta M/S \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ In DMSO	$\mu_{\text{eff}}$ (BM)	(% found) cal ; M
1	[Co(NHA) <sub>2</sub> ]	65	Light green	9	4.80	(12.00) 12.09
2	[Ni(NHA) <sub>2</sub> ]	60	Yellowish green	8	3.30	(11.98) 12.05
3	[Fe(NHA) <sub>2</sub> ]	70	Light orange	6	-	(11.47) 11.53
4	[Cu(NHA) <sub>2</sub> ]	75	green	7	1.75	(12.88) 12.92

**Infrared spectra:**

The most important infrared spectral bands of the investigated metal complexes in the present article are summarized in table (2).

The infrared spectra of the complexes under investigation display a band at  $950 \text{ cm}^{-1}$  which is due to the presence of a coordinate OH group and the band at  $3400 \text{ cm}^{-1}$  is due to the presence of OH group in the complexes from its chemical structure. In metal complexes a new peak is found (1210-1240)  $\text{cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{C-O})$  which is very characteristic and  $\nu(\text{O-H})$  was broad at (3300)  $\text{cm}^{-1}$  (13).

The coordination through oxygen atom of hydroxyl group was also confirmed by the appearance of a medium new band at 500-550  $\text{cm}^{-1}$  which is assigned to  $\nu(\text{M-O})$  (14). The spectrum of ligand (NHA) show strong broad band at  $1680 \text{ cm}^{-1}$  was attributed to (C=O) (8-13).the FT-IR spectra confirm that the carbonyl group which may be assigned at 1660-1650  $\text{cm}^{-1}$  range suggested the C=O group are coordinated to metal ion (15).

Table (2): Infrared data of the complexes

No.	Complex	I.R $\text{cm}^{-1}$					
		$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-O})$	$\nu(\text{M-O})$	$\nu(\text{C-H})$
1	[Co(NHA) <sub>2</sub> ]	1492	3300	1650	1210	540	2920
2	[Ni(NHA) <sub>2</sub> ]	1497	3300	1655	1240	550	3061
3	[Fe(NHA) <sub>2</sub> ]	1491	3300	1650	1225	500	2962
4	[Cu(NHA) <sub>2</sub> ]	1492	3300	1660	1230	530	3071



### Electronic Absorption Spectra and Magnetic Moment :

The electronic absorption spectra of the ligand and its Ni(II) and Cu(II) complexes are recorded at room temperature using DMSO as the solvent.

The electronic spectra data table (1) in DMSO, in the spectrum of ligand, the band in the 360 nm are assigned to the ( $n \rightarrow \pi^*$ ) transition of the C=O and O-H group. During the formation of the complexes, the band are shifted to lower wavelength, suggesting that the oxygen atoms in carbonyl and hydroxyl groups are coordinated to the metal ion. The value in the 250 nm which is attributed ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) transition.

### Cobalt Complex

The spectral data of Co (II) complexes show the three transitions are allowed is:  $^4T_{1g}(F) \rightarrow ^4T_{2g}(F) \nu_1$ ,  $^4T_{1g}(F) \rightarrow ^4A_{2g}(F) \nu_2$ ,  $^4T_{1g}(F) \rightarrow ^4T_{1g}(P) \nu_3$ . And show these transitions in the range ( $9800 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $14062 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $18445 \text{ cm}^{-1}$ ), respectively. The octahedral structure was proposed for all complexes. these bands gather with the  $\mu_{\text{eff}}$  value (4.8 B.M) indicate an octahedral geometry (16).

### Nickel Complex

The spectra of Nickel (II) complexes gave three bands in the range  $^3A_{2g}(F) \rightarrow ^3T_{2g}(F) \nu_1$ ,  $^3A_{2g}(F) \rightarrow ^3T_{1g}(F) \nu_2$ ,  $^3A_{2g}(F) \rightarrow ^3T_{1g}(P) \nu_1$ , at ( $10325 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $16515 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $19047 \text{ cm}^{-1}$ ), respectively. Indicating an octahedral geometry (17). The room temperature magnetic moment values in the range (3.30 B.M) table (2) These values are in tunes with an octahedral geometry<sup>(18)</sup> around the Ni(II) ion in the complexes fig.(1).

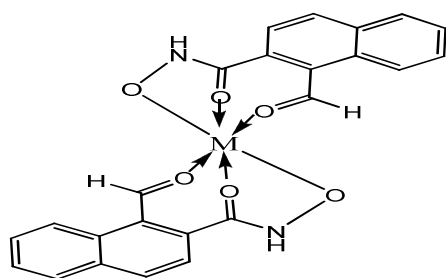


Fig (1): The proposed structure complexes of (NHA) where M= Co(II), Ni(II), Mn(II), Fe(II) and Cu(II).

### Iron Complex

The iron (II) octahedral high-spin gives an absorption of one package at ( $11641 \text{ cm}^{-1}$ ) due to transition ( $^5T_{2g} \rightarrow ^5E_g$ ) (18).

### Copper Complex

The complex of Cu(II) exhibited three electronic transitions in the region located at ( $12860 \text{ cm}^{-1}$ ) are:  $^2B_{1g} \rightarrow ^2A_{1g} \nu_1$ ,  $^2B_{1g} \rightarrow ^2B_{2g} \nu_2$ ,  $^2B_{1g} \rightarrow ^2E_g \nu_3$  on respectively. These bands are assigned to distorted octahedral structure (19). The geometry obtained was also confirmed by the values of  $\mu_{\text{eff}}$  at ( 1.75 B.M).

### The proposed structure:

According to the results obtained from ir, uv/vis, molar ratio, molar conductivity and atomic absorption measurements for the prepared complexes, the proposed molecular structure of the complexes has an octahedral structure as shown in fig. (1).

### Preliminary investigation:

The ball and cylinders and some of selected structural parameters (bond length and angles) of the optimized geometries are shown in fig.( 2) table (3).

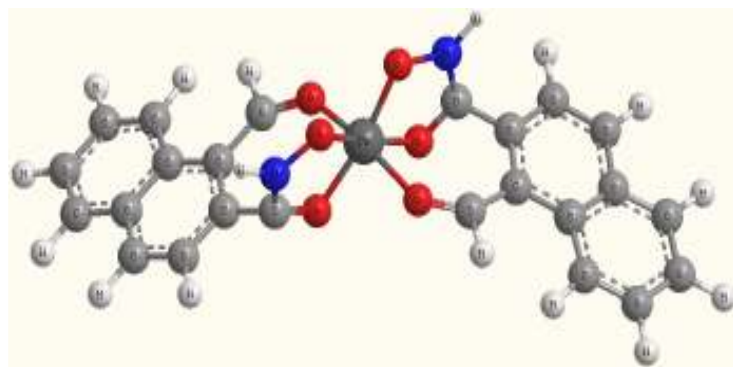


Fig (2): The optimized structural geometry of Cu(II) complex

As shown in figure (2), there is no obvious trend for the variation of these parameters. The values of the bond length and angles of the optimized geometries are quite similar to the experimental results of the corresponding compounds.

Table (3) : structural parameters, bond length (°A) and angles(°) of the studied Molecules.

Bond lengths (°A)		Bond angles(°)		Bond angles(°)		Bond angles(°)	
O(34)-Cu(35)	1.8100	O(34)-Cu(35)-O(13)		H(47)-C(24)-C(25)		C(11)-C(9)-C(8)	122.3986
O(33)-Cu(35)	1.8100		109.4999		120.0080	C(10)-C(9)-C(8)	119.9989
C(31)-O(33)	0.6116	O(33)-Cu(35)-O(30)		H(47)-C(24)-C(21)		H(41)-C(8)-C(9)	120.0010
C(31)-H(32)	1.1130		0.0000		120.0082	H(41)-C(8)-C(7)	120.0006
O(30)-Cu(35)	1.8100	O(33)-Cu(35)-O(17)		C(25)-C(24)-C(21)		C(9)-C(8)-C(7)	119.9985
N(29)-H(49)	1.0120		114.6506		119.9838	C(14)-C(10)-C(9)	117.5992
N(29)-O(30)	3.8567	O(33)-Cu(35)-O(16)		H(45)-C(20)-C(21)		C(14)-C(10)-C(5)	122.3980
C(28)-O(34)	1.2080		109.5001		120.0003	C(9)-C(10)-C(5)	120.0003
C(28)-N(29)	1.3690	O(33)-Cu(35)-O(13)		H(45)-C(20)-C(19)		H(39)-C(6)-C(5)	120.0002
C(27)-C(31)	1.3510		109.5001		119.9993	H(39)-C(6)-C(1)	120.0000
C(26)-C(28)	1.3510	O(30)-Cu(35)-O(17)		C(21)-C(20)-C(19)		C(5)-C(6)-C(1)	119.9998
C(26)-C(27)	1.3370		114.6506		120.0004	H(40)-C(7)-C(8)	120.0007
C(25)-H(48)	1.1000	O(30)-Cu(35)-O(16)		H(44)-C(19)-C(20)		H(40)-C(7)-C(4)	120.0007
C(25)-C(26)	1.3370		109.5001		120.0002	C(8)-C(7)-C(4)	119.9986
C(24)-H(47)	1.1000	O(30)-Cu(35)-O(13)		H(44)-C(19)-C(18)		C(10)-C(5)-C(6)	119.9989
C(24)-C(25)	1.3372		109.5001		120.0004	C(10)-C(5)-C(4)	119.9995
C(23)-H(46)	1.1000	O(17)-Cu(35)-O(16)		C(20)-C(19)-C(18)		C(6)-C(5)-C(4)	119.9992
C(27)-C(22)	1.3370		109.4997		119.9995	C(7)-C(4)-C(5)	119.9992
C(22)-C(23)	1.3370	O(17)-Cu(35)-O(13)		H(43)-C(18)-C(23)		C(7)-C(4)-C(3)	119.9983
C(21)-C(24)	1.3370		104.0000		119.9992	C(5)-C(4)-C(3)	120.0001
C(21)-C(22)	1.3370	O(16)-Cu(35)-O(13)		H(43)-C(18)-C(19)		H(38)-C(3)-C(4)	120.0007
C(20)-H(45)	1.1000		109.5002		119.9993	H(38)-C(3)-C(2)	119.9994
C(20)-C(21)	1.3370	Cu(35)-O(16)-C(14)		C(23)-C(18)-C(19)		C(4)-C(3)-C(2)	119.9999
C(19)-H(44)	1.1000		21.7458		120.0015	H(37)-C(2)-C(3)	120.0053
C(19)-C(20)	1.3370	O(16)-C(14)-H(15)	139.8090	H(46)-C(23)-C(22)		H(37)-C(2)-C(1)	120.0048
C(18)-H(43)	1.1000	O(16)-C(14)-C(10)	80.3812		120.0005	C(3)-C(2)-C(1)	119.9899
C(23)-C(18)	1.3370	H(15)-C(14)-C(10)	139.8098	C(23)-C(22)-C(21)		H(36)-C(1)-C(6)	120.0043
C(18)-C(19)	1.3369	O(17)-C(11)-N(12)	110.9999		119.9992	H(36)-C(1)-C(2)	120.0044
O(17)-Cu(35)	1.8100	O(17)-C(11)-C(9)	123.0006	C(31)-C(27)-C(26)		C(6)-C(1)-C(2)	119.9913
O(16)-Cu(35)	1.8100	N(12)-C(11)-C(9)	112.7399		117.5992	H(46)-C(23)-C(18)	119.9997
C(14)-O(16)	2.0806	C(11)-C(9)-C(10)	117.5998	C(31)-C(27)-C(22)		C(22)-C(23)-C(18)	119.9997
C(14)-H(15)	1.1130	N(29)-C(28)-C(26)	112.7398		122.3981	C(24)-C(21)-C(22)	119.9993
Cu(35)-O(13)	1.8100	Cu(35)-O(34)-C(28)		C(26)-C(27)-C(22)		C(24)-C(21)-C(20)	119.9985
N(12)-H(42)	1.0120		104.0001		120.0002	C(22)-C(21)-C(20)	119.9997
N(12)-O(13)	3.6123	Cu(35)-O(33)-C(31)		H(48)-C(25)-C(26)		O(33)-C(31)-H(32)	128.4265
C(11)-O(17)	1.2080		71.1197		120.0002	O(33)-C(31)-C(27)	103.1471
C(11)-N(12)	1.3690	Cu(35)-O(30)-N(29)		H(48)-C(25)-C(24)		H(32)-C(31)-C(27)	128.4265
C(10)-C(14)	1.3510		66.6549		120.0009	C(27)-C(22)-C(23)	119.9989
C(9)-C(11)	1.3510	Cu(35)-O(13)-N(12)		C(26)-C(25)-C(24)		C(27)-C(22)-C(21)	119.9994
C(9)-C(10)	1.3370		73.5309		119.9989	O(34)-Cu(35)-O(33)	
C(8)-H(41)	1.1000	H(42)-N(12)-O(13)	156.8108	H(49)-N(29)-O(30)			109.3271
C(8)-C(9)	1.3370	H(42)-N(12)-C(11)	156.8111		155.6004	O(34)-Cu(35)-O(30)	
C(7)-H(40)	1.1000	O(13)-N(12)-C(11)	46.3781	H(49)-N(29)-C(28)			109.3271
C(7)-C(8)	1.3371	Cu(35)-O(17)-C(11)			155.6001	O(34)-Cu(35)-O(17)	
C(6)-H(39)	1.1000		103.9995	O(30)-N(29)-C(28)			6.2574
C(10)-C(5)	1.3370				48.7995	O(34)-Cu(35)-O(16)	
C(5)-C(6)	1.3370			C(28)-C(26)-C(27)			109.4998
C(4)-C(7)	1.3370				117.6000	O(34)-C(28)-C(26)	123.0000
C(4)-C(5)	1.3370			C(28)-C(26)-C(25)		O(34)-C(28)-N(29)	111.0001
C(3)-H(38)	1.1000				122.3987		
C(3)-C(4)	1.3370			C(27)-C(26)-C(25)			
C(2)-H(37)	1.1000				119.9987		
C(2)-C(3)	1.3370						

### Antibacterial effect of ligand and their complexes:

The results of the antibacterial screening of the ligand (NHA) and their complexes at a concentration of  $10^{-3}$  Magainst all bacteria as have been found Fig(3). The results of antibacterial screening , indicate that complexes shows more activity than ligand ,the ligand show activity against micro organisms. The activity of these substances may be due to carboxyl group (20).

The high activity complexes may be due to the presence of electron donating effect (21). The alteration in the activity of different molecules against different organism depends either on the impermeability of the cells of the microbes or differences in ribosomes of microbial cells (21).

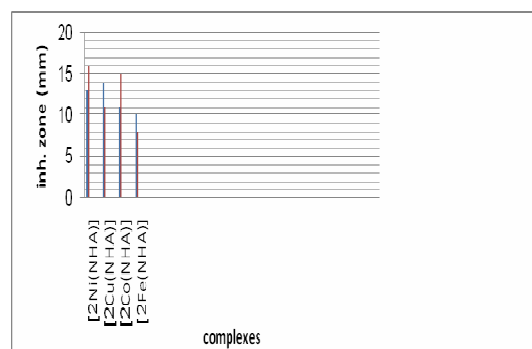


Figure (3): Biological activity of ligands and their complexes

### CONCLUSION

A series of Naphthal Hydroxamic Acid (NHA) with (Co, Ni, Fe and Cu) (II) complexes has been synthesized , the analytical, spectroscopic and magnetic data enable us to predict possible structures as shown in figure 3.

### REFERENCES

1. Zuhoor FD, and Al – Shamaa M. (2006) In synthesis and characterization of mixed ligands complexes of imidazole and naphthal hydroxamic acid with Mn(II),Fe(II), Co(II),Ni(II) AND Cu(II), ABDULHADII R. H. Al – Taqani J. 19(1): 23-32.
2. Mostava MM , Shallaby AM, and El – Asmy AA. (1981) Transition metal complexes of 4-phenylthiosemicarbazide. J. Inorg. Nucl. Chem. 43: 292.
3. Kowol CR., Berger R. , Eichinger R. , Roller A. , Jakupec MA. , Schmidt PP. , Arion VB. and Keppler BK. (2007) Gallium(III) and iron(III) complexes of alpha-N-heterocyclic thiosemicarbazones: synthesis, characterization, cytotoxicity, and interaction with ribonucleotide reductase., *J. Med Chem.* , 50( 6 ) : 1254 – 1265.
4. Tudor R , Aurelian G , Nicolae A, and Georgescu R. (2007) Complexes of 3d Metal Ions with Thiosemicarbazones: Synthesis and Antimicrobial Activity. *J. Molecules.* 12:782 – 790.
5. Kasser J, Nazarov AA, Hartinger CG, Wdziekonski B, Dani C, Kuznetsov ML, Arion VB, Keppler BK. (2009) A one step/one pot synthesis of N,N- bisphosphonomethyl of amino acids and their effects on adipogenic and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Bioorg. Med. Chem.* 17(9):3388.
6. Paniago EB, Carvalho S, and Ciência E C. (1988) In Copper(II) Mixed Ligands Complexes of Hydroxamic Acids with Glycine, Histamine and Histidine. *J. Braz. Chem. Soc.* 8(5): 91-97.
7. Agarwal RK., Singh L., and Sharma DK. (2006) Synthesis, Spectral, and Biological Properties of Copper(II) Complexes of Thiosemicarbazones of Schiff Bases Derived from 4-Aminoantipyrine and Aromatic Aldehydes. *Bioinorg. Chem. Appl.* 1–10.
8. Kehl H (Ed.) (1982) *Biology and Chemistry of Hydroxamic Acids.* Karger. New York
9. Vogel A I (1996) *A Textbook of Quantitative Inorganic Analysis,* 6th edn. Wiley NY.
10. Campbell MJM., Card DW., and Grzeskowiak R. (1970) Complexes of 2-aminobenzothiazole with cobalt(II) and nickel(II). *J. Chem. Soc. A.*: 672-675

11. Geary WK.(1970) Coordination Chemistry Review. Elsevier publishing company .Amsterdam.
12. Fleteher P.(1990) Practical Methods of optimization . Wiley- New York.
13. Ramman N., Raja YP, and Kulandaisory A.(2001) India Academy of Science: 113: 183.
14. Williams DH. and Fleming I. (1989) Spectroscopic Methods in organic Chemistry. Mc. Graw Hill- London.
15. Lever ABP. (1968) The Electronic Spectra of tetragonal metal complexes analysis and significance. Coordn. Chem. Rev. 3: 119-140
16. Colthup NB., Daly LH., and Wiberly SE. (1964) Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy. (Academic Press N.Y. ) p.347
17. Baluja S., Solanki A., and Kachhadia N.(2006) Evaluation of Biological of some Schiff Bases and Metal Complexes J. Iran. Chem. Soc.3:312 -317.
18. Lever ABR.(1968) Crystal Field Spectra: Inorganic Electronic Spectroscopy, 1<sup>st</sup>ed., Elsevier. Amsterdam, pp. 249-360
19. Athar F., Arjmand F., and Tabassum S. (2001) New asymmetric N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> macrocycles, their metal chelates and the photokinetics of DNA-complex interaction . Trans. Met. Chem. 26 :426-429
20. Perez C., Pauli M. and Bazevque P..(1990) *Acta Biol. Med. Exp.* 15, 113(1990). Synthesis, characterisation and electrochemical behaviour of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes derived from acetylacetone and p-anisidine and their antimicrobial activity. Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.), 115( 3): 161–167 .
21. Tweedy BG.(1964) plane extracts with metal ions as potential antimicrobial agents. Phytopathol. 55: 910 –914.

## Synthesis, Characterization, And Antibacterial Activities Of Manganese (II), Cobalt(II), Copper(II), Iron (II), Nickel (II) And Cadmium(II) Mixed- Ligand Complexes Containing Amino Acid (L- Lysine) And 1,10-Phenanthroline

(1)Taghreed H. Al-Noor , (2)Ibtihaj K. Malih , & (3)Atheer A. Mahmood

(1)Chemistry Department/ Ibn -Al-Haithem College of Education/ University of Baghdad/ Iraq. (2) College of Nursing/ Baghdad University/ Iraq.(3) College of Education/ Iraqi University/ Iraq

E-mail: drtaghreed@yahoo.com

### ABSTRACT

The research includes the synthesis and identification of the mixed ligands complexes of M(II) Ions in general composition  $[M(Lyn)_2(phen)]$  Where L- lysine ( $C_6H_{14}N_2O_2$ ) commonly abbreviated (LynH) as a primary ligand and 1,10-phenanthroline( $C_{12}H_8N_2$ ) commonly abbreviated as "phen," as a secondary ligand .

The ligands and the metal chlorides were brought in to reaction at room temperature in ethanol as solvent. The reaction required the following molar ratio [(1:1:2) (metal): phen:2 Lyn<sup>-</sup>] with M(II) ions, were M = Mn(II), Cu(II), Ni(II), Co(II), Fe(II) and Cd(II).

Our research also includes studying the bio-activity of the some complexes prepared against pathogenic bacteria *Escherichia coli*(-), *Staphylococcus*(-) , *Pseudomonas* (-), *Bacillus* (-) and *Staphylococcus* S.P(+).

**Keywords:** Amino Acid, L- Lysine , 1,10-Phenanthroline, Mixed- Ligand Complexes

### المخلص باللغة العربية

يتضمن البحث تحضير وتشخيص عدد من المعقدات المختلطة لليكاند مع الايونات L- lysine ( $C_6H_{14}N_2O_2$ ) أذ أن اللايسين

$[M(Lyn)_2(phen)]$  بالصيغة العامة M(II)

"phen," ومختصره ( $C_{12}H_8N_2$ ) كليكاند أولي و 2 فينوثرولين (LynH) مختصره كليكاند ثانوي .

حضرت المعقدات وذلك بمفاعلة الليكاندين مع كلوريدات العناصر باستعمال الايثانول مذيباً وفي M(II) مع الايونات [(1:1:2) (metal): phen:2 Lyn<sup>-</sup>] درجة حرارة المختبر ونسب مولية

C d(II). و M = Mn(II), Cu(II), Ni(II), Co(II), Fe(II)

أيضاً تم دراسة الفعالية البايولوجية لبعض المعقدات المحضرة ضد البكتريا المرضية

*Escherichia coli*(-), *Staphylococcus*(-) , *Pseudomonas* (-), *Bacillus* (-) and *Staphylococcus* S.P(+)

## INTRODUCTION

1,10-Phenanthroline(also called o-phenanthroline) is a heterocyclic organic compound used as an oxidation-reduction indicator due to characteristic color changes; turning faint blue when oxidized. It is used as an indicator to determine iron. (1,2)

1,10-phenanthroline(Figure 1) is very good nitrogen donor and generally acts as bidentate ligand in coordination chemistry, commonly abbreviated "phen," it forms strong complexes with most metal ions. In terms of its coordination properties, phen is similar to 2,2'-bipyridine. (3-5).

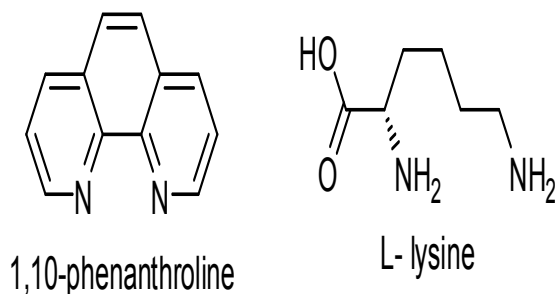


Fig (1): 1,10-Phenanthroline and L- lysine

Metal complexes containing diimine ligands such as bipyridine and 1,10-phenanthroline have gained importance because of their versatile roles as building blocks for the synthesis of metallo-dendrimers and as molecular scaffolding for supramolecular assemblies, and in analytical chemistry, catalysis, electrochemistry, ring-opening metathesis polymerization and biochemistry (6–10). Mixed ligand complexes can be a synthetic challenge to tune the properties of the transition metal complexes (11).

The complex of iron(II)tris(3-Br-phen) (3-Br-phen; 3-bromo-1,10-phenanthroline) was prepared as a precursor of electro polymerization and the crystal structure of  $[\text{Fe}(\text{3-Br-phen})_3](\text{PF}_6)_2 \cdot \text{CH}_3\text{CN}$  with a distorted octahedral geometry has been investigated (12).

Prominent among the various metal complexes employed so far in studies with DNA are those metallo–intercalators which incorporate either 1,10-phenanthroline (phen) or a modified phenanthroline moiety as a ligand(13). Although DNA interactions of a number of  $[\text{M}(\text{phen})_2(\text{LL})]^{n+}$  type complexes have previously appeared in the literature, relatively less attention seems to have been paid to systematic investigations inquiring into the

effects brought about by changing M and LL in such complexes (13,14). L- lysine (Figure 1) is one of the twenty major amino acids and is considered an essential amino acid(15). During the recent years , there has been significant interest in the coordination chemistry , the structural properties and the reactivity of metal complexes of amino acids (3,4,16)

In this paper we present the synthesis and study of Cu(II), Ni(II), Co(II), Mn(II), Fe(II) and Cd(II) complexes with amino acid L-lysine as a primary ligand and 1,10-phenanthroline as a secondary ligand have been used, respectively.

## MATERIALS AND METHODS

All chemicals used were of reagent grade (supplied by either Merck or Fluka) and used as supplied. All the metal ions Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Fe(II) and Cd(II) were of Analar grade (BDH). They were used in the form of chlorides without further purification.

### Instruments :

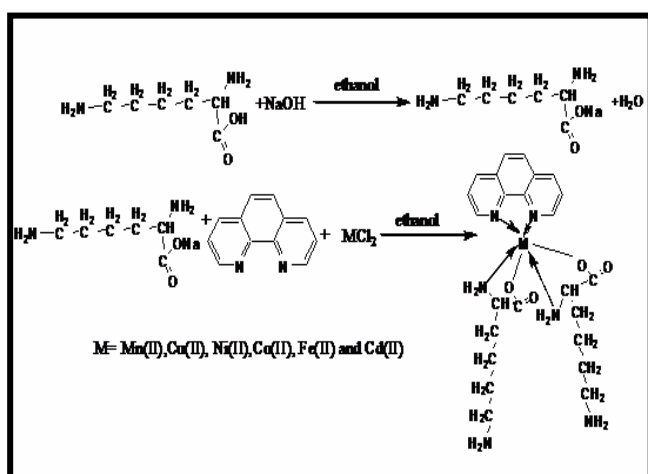
FTIR spectra were recorded as K Br discs using Fourier transform Infrared Spectrophotometer Shimadzu 24 FTIR 8400s. Electronic spectra of the prepared complexes were measured in the region (200- 1100) nm for  $10^{-3}$  M solutions in ethanol at 25°C using shimadzu-U.V-160.A Ultra Violet Visible-Spectrophotometer with  $1.000 \pm 0.001$  cm matched quartz cell. While metal contents of the complexes were determined by Atomic Absorption(A.A)Technique using Japan A.A-67G Shimadzu. Electrical conductivity measurements of the complexes were recorded at room temperature for  $10^{-3}$  M solutions of the samples in DMF using pw9527 Digital conductivity meter (Philips). Melting points were recorded by using Stuart melting point apparatus. chloride ion content were also evolution by (Mohr method),Magnetic susceptibility measurements were measured using Bruker magnet BM6 instrument at 298°K following the Faraday's method. The proposed molecular structure of the complexes were determined by using chem. office program, 3DX (2006).

### General synthesis :

1- 1,10-phenanthroline solution :prepared by dissolve [0.224 gm,1m.mol] in ethanol(10ml ).

2- Sodium lysinate ( $\text{Na}^+ \text{lyn}^-$ ) : L- lysine [0.292gm, 2 mmol] was dissolved in 10 ml ethanol and added to 10 ml of ethanolic solution containing [0.08 gm (2mmol) of the sodium hydroxide.(scheme -1)

3- Synthesis of complexes: An aqueous solution of the metal salt was added to the solution of the ligands in ethanol respectively using stoichiometric amounts (1:2:1)(metal: ligand: ligand)(M:2  $\text{Na}^+ \text{lyn}^-$  : phen) molar ratio, the mixture was stirred for half an hour at room temperature, crystalline precipitates observed. The resulting precipitates were filtered off ,recrystallized from ethanol and dried at room temperature according to the following reaction : (scheme -1) :



**Scheme (1) : Schematic representation of synthesis of the  $[\text{M}(\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_4)]$  complexes**

4-Preparation of Microorganism suspension (16):

A) The micro- organism suspension was prepared by taking 2–4 colonies from all the studied micro- organism. Then it was inserted in the physiological solution in 0.85% concentration and was compared with Macferr land tube number 0.5 which is equal to  $1.5 \times 10^8$  cell/mm. It is used for Petri dish preparation for the examination of biological activity against the under studied chemical compound.

B) Inhibition Activity Selection for the complexes in studied Micro-organism

The agar well diffusion method was used to see the effect of under studied chemical complexes on the micro-organism growth. This is done by using 20–25 ml from Nutrient agar medium for each Petri dish. The dish was incubated in incubator for 24 hours at (37°C) to make sure that no contamination would occur in the dish.

The dish was wetted in 10 milliliters of micro-organism which was prepared as mentioned in the previous paragraph which include  $1.5 \times 10^8$  cell/mm. Distributed evenly on the

Nutrient Agar medium surface by using spreader. Bore was made on the cultured medium surface by using cork borer. The chemical complexes were made as 100 m ml per bore and left the central bore containing only DMF. The dishes were left for 1/2 hour in refrigerator at 4°C(16). The dishes were incubated at (37°C) for 24 hours. The biological activity for the complexes was defined by measuring the diameter of the inhibition area surrounding each bore in millimeters.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Physical properties of the prepared complexes:

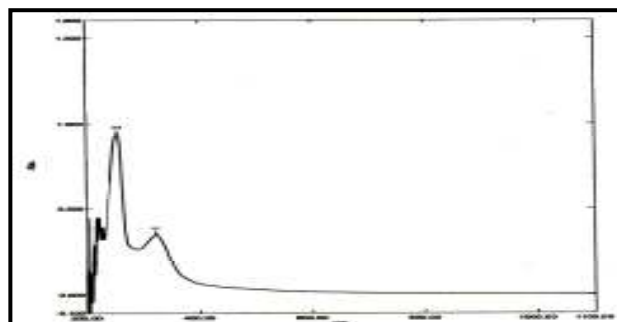
Products were found to be solid crystalline complexes, which have been characterized through the following: Solubility, Molar conductivity, Determination the percentage of the metal in the complexes by (AAS), Spectroscopic Method [FTIR and UV-Vis]. Table (1) shows the physical data for the prepared complexes which show different melting points, all of them were higher than the two ligands, All the complexes are colored, non-hygroscopic and thermally stable solids Table (1), indicating a strong metal-ligand bond.

1,10-Phenanthroline is soluble in alcohol and acetone and hardly soluble in water.

The complexes are insoluble in water but soluble in common organic solvents such as ethanol ,methanol, ethyl alcohol, acetone, chloroform ,DMF and DMSO.

### Atomic Absorption and chloride ion content :

The atomic absorption measurements and chloride ion content Table (1) for all complexes gave approximated values for theoretical values. In conclusion, our investigation this suggest that the ligands acid L- lysine and 1,10-phenanthroline coordinate with M (II) forming octahedral geometre.Figure(2).



**Fig. (2) : Electronic spectrum of the ligand (L-lysine)**

**Molar Conductance:**

The molar conductance of the complexes value range between (5.69-10.59  $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$ ) of the complexes which was carried out in ethanol solvent indicates that the complexes under study are non-electrolytic in nature. The electrical conductivity of these complexes found in the order:

$\text{Cd} > \text{Ni} > \text{Fe} > \text{Cu} > \text{Co} > \text{Mn}$ .

Insolubility of these complexes in water and there non-electrolytic nature provide sufficient evidence for covalence of the ligands (17,18).

**Fourier-transform infrared spectra-and mode of coordination :**

The most important infrared spectral bands that provide conclusive structural evidence for the coordination of the ligands to the central metal ions .

The assignment of some of the most characteristic FTIR bands of the complexes are shown in Table (2) together with those of two ligands recorded for comparative purposes and facilitate the spectral analysis .

The IR spectra of the all complexes show characteristic vibrations of the aromatic nucleus [ $\nu$  (C=C),  $\nu$  (C=N)] of 1,2-phenanthroline near 1590, 1503 and 1430  $\text{cm}^{-1}$  respectively, while (C-H) deformation vibrations are about 726  $\text{cm}^{-1}$  (1,2-phenanthroline) (19).

Regarding the amino acids as secondary ligand, distinct bands appearing in the 1545-1570  $\text{cm}^{-1}$  and 1420-1430  $\text{cm}^{-1}$  regions in the IR spectra of the complexes. which are attributable to the asymmetric and symmetric stretching vibration of the carboxylate group  $\nu$  ( $\text{COO}^-$ ) . These bands are shown, however in the 1560- 1570  $\text{cm}^{-1}$  and 1388-1392  $\text{cm}^{-1}$  regions for complexes . (20,21).

The separation  $\nu_{\text{asym}}$ -  $\nu_{\text{sym}}$  values Table( 2) are taken as an evidence for the participation of the carboxylate group,  $\nu$  (N-H) band appears in the 3290-3330  $\text{cm}^{-1}$  region, hence it can be concluded that the nitrogen of the amino group is involved in coordination. (22,23). It is found from the IR spectra of the complexes that there are wide and strong band at 632-648  $\text{cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{M-N})$  bonding and 450-516  $\text{cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{M-O})$  which are assigned to metal stretching vibration. (20-24).

**Magnetic measurements and UV-Visible Spectroscopy:**

The magnetic moment data are presented in Table 3. The Mn(II) complex showed a value of 5.38  $\mu\text{B}$ , which is slightly lower than the spin only value of 5.92  $\mu\text{B}$  for high spin octahedral Mn(II) complexes (23). The magnetic moment of the Fe(II) complex was 5.78  $\mu\text{B}$ , which supports its high spin octahedral geometry (25). The observed magnetic value of Ni(II) complex was 3.18  $\mu\text{B}$ , which is in good agreement with a spin free octahedral geometry (24). The Cu(II) complex exhibited a value of 1.83  $\mu\text{B}$ , which suggests an octahedral geometry around the central metal ion. Cd (II) complex is diamagnetic in nature and its electronic spectra do not furnish any characteristic d-d transitions except charge transfer (LMCT) bands as expected for  $d^{10}$  systems. The electronic spectra of the ligands and there complexes were recorded in DMF and their assignments are given in Table (3). The free ligand 1,10 – Phenanthroline spectral data display two bands at 311 nm (32154  $\text{cm}^{-1}$ ), 338 nm (29586  $\text{cm}^{-1}$ ) attributed to  $\pi \rightarrow \pi^*$  and  $n \rightarrow \pi^*$  transitions and the spectrum of the free ligand (L-lysine), Figure(3) exhibits absorption peak at (280 nm) (35714.28  $\text{cm}^{-1}$ ) and an intense peak at 320 nm (31250.0  $\text{cm}^{-1}$ ), which assigned to ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ), and ( $n \rightarrow \pi^*$ ) transition respectively (16,17).

The electronic spectra of Co(II) complex recorded in DMF solution display three absorption bands at (34482, 32154 and 17123)  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to the following transitions, respectively: LMCT, LMCT, and  ${}^4\text{T}_{1g(\text{F})} \rightarrow {}^4\text{A}_{2g(\text{F})}$ . This shows that this complex has octahedral geometry.

The electronic spectra of Mn (II) complex exhibited three spin allowed bands in the region 668nm (14970;  $\text{cm}^{-1}$ ), 536nm (18656  $\text{cm}^{-1}$ ) and 410 nm (24339  $\text{cm}^{-1}$ ) assigned to the transitions

$6\text{A}_{1g} \rightarrow 4\text{T}_{1g} (4\text{G})$  ( $\nu_1$ ),  $6\text{A}_{1g} \rightarrow 4\text{T}_{2g} (4\text{G})$  ( $\nu_2$ ) and  $6\text{A}_{1g} \rightarrow 4\text{E}_g$ ,  $4\text{T}_{1g} (4\text{P})$  ( $\nu_3$ ) respectively, indicating octahedral geometry (24,25).



Table (1): The physical properties of the compounds

Compounds	M.wt	Color	M .p (de) °c	$\Delta m$ $ohm^{-1} cm^2 mol^{-1}$	Cl%	%Metal Theory	% Metal Experiment
LynH (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	146.19	White	> 350	1.0	-	-	-
phen(C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> )	180.12	White	114-117	2.6	-	--	
Mn (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )		Yellow	300 <sup>d</sup> >	5.69	Nil	11.03	12.4
Co(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	529.50	Brown	300 <sup>d</sup> >	7.68	Nil	11.13	12.4
Ni (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	529.26	Green	300 <sup>d</sup> >	9.79	Nil	11.09	11.61
Fe (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	526.42	brown-red	300 <sup>d</sup> >	8.28	Nil	10.61	11.4
Cu (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	531.11	Blue	300 <sup>d</sup> >	8.22	Nil	11.90	11.4
Cd(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	582.98	White	300 <sup>d</sup> >	10.59	Nil	19.28	-----

d: Decomposition points of the corresponding molecule

Table (2): FTIR spectral data of the Ligands and there complexes

Compound	NH <sub>sym</sub> str	CH <sub>(py)</sub> str	(CH) <sub>cycl</sub> ic	$\nu$ (C=N)	$\nu$ (C=C)	$\nu$ (C-O)	$\nu\delta$ (C-O)	$\nu$ (-COO <sup>-</sup> ) asym sym	$\Delta$ $\nu$ COO <sup>-</sup> ) asym sym	M-O	M-N
Lyn H (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3240							1618 vs (1411 s)	207		-
Phen (C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> )	3240- 3047br	-	-	1577	1508	-	-	-	-		-
Mn(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	3218s	2983vs	2923s	1589vs	1589 vs	1283s	457	1483s (1386)	97	457	632s
Co(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	3168w-	3136s 2854w	2974m	160w	1573vs	1283m	457m	1465s (1323 s)	142	450m	640 m
Ni (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	3194br- s	3136m 2854w	2924w	1590s	1570s	1269m	505m	1465vs (1377vs)	88	450w	648m
Fe (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	3356 br s	3240 br-s	2989w	1620s	1520w	1284m	497m	1497vs (1373s)	124	503w	644m
Cu (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	3384 br	3058m	2925w	1581vs	1504m	1284m	588s	1469vs (1377vs)	92	516m	632m
Cd(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	3315s	3085m	2927w	1577vs	1500 vs	1282s	583w	1467vs (1371vs)	98	503m	640m

Sym: symmetric, asy: asymmetric, am: amide, py: pyridine, o.p: out of plane, str: stretching,  
v.s: very strong, s: strong, m: medium, w: week, sh: shoulder

**Table (3): Electronic Spectral data, magnetic moment, of the studied complexes and two ligands**

Compounds	$\lambda$ max(nm)	$\nu'$ (cm <sup>-1</sup> )	Assignments	$\mu_{\text{eff}}$ (BM)
Lyn H (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	280 320	35714 31250	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$	-
Phen (C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> )	311 338	32154 29586	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$	-
Mn (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	301 410 536 668	33222 14970 18656 14970	LMCT $6A_{1g} \rightarrow 4E_g$ , $4T_{1g}$ (4P) $6A_{1g} \rightarrow 4T_{2g}$ (4G) $6A_{1g} \rightarrow 4T_{1g}$ (4G)	5.38
Co(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	290 311 584	34482 32154 17123	LMCT LMCT $4T_{1g}(F) \rightarrow 4A_{2g}(F)$ .	4.90
Ni (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	314 407 666	31847 24515 15009	LMCT $3A_{2g}(F) \rightarrow 3T_{1g}(P)$ $3A_{2g}(F) \rightarrow 3T_{1g}(F)$	3.18
Fe (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	300 310 510	33333 32258 19607	LMCT LMCT $^5T_{2g} \rightarrow ^5E_{2g}$	5.78
Cu (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	249 352 590	40160 28409 16949	LMCT LMCT $2E_g \rightarrow 2T_{2g}$	1.83
C d(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	311	32154	LMCT	Diamag

**Table (4): the inhibition circle diameter in millimeter for the bacteria after 24 hour incubation paid and 37°C for complexes**

Compounds	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>
Control(DMF)	5	5	5	5
Mn (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	45	60	60	60
Ni (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	40	60	50	50
Fe (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	40	45	40	35
Cu (C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	40	60	50	50
Cd(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> )	45	65	50	40

The reflectance spectra of the Ni(II) complex, exhibit two strong bands at 662nm (  $15009\text{ cm}^{-1}$  ) and 407 nm (  $24515\text{ cm}^{-1}$  ), assignable to  $3A_{2g}(F) \rightarrow 3T_{1g}(F)$  ( $\nu_1$ ) and  $3A_{2g}(F) \rightarrow 3T_{1g}(P)$  ( $\nu_2$ ) respectively. The ( $\nu_2/\nu_1$ ) ratio for the chelate is 1.633 occurs in the usual range (1.600- 1.820) for octahedral Ni(II) chelates 26. The spectral bands are well within the range observed for hex coordinate octahedral complexes reported earlier (23 -26).

The electronic spectra of the Co(II), complex show absorption bands at 311 nm (  $32154\text{ cm}^{-1}$  ), 290 nm (  $34482\text{ cm}^{-1}$  ) and 584 nm (  $17123\text{ cm}^{-1}$  ) due to the presence of a charge transfer (LMCT) and  $4T_{1g}(F) \rightarrow 4A_{2g}(F)$ . (26-28).

The electronic spectra of the Fe(II) complex exhibited three bands at 310nm (  $32258\text{ cm}^{-1}$  ), 300 nm (  $33333\text{ cm}^{-1}$  ) and 510nm (  $19607\text{ cm}^{-1}$  ) due to the presence of a charge transfer (LMCT) and  $5T_{2g} \rightarrow 5E_{2g}$ . Figure. (3). The electronic spectra of the Cu(II) complex exhibited three bands at 352nm (  $28409\text{ cm}^{-1}$  ), 249 nm (  $40160\text{ cm}^{-1}$  ) and 590 nm (  $16949\text{ cm}^{-1}$  ) due to the presence of a charge transfer (LMCT) and  $2E_g \rightarrow 2T_{2g}$ .

The metal complexes are of the high-spin type and paramagnetic, except for the Cd(II) complex, which is diamagnetic. The values of  $\mu_{\text{eff}}$  suggest octahedral coordination around the metal ions. (25-27).

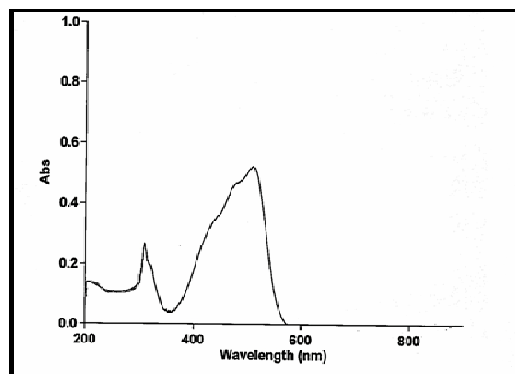


Fig. (3): The(UV-Vis) Spectrum of Fe ( $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_4$ )

#### Antibacterial Activities:

The zone inhibition of bacterial growth were measured in mm depending upon the diameter as shown in Table (4) Figure (4) . On the basis of observed zones of inhibition, All the metal-mixed ligand complexes are active against all tested organisms *Escherichia coli*(-), *Pseudomonas*(-), *Bacillus*(-) and *Staphylococcus S.P* ( + ) which in fact is in agreement with the literature (28,29).

The antibacterial activity of the metal chelates was found to be in the order:  $\text{Mn} > \text{Cd (II)} > \text{Ni (II)} > \text{Fe (II)}$  .Hence produce metal chelates can be employed as antibacterial.

#### Proposed molecular structure :

Studying complexes on bases of the above analysis , the existence of Hexa coordinated  $[\text{M}(\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2)_2(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)]$  , were  $\text{M(II)} = \text{Mn(II)} , \text{Cu(II)}, \text{Ni(II)}, \text{Co(II)}, \text{Fe(II)} , \text{and Cd(II)}$ .

Proposed models of the species were built with chem. 3D shows in Figure(5).

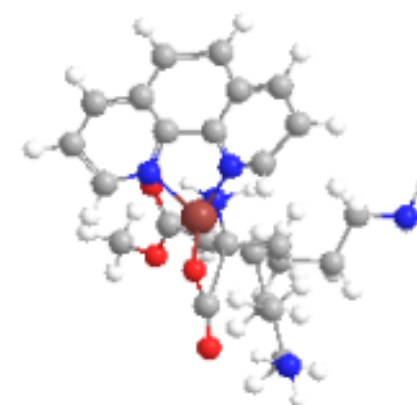
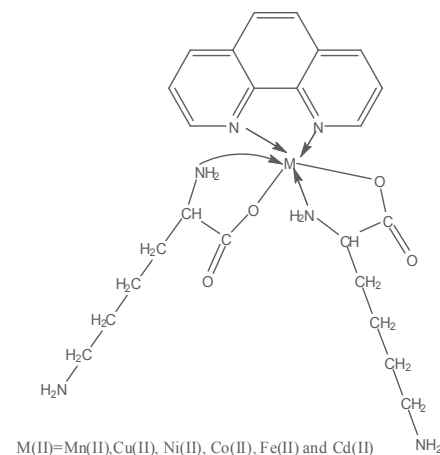
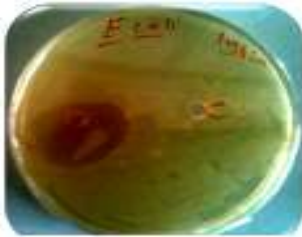
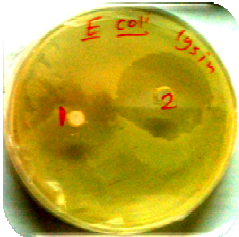
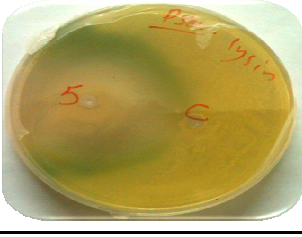
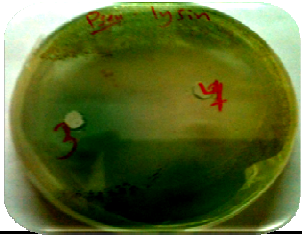
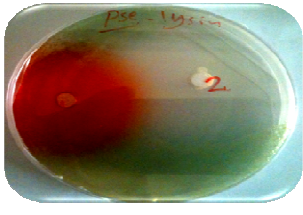

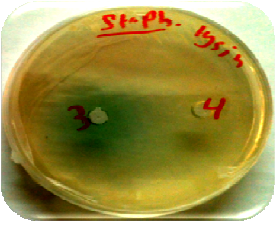
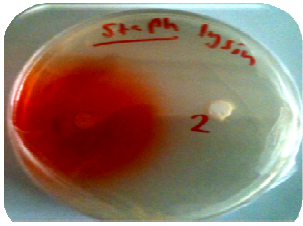

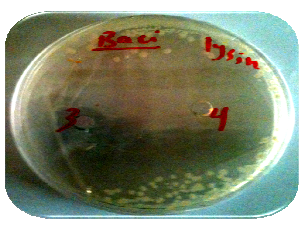
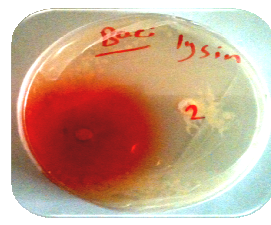


Fig. (5) : The proposed structure and 3D-geometrical structure of the complexes

		
<i>E .coli</i>		<i>E .coli</i>
		
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>
		
<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
		
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>
5-Mn( $C_{24}H_{34}N_6O_4$ )	3-Cu ( $C_{24}H_{34}N_6O_4$ ) 4-Ni( $C_{24}H_{34}N_6O_4$ )	1-Fe ( $C_{24}H_{34}N_6O_4$ ) 2-Cd( $C_{24}H_{34}N_6O_4$ )
<b>Fig. (5): the antimicrobial activity of complex,1,2,3,4,5 ) appear the inhibition zones against pathogenic bacteria (<i>E .coli</i> , <i>Pseudomonas</i> ,<i>Staphylococcus</i> and <i>Bacillus</i>)</b>		

## REFERENCES

1. Mudasir A, Yoshioka N, and Inoue H.(1997) DNA binding of iron(II) mixed-ligand complexes containing 1, 10-phenanthroline and 4, 7-diphenyl-1, 10-phenanthroline. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 77(3-4):239–247.
2. Sariego R, Farias L, Moya S.(1997) Complexes with heterocyclic nitrogen ligands-IV: complexes of ruthenium (II) and applications in catalysis. *Polyhedron* 16:3847
3. Samnani PB; Bhattacharya PK; Ganeshpure PA; Koshy VJ; and Satish S.(1996) Mixed-ligand complexes of chromium(III) and iron(III) – synthesis and evaluation as catalysts for oxidation of olefins . *J. molec. Catalys., Chemical*, 110(2): 89-94
4. Zheng H P, Xiao M R, Chen J F,Bin G Z, and Ju T S.(1999) Synthesis and Spectroscopic Characterization of Transition Metal Complexes of Maleionitriledithiolene and 1,10-Phenanthroline. *Chinese Chem. Lett.* 10(3): 263–266.
5. Ravera M, Baracco S, Cassino C, Zanello P, and Osella D. (2004) Appraisal of the redox behaviour of the antitumour ruthenium(III) complex [ImH][RuCl<sub>4</sub>(DMSO)(Im)], NAMI-A . *Dalton Trans*: 2347-2351
6. Larsson K, and Ohlström LM.(2004) Hydroxymethyl-substituted crown acetals with 35-C-14 and 40-C-16 skeletal backbones: synthesis and molecular geometries. *Inorg. Chim. Acta*. 357 : 657
7. Jing H., Yongheng X, Che W, Peng H, Fengying B, and Xiaoping Z .(2009) Two complexes (Cu, Zn) with 1,10-phenanthroline and a tridentate amino-Schiff-base: crystal structures, spectra, thermogravimetric analyses and superoxide dismutase activity. *J.Coordin.Chem.*62(5):745-756
8. Calderazzo F, Pampaloni G, and Passarelli V. (2002) 1,10-Phenanthroline-5,6-dione as a building block for the synthesis of homo- and heterometallic complexes. *Inorg. Chem. Acta*. 330 :136-142.
9. Lenaerts P, Storms A., Mullens J., D'Haen J, Griller-Walrand C., Binnemans K., and Driesen K.(2005) Thin films of highly luminescent lanthanide complexes covalently linked to an organic-inorganic hybrid material via 2-substituted imidazo[4,5-f]-1,10-phenanthroline groups. *Chem. Mater.*17:5194-5201.
10. Binnemans K., Lenaerts P., Driesen K, and Griller-Walrand C.(2004) A luminescent tris(2-thenoyltrifluoroacetato)europium(III) complex covalently linked to a 1,10-phenanthroline-functionalised sol-gel glass. *J. Mater. Chem.* 14:191-195.
11. Amani V, Safari N, Reza HK, and Mirzaei P.(2007) (2,20-Biquinoline j2N,N0)dichloridoiron(II). *Polyhedron* 26:4908–4914.
12. Jeong KJ. and Lee SY. (2002) Excretion of Human  $\beta$ -Endorphin into Culture Medium by Using Outer Membrane Protein F as a Fusion Partner in Recombinant *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol.* 68(10):4979-4985
13. Aounaguiri S, Dattagupta A, and Maiya BG.(1997) Applications of a local grid method for modeling chemical dynamics at a mean-field level, S. Adhikari , P. Dutta and S. P. Bhattacharyya, *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)* 109: 155.
14. Sheldrick GM. (1997), SHELXL-97. Program for crystal structure refinement, University of Göttingen, Germany.
15. Gleeson B, Claffey J, Müller- Bunz MH, Wallis D, and Tacke M.(2009) Synthesis and Cytotoxicity Studies of Fluorinated Derivatives of Vanadocene. *Y.J. Organomet.Chem.* 694:1369–1374.
16. Ganesh A, Thakur A, Shrikant V, Athlekar F, Sanjiv R, Dharwadkar M, and Shaikh MM. (2007) Synthesis and biological activity of mixed ligand dioxouranium (VI) and thorium (IV) complexes. *Acta Poloniae. Pharmaceutica. /Drug Res.* 64(1): 9-15.
17. Barman TR, and N Mukherjee K.(2006) Mixed-ligand complex formation equilibria of CuII with biguanide in presence of glycine as the auxiliary ligand. *J. Chem. Sci.* 118(5): 411–418.
18. Raman N, Raja YP, and Kulandaisary A.(2001) Formation of high nuclearity mixed-valent polyoxovanadates in the presence of copper amine complexes. *Indian Acad. Sci.* 113(3):183.
19. Mrinalini L, and Manihar SAK (2012) Synthesis and characterization of new Co(III) mixed-ligand complexes, containing 2-hydroxy-aryloximes and diimines. Crystal and molecular structure of [Co(saox)(bipy)<sub>2</sub>]Br. *Res. J. Chem.Sci.* 2(1): 45-49.
20. Nakamoto K. (1996) *Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds* 6th Ed., J. Wiley and Sons, New York.
21. El-Ajaily MM, and Maihub AA.(2004) Synthesis Of Some Mixed Ligand Complexes Derived From Catechol and 2- Aminopyridine and Their Biological Activity. *Jerash Res. & Stud.* 8(1): 7-12.

22. Morad FM, El-ajaily MM, and Maihub AA.(2006) Preparation ,characterization and antibacterial activity of some metal ion complexes. Egypt J. Anal. Chem., 15: 98-103.
23. Sunil PS, Ganesh TS, and Shaikh MM. (2011) Synthesis, Characterization, and Antibacterial Studies of Mixed Ligand Dioxouranium Complexes with 8-Hydroxyquinoline and Some Amino Acids. Int. Schol. Res. NW. 6
24. Cotton FA, and Wilkinson G. (1988) Advanced Inorganic Chemistry, 5th Ed., Wiley, New York.
25. Lever APB .(1984) Inorganic spectroscopy. Elsevier publishing company , London , New York.
26. Nishida Y, Niinuma A, and Abe K. (2009) Cyanidioschyzon merolae genome. A tool for facilitating comparable studies on organelle biogenesis in photosynthetic eukaryotes. Inorg. Chem. Commun. 12 :198–200.
27. Shriver & Atkins(1999) Inorganic Chemistry.3<sup>rd</sup> Ed., Freeman.
28. Agwara MO, Ndifon PT, Ndikontar MK, and Atamba T.(2008) Synthesis, Characterisation and Antimicrobial Activities of Co(II), Ni(II), and Cu(II) Complexes of Hexamethylenetetramine Ligand. Res. J. Chem& Environ.. 12(1): 87
29. Agwara1MO, Ndosiri1NB, Ndifon1 AG, Paboudam1DM, and Mohamadou A. (2010) Synthesis, characterization and antimicrobial activities of cobalt(II), copper(II) and zinc(II) mixed-ligand complexes containing 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine. J. Bull. Chem. Soc. Ethiop. 24(3):383-389.

## Synthesis, (Spectroscopic and Antibacterial) Studies of Tin (II) and Lead - (Anthranilic acids and nicotinamide) Complexes

(1) Taghreed H. Al- Noor , (1) Ibtisam Dawood & (2) Ibtihaj K. Malih

(1) Dept. of Chemistry / College of Ibn Al- Haitham for Education / Baghdad University / Iraq (2) College of Nursing / Baghdad University / Iraq

E-mail: drtaghreed@yahoo.com

### ABSTRACT

The research includes the synthesis and identification of two types complexes of the Ligand anthranilic acid (AH) and Nicotinamide (NA) with Pb (II) and Sn(II).

1-The mixed Ligand complexes of composition ,  $[M(A)_2(NA)_2]$

Where AH = Anthranilic acid =  $C_7H_7NO_2$

M(II) = Pb (II) and Sn(II)

2-The mono Ligand Complexes of AH or NA with Pb (II) and Sn(II)

The results showed that the deprotonated ligand ( anthranilic acid ) to anthranilate ion (  $A^-$  ) by using (NaOH) coordinated to metal ions as bidentate ligand through the oxygen atom of the carboxylate group ( $-COO^-$ ), and the nitrogen atom of the amine group ( $NH_2$ ), where the nicotinamide coordinated as a monodentate through the nitrogen atom.

The complexes of the ligand with metal ions (for mono complexes) were studied in ethanol and /or water in order to determine the M:L ratio in the complex following the continues variation method (Job's method) .A series of solutions were prepared having a constant concentration ( $10^{-3}M$ ) of the metal ion and (L).The M:L ratio was determined from the relationship between the absorption of light and the molar ratio of M:L. The results of complexes formation in solution =1: 2

**Keywords:** Anthranilic acid, nicotinamide, mixed ligand complexes, Antibacterial activities , spectral studies

### الملخص باللغة العربية

يتضمن البحث تحضير وتشخيص نوعين من المعقدات لليكاند حامض الانثرانيليك (AH) والنيكوتين اميد (NA) مع Pb (II) و Sn(II):

1-معقدات مختلطة الليكاند بالصيغة العامة :  $[M(A)_2(NA)_2]$

حيث Anthranilic acid= AH =  $C_7H_7NO_2$  , Nicotinamide = NA=  $C_6H_7N_2O$

M(II) = Pb (II) , Sn(II)

2-معقدات أحادية الليكاند AH أو NH مع Pb(II) و Sn(II)

يسلك الليكاند حامض الانثرانيليك (الفاقد بروتون والمتحول إلى أيون الانثرانيليت  $A^-$ ) باستعمال القاعدة (Na OH) كليكاند ثنائي السن، إذ يرتبط بالأيون المركزي عن طريق ذرة الأوكسجين في مجموعة الكربوكسيل ( $COO^-$ ) وذرة النتروجين في مجموعة الأمين ( $NH_2$ ) بينما يسلك النيكوتين اميد كليكاند أحادي السن إذ يرتبط من خلال ذرة النتروجين.

تم دراسة المعقدات مع ايونات الفلزات (المعقدات الأحادية الليكاند ) في الايثانول أو / و الماء لتحديد نسبة الفلز :الليكاند باستعمال طريقة التغيرات المستمرة (طريقة جوب ) لسلسلة من المحاليل L:M:الليكاند لتحديد نسبة الفلز لكل من ايون الفلز والليكاند (  $10^{-3}M$ ) تركيزها ثابت من العلاقة بين امتصاصية الضوء و النسبة المولية إذ تبين من النتائج أن تكوين المعقدات في المحلول هي 1:2 .

## INTRODUCTION

Nicotinamide, anthranilic acid (Figure 1) are present in some metabolic reactions (1) Nicotinamide (3-pyridine carboxylic acid amide, commonly known as vitamin B3) is a reactive moiety of the coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) (2,3).

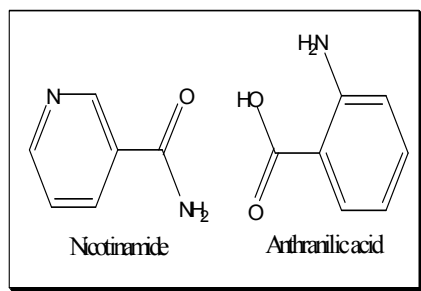


Fig. (1): The molecular structure of nicotinamide and Anthranilic acid

Mixed ligand complexes have found increasing use, particularly in spectrophotometric analysis because of their high sensitivity and selectivity(3). From the complexing point of view, many have taken interest in studying aminophenol and Anthranilic Acid as potential ligands(4).

Amino acids, on the other hand, are well known chelating agents with multifunctional groups and are biologically active, creating considerable interest in their metal complexes (5,6). Nicotinamide is known as a component of the vitamin B complex as well as a component of the coenzyme, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD). These are more important for transfer of hydrogen in the cell breath. The presence of pyridine ring in numerous naturally abundant compounds, adducts of nicotinamide are also scientific interest. Therefore, the structure of nicotinamide has been the subject of many studies (7,8).

Spectrophotometric techniques applied included FT-IR (9), H-NMR (9,10), C-NMR (9), and UV-Vis (9,10). From the results of these techniques, information such as the binding molar ratios (9-11), protonation constants (10-13), stability constants (10,11), and formation constants (10-13) were determined.

In the current study, we report the synthesis, spectroscopic properties of some new simple and mixed-ligand complexes of Sn(II), and pb(II) containing nicotinamide and anthranilic acid. In this study too, ultraviolet-spectrophotometry is used to determine the stoichiometry of complex formation between metal ions Sn(II) and pb(II)- (nicotinamide and Anthranilic acid) respectively.

## MATERIALS AND METHODS

### Reagents and Materials:

All reagents were of analytical grade. 2-amino-benzoic acid (Anthranilic acid) was Merck reagents. nicotinamide and SnCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O, pbCl<sub>2</sub> were purchased from BDH.

All solutions of pb(II), Sn(II) and the ligands were prepared, freshly before use, with distilled water and / or ethanol.

### Instruments:

FT-I.R spectra were recorded as KBr discs using Fourier transform Infrared Spectrophotometer Shimadzu 24 FT-I.R 8400s. Electronic spectra of the prepared complexes were measured in the region (200-1100) nm for 10<sup>-3</sup>M solutions in DMF at 25°C using shimadzu-U.V-160. A Ultra Violet Visible- Spectrophotometer with 1.000 ± 0.001 cm matched quartz cell. While metal contents of the complexes were determined by Atomic Absorption (A.A) Technique using Japan A.A-67G Shimadzu. Electrical conductivity measurements of the complexes were recorded at 25°C for 10<sup>-3</sup> M solutions of the samples in DMF using pw 9527 Digital conductivity meter (Philips). Melting points were recorded by using Stuart melting point apparatus.

### Synthesis of simple complexes and mixed ligand complexes:

#### (1) Simple complexes:

##### a) Synthesis of complex combination using Sn (II), Nicotinamide ( NA) .

An amount of nicotinamide( 0.244 g, 2 mmol in 10 ml ethanol), This solution was added to the solution of SnCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O (0.278 g, 1 mmol) in 10 ml ethanol and the mixture was stirred stirred up for 30 minutes, at about 50°C. The reaction mixture was then cooled to room temperature. The white solid products were collected by filtration, and was washed several times with ethanol and dried at room temperature.

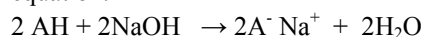


**b) Synthesis of complex combination using Pb (II), Nicotinamide ( NA).**

An amount of nicotinamide ( 0.244 g, 2mmol) in (10 ml) ethanol was added to the solution of  $\text{PbCl}_2$  (0.349 g, 1 mmol) in (10 ml) hot water and the mixture was stirred for 1h at about 50°C. The reaction mixture was then cooled to room temperature. The white solid products were collected by filtration, and was washed several times with ethanol and dried at room temperature.

**C) Synthesis of complex combination using Sn (II) , anthranilic acid (AH) in molar ratio 1:2.**

At the first step, Sodium anthranilate ( $2\text{A}^- \text{Na}^+$ ) was prepared by a naturalization of anthranilic acid (AH) [0.274gm (2mmol)] solution with [0.08 gm (2mmol) in 10 ml ethanol] of sodium hydroxide solution according to the following equation:



The solution at the first step was added to the solution of  $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.278 g, 1 mmol) in 10 ml ethanol and the mixture was stirred mixture was stirred up for 30 minutes, at about 50°C. The reaction mixture was then cooled to room temperature. The Pale-brown solid products were collected by filtration, and was washed several times with ethanol and dried at room temperature.

**D) Synthesis of complex combination using Pb (II) , anthranilic acid (AH)**

The procedure for the preparation of this complex is the same (C) with the except that a solution of  $\text{PbCl}_2$  (0.349 g, 1 mmol) in (10 ml) hot water. and the mixture was stirred mixture was stirred up for 30 minutes, at about 50°C. The reaction mixture was then cooled to room temperature. The yellow solid products were collected by filtration, and was washed several times with ethanol and dried at room temperature.

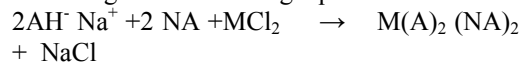
**(2) Mixed ligand complexes:**

Synthesis of complex combination using Pb (II) and Sn(II) , anthranilic acid (AH) ,and Nicotinamide : ( NA) (2A: M: 2NA)

The complexes were prepared by the addition of ( $2\text{Anth}^- \text{Na}^+$  preparation of this salt is the same with the C at the first step) and (nicotin amide solution) to warm stirred ethanolic solution of the respective metal (II) chloride in the stoichiometric ratio 2 ligand: metal:2 ligand (2A: M:2NA). The solutions

were stirred for (1 h). The crystals formed were filtered and washed with 1:1( $\text{H}_2\text{O}$ :Eth) and dried at room temperature.

The mixed-ligand complexes were prepared according to the following equations:



M = Sn(II), Pb(II)]

**Determination of the composition of the complex Sn (II) and Pb(II) in simple complex.**

The stoichiometric ratio of Sn (II) and Pb(II) in the complexes were determined by Job's method of equimolar solutions ( $3 \times 10^{-3}$  M (for metals and liganda) (13,14) were prepared and then mixed in the volume ratio from 1:9 to 9:1. The Job curve of this system at pH 8. Sn (II) and Pb(II) chloride solution  $3 \times 10^{-3}$  M was pipetted into nine volumetric flasks (0, 1, 2, 3, - - - 9 ml) and an aliquot of  $3 \times 10^{-3}$  M ligand (9, 8, 7, - - - 0 mL) was added, respectively, keeping the total volume constant at 10.0 ml. All the measurements were made at room temperatures (37°C). The metal and reagent solutions were mixed in different proportions to each solutions, The absorbance's of these solutions were recorded at ( $\lambda_{\text{max}}$  335 nm for Sn (II) ) and  $\lambda_{\text{max}}$  262 nm for Pb (II) respectively , against their corresponding reagent blanks. (14)

**Antibacterial Activities: (15)**

The antibacterial activity of the ligands and some there complex were tested on Gram positive bacteria, Staphylococcus , and Gram negative, Bacillus , Pseudomonas, and Bacillus. The solvent used was DMSO and sample from 1 to 200  $\mu\text{g/ml}$  were used. Antibactericidal activities of each compound were evaluated by the well-diffusion method. 1  $\text{cm}^3$  of a 24 h broth culture containing 106 CFU/ $\text{cm}^3$  was placed in sterile Petri-dishes. Molten nutrient agar (15  $\text{cm}^3$ ) kept at ca. 45°C was then poured in the Petri-dishes and allowed to solidify. Then holes of 6 mm diameter were punched carefully using a sterile cork borer and these were completely filled with the test solutions. The plates were incubated for 24 h at 37°C.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Characterization of Metal Complexes.

The formula weights and melting points, are given in (Table I). Based on the physicochemical characteristics. It was found that all the complexes were non-hygroscopic, stable at room temperature and insoluble in water but fairly soluble in ethanol and DMF.

The molar conductance values of the complexes in (DMF) at  $10^{-3}$  M concentration are found to be (3.4 - 5.1)  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , indicating their virtually non electrolytes nature (16).

The atomic absorption measurements and chloride ion content (Table-I) for all complexes gave approximated values for theoretical values. The molar conductance values of the complexes  $[\text{Sn}(\text{NA})_2(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_2]$  and  $[\text{Pb}(\text{NA})_2(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_2]$  shows that both complexes non electrolytes, which clearly indicated that chloride are coordinated to the metal atoms.

### Infrared spectra

The most important infrared spectral bands that provide conclusive structural evidence for the coordination of the ligands to the central metal ions. The absorption bands corresponding to stretching and bend frequencies for ligands and for the six complex combinations prepared are given in Table 2. For the spectral data of complexes combinations were attributed signals corresponding to atoms or group of atoms involved in coordination and the signals corresponding to the groups not involved in coordination. (17).

The structural analysis has confirmed that deprotonated anthranilic acid shows extraordinary versatility in the type of bonding in its metal compounds. It can be incorporated as a ligand, as coordinated anthranilate species in the structure. The  $\nu$  asymmetric( $\text{COO}^-$ ) band of the free anthranilic acid, that is,  $1650\text{cm}^{-1}$ , is shifted to lower wave number, in the range of  $1508\text{cm}^{-1}$  -  $1543\text{cm}^{-1}$ , and the  $\nu$  symmetric( $\text{COO}^-$ ) mode observed at  $1400\text{cm}^{-1}$  in the spectra of free anthranilic acid is found to be shifted to lower wave number, in the range of  $1361\text{cm}^{-1}$  -  $1375\text{cm}^{-1}$ , in the spectra of complexes indicating the coordination of the carboxylic acid group via oxygen with the metal ion (17,18). The anthranilate ligand is negatively charged can be coordinated to the metal atom through the nitrogen atom, carbonyl oxygen, serve as a bidentate, as it is the case with the structure of  $[\text{Pb}(\text{A})_2]$  and  $[\text{Sn}(\text{A})_2]$ , (Figure 2). The structure consists of  $\text{Pb(II)}$   $\text{Sn(II)}$  cations, anthranilate anions.

The pyridyl C-C and C-N stretching vibration absorptions are observed in the form of medium bands between  $1400$  and  $1575\text{cm}^{-1}$ . The bands in the region of  $600$ – $1230\text{cm}^{-1}$  can be assigned to the CH in-plane or out-of-plane bend, ring breathing and ring deformation absorptions of the pyridine ring of nicotinamide.

**FTIR spectra show that NA coordinates to the metal ions as a neutral unidentate through the pyridyl nitrogen. where Anthranilic acid coordinates to the metal ion in a bidentate manner through carbonyl oxygen and nitrogen amine group.**

The FTIR spectrum of mixed ligand  $\text{Sn(II)}$  and  $\text{Pb(II)}$  complexes showed the broad and moderate band centered in the range  $3327$  -  $3344\text{cm}^{-1}$  and  $3015$ – $3155\text{cm}^{-1}$  were assigned for  $-\text{NH}$  asymmetric and  $-\text{NH}$  symmetric stretching vibrations of  $-\text{NH}_2$  group respectively (18).

For free anthranilic these values are reported around  $3280\text{cm}^{-1}$  and around  $3301\text{cm}^{-1}$ . These values were shifted to higher wave numbers in the spectra of  $\text{Sn(II)}$  and  $\text{Pb(II)}$  complexes, suggesting coordination of the amino group through nitrogen with the  $\text{Sn(II)}$  and  $\text{Pb(II)}$  ions (14, 17,19).

In FTIR spectra of  $\text{Sn(II)}$  and  $\text{Pb(II)}$  mixed ligand complexes, some new bands of weak intensity observed in the regions around  $561$ – $524\text{cm}^{-1}$  and  $499$ – $418\text{cm}^{-1}$  may be ascribed to the M-O and M-N vibrations respectively. It may be noted that these vibrational bands are absent in the infrared spectra of nicotinamid as well as the anthranilic acid. The most plausible geometry (20).

### Electronic spectra

The electronic spectra of all compounds (Ligands and complexes) are listed in Table (3) figures (4-6) together with the proposed assignments and suggested geometries:

The spectrum of the free ligand (AH) in DMF solvent shows a high intensity band in wave length  $337\text{nm}$  ( $29673\text{cm}^{-1}$ ) ( $2337\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) assigned to ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) and in wave length  $360\text{nm}$  ( $27777\text{cm}^{-1}$ )  $\epsilon_{\text{max}}$  ( $1108\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) assigned to ( $n \rightarrow \pi^*$ ). (ff) and free ligand (nicotinamide) (NA) shows a high intensity band in wave length  $276\text{nm}$  ( $3623\text{cm}^{-1}$ ) max ( $626\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) assigned to ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) (14). The bands are observed in the range,  $330$ – $364\text{nm}$  assigned as charge - transfer bands, indicating the formation of bond in the  $p\pi - p\pi$  bonds (20,21).

The electronic spectra of the complexes were recorded in the solution state.

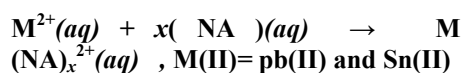
This study has shown that the complex of ligand (nicotinamide /or anthranilic acid) with pb(II) and Sn(II) ions can be observed using UV spectrophotometry. (nicotinamide /or anthranilic acid) exhibits an absorption spectrum in the UV region because it contains mobile  $\pi$  electrons in its aromatic ring. Excitation occurs when light energy is absorbed by the electrons in the  $\pi$  bonding orbital causing them to move up to the  $\pi$  antibonding orbital. A similar effect is taking place in the pb (II) and Sn (II)- nicotinamide /or anthranilic acid) complexes.

Neutral solutions of pH around 7 are desirable for biological systems because they are neither too acidic nor too basic. The solutions in this study were prepared at pH 7-8, mimicking a biological pH, where the carboxylic acid and amine groups were significantly deprotonated. This deprotonation allowed for the coordination of the metal ions at these sites. In anthranilic acid, as well as other amino acids, the amine and carboxylic acid functionalities take part in the metal coordination forming a stable five-membered ring with the metal ion (22-25).

Also, the results of this study showed that both Sn(II) and pb(II) ions coordinated with ligand anthranilic acid) at a 1:2 M(II) : Ant<sup>-</sup> ratio.

#### Determination of Composition of pb (II)- NA , and of Sn – NA:

Determination of Composition of pb (II)- NA ,and of Sn(II)- NA Complexs by **continuous variation method** pH= 7.4. The ligand nicotinamide (abbreviated as NA) forms a coordination complex with pb(II) and Sn(II) according to the reaction:



A series of solutions were prepared with different relative amounts of M(II) and nicotinamide while keeping the total amount of reactants constant. The coordination complex absorbs light at 262 nm for nm and nm. The absorbance of each mixture and the mole fraction of nicotinamide in each mixture is presented in the table (Table- 4). Figure(3)

#### Antimicrobial activity:

The in vitro antimicrobial screening results are given variable antimicrobial activities against all tested bacteria. Figure(4)

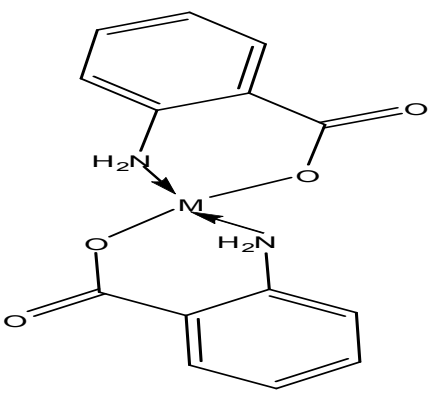
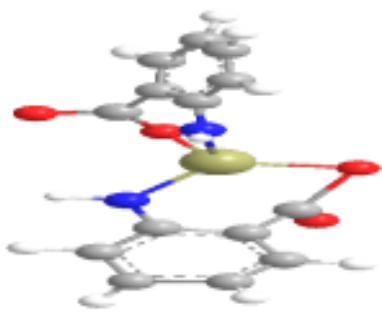
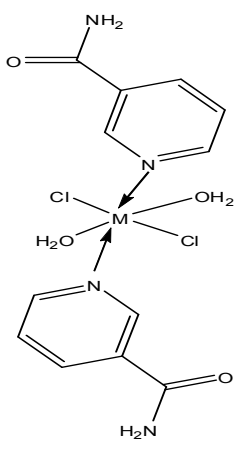
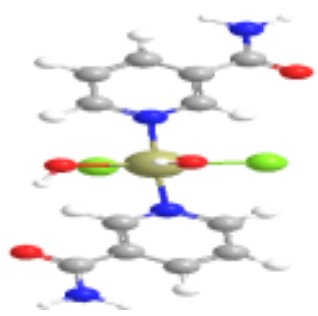
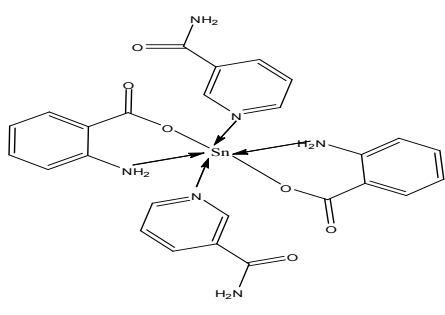
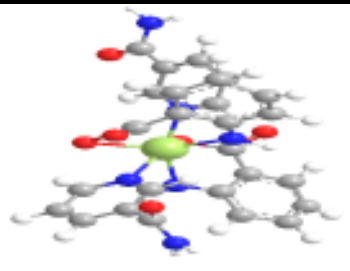
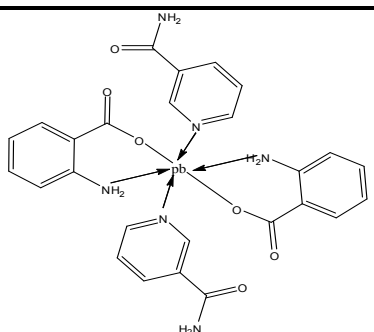
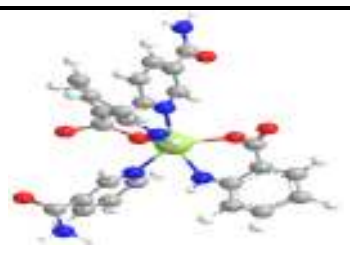
Complexes	proposed structure	3D-geometrical structure
[Sn (A) <sub>2</sub> ]	 <p>M=Pb(II), Sn(II)</p>	
[Pb (A) <sub>2</sub> ]		
[Sn( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	 <p>M=Pb(II), Sn(II)</p>	
[pb ( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]		
[ Sn(A) <sub>2</sub> (NA) <sub>2</sub> ]		
[Pb(A) <sub>2</sub> ( NA ) <sub>2</sub> ]		

Fig. (2) : The proposed structure and 3D-geometrical structure of the complexes

Table (1) The physical properties of the compounds

Compounds	M.wt	Color	M.p (de) °c	$\Lambda_m$ $\mu S.cm^2.Mol^{-1}$	C I%	%Metal Theory	Metal experiment
(AH) $C_7H_7NO_2$	137.1	Pale yellow	146-148		---	---	---
Na $C_6H_6N_2O$	122.13	White	128-131		---	---	---
[Sn (A) <sub>2</sub> ] $C_{14}H_{12}N_2O_4Sn$	390.97	Very pale yellow	180 dec.	5.1	Nil	30.36	25.84
[Pb (A) <sub>2</sub> ] $C_{14}H_{12}N_2O_4Pb$	479.46	Pale yellow	220 dec.	4.5	Nil	43.22	42.98
[Sn( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl] $C_{12}H_{16}N_2O_4Sn$	469.90	Weight	183	3.4	Nil	25.26	13.77
[Pb( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl] $C_{12}H_{16}N_2O_4Pb$	558.39	Weight	190	3.5	Nil	37.11	38.06
[Sn(A) <sub>2</sub> ( NA ) <sub>2</sub> ] $C_{26}H_{24}N_6O_6Sn$	635.23	Very pale yellow	180	4.8	Nil	18.69	19.21
[pb (A) <sub>2</sub> ( NA ) <sub>2</sub> ] $C_{26}H_{24}N_6O_6Pb$	723.72	Pale yellow	192	4.6	Nil	28.63	24.44

$\Lambda_m$  = Molar Conductivity , M. p= Melting points

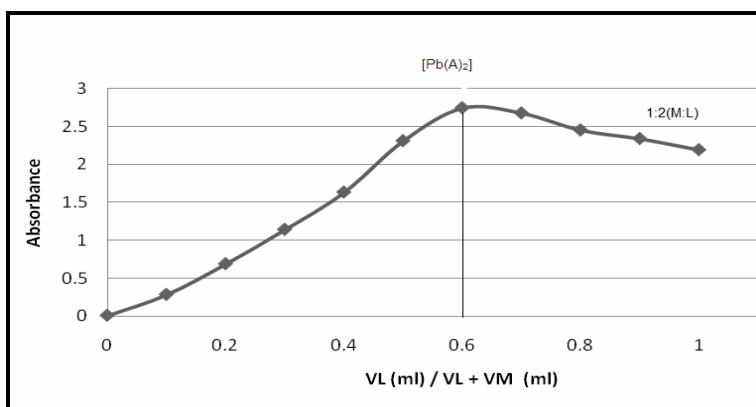
Table (2): FTIR spectral data of the Ligands and there complexes

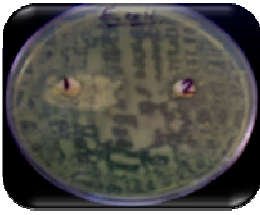

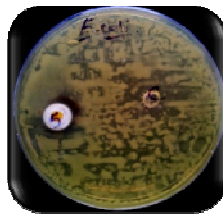
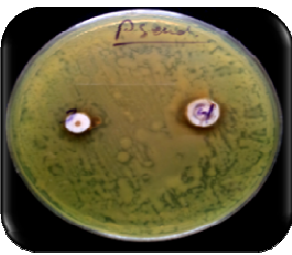

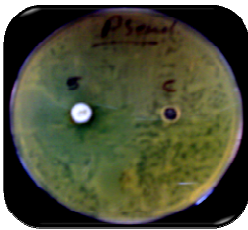


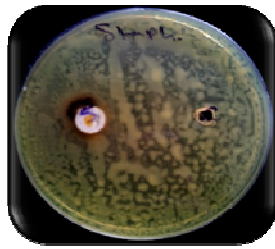
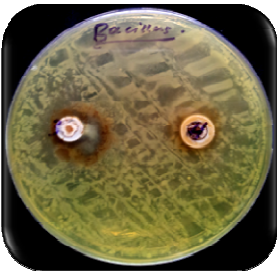

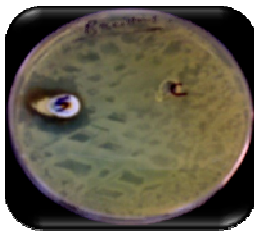
Compounds	NH <sub>2asy</sub> str	NH str	CH <sub>(p y)</sub> Str	C=O str(amid)	NH <sub>2</sub> (am)	(C-C) str (py)	C=N Str (am)	o.p(CH) (py)	O=CN Bend (am)	ν(-COO <sup>-</sup> ) asym    sym		Δν (- COO) <sub>as-</sub> sy	M-O	M-N
Nicotinamide (NA)	3368vs	3161s	3060sh	1679vs 1697sh	1618vs	1423vs 1123m	1395vs	1230vw 1090vw	736vs	-	-		-	-
Anthranilic acid (AH)	3280 s	3130 vs	-	1630	-	-	-	-	-	1650 s	1400 s	250	-	-
[Sn (A) <sub>2</sub> ]	3197	3051	CH (aromatic) 2902	1683s 1699m	1614m	1458s 1166m	1361s	1255m 1060m	754m	1508s	1361		526	486
[Pb (A) <sub>2</sub> ]	3375s	3072s	CH (aromatic) 2932	1683s	1610vs	1614m	1363s	1273s 1060vs	754m	1541s	1375s		524	418
[Sn( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	3342vs	3172 v s	3070m	1666m 1635m	1602vs	1465s 1151m	1346s	1255m 1064s	779m	-	-	-	534	499
[Pb( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	3319vs	3182vs	3072m	1660vs	1622vs	1473m 1138m	1396s	1271m 1071m	786s	-	-	-	561	516
[Sn(A) <sub>2</sub> (NA) <sub>2</sub> ]	3327 vs- br	3015	2924vs	1716	1610m	1443m 1170w	1391s	1288m 1091w	758m	1543	1375s		532	489
[Pb(A) <sub>2</sub> (NA) <sub>2</sub> ]	3344s	M 3155	3070	1647w	1610m	1458m 1163m	1379s	1287m 1060s	754 m	1541s	1363vs		526w	418w

Sym: symmetric, asy: asymmetric, am: amide, py: pyridine, o.p: out of plane, str: stretching,  
v.s: very strong, s: strong, m: medium, w: week, sh: shoulder.

Table (3): Electronic Spectra of the tow ligands and there complexes

Compound	$\lambda_{nm}$	$\nu'_{cm^{-1}}$	Assignment	Probable Figure
Nicotinamide (NA)	280 276	35714 3623	$\pi \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	-
Anthranilic acid (AH)	277 304	36101 32894	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$	-
[S n (A) <sub>2</sub> ]	260	38461	$\pi \rightarrow \pi^*$	Tetrahedral
[P b (A) <sub>2</sub> ]	263		$\pi \rightarrow \pi^*$	Tetrahedral
[Sn( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	265 350	37735 28571	$\pi \rightarrow \pi^*$ charge - transfer	Octahedral
[Pb( NA ) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	267 348	37453 28735	$\pi \rightarrow \pi^*$ charge - transfer	Octahedral
[Sn(A) <sub>2</sub> (NA) <sub>2</sub> ]	263 348	38022 28735	$\pi \rightarrow \pi^*$ charge - transfer	Octahedral
[Pb(A) <sub>2</sub> (NA) <sub>2</sub> ]	260 354	38461 26315	$\pi \rightarrow \pi^*$ charge - transfer	Octahedral

Fig.(3) : Mole ratio (M:2L) by continuous variation method (Job's method) for PbCl<sub>2</sub>+AH ( $\lambda_{max}$  262 nm)

Complex( No 1) $\text{Sn(A)}_2$ Complex( No 2) $\text{Sn(A)}_2(\text{NA})_2$	Complex( No 3) $\text{Pb(A)}_2(\text{NA})_2$ Complex(4) $\text{Pb(NA)}_2(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_2$	Complex ( No 5) $\text{Pb(A)}_2$ Control (DMSO)
		
<i>E .coli</i>	<i>E .coli</i>	<i>E .coli</i>
		
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>
		
<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
		
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>

**Fig(4 ):** the antimicrobial activity of complex appears the inhibition zones against pathogenic bacteria  
( *Escherichia coli* , *Pseudomonas* ,*Staphylococcus* and *Bacillus*)

## REFERENCES

1. Mahmoud MR., Hamed MMA., Youssef M SK, and El-Gyar SA (1983) Mono-and bi-nuclear metal complexes of the Schiff bases, arylidenes-anthranilic acid. Bulletin des Sociétés Chimiques Belges. 92: 721–730.
2. Williams CJ, Morris H, Svorec J, Valkov M, Valko M, Moncol J, Mazur M, Valach F, and Melnik M. (2003) A study of copper(II) carboxylato complexes with the biological ligands nicotinamide and papaverine. J. Molec. Struct. 659 : 53–60.
3. Nunez R L., Mochon MC. and Perez AG.(1986) Extraction and Spectrophotometric determination of titanium(IV) with alizarin and fluoride. Talanta. 33 :587-591.
4. Abd El Wahed MG., Metwally SM., El Gamel MM., and Abd El Haleem SM.(2001) Thermodynamic and Electrical Properties of Aminophenol and Anthranilic Acid Complexes with Some Transition Metals. Bull. Korean Chem. Soc. 22(7): 663.
5. Liwang J C, Zon-Wang M, Xiao-Long F ,and Jim- Wang H. (2004) Dinickel complexes bridge by unusual(N,O,O')-coordinated amino acids:Syntheses, structural characterization and magnetic properties. Trans. Met. Chem. 29: 418 .
6. Sarma KG. and Sarma R. (2008) Spectroscopic Study of the Interaction of Amino Acids with Copper(II)Ions in Aqueous Solution. Asian J. Chem. 20:2632 .
7. Miwa Y., Mizuno T., Tsuchiya K., Taga T. and Iwata Y.(1999) Synthesis and Characterization of bis(Nicotinamide) *m*-Hydroxybenzoate Complexes of Co(II), Ni(II), Cu(II), and Zn(II) Acta Crystallogr. B55: 75
8. Necefo lu H., Icbudak H., Köse D.A. and Uyanik A (2001)Challenges for Coordination Chemistry in the New Century,(Monograph, edited by M. Melnik and A. Sirota),vol. 5, Slovak Technical University Press, Bratislava, 427.
9. Hao X,and Chen L.(2003) Study on the complex site of L-tyrosine with rare-earth element Eu<sup>3+</sup>. Spectrochim. Acta, Part A59: 657-662.
10. Djurdjevic P, Jelic R, Dzajevic D,and Cvijovic M.(2002) Solution Equilibria Between Aluminum (III) Ions and L-Histidine or L-Tyrosine. Metal Based Drugs, 8: 235-248
11. RyzhovV, Dunbar R C, Cerda C, and Blas WC. (2000) Chrys. Cation- $\pi$  Effects in the Complexation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> with Phe, Tyr, and Trp in the Gas Phase. Am. Soc. Mass Spectrom11: 1037-1046.
12. Sandhu R, and Singh. A (1977) Thermodynamic Study of Complexation Reaction of Yttrium (III), Lanthanum (III) and Cerium (III) with Tyrosine. Montash. Chem. 108: 51-55.
13. Letter J, and Edward J.(1969) A Thermodynamic Study of Some Copper(II) and Nickel(II) Complexes of Amino Acids Related to Serine and Tyrosine. Ph.D. dissertation, University of Missouri—Columbia, Columbia, MO, Aug.
14. Obradovic MV, Mitic SS, Tosic S, and Pavlovic AN.(2005) Spectrophotometric Investigation of the Fe(III)-disulphonated hydroquinone complex. J. Serb. Chem. Soc. 70(4), 651-659.
15. Melnick J.And Delbrgs A (2007) Medical Microbiology. McGraw Hill-USA .
16. Geary WJ. (1971) The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. Coord. Chem. Rev. 7( 1): 81–122.
17. Chaudhary R. and Shelly F. (2011) Synthesis, Spectral and Pharmacological Study of Cu(II), Ni(II) and Co(II) :Coordination Complexes. Res. J. Chem. Sci., 1(5):1-5.
18. Reddy PR, Radhika M. and Manjula P.(2005) Synthesis and characterization of mixed ligand complexes of Zn(II) and Co(II) with amino acids: Relevance to zinc binding sites in zinc fingers. J. Chem. Sci. 117(3):242 .
19. Manihar SA, and Phalguni S M. (2009) Mixed Ligand complexes of Copper(II) with Pyridine-2-Carboxamide and Amino acids, J. Indian Council of Chemist. 26: 106.
20. Nakamoto K.(1986) Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, John Wiely and Sons, New York (4th Edition) .
21. Anil V. and Tandon JP.(1984) Some new tin(II) complexes of Schiff bases derived from S-benzyl-dithiocarbazate. J. Chem. Sci. 93(8): 1259-1264.
22. Liwang J C, Zon-Wang M, Xiao-Long F and Jim- Wang H.(2004) Dinickel complexes bridge by unusual(N,O,O')-coordinated amino acids:Syntheses, structural characterization and magnetic properties, Trans. Met. Chem. 29:418.



23. Krishna T, and Rama J. (2002) Narayanaswamy. Dendritic encapsulation of amino acid-metal complexes. Synthesis and studies of dendron-functionalized L-tyrosine-metal ( $\text{Zn}^{\text{II}}$ ,  $\text{Co}^{\text{II}}$ ) complexes. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1: 746-754.
24. Harvey David. (2002) In Spectroscopic Methods of Analysis In Modern Analytical Chemistry, ;Kent Peterson and Shirley Oberbroeckling, Eds.; McGraw Hill Companies, Inc: Boston,; 401-406
25. Anil V, and Tandon JP. (1983) Some new tin(II) complexes of Schiff bases derived from S-benzyl-dithiocarbazate. J. Chem. Sci. 92(5): 1259-1264.

## Analysis of Chemical Reaction Kinetics for Liquid Propellants in Combustion Chamber

Mohammed A.H. Al- Zuhairi

Materials Engineering Dept. / College of Engineering / University of Technology / Baghdad / Iraq

E-mail: dr.alzuhairi@yahoo.com

### ABSTRACT

Obtaining accurate values for products of combustion of propellant is very important in the design of engines which are working with liquid propellant. So in order to obtain accurate results has been turned to calculate final chemical formula for liquid propellant.

In this study eleven equations (nonlinear) with eleven unknown (element or component the products of combustion) are used to prepare subroutine by Enchedo environment to solve this equations.

Results of this work compared with those available in literature, which are gives a good agreement. Hence, it could be said by this work, suggest a possible contribution in the design of liquid propellant engine for wide range of temperature, pressure and equivalent formula ( $C_a H_b O_c N_d$ ) of propellant.

### المخلص باللغة العربية

تتطلب عملية تصميم المحركات التي تعمل بالوقود السائل إلى معرفة دقيقة بنواتج احتراق الوقود الدافع وهذا يتم من خلال حساب الصيغة النهائية للدوافع السائلة.

في هذه الدراسة استعملت إحدى عشر معادلة غير خطية لإحدى عشر مجهول (عنصر أو مركب لنواتج الاحتراق) وتم اعداد روتين مناسب لكل هذه المعاملات بواسطة منظومة انكيدو قورنت نتائج هذه الروتينات مع تلك النتائج المتوفرة في المصادر واعطت توافقا جيدا.

يمكن الادعاء ان هذا العمل يقدم اسهاماً ممكناً في مجال تصميم المحركات لمدى واسع من درجات الحرارة والضغط والصيغ المكافئة ( $C_a H_b O_c N_d$ ) للدافع.

## INTRODUCTION

The rocket motor is used to propel vehicles under conditions where other types of propulsion systems cannot operate, are inadequate or inefficient. All rocket motors are based on the same principle; mass is accelerated and expelled. In the combustion chamber of the chemical rocket a reaction takes place between fuel and oxidizer (combustion) the main products are gases which are heated by the chemical energy released. As these hot gases are contained in relatively small volume (the combustion chamber), the thermal expansion of the gases results in a high pressure. These pressurized gases are expanded and accelerated by a nozzle, resulting in a reaction force on the rocket vehicles (1,2).

For the chemical of combustion chamber, the gas temperature in the combustion chamber lies somewhere between 2000 and 3500 K.

As this temperature is higher than the melting point of most materials, therefore effective cooling is required or the use of special materials such as graphite or ceramic for certain part is necessary.

The combustion process is a highly complex one, and a fuel exact theoretical analysis can be very difficult.

## APPLICATIONS AND METHODS

To simplify the problem for numerical analysis without reducing accuracy greatly the following assumptions are made for the combustion chamber:

- A. Steady state combustion, in other words the starting and stopping time are assumed much smaller than the total combustion period.
- B. The products of combustion are in chemical and thermal equilibrium.
- C. The combustion of chemical propellant inside the combustion chamber is at constant pressure.
- D. No hydrocarbons product.
- E. The products are semi-perfect gases.
- F. The gaseous of chemical compound is homogeneous and obeys dalton's law which states that the total pressure of mixture of gases is equal to the sum of partial pressure of all components of gases considered by mixture.
- G. The extent of any reaction is governed by a chemical constant,  $k_p$ , which is function of temperature only it will be evident through the analysis of liquid propellant combination (e.g. aniline as fuel and nitric acid as oxidizer) that they contain carbon, hydrogen, oxygen, and nitrogen elements.

The combination of such rocket propellant produces eleven products of gases (3-6). They are  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{H}$ ,  $\text{O}$  and  $\text{N}$ . The species concentrations must be found.

A program in Enchedo environment was developed for an IBM computer to solve the numerical problem.

Combustion chamber:-

Nasief, 1991 (5) presented theoretical calculation of performance of LPRM (Liquid propellant rocket motor) in his work based on the analysis of three locally available propellant combinations, (IRFNA/ UDMH) inhibited red fuming nitric acid: 83% $\text{HNO}_3$ , 14% $\text{NO}_2$ , 2%  $\text{H}_2\text{O}$ , 0.7% $\text{HF}$  unsymmetrical dimethyl hydrazine:  $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2$  (IRFNA/ Coropal: 50% an: line ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_2$ )), 50% Fury ful alcohol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$ ) and (IRFNA/ RP-1) (RP-1:  $\text{CH}_{1.953}$ ) from the result of thermo dynamical calculation and analysis of that three storable propellant combinations ((IRFNA/Corporal) was selected. the results of performance calculations for the three selected combinations were obtained by the aid of Nasa Lewis program ,for equilibrium and frozen composition during expansion .for calculating the performance of the three storable propellant various ranges of input values of mixture ratio and chamber pressure were used.

Saba, 1984 (4) performed a thermochemical calculations for three groups of propellants classified by the composition of their chemical elements to show the possibility of exactly determining the chemical composition of rocket propellants with regard to various mixing ratios and oxidizing coefficients ( $K_s$  oxidizing of all rocket propellant elements. it's usually used for determination of the oxygen quantity in the rocket propellant.

The computation deals with chemical composition the second presents the gas composition, burning temperature, average molecular weight, exhaust velocity and other performance parameters. The iterative schemes have been developed for the solution of various components. He (i.e. 4) used a simple mathematical model (isobaric), ideal gases, isentropic expansion, and one -dimensional flow). It has been found that the oxidizing coefficient had significant influence upon the rate of convergence of iteration used in the numerical calculation. This point represents the boundary of chemical properties against the mathematical notation. Hence, the convergence needs a great number of iteration cycles for small value of oxidizing coefficient.

The mixing of chemical material has influence on the rate of convergence too.

### Summary Formula of Propellant

To calculate the equivalent formula of one kg of propellant:

1- Calculate the equivalent formula of one kg oxidizer:

In this analysis we use Nitric acid ( $\text{HNO}_3$ , 75%),  $\text{N}_2\text{O}_4$ , 23% and 2%  $\text{H}_2\text{O}$  as oxidizer in this work so, the specific element (element / kg) is calculated the following: oxidizer type ( $\text{Tr-O}_2$ )

$$e = \frac{1000. \% \text{ weight}}{M_w} \dots (1)$$

$$e_{\text{HNO}_3} = \frac{1000.0.75}{63.016}$$

$$= 11.902 \text{ gmole / kg}$$

$$e_{\text{HNO}_3} = \text{H}_{11.902} \text{ N}_{11.902} \text{ O}_{35.703}$$

$$e_{\text{N}_2\text{O}_4} = 2.489 \text{ gmole / kg}$$

$$= \text{N}_{4.978} \text{ O}_{9.957}$$

$$e_{\text{H}_2\text{O}} = 1.11 \text{ gmole / kg}$$

$$= \text{H}_{2.222} \text{ O}_{1.111}$$

$$\therefore e_{\text{ox}} = \text{H}_{14.124} \text{ O}_{46.773} \text{ N}_{16.866}$$

2- Calculate the equivalent formula of one kg of fuel (AK – 20K) Zyldine ( $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_9$  50%) and TEA ( $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_9$  50%) are used as fuel, the specific elements are calculated as:

$$e_{\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}} = 4.1265 \text{ gmole / kg}$$

$$= \text{C}_{33.012} \text{ H}_{45.391} \text{ N}_{4.126}$$

$$e_{\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}} = 4.9412 \text{ gmole / kg}$$

$$= \text{C}_{29.647} \text{ H}_{74.118} \text{ N}_{4.941}$$

$$\therefore e_{\text{fu}} = \text{C}_{62.66} \text{ H}_{119.50} \text{ N}_{9.069}$$

3- Calculate the equivalent formula of one kg of propellant when the fuel and oxidizer composed of two or more than two elements (summary of oxidizing



fuel  $\text{C}_{a2}\text{H}_{b2}\text{O}_{c2}\text{N}_{d2}$ ). The oxidizing coefficient (Ks) can be represented by :

$$K_s = \frac{\varphi C_1 + C_2}{\varphi \left( 2a_1 + \frac{b_1}{2} \right) + \left( 2a_2 + \frac{b_2}{2} \right)} \dots (2)$$

$$\varphi = \frac{m_{\text{ox}}}{m_{\text{fu}}} \dots (3)$$

In this case we take

$$K_s = 0.85 \text{ (Ref. [2])}$$

$$0.85 = \frac{\varphi 46.773 + 0}{\varphi \left( 0 + \frac{14.124}{2} \right) + \left( 2 \times 62.66 + \frac{119.50}{2} \right)}$$

$$\therefore \varphi = 3.8585 \text{ kg} \frac{\text{oxidizer}}{\text{kg}} \text{ fuel}$$

$$\text{One kg propellant} = Z_{\text{fu}} + Z_{\text{ox}}$$

Where

$$Z_{\text{fu}} = \frac{1}{\varphi + 1} \dots (4)$$

$$Z_{\text{ox}} = \frac{\varphi}{\varphi + 1} \dots (5)$$

$$\text{Then } Z_{\text{fu}} = 0.2058, Z_{\text{ox}}$$

$$= 0.7942$$

$$\text{One kg propellant} =$$

$$(\text{C}_{a1}\text{H}_{b1}\text{O}_{c1}\text{N}_{d1})Z_{\text{ox}}$$

$$+ (\text{C}_{a2}\text{H}_{b2}\text{O}_{c2}\text{N}_{d2})Z_{\text{fu}}$$

$$= \text{H}_{11.217} \text{ O}_{37.147} \text{ N}_{13.395} +$$

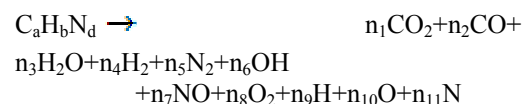
$$\text{C}_{12.895} \text{ H}_{24.595} \text{ N}_{1.866}$$

$$= \text{C}_{12.895} \text{ H}_{35.812} \text{ O}_{37.147} \text{ N}_{15.261}$$

### The Number of Moles of the Various Species:

The product composition depend on temperature. The simple chemical reaction for burning of liquid propellant which contain carbon, hydrogen, Oxygen and nitrogen elements gives the products  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$ . Actually at high temperature this simple reaction is considerable over simplification, because the compounds  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{O}_2$  and  $\text{N}_2$  may dissociate to same extent into free atoms and radicals. Thus a complete chemical equilibrium means the rate at which the reactions are being transformed in to products is the same rate that the products are reverting to the reactants. For this purpose the equilibrium constant, Kp, is introduced.

If we now consider the following general chemical reaction of one Kilogram of rocket propellant of summary formula containing carbon, hydrogen, Oxygen and nitrogen.



Assuming no hydrocarbon molecules in the products which is true for all practical purposes (4,5)

### a- Mass Balance

Applying the principle of mass balance each chemical elements contained by each group, the following three equations can be obtained for each species:

$$\frac{P_{CO} + 2P_{CO_2} + P_{H_2O} + P_{OH} + P_O + 2P_{O_2}}{P_{CO_2} + P_{CO}} = \frac{C}{a}$$

For Oxygen ..... (6)

$$\frac{2P_{H_2O} + P_{H_2} + P_H + P_{OH}}{P_{CO_2} + P_{CO}} = \frac{b}{a}$$

For Hydrogen ..... (7)

$$\frac{2P_N + P_{NO} + P_N}{P_{CO_2} + P_{CO}} = \frac{d}{a}$$

For Nitrogen ..... (8)

$$P_{CO_2} + P_{CO} + P_{H_2O} + P_{H_2} + P_{N_2} + P_{O_2} + P_{OH} + P_{NO} + P_O + P_H + P_N = P_H$$

..... (9)

Where  $P_T$ : Total pressure (25 bar in this work & 3000 °K)

#### b- Chemical reactions

Many chemical reactions can occur through the combustion of propellant. The following equations are formulated from equilibrium reactions of each product

$$CO_2 + H_2 \leftrightarrow CO + H_2O$$

$$K_{P_1} = \frac{P_{CO} + P_{H_2O}}{P_{CO_2} + P_{H_2}} \quad \text{..... (10)}$$

$$CO_2 \leftrightarrow CO + \frac{1}{2}O_2$$

$$K_{P_2} = \frac{P_{CO} + P_O}{P_{CO_2}} \quad \text{..... (11)}$$

$$H_2O \leftrightarrow OH + \frac{1}{2}H_2$$

$$K_{P_3} = \frac{P_{OH} + P_{H_2}^{0.5}}{P_{H_2O}} \quad \text{..... (12)}$$

$$N_2 + O_2 \leftrightarrow 2NO$$

$$K_{P_4} = \frac{P_{NO}^2}{P_{N_2} \cdot P_{O_2}} \quad \text{..... (13)}$$

$$O_2 \leftrightarrow 2O$$

$$K_{P_5} = \frac{P_O^2}{P_{O_2}} \quad \text{..... (14)}$$

$$H_2 \leftrightarrow 2H$$

$$K_{P_6} = \frac{P_H^2}{P_{H_2}} \quad \text{..... (15)}$$

$$N_2 \leftrightarrow 2N$$

$$K_{P_7} = \frac{P_N^2}{P_{N_2}} \quad \text{..... (16)}$$

Eqs. (6) to (16) form a system of nonlinear algebraic equations for the eleven unknown  $P_{CO_2}$ ,  $P_{CO}$ , ...,  $P_N$ . This system can be solved numerically by applying of Newton's iteration method which is introduced in Enchedo subroutine.

The numerical value of the  $K_P$  for any given reaction depend on the temperature only, therefore, the given data was approximated to give ranges.

(1000-1500, 1500-2000, 2000-3000, 3000-4000, 4000-5000). Third order polynomials are fitted to each range.

Hence, the polynomial which will express the dependence of  $K_P$  against temperature will have the following general form, for five ranges:

$$K_P = \text{EXP} (a_0 + a_1T + a_2T^2 + a_3T^3) \quad \text{..... (17)}$$

Where  $a_0$ ,  $a_1$ ,  $a_2$ , and  $a_3$  are the coefficients of the polynomial and are tabulated in Sabah, M., 1997 [1].

To convert partial pressure into no of moles as:

$$\frac{n_i}{P_i} = A_i \Rightarrow n_i = A_i \cdot P_i \quad \text{..... (18)}$$

Where

$$A_i = \frac{n_{CO_2} + n_{CO}}{P_{CO_2} + P_{CO}} \quad \text{..... (19)}$$

Assume A is constant value in calculations.

## RESULTS AND DISCUSSION

In order to assess the reliability of our model by Enchedo subroutine results compared with those from literature for equivalent formula of propellant ( $C_{14.0786}H_{31.7994}O_{37.4492}N_{14.2512}$ ), composed of fuel and oxidizer. These comparisons and the complete results of the number of moles of the various species for the product of combustion of propellant as oxidizer (**TT-02**) and fuel (AK-20K) are shown in table (1). It may be seen that there is a good agreement between the results of this work and those found in (2).

## CONCLUSION

- 1- It could be said by this work and using Enchedo environment, suggest a possible contribution for the function of a liquid propellant.
- 2- The results of this work are a very important consideration in the design of liquid propellant engine for any temperature (our model), pressure and any equivalent formula ( $C_a H_b O_c N_d$ ) of propellant.
- 3- Our results give a good agreement with literature with maximum percentage deviation 1.6% for  $H_2O$ .

**Table (1): Comparison the combustion analysis results of this work and those found in literature**

Product	No., moles (this work)	No., moles Barrer [2].	% $\Delta n$ *
CO <sub>2</sub>	8.0135	7.2331	-0.9
CO	6.0651	5.8213	+0.72
H <sub>2</sub> O	14.0187	14.268	-1.6
H <sub>2</sub>	1.4374	1.8126	+0.17
N <sub>2</sub>	7.0462	7.01	-1.5
O <sub>2</sub>	0.2349	0.229	-0.14
OH	0.6420	0.72	+0.18
NO	0.1550	0.162	+0.31
O	0.0717	0.0692	-0.09
H	0.2454	0.3555	+0.12
N	0.0044	0.0053	+0.007

$$* \% \Delta n = \frac{n_{lit} - n_{cal}}{n_{lit}} * 100$$

## REFERENCES

1. Sabah M. (1997) The Flow through the Combustion Chamber and the Nozzle of a Liquid Propellant Engine. M.Sc., Thesis, University of Baghdad, Dept. of Mech. Eng.
2. Barrer M. (1962) Liquid Propellant Rocket Motor . Moscow. 349
3. Assiem SA. (2001) Analysis of flow and Heat transfer in combustion chamber and Nozzle of liquid propellant Rocket Motor "PhD, Thesis, Univers. Of Baghdad, Dept of Mech. Eng.
4. Saba MS. (1984) Contribution to the Solution of the In Fucnce of Liquid Propellant Rocket Motor Combustion Chamber. PhD Thesis. Anon. Zapotocky Military Academy.
5. Nasif RD. (1991) Performance Calculation and Regenerative Cooled thrust Chamber Modeling for a Liquid Propellant Rocket Engine. M.Sc. Thesis Military Eng. College .Baghdad University.
6. Harje DT (1972) Liquid Propellant Rocket Combustion Instability. Document ID: 19720026079, Patent No.: NASN SP-194. P: 657.

## Approval of The Presence of The Inhibitory Action of PGF<sub>2</sub>-alpha on Human Uterine Smooth Muscles at Term

Raed S. Al-Naemi & Shereen A. Ibrahim

Dept of Medical Physiology / School of Medicine / Faculty of Medicine / University of Duhok / Kurdistan Region / Iraq

E-mail: aosraid@yahoo.com

### ABSTRACT

Many excitatory hormones contribute in the expulsion of the fetus and uterine content during delivery. Although continuous uterine contractions aid in delivery, they may cause ischemic changes and death of the fetus. However, it appears certain now that prostaglandins, oxytocin and estrogens are important mediators of uterine stimulatory activity, while the adverse inhibitory action that helps for continuous fetal blood supply during parturition is still not remarkable. The aim of the current study is to describe the different actions of prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha on human uterine smooth muscles at term. Human myometrial strips were obtained from consenting donor women (n=37) at term during elective caesarean section, between 38-40 weeks of pregnancy. Myometrial strips were set up to the kymograph within a 30 min post-operative period and superfused with oxygenated physiological saline solution in organ bath at 37°C. For the assessment of our work and in order to determine the mechanism of action of prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha via Ca<sup>++</sup> channels, Isoptin was used as Ca<sup>++</sup> channels blocker. Ouabain (10<sup>-2</sup> M) as Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump inhibitor was used in planning to study the mechanism of prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha inducing inhibitory (hyperpolarizing) action. The results of our study revealed that, prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha shows biphasic excitatory and inhibitory responses on human uterine smooth muscles at term. The normal excitatory effect of prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha by acute exposure of human uterine tissue to (10<sup>-5</sup> M) prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha is obvious immediately, which followed by a prolonged relaxation time between contractions especially after chronic exposure to prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha. The addition of Isoptin (Ca<sup>++</sup> channels blocker) to the bathing uterine human strips after acute exposure of prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha causes abolishing of all the excitatory responses while the addition of Ouabain after the chronic exposure to the prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha produced complete inhibition of the hyperpolarizing (relaxing) responses of the uterine smooth muscles. Data of the present study demonstrated that prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha has an inhibitory action after the strong repetitive excitatory patterns on human uterine smooth muscles at term, which is an important defense measure during labor to prevent the ischemic changes to fetus and uterine tissue. The mechanism of actions of the excitatory prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha via increasing intracellular Ca<sup>++</sup> concentration was abolished by Isoptin while that of the inhibitory one via stimulation of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase which can be inhibited by Ouabain glycoside (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase inhibitor).

**Keywords:** prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha and labor, Isoptin, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase, Ouabain

### المخلص باللغة العربية

العديد من الهرمونات المحفزة التي تساهم في طرد الجنين ومحتويات الرحم الاخرى خلال الولادة . بالرغم من التقلصات الرحمية المستمرة تساعد في الولادة لكنها قد تسبب تغيرات التغذية الدموية مع هذا بات من المعروف ان هناك البروستاكلاندينات والاكسيوتوسين والاستروجينات من الهرمونات الوسيطة المهمة في الفعل التحفيزي لتقلصات الرحم بينما الفعل المضاد المثبط والمساعد في استمرار التغذية الدموية للجنين خلال الولادة مازال لحد الان غير واضح.

هدف هذا العمل لدراسة التأثيرات المختلفة للبروستاكلاندين (F<sub>2</sub>-alpha) على عضلات رحم الانسان في مرحلة الولادة. تم الحصول على عينات من نسيج جدار رحم الانسان من (37) امرأة متبرعة وممن اكملوا (38-40) اسبوع من الحمل ودخلوا في مرحلة الولادة و اللواتي خضعن للعملية القيصرية . اشربة جدار الرحم الموضوع في محلول ملحي فسيولوجي مشبع بالاكسيجن وبدرجة حرارة 37 مئوية تم ربطها الى جهاز رسم التقلص العضلي (Kymograph) . لتقييم عملنا ومن اجل تحديد طريقة عمل البروستاكلاندين (F<sub>2</sub>-alpha) على عضلات الرحم من خلال قنوات الكالسيوم تم استخدام Isoptin وهو مادة مثبطة لقنوات الكالسيوم . تم استخدام Ouabain (10<sup>-2</sup>M) وهي مادة مثبطة لمضخة الصوديوم -بوتاسيوم كتخطيط لدراسة ميكانيكية عمل البروستاكلاندين (F<sub>2</sub>-alpha) في زوال مرحلة زيادة الاستقطاب (hyperpolarization phase) التي تنتج فترات الانبساط بين التقلصات الرحمية الشديدة . اظهرت نتائج بحثنا وجود استجابتين محفزة و اخرى مثبطة لعضلات الرحم بعد اضافة (10<sup>-5</sup> M) من البروستاكلاندين (F<sub>2</sub>-alpha) الى عضلات الرحم الملساء في مرحلة الولادة. تم الكشف ايضا عن ميكانيكية العمل حيث وجدت عن طريق زيادة نشاط قنوات الكالسيوم والتي تزيد من تركيز كمية الكالسيوم داخل عضلات الرحم وبالتالي زيادة قوة وتكرار وحجم التقلص العضلي مما يساعد في اخراج محتويات الرحم للخارج اثناء الولادة . اضافة Isoptin ادى الى تثبيط قنوات الكالسيوم و انتهاء الفعل التحفيزي . بينما اضافة Ouabain بعد التعرض المزمّن لعضلات الرحم للبروستاكلاندين (F<sub>2</sub>-alpha) والذي انتج انبساط عضلات الرحم (hyperpolarization or relaxing effect). بيانات هذه الدراسة اظهرت وجود الفعل المثبط للبروستاكلاندين (F<sub>2</sub>-alpha) بعد تقلصات عضلية عديدة ومتكررة لعضلات الرحم الملساء في مرحلة الولادة والذي يعتبر اجراء دفاعي مهم لمنع حدوث تغيرات نقص التغذية الدموية للجنين و انسجة الرحم . آلية عمل الفعل المحفز بواسطة زيادة مستوى ايونات الكالسيوم داخل الخلية الغيت بواسطة Isoptin بينما آلية الفعل المثبط بواسطة تحفيز انزيم Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase والتي تم تثبيطها بواسطة Ouabain glycoside وهو مثبط لانزيم (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase).

## INTRODUCTION

Prostaglandins were first used for successful induction of labor and abortion in 1970, the reproductive world started by the work of Sultan Karim in Uganda and this clinical application was responsible for a great surge of interest both clinically and in the laboratory (1). With the onset of labor, the uterus is subjected to a variety of stimuli including physical stretch, inflammatory cytokines, interleukin-1b (IL-1b), tumor necrosis factor-alpha (TNF-a), IL-6, IL-8 and pro-labor factors including prostaglandins and oxytocin. It was found that IL-1b, TNF-a and oxytocin increased mRNA expression of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (PGF<sub>2</sub>) receptors (2). Many excitatory hormones contribute in the expulsion of the fetus during delivery. Although continuous contractions aid in delivery but it may cause ischemic changes and death of the fetus, however, it appears certain now that, prostaglandins  $E_2$  (PGE) and  $F_{2\alpha}$  (PGF<sub>2</sub>) are important mediators of uterine stimulatory contractility, while the adverse inhibitory action that produces a period of relaxation and help for continuous fetal blood supply during parturition is still not remarkable. Unlike oxytocin which requires an induction of receptors that does not usually present until the later part of pregnancy in response to increase of estrogen and decrease of progesterone (3,4). Prostaglandins (PGs) receptors are always present in myometrial tissue (5) and the pivotal role of PGs in uterine smooth muscle contraction associated with cervical ripening. Clinically, cervical ripening is characterized by many folds increase in the local inflammatory cells, as well as with changes in other inflammatory mediators such as PGs, nitric oxide and neuropeptides (6).

The increase in intracellular calcium ion ( $Ca^{++}$ ) concentration by PGF<sub>2</sub> shows importance mechanism of action and role of PGs in association with  $Ca^{++}$  channels in generating the smooth muscle action potential, sodium ion participates little in the generation of the action potential. Instead the flow of  $Ca^{++}$  ions to the interior of the smooth muscle fiber is mainly responsible for action potential (7). The contraction of uterine muscle resulted from increased free  $Ca^{++}$  concentrations in the myofibrils, which stimulate the contractile mechanism in the smooth muscle. The mechanism of action of PGF<sub>2</sub> and oxytocin via increase in intracellular  $Ca^{++}$  concentration and promotes  $Ca^{++}$  binding in the sarcoplasmic

reticulum while progesterone decreases them (8). The aim of the present work is to study the possible inhibitory (hyperpolarizing) effect, if any, of PGF<sub>2</sub> as well as its excitatory effect on human uterine smooth muscles at term. In order to discover this complicated mechanism and for the assessment of our work and in order to determine the mechanism of action of PGF<sub>2</sub> via  $Ca^{++}$  channels, Isoptin was used as  $Ca^{++}$  channels blocker. Ouabain as  $Na^+-K^+$  pump inhibitor was used in planning to study the mechanism of PGF<sub>2</sub> inducing hyperpolarization effect.

## PATIENTS AND METHODS

Human uterine strips were obtained at caesarean section during established labor from verbally consenting women (n= 37) and their age range between (20-40 years, mean  $\pm$ SD= 28  $\pm$ 4.8) with 38-40 weeks of gestation undergoing caesarean delivery. After the baby and the placenta borne bimanual, the uterine upper edge of lower segment incision was explored and a piece of tissue (1 x 3 cm) was dissected and immediately put in a capped container containing oxygenated physiological saline solution (PSS) at 37°C. The PSS with 7.4 pH was used for organ bath contained (mM): 120NaCl, 5KCl, 1KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2MgSO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub> and 2.5 CaCl<sub>2</sub> bubbled continuously with 100% O<sub>2</sub>.

To study the effect of acute and prolonged exposures of uterine strips to PGF<sub>2</sub>; Dinoprost (5mg/ml equivalent to 0.0141 M.) were used. For the assessment of our work and in order to determine the mechanism of action of PGF<sub>2</sub> via  $Ca^{++}$  channels, Isoptin (5mg/ml) was used as  $Ca^{++}$  channels blocker. Ouabain (C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>O<sub>12</sub>.8H<sub>2</sub>O) as  $Na^+-K^+$  pump inhibitor, was used in planning to study the mechanism of PGF<sub>2</sub> inducing hyperpolarizing effect. Only one dose-effect curve was obtained from each myometrial strip.

The spontaneous human uterine contractions usually occur within one hour from mounting the tissue in the organ bath. A trace of 6 small squares of the drawing chart i.e. 3cm area (using the universal kymograph speed = 0.04mm/second) regarded as control trace for each strip. Then acute exposure of the uterine strip to the PGF<sub>2</sub> was done by addition of 10<sup>-5</sup>M PGF<sub>2</sub> to the bathing fluid. By interval of seconds an excitatory response was observed and a trace of 6 small squares of drawing chart was recorded. Isoptin (a known calcium



channel blocker) was added by a dropper at the peak contraction phase induced by  $\text{PGF}_2$ . For prolonged  $\text{PGF}_2$  exposure, a trace of  $\text{PGF}_2$  induced response was obtained by adding 5 drops of ( $10^{-5}\text{M}$ )  $\text{PGF}_2$  at intervals of 15min. and this continued for 3-4 hours. To test the role of  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump in prolonged relaxation time( hyperpolarization effect), Ouabain ( $10^{-2}\text{M}$ ) was added at the peak of hyperpolarization phase that induced by  $\text{PGF}_2$ . To obtain a such concentration of Ouabain , 0.7288gm was dissolved in 100ml distilled water because its molarity= 728.8 (9). The statistical program for social science(SPSS version 15,2001) comparison between the studied variables was performed by paired t-test, for equal numbers and related samples, The mean  $\pm$  SD is quoted and a statistical significance level of  $P \leq 0.05$  or less was considered to be statistically significant.

## RESULTS

Normal mechanical spontaneous contraction of human uterine smooth muscle at term was recorded for each uterine strip (Fig. 1) and measurement of the normal mechanical contraction of human uterine smooth muscle at term including: frequency, duration, amplitude, tone and relaxation period were determined (Table 1). The acute exposure of human uterine strips at term to  $\text{PGF}_2$  showed significant increase in the frequencies, durations, amplitudes, tones and relaxation periods due to the excitatory response addition to the organ bath fluid (Fig.2 and Table 2).

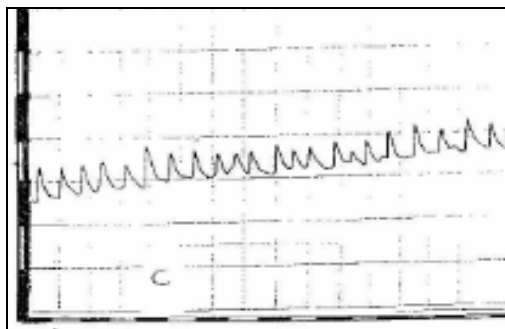


Fig. (1): Normal mechanical spontaneous contraction (C) of human uterine smooth muscles at term

The later excitatory action of  $\text{PGF}_2$  was abolished by addition of Isoptin ( a known calcium channel blocker) to the uterine strips bathing fluid which indicate the mechanism of action on human uterine smooth muscle at term via opening of calcium channel and increase intracellular calcium ion concentration, the uterine strip then under complete relaxation state(Fig.3).

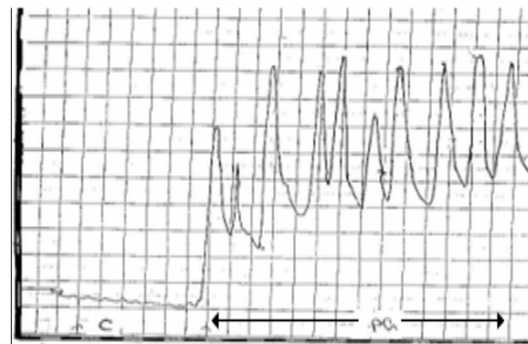


Fig.(2): Trace of normal control contraction(c) and effect of acute exposure of PGF (PG) on human uterine strip at term

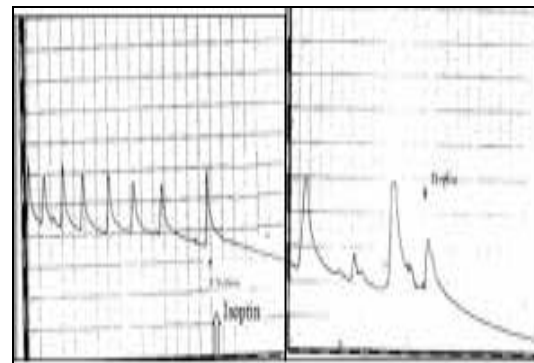


Fig.(3): Two traces show abolishment of the excitatory action of PGF by addition of Isoptin(calcium channel blocker)

**Table (1): Measurements of normal spontaneous contraction of human uterine smooth muscles at term**

Measurements of Contraction properties	Normal Control Contraction (before PGF addition) N= 37	
	Mean	± SD
<b>Frequency</b> (rate of contractions /hr.)	22.3	3.74
<b>Duration</b> (duration of contraction /second)	68.8	34.88
<b>Amplitude</b> (height of contraction by millimeter)	7.6	0.97
<b>Tone</b> ( change from base line by millimeter)	-	-
<b>Relaxation period</b> (period between contractions by second)	-	-

**Table (2): Effect of acute (direct) exposure of PGF on human uterine strips at term**

Measurements of Contraction properties N=37	Control group before PGF addition	Acute PGF exposure group	Paired Student t-test
	X ± S.D.	X ± S.D.	T-value
<b>Frequency</b> (rate of contractions /hr)	22.30 ± 3.7	17.06 ± 1.9	2.149*
<b>Duration</b> (seconds)	68.75 ± 34.9	116.9 ± 58.5	4.88***
<b>Amplitude</b> (millimeter)	7.60 ± 0.97	30.5 ± 2.87	4.72***
<b>Tone</b> millimeter	-	23.4 ± 1.3	12.54***
<b>Relaxation period</b> (seconds)	-	9.25 ± 0.16	1.897*

\*Tabulated  $T_{36}$  value= 1.69 at level of Significance  $p$ -value< 0.05

\*\*Tabulated  $T_{36}$  value= 2.48 at level of Significance  $p$ -value< 0.01

\*\*\*Tabulated  $T_{36}$  value= 3.6 at level of Significance  $p$ -value< 0.001

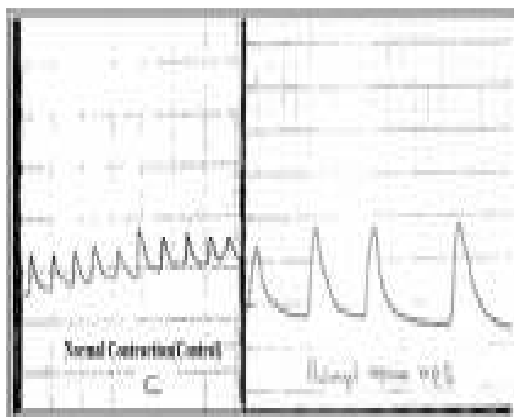
Effect of chronic (prolonged) exposure (60-180 min.) to  $\text{PGF}_2$  was tested in 24 human uterine strips. The prolonged exposure to  $\text{PGF}_2$  showed increase period of relaxation between contractions, compared to control (before  $\text{PGF}_2$  addition). The appearance of the hyperpolarization (relaxation) phase which induced a decrease in the frequencies of contractions while the amplitudes were appeared to be smaller than the first response

to the acute exposure to  $\text{PGF}_2$  (Fig.4 and Table 3). The addition of Ouabain ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  pump inhibitor) to the uterine strips bathing fluid, abolished the induced hyperpolarization effect of  $\text{PGF}_2$  on human uterine strip at term and returning the uterine muscle to the excitatory state (Fig.5 and Table 4).

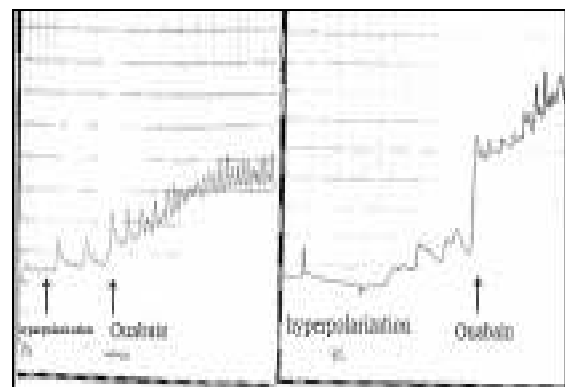
**Table (3) Effect of Prolonged exposure of PGF on human uterine strip contraction at term**

N=24 Measurements of Contraction properties	Control-group (before PGF addition)	Exposure-group (after Prolonged PGF addition)	Paired Student t- test
	X $\pm$ S.D.	X $\pm$ S.D.	T-value
<b>Frequency</b> (rate of contractions /hr)	19.50 $\pm$ 1.8	6.80 $\pm$ 0.99	8.74***
<b>Duration</b> (seconds)	75.80 $\pm$ 29.5	260.7 $\pm$ 127.8	7.60 ***
<b>Amplitude</b> (millimeter)	7.60 $\pm$ 0.97	20.80 $\pm$ 2.3	4.71***
<b>Tone</b>	- -	29.0 $\pm$ 1.29	10.71***
<b>Relaxation period</b> (seconds)	- -	9.25 $\pm$ 0.16	9.23***

\*\*\* Significant ( $P < 0.001$ )



**Fig. (4): Normal Uterine Contraction(C) and Hyperpolarization Phase Induced by Prolonged Exposure to  $\text{PGF}$  on Human Uterine Smooth Muscle at Term**



**Fig.(5): Ouabain abolished the induced hyperpolarization effect of  $\text{PGF}$  on human uterine strip at term**

**Table (4) Effect of Ouabain addition on the hyperpolarization phase induced by prolonged exposure of human uterine smooth muscle at term to PGF**

N=24 Measurements of Contraction properties	Hyperpolarization phase of PGF	Ouabain effect on the hyperpolarize- tion phase	Paired Student t- test
	X ± S.D.	X ± S.D.	T-value
<b>Frequency</b> (rate of contractions /hr)	20.90 ± 2.29	38.65 ± 1.77	6.44***
<b>Duration</b> (seconds)	96.40 ± 59.9	35.40 ± 12.6	2.71 **
<b>Amplitude</b> (millimeter)	8.70 ± 0.64	4.70 ± 0.34	1.63*
<b>Tone</b>	17.90 ± 1.02	31.6 ± 1.44	3.25**
<b>Relaxation period</b> (seconds)	16.50 ± 0.38	0	5.23***

\* $P > 0.05$  (non-significant), \*\* Significant ( $P < 0.01$ ), \*\*\* Significant ( $P < 0.001$ )

from the seeds of *Strophanthus gratus* and referred as digitalis glycosides. Ouabain is

## DISCUSSION

The trace of normal spontaneous contraction of the uterine strip in the present study usually occurred within about 1 hour of mounting the tissue in the organ bath and connected to the kymograph lever. The causes of delay of the spontaneous contraction may be due to effect of surgical trauma, anesthesia (10) and less smooth muscle stretching mechanism (3) resemble to that present at term in vivo in the normal pregnant uterus. The results of acute exposure to  $\text{PGF}_2$  on uterine human strips showed an excitatory effect which was expressed by a significant increscent in the durationtion, amplitude and tone with a significant decrease in the frequency. The same finding was recorded by many workers . They revealed that  $\text{PGF}_2$  receptors were stimulated and mediate human myometrial contraction by increasing voltage gating calcium channels activities at term(11,12).

The addition of Isoptin to the uterine strip bathing fluid in the present study , directly abolished  $\text{PGF}_2$  induced excitatory mechanism. This result ensures the role of voltage gated calcium channels in uterine muscles contraction at term . Based upon the same mechanism , some researchers used calcium antagonist , Nifedipine (Indocid) for controlling preterm labor in women(13). Ouabain is one group of glycosides that obtain

powerful inhibitor of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  pump resulting in direct rising of intracellular  $\text{Na}^+$  and indirectly responsible for rising of intracellular  $\text{Ca}^{++}$  level via inhibition of  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  exchanger with net effect is an increase  $\text{Ca}^{++}$  pool available for excitation-contraction coupling (8,14). In the present work abolishment of the hyperpolarization effect of  $\text{PGF}_2$  and increase the frequency and tone that occurred after addition of Ouabain to the bathing uterine strips, may indicates involvement of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  enzyme in occurrence of hyperpolarization action of  $\text{PGF}_2$ . One possible explanation of these finding is that, the  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  exchanger may play a role during a plateau phase when gradually  $\text{Ca}^{++}$  begins to decrease after several strong uterine contractions ,this leads to increase the intracellular  $\text{Na}^+$  which in turn activate  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  and occurrence of hyperpolarization. Our results is with a agreement with the similar finding of other workers, who demonstrated that, prostaglandins induced hyperpolarization effect on human uterine smooth muscles obtained from women undergoing caesarean delivery did not occur in the presence of Ouabain ( $10^{-6}$  M) or in  $\text{K}^+$ -free or low- $\text{Na}^+$  solutions(14).

## CONCLUSION

Data of the present study demonstrated that  $\text{PGF}_2$  has both excitatory and inhibitory actions on human pregnant uterus at term. The excitatory effect mediated by activation of calcium channels in uterine smooth muscles at term. The presence of the important inhibitory effect of  $\text{PGF}_2$ , that characterized by prolonged relaxation periods (hyperpolarization phase) between several strong uterine contractions, which has an important conservative measure during labor via preventing fetal distress, hypoxia and ischemic changes to fetus and placental tissues which could be resulted from sustained contractions. This finding potentiate the role of  $\text{PGF}_2$  in maintaining the normal blood supply to the fetus during delivery and could be of values as a safety measures of using  $\text{PGF}_2$  derivatives in obstetrics.

## ACKNOWLEDGMENT

This article represent the human research part of M.Sc. dissertation submitted by S.A. Ibrahim to the University of Duhok. The study was sponsored by the College of Medicine in Duhok city / Iraq and approved by local ethics committee.

## REFERENCES

1. Karim SMM, Trussell RR, Patel RC and Hillier K. (1968) Response of pregnant human uterus to prostaglandin  $\text{F}_2$  alpha induction of labor. *Brit. Med. J.*; (4): 621-623.
2. Liangi Z, Sooranna SR, Enginer N, Tattersall M, Khanjani S, Bennett PR, Myatt L and Johnson MR. (2008) Prostaglandin  $\text{F}_2$ -alpha receptor regulation in human uterine myocytes. *Molec. Hum. Reprod.* 14 (4): 215-223.
3. O'Brien WF. (1995) The role of PGs in labor and delivery. *Clinic. Perinatol.* (22): 973-984.
4. Ganong WF. (2010) Review of medical physiology: 23 edition, chapter 5. McGraw-Hill Companies, Inc. USA; ISBN 978-0-07-160567-0
5. Coleman HA, Hart JDE, and Mary AT. (1994) Changes in the mechanisms involved in uterine contractions during pregnancy in guinea pigs. *J. Physiol.* 523(3): 785-798.
6. Olson DM, Zaragoza DB, Shallow MC, Cook JL, Mitchell BF, Grigsby P, and Hirst J. (2003) Myometrial activation and preterm labor: evidence supporting a role for the prostaglandin  $\text{F}$  receptor- $\alpha$  review. *Placenta*; 24(Suppl A): S47-S54.
7. Guyton AC and John EH. (2006) Textbook of medical physiology; 11th edition: unit II: 92-100, ISBN 0-7216-0240-1
8. Carsten ME and Miller JD. (1987) A new look at uterine muscle contraction. *Am J Obst. Gynecol.*; 157: 1303-1304
9. Renolds EF, Kathleen P and Anne VP. (1996) Textbook of Martindale the Extraparmacopia; 31 edition.
10. Parkington HC and Coleman HA. (1988) Ionic mechanism underlying action potential in myometrium. *Clin-exp-pharmacophysiol.*; 15(9): 657-665
11. Crankshaw D and Gaspar V. (1995) Effects of prostanoids on the rats myometrium in vitro during pregnancy. *Biol. Reprod.*; 46(3): 392-400.
12. Senior J, Sangha R, Baxter GS, Marshall K and Glyton JK. (1992) In vitro characterization of prostanoid  $\text{FP}$ ,  $\text{DP}$ ,  $\text{IP}$  and  $\text{TP}$  receptors on the non-pregnant human myometrium. *Br-J-pharmacol.*; 107(1): 215-221.
13. Roy UK and Pan S. (1993) Use of  $\text{Ca}^{++}$  antagonist Nifedipine in premature labor. *J. Indian-Med-Assoc.*; 91(1): 8-10.
14. Parkington HC, Tonta MA, Davies NK, Brennecke SP and Coleman HA. (1999) Hyperpolarization and slowing of the rate of contraction in human Uterus in pregnancy by  $\text{PGF}_2$ -alpha and  $\text{PGE}_2$  and involvement of  $\text{Na}^+$  pump. *J. Physiol.*; 514(1): 229-243.

## Effect of Iron Deficiency Anemia in Children with Asthma Among Patients Attending Pediatric Clinic in Baquba – Diyala – Iraq

Dawood S. Al- Azzawi

Dept. of Pediatrics / Faculty of Medicine/ Diyala University / Iraq

E-mail: dawood\_alazawi@yahoo.com

### ABSTRACT

Group of asthmatic children found to have iron deficiency anemia is compared to other group of asthmatic children with normal hemoglobin among patients who were attending pediatric clinic in Baquba city- Diyala-Iraq. The aim of the current study is to find the effect of iron deficiency anemia in children with asthma, aged 2-5y, who were attending the pediatric clinic in Baquba, during the period Jan.2010 -Dec.2011.

Two hundred children in the age group of 2-5 years who attended the pediatric clinic in Baquba city- Diyala Governorate -Iraq having asthma were included in this study.

One hundred asthmatic children with iron deficiency anemia were taken as the study group and another 100, age- and sex-matched asthmatic children without anemia were taken as the control..

The level of serum iron and total serum iron binding capacity were estimated, blood film and ESR were done too, to exclude other hematological pathology, at the same time chest X-ray was taken to exclude other chest problem.

The study exclude any patient with abnormal chest X-ray or abnormal blood finding.

The criteria for asthma in the study depend on;

1. frequent attacks. 2. positive family history of asthma.
3. response to bronchodilators. 4. alternative diagnosis were excluded.

A child was considered anemic if the hemoglobin (H b) level was below 11 g/d L. The asthmatic group with iron deficiency anemia (G/A) as compared to the non-anemic asthmatic group (G/B) found to have double attack rate of asthmatic episodes and the patients number need admission to hospital is increased three folds in (G/A) as compared to (G/B) and there is mild predominance for male than female in both groups. The results showed that iron deficiency anemia has bad effect on the condition of asthmatic children. Thus, the author recommended the iron state for any asthmatic patients should be estimated as part of their management.

**Key words:** asthma, iron deficiency anemia, Baquba.

### الملخص باللغة العربية

في هذه الدراسة تم مقارنة مجموعة من الاطفال المصابين بالربو والذين وجدنا لديهم فقر الدم بسبب نقص الحديد الى مجموعة اخرى من الاطفال المصابين بالربو ليس لديهم فقر الدم بسبب نقص الحديد.

هدف الدراسة هو العثور على تأثير فقر الدم بسبب نقص الحديد في الاطفال الذين يعانون من الربو والذين تتراوح اعمارهم بين 2-5 سنوات والذين راجعوا عيادة طب الاطفال في بعقوبة خلال الفترة من كانون ثاني 2010 والى كانون اول 2011

وقد شملت الدراسة مائتي طفل من الفئة العمرية 2-5 سنوات , مائة طفل مصابون بالربو ويعانون فقر الدم بسبب نقص الحديد (مجموعة الدراسة) ومائة طفل اخرين مطابقين لهم بالعمر والجنس مصابون بالربو ولا يعانون من فقر الدم بسبب نقص الحديد , وقد اجريت لهم فحوصات مختبرية شاملة واشعة سينية للصدر وقد استبعدت الدراسة أي مريض لديه مشكلة مرضية غير الربو كما استبعدت أي مريض لديه مشكلة في الدم غير فقر الدم بسبب نقص الحديد.

معايير الربو في الدراسة اعتمدت على :

1. ازيمات ربو متكررة
2. ايجابية تاريخ العائلة من مرض الربو
3. استجابة المريض للادوية الموسعة للقصبات

وقد اعتبر الطفل مصابا بفقر الدم اذا كان مستوى الهيموكلوبين اقل من 11غم/دلتلتر. اظهرت النتائج ان مجموعة الاطفال المصابون بالربو والذين يعانون فقر الدم بسبب نقص الحديد يتعرضون لزيادة في تكرار نوبات الربو لحد الضعف وزيادة ثلاثة اضعاف في حاجتهم لدخول المستشفى مقارنة باقرانهم المصابين بالربو والذين يتمتعون بنسبة هيموكلوبين طبيعية. وجدت الدراسة ان هناك غالبية بسيطة لاصابة الذكور على الاناث في المجموعتين.

التوصيات: ينبغي التحري عن نسبة الحديد في دم الاطفال المصابين بالربو وادخال ذلك ضمن علاجهم.

## INTRODUCTION

Asthma is a common medical problem encountered by pediatric clinicians. Its incidence has substantially increased worldwide(1). It is a major cause of morbidity and mortality among the pediatric age group(2). It is a chronic inflammatory condition of the lung airways resulting in episodic airflow obstruction(3).

Anemia associated with acute infections occurs more commonly in children than in adults. Iron deficiency exerts adverse effects on immune response and alters the metabolism and growth of pathogens. It has already been reported that low hemoglobin impairs tissue oxygenation and acts as an independent risk factor for developing lower respiratory tract infections in children(4). There are very few reports available in medical literature regarding the association of anemia and childhood asthma. Since anemia has been shown to be a risk factor for LRTI, (4) this study was taken up to see the relationship between anemia and childhood asthma.

## PATIENTS AND METHODS

This study was conducted in 200 children in the age group of 2-5 years, who attended the pediatric clinic in Baquba city- Diyala-Iraq, during the period Jan.2010 to Dec..2011 Baquba city is the center of Diyala governorate, is located in the middle of Iraq about 65 kilometers to the north-east of Baghdad. Hundred asthmatic children with iron deficiency anemia and another age- and sex- matched control group of 100 non-anemic asthmatic children. Those children were followed up for a period of two years at monthly intervals. Children with the following criteria were excluded from this study:(i) Congenital malformations of the chest wall (ii) severe systemic illness, and mal-nourished children(5).

A detailed history was taken and a thorough clinical examination was conducted each and every patient. They were subjected to investigations, which included complete blood count, blood film and ESR, the level of serum iron and total serum iron binding capacity were estimated, C - reactive protein estimation, Mantoux test, and chest X-ray (6).

Weight was recorded for all children to assess the nutritional status.

A child was considered anemic if the hemoglobin (H b) level was below 11 g/d L(7).

Asthma was diagnosed by clinical examination and by applying the following criteria ;

1. frequent attacks
2. positive family history of asthma
3. response to bronchodilators
4. alternative diagnosis were excluded(8).

## RESULTS

The distribution of asthmatic anemic group (G/A) according to sex ;  
Male = 46 female = 44  
The distribution of asthmatic non-anemic group (G/B) according to sex;  
Male = 52 female = 48  
so that there is mild predominance for male than female in both groups.

The distribution of patients according to hemoglobin level (G/A) as shown in table (1).  
The distribution of patients according to hemoglobin level (G/B) as shown in table (2).

The number of the asthmatic attacks per year in G/A; Male = 9 Female = 6 total No. 15

The number of the asthmatic attacks per year in G/B; Male = 4 Female = 3 total No. 7 so that the attack rate is doubled as shown in table (3).

The number of patients with attacks severe enough that they need admission to hospital were seven (7) among G/A while only two (2) patients from G/B, so that the patients number need admission to hospital is increased three folds in G/A as compared to G/B as shown in table(4).

**Table (1): Distribution of patients according to hemoglobin level (G/A)**

	No. of patients	Hb%
	40	10.4
	35	9.5
	15	8.4
	10	8
<b>Total</b>	<b>100</b>	

**Table(2): Distribution of patients according to hemoglobin level (G/B)**

	No. of patients	Hb%
	34	12.5
	28	12
	20	11.5
	18	11.2
<b>Total</b>	<b>100</b>	

**Table(3):Distribution of number of attacks per year in both groups according to sex**

Sex	No. of the attacks/y G/A	%	No. of the attacks/y G/B	%
<b>Male</b>	<b>9</b>		<b>4</b>	
<b>Female</b>	<b>6</b>		<b>3</b>	
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>15%</b>	<b>7</b>	<b>7%</b>

**Table(4): Distribution of the number of patients need admission to hospital in both groups and according to their sex**

Sex	No.G/A	%	No,G/B	%
<b>Male</b>	<b>5</b>		<b>1</b>	
<b>Female</b>	<b>2</b>		<b>1</b>	
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>2</b>

### DISCUSSION

Asthma has gained much interest in critical care illness in recent years following many studies, because of increased case prevalence, morbidity and for a better understanding of the pathogenesis.

In our study the incidence of asthmatic attacks were more in group G/A anemic asthmatic children compared to non- anemic asthmatic G/B, meanwhile the asthmatic attacks were sever enough that they need admission to hospital more than among the anemic group.

There is mild predominance for male than female. Male predominance had been reported in a study(9).

There are few reports available in literature regarding the relationship of anemia with childhood asthma. Some are of the opinion that iron supplements significantly reduces the morbidity of upper respiratory tract infection in children(10). An increased incidence of anemia has been reported in chronic obstructive pulmonary diseases(11).

The increased incidence of asthmatic attacks in anemic children may be due to the following facts: Hemoglobin facilitates oxygen (O<sub>2</sub>) and carbon dioxide transport. It carries and inactivates nitric oxide (NO) and also plays the role of a buffer(12). Hemoglobin in the blood is mainly responsible for stabilizing the oxygen pressure in the tissues(13). Qualitative and/or quantitative reduction in H b% may adversely affect the normal function



## CONCLUSION

Anemic asthmatic children were found to be more susceptible to asthmatic attacks in regard to severity, number and duration of the attacks when compared with non-anemic asthmatic children.

## REFERENCES

1. Consensus guidelines on management of childhood asthma in India.(2009) Indian Pediatr. 36:157–165.
2. Akinbami LJ, and Schoendorf KC.(2002) Trends in childhood asthma: Prevalence, health care utilization, and mortality. Pediatr. 110:315–322.
3. Liu AH, Joseph D, Spahn D, and LeungYM.(2011) Childhood asthma. In: Behrman RE, Kleigman R, Jenso HB, editors. Nelson text book of pediatrics. 19th ed. Philadelphia: Saunders; p. 780.
4. Ramakrishnan K, and Harish PS. (2006) Hemoglobin level as a risk factor for lower respiratory tract infections. Indian J Pediatr. 73:881–883.
5. Gupte S.(2007) Recent Advances in Pediatrics. New Delhi: Jaypee Medical Publishers; Nutrition, growth and development; pp. 100–104.
6. KuhnJP (2004) Imaging of the thorax. Caffey's Pediatric Diagnostic Imaging. 10th ed. Philadelphia: Mosby; pp. 768–769.
7. Gupte S.(2007) Recent Advances in Pediatrics. New Delhi: Jaypee Medical Publishers; Common deficiency disorders and their prevention. pp. 398–400.
8. Sukumaran TU.(2003) Current concepts in the management of Bronchial asthma. 1st ed. Ettumanur: Sreeshylam Publications; pp. 12–13.
9. Dodge RR, and Burrows B.(1980) The prevalence and incidence of asthma and asthma-like symptoms in general population sample. Am Rev Respir Dis. 122:567–75.
10. De Silva A, Autukorola S, Weerasinghe I, and Ahluwalia N.(2003) Iron supplementation improves status and reduces morbidity in children with URTI: A randomized control study in Colombo, Sri Lanka. Am J Clin Nutr. 77:234–241.
11. Means RT, and Krantz SB.(1992) Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease. Blood. 80:1639–1644.
12. Ganong WP.(2005) Review of Medical Physiology. Gas transport between the lungs and the tissues; 22nd ed. New York: McGraw-Hill; pp. 666–669.
13. Guyton A. (2006) Hall Text Book of Medical Physiology. Effect of hemoglobin to 'Buffer' the tissue PO<sub>2</sub>; 11th ed. Philadelphia: Saunders; pp. 507–508.

## Face mask in emergency department: is there a risk?

Abd Al-Kareem Falih, Montaha A. AL-Kareem & Sabah J. Ameen

Institute of Medical Technique / Community Health Department / Baghdad /Iraq

E-mail: abdulkareem.falih@yahoo.com

### ABSTRACT

Sterilization and hygiene of medical face masks in emergency department are very important subject because it will affect the life of patients which visit hospital in critical condition and using oxygen or ventolin nebulizer. The goal of this study is to investigate the validation of masks to be used in hospitals.

One hundred twenty seven samples of swab from face masks and 83 samples from nebulizer face masks were taken from the emergency departments at five hospitals in Al- Karkh city and six hospitals at Rusaffa Side chosen andomly during winter season (Jan.- March 2012).

Out of 127, 83(65.83%) sample swabs and out of 83, 34 (40.96%) samples showed bacterial contamination with gram negative in face masks. The most important bacteria are as follow *Staphylococcus* spp, *E.coli* , *Streptococcus* spp, *Bacillus* spp ,*Pseudomonas* spp , *Enterobacter* spp and *Klebsilla* spp .While Out of 32/ 39 (60.52%) the rate of contamination in face mask of nebulizer, 15/23(65.22%) gram positive and 8/23 (34.78%) gram negative , the bacterial isolates included ;*Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Bacillus* spp and *E.coli*.

It in essential to supply disposable oxygen face mask in order to protect all patients from cross infection or nosocomial infection or daily sterilization of face mask after each use .

**Key words:** bacterial contamination, face mask, emergency department.

### المخلص باللغة العربية

ان نظافة وتعقيم اقنعة الوجه الطبية المستخدمة في اقسام الطوارئ مهمة جدا , لما لها من تاثير على حياة المريض الذي يزور المستشفى في حالات حرجة وحا جته الى اقنعة الاوكسجين وبخاخات الفنتولين . ولمعرفة مدى نظافة هذه الاقنعة وجاهزيتها للاستعمال في مستشفيات العراق , تم اخذ 127,83 (83 /65) عينة من اقنعة الوجه , فقد اظهرت 83(65.83%) مسحة تلوثة بالبكتريا السالبة لملون كرام , وقد تمثلت التلوثة بالبكتريا العنقودية ( *Staphylococcus* spp , *E.coli* ) , بكتريا السبحية ( *Streptococcus* spp ) , العصوية ( *Bacillus* spp ) , الزنجارية ( *Pseudomonas* spp ) , العصوية المعوية ( *Enterobacter* spp ) و الرئوية ( *Klebsilla* spp ).

ومن اصل 39(23/60,52%) عينة من بخاخات الفنتولين كان التلوثة بالبكتريا الموجبة لملون كرام بنسبة 22,65% (15/23) والسالبة 43,78% (32/8) وتمثل التلوثة بالبكتريا العنقودية ( *Staphylococcus* spp ) , السبحية ( *Streptococcus* spp ) , العصوية ( *Bacillus* spp ) , وبكتريا القولون ( *E.coli* ) . لذا من الضروري ان يتم التجهيز باقنعة ذات الاستعمال الواحد والتي يمكن التخلص منها لحماية المرضى من الاصابات العرضية و عدوى المستشفيات او يجرى تعقيمها بعد كل استعمال.

## INTRODUCTION

The cleaning of medical instrument in the hospitals are very important subject because it related to health of society depend on good services of hospital to the patients , and sterilization of medical instrument also important for protection of good general health (1).Face mask of oxygen cylinder and nebulizer consider as simple medical instrument in emergency department of hospitals ,but very important because can be used easily and frequently especially in winter season where is the chest infection and asthma more in winter (2). Nosocomial infection are the major cause of morbidity and mortality in hospitalized patient (3,4). Contaminated oxygen mask increase the risk of nosocomial infection such as pneumonia and septicemia. (4) The thing which make to do this study is we see dyspnic young child take the same face mask which have been used by dead child before half an hour directly without any sterilization.

This study aimed to investigate the validation of face masks at 11 hospitals in Al-Karkh and Rusaffa cities. Are These face masks which are present in emergency department of out patients of each hospital clean and ready to use or risky in these Iraqi hospitals? also there is no information of contaminated hospital oxygen mask in Iraq ,so the present study aimed to evaluate the microbial quality of oxygen mask and nebulizer in the emergency department in ten Baghdad's hospital during winter season.

## MATERIALS AND METHODS

Eleven hospitals in Baghdad city were chosen randomly in the period between January to march 2012. Five hospitals in al-karkh side (AL-Noor hospital. AL-Kadhimiya teaching hospital. , AL-Escan children hospital. AL-Yarmouk teaching hospital. And Al-Kharkh general hospital.) and six hospitals in Rusaffa side (AL-Numan general hospital., Baghdad teaching hospital/medical city , Ibn Al-Nafees hospital., AL- kandy hospital., AL-Mansour children's hospital and Hospital of Imam Ali ).We take samples from the face mask of oxygen and face mask of nebulizer which are present in out patient of emergency department. All samples were transported to the laboratory. Bacterial species had been detected by pour-plate technique. (5)

One milliliter from each sample was added to blood agar (Oxoid), MacConkey agar (Oxoid ) , the number of bacterial colony were

determined after incubation of 37c for 24-48 hrs. Typical colonies on MacConky agar and blood agar were also examined using suitable biochemical tests , such as Gram stains , catalase test , motility , triple sugar iron and hemolytic activity were performed according to the Bergey 's Manual of systematic Bacteriology (6).

## RESULTS

Out of 127 clinical samples , 83(65.83%) showed bacterial growth from oxygen masks , among them 59.03 %(49/83) were Gram positive bacteria while 40.96%(34/83) were Gram negative .It was found also that 60.52%(23/38) of the clinical samples showed bacterial growth in face masks of nebulizer, 65.22% (15/23) contaminated with Gram positive and 34.78%(8/23) with gram negative. The most important bacteria were *Staphylococcus* spp in oxygen mask and nebulizer at rate 61.83%,67% respectively (Tables 1 ,2).

AL-Noor hospital and Al-Yarmouk teaching hospital were the more contaminated in oxygen masks and nebulizer at rate 81.25% and 63.63% respectively.

## DISCUSSION

The current study found that during winter season , 65% (83/127) clinical samples showed bacterial growth from oxygen masks samples in different Baghdad hospitals , seven bacterial species isolates were recorded included *E.coli* , *Enterobacter* spp, *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp, *Bacillus* spp, *Klebsilla* spp, and *Pseudomonas* spp. Among the 59.03% (49/83) were Gram positive bacteria while 40.96%(34/83) were Gram negative, the most prevalent organism was found to be *Staphylococcus*. spp (61.83%) followed by *Bacillus* spp (57.34%) , *Streptococcus* spp(57.24%) , , *E.coli* (47.74%) , *Enterobacter* (47.25%) , *Klebsilla* spp (41.25%) , and *Pseudomonas* spp (27.54% ) (Table 1).Also observed various bacteria found in the oxygen mask such as *Streptococcus* , *E.coli* , *Pseudomonas* which are opportunistic when person's immune system is compromise (7).

The present study found that the *Staphylococcus*.spp was the first most prevalent organism ranging 61.83% , maximum growth of *S. taphylococcus*.spp observed in emergency department of AL-

Escan hospital (100%) followed by Al-yarmouk teaching hospital, 90.9 % and minimum growth of *Staphylococcus* spp in

AL-Kadhimiya teaching hospital, 20%.( Table 1 ).

**Table (1): Percentage rate of bacterial contamination from oxygen masks in emergency department from Baghdad's hospitals**

Bacterial isolates Hospital's names	<i>E.coli</i> %	<i>Enterobacter.</i> %	<i>Strept. spp</i> %	<i>Staph. spp</i> %	<i>Bacillus</i> spp %	<i>Kleb. spp.</i> %	<i>Pseudomonas spp.</i> %
Al-numan general H.	53.3	53.3	100	73.33	53.3	53.3	26.6
AL-Noor H.	26.6	26.6	66.6	66.6	100	66.6	26.6
Al-kadhimiya teaching H.	53.3	20	53.3	20	53.3	53.3	13.3
Baghdad H.	50	50	50	50	50	50	40
Ibn Al-nafes H.	57.1	71.4	42.8	71.4	42.8	28.6	28.6
Al-yarmouk teaching H.	72.72	63.63	63.63	90.9	63.63	63.63	27.27
Al-kendy H.	42.8	42.8	42.8	42.8	57.1	42.8	14.8
AL-Escans children H.	40	50	50	100	50	50	30
AL-Mansour children H.	40	53.3	53.3	53.3	53.3	53.3	26.6
AL-Karkh generalH.	41.66	41.66	50	50	50	41.66	41.66

**Table (2): Percentage rate of bacterial contamination in face masks Of nebulizer in emergency department from Baghdad's hospitals**

Bacterial isolates Hospital's names	<i>E.coli</i> %	<i>Strept. spp.</i> %	<i>Staph.spp.</i> %	<i>Bacillus spp.</i> %
Al-Numan general H.	0	50	50	50
AL-Noor H.	50	75	100	50
Al-kadhimiya teaching H.	10	50	40	50
Baghdad H.	50	50	50	100
Ibn Al-nafes H.	50	75	50	50
Al-yarmouk teaching H.	50	100	100	50
AL-Escans children H.	60	80	50	80
AL-Mansour children H.	25	50	100	50
AL-Karkh generalH.	25	20	80	100
Hospital of Imam Ali	25	100	50	50

The highest percentage rate of *E.coli* in AL-Yarmouk hospital 72.72% and Ibn Al-Nafees hospital 57.1% while the low percentage rate in Al-Noor hospital 26.6%. The results which we have been get it from this study was important and should be taken seriously because 65% of face mask are contaminated and this coincide with other studies (8,9).

From Table (2) we notice that the percentage rate of bacteria contamination in face masks of nebulizer in emergency departments from ten hospitals, there are four bacterial isolated included *E.coli*, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, and *Bacillus* spp.

This study showed also that, 60.52%(23/39) clinical samples showed bacterial growth in face masks of nebulizer, the growth of Gram positive was very high 65.22%, compared with Gram negative organisms 34.78%

The most prevalent organism among gram negative and positive *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Bacillus* spp, and *E.coli* at rate 67%, 65%, 63%, 34.5% respectively.

*Pseudomonas* is the most common cause of infections of medical devices, cause community-acquired pneumonias, as well as ventilator-associated pneumonias, being one of the most common agents isolated in several studies (10,11).

Our results indicate that a majority of the oxygen masks in those hospitals are not safe in comparison to the standard limits. Several published studies are in accordance with these data, a study by (12,13) demonstrated that oxygen masks are highly contaminated and posed substantial risk for developing a food borne disease or nosocomial infection. Microorganisms such as *Enterococcus* and gram negatives can survive on inanimate objects such as hospital equipment for many months<sup>[12]</sup>.

Table (2) showed that the highest rate of contamination of oxygen masks of nebulizer was in the emergency department of AL-Noor hospital 81.25% followed by AL-Yarmouk teaching hospital 75% and AL-Escan hospital 67.5%, while the rate of bacterial contamination in AL-Mansour children hospital, AL-Kharkh hospital and Hospital of Imam Ali 56.25% for each one, and 37.5% for AL-Numan general hospital and AL-Khadhimiya teaching hospital.

Eames *et al.*, (2009) and Hui *et al.*, (2006b) also demonstrated that the number of bacteria in oxygen masks coming from the mouth and nose of personal is essentially inconsequential compared to the amount of bacteria shed from skin (13,14) most studies agree with the

present one (15) revealed that intact skin is an effective barrier to most microorganisms.

Longtin *et al.*, (2009) mentioned to minimize bacterial contamination in emergency department, the staff must avoid re-using the same oxygen masks also they must clean their hands with soap and water or an alcoholic-based hand sanitizer after they take off oxygen mask (16). Several published studies agree with these data, when clean (washed) hands or gloves touch contaminated objects, they become contaminated with similar organisms which can then potentially be transmitted to other surface and people (17,18,19). Avoid unprotected mouth to mouth resuscitation for all patients, door in the casualty department should remain closed (20).

Martinez *et al.*, (2003) and Cotterill *et al.*, (1996) also demonstrated that the equipment used at emergency department should be thoroughly cleaned followed by disinfection and/or sterilization (21,22).

In this study AL-Noor hospital and AL-Yarmouk teaching hospital were the most contaminated in face masks of nebulizer at rate 81.25% and 63.63% respectively.

## CONCLUSION

The result of our study should be taken seriously, that face mask of oxygen or of ventolin nebulizer in the out patient of emergency departments of all hospitals are unclean and non sterilized after each using by any patient.

## RECOMMENDATIONS

It is essential to supply disposable oxygen masks in order to protect all patients from cross infection or nosocomial infection or daily sterilization of oxygen mask after each use in both oxygen or ventolin nebulizer mask.

## REFERENCES

1. Howard J., Hannsen A. (2007) Principles of a clean operating environment . J. Arthrop.22.(7): 6-11.
2. Margaret IP, Julian WT, David SC, Alexandra L NW, Matthew TVC, Gavin M J, Albert TP, Stephen D H, Paul KS. and Joseph JYS. (2007) Airflow and droplet spreading around oxygen masks: a simulation model for infection control research .Am.J.Infect .control. 35:684-689.
3. Mohammed J., Sabzghabae AM., Badri SS., Soltani A., and Maracy MR. (2009). Bacterial contamination of hospital – prepared enteral tube feeding formulas in Isfahan, Iran. J.Res Med Sci 14 (3). : 149-156.
4. Jamshaid A., Zafar LA., and Abbas K (2008) Prevalence and B- lactamase producing bacterial isolates in a teaching hospital in Peshawar, Pakistan: a four year study. Pak .J .Pharm . Sci, 21(4): 379- 389.
5. Atlas MR., Brown AE., and Parks LC.(1995) Laboratory manual : Experimental Microbiology.Mosby –year Book,Inc.
6. Sneath PHA.(1986) Bergey's manual of systematic bacteriology( 4<sup>th</sup> ed). Philadelphia .Willians and Wilkins.
7. Rutala WA, Gergen MF., Jones JF, and Weber DJ. (2010) Levels of microbial contamination on surgical instruments .A. J. infec.cont. 26( 2): 469-473
8. Fraser C, Riley S, and Anderson R M (2004) Dispersal of respiratory droplets with open vs. closed oxygen delivery masks. Implications for the transmission of sever acute respiratory syndrome. Chest .(125): 1155- 1157.
9. Eames J W T, ,Li Y. and Wilson P.(2009) Airborne transmission of disease in hospitals. J. Royal soc. interface.6(6):1-16.
10. Marshall B. , and Levy S., (2011) Microbial contamination of musical wind instruments .J. Environ. Heal. Resh.10(8): 26-31
11. Clark RP., and Decalcina –Gaff ML.(2009) Some aspects of an airborne transmission of infection .J.R.Soc.Interface .6: S 767-S781.
12. Bert F , Andren M.Durand F, Galdbart JO . Moreau R . Branger C, Lambert – Zecharsky N and Valla D(2003) Nosocomial and community acquired spontaneous bacterial peritonitis: Comparative microbiology and Therapeutic implication. Eur .J.Cli. Microbiol . Dis. 22(1):10-15.
13. Eames I., Shoaib D., Klettner CA., and Taba V.(2009) Movement of airborne contaminants in hospital isolation room .J .R.Soc . Interface .6 : S757-S766.
14. Hui D S.,IP M., Tang JW, Wong AL., Chan PPK., and Sung JJ.(2006b) Airflows around oxygen masks: a potential source of infection .Chest (130): 822- 826.
15. Obasi C., Agwu A, Akinpelu W. Hammons R. Clark C, Etienne-cummings R. Hill P, Rothman R, Babalola E., Ross T, Carroll K. and Asiyanbola H. .(2009) Contamination of equipment in emergency settings: An exploratory study with a targeted automated intervention. Ann Surg Innov Res.3(8):39-46
16. Longtin Y., Akakpo C., Rutschmam OT., Pittet D., and Sax H (2009) Evaluation of Patients mask use after the implementation of cough etiquette in the emergency department .Infect .Control . Hosp. Epidemiol .30: 904-908.
17. Center for disease control (CDC) (1992) Public health focus: surveillance, prevention, and nosocomial infections. Morb Mortal Wkly Rep.41:783-8.
18. Hot B. (2004).contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surface reservoirs for nosocomial infection? Clin Infect Dis . 39:1182-9.
19. Spaulding EH (1968) Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: Lawrence CA, Block SS, editor. Disinfection Sterilization and Preservation. Philadelphia, PA: Lea and Febiger. 517–531
20. O'Driscoll BR, Howard LS, and Davison AG.(2008) Guideline for emergency oxygen use in adult patients . Oxf. Int. J. Respire. Med.36(4):15.
21. Martinez JA, Ruthazer R, Hansjosten K, Barefoot L, and Snyderman DR. (2003) Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-resistant enterococci in patients treated in a medical intensive care unit. Arch Intern Med; 163:1905.
22. Cotterill S R., Evans R., and Fraise AP.(1996) An unusual source for an outbreak of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* on an intensive therapy unit .J.Hosp. Infect .32: 207-216.

## Salivary Immunoglobulin (A, G and M) in Relation to Dental Caries Among Group of Kindergartens Children

(1) Nada J. Radhi & (2) Dunia W. Alfayad

(1) Dept. of Pediatric and Preventive dentistry/ College of Dentistry / University of Baghdad/ Iraq

(2) Dept. of Oral Pathology / College of Dentistry/ University of Anbar/ Iraq

### ABSTRACT

The general term "saliva" refers to the fluid contains a large number of innate and acquired factors that protect the oral hard and soft tissues. the aim of the current study is to measure the changes in the concentration of IgA, IgG and IgM in stimulated saliva and their relation to severity of dental caries among kindergarten children.

Seventy two kindergarten children aged four years old were the sample of this study who divided into three groups; 24 child in each group according to: decayed, missing and filled teeth group I: dmft =0 (caries free), group II: dmft = 1-6 (low to moderate caries), and group III: dmft > 6 (severe caries). Dental caries (dmft/dmfs) was assessed according to WHO (1997). Stimulated whole saliva samples were collected and analyzed to determine the concentrations of salivary IgA, IgG and IgM by single radial immunodiffusion technique. All data were analyzed using SPSS version 18.

The results showed a highly significant difference in mean values of salivary immunoglobulins between three groups by using Anova as a higher mean value of IgA was recorded among caries free children ( $p < 0.000$ ), while a higher mean values of IgG and IgM were found among group with dmft > 6 ( $P < 0.007$ ,  $p < 0.000$ ) respectively. Strong negative highly significant correlation was recorded between salivary IgA and caries experience (dt and ds). While a positive highly significant correlation was recorded regarding salivary IgG and IgM with caries experience.

This study suggests that Immunoglobulin in saliva may provide protection against dental caries in children, especially IgA and IgM which may play an important role locally.

**Keywords:** Kindergarten children, Dental caries, Salivary IgA; IgG; IgM.

### الملخص باللغة العربية

اللعاب هو السائل الذي يحتوي على عدد كبير من العوامل المتأصلة والمكتسبة التي تحمي الأنسجة الفموية الرقيقة والصلبة. أجريت هذه الدراسة على شريحة من الأطفال بعمر أربع سنوات في مجموعة من رياض الأطفال في مدينة بغداد. هدف هذه الدراسة هو قياس التغيرات في تركيز البروتينات المناعية (IgA, IgG, IgM) في اللعاب المحفز وعلاقتهم بشدة تسوس الأسنان لدى أطفال الروضات.

تألفت عينة الدراسة من اثنين وسبعين طفل من رياض الأطفال بعمر أربع سنوات وقد جُزئت العينة إلى ثلاث مجاميع: احتوت كل مجموعة أربع وعشرون طفل تبعاً لتصنيف نخر، قلع، حشوة الأسنان: المجموعة الأولى خالية من التسوس ( $dmft=0$ )، تكونت المجموعة الثانية من الأطفال الذين لديهم تسوس قليل إلى متوسط الشدة ( $dmft=1-6$ )، المجموعة الثالثة ذوي التسوس الشديد ( $dmft > 6$ ). استخدم تصنيف منظمة الصحة العالمية للعام 1997 لقياس تسوس الأسنان. تم تجميع عينات اللعاب المحفز وحللت كيميائياً لتحديد تراكيز البروتينات المناعية (IgA, IgG, IgM) في اللعاب بواسطة (Single radial immunodiffusion technique). جميع البيانات حللت احصائياً باستخدام SPSS version 18.

أشارت النتائج إلى فروق معنوية عالية في قيم متوسط تراكيز البروتينات المناعية بين المجاميع الثلاث وسجل ارتفاع البروتين المناعي (IgA) لدى المجموعة الخالية من التسوس ( $P < 0.000$ )، بينما وجد ارتفاع في قيم البروتينات المناعية (IgG, IgM) لدى مجموعة شديدي التسوس ( $dmft > 6$ ) ( $P < 0.007$ ,  $P < 0.000$ ) بالتتابع. سجل ارتباط معنوي سالب قوي وملحوظ بين البروتين المناعي (IgA) وتسوس السن واسطحه، بينما سجل ارتباط معنوي موجب للبروتينات المناعية (IgG, IgM) مع تسوس الأسنان.

اقترحت الدراسة أن البروتينات المناعية يمكن أن توفر حماية للأسنان ضد التسوس وخاصة (IgA, IgM) واللذين يمكن أن يلعبوا دوراً مهماً موضعياً.

## INTRODUCTION

The etiology and pathogenesis of dental caries are known to be multifactorial, but the interplay between intrinsic and extrinsic factors is still not fully understood (1). As in other host/parasite interactions, there appear to be marked variations in individual susceptibility to the disease (2). The general term "saliva" refers to the fluid that surrounds all oral hard and soft tissues. This oral fluid (that is, whole saliva) represents a mixture of individual fluids and components derived from several sources. The sublingual, submandibular and parotid glands are salivary exocrine glands which are involved in initial digestive processes as well as in oral host defense against pathogens. The salivary glands are composed of secretory acinar cells, myoepithelial cells and ducts which convey secretions (3-6). Salivary IgA is an important first-line defense against pathogens and can be used in the diagnosis of infections. Normal salivary IgA secretion rates (~150 mg/min) decrease with stress and aging (7-9). Specific salivary IgA antibodies can be detected against *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, EBV, adenovirus and HIV-1 (10-13). Salivary IgG antibodies are also useful in the detection of *Helicobacter pylori*, CMV, parvovirus B19 and importantly, HIV infections (11). Recombinant HIV-1 gp120 vaccine induces both specific salivary IgA and IgG (14). Tonsillectomy reduces total salivary IgG and IgM, but overall antimicrobial defense is unimpaired (15). Immunoglobulins were found in dental plaque and in the superficial layers of the lesions which were exposed to saliva. s-IgA was the most frequent, followed by IgG and IgM. IgG had the greatest capacity for penetration into the lesions, followed by IgM and sIgA. IgM was most frequently found in association with complement C3 (16-19). The most significant characteristics of the salivary immunoglobulin system are quantitative domination of immunoglobulin A, local synthesis and specific structure (20)(IgA), which is found in high concentrations in the mucous membranes, particularly those lining the respiratory passages and gastrointestinal tract, as well as in saliva and tears. The basic function of salivary immunoglobulin A is inhibition of bacterial adherence rather than antigens destruction (21-23). The mucosal immune system begins to develop shortly after conception, and whilst structurally complete at birth, it is functionally immature. Functional development is rapidly stimulated after birth

by the ingestion and inhalation of bacterial and food antigens and mitogens (24).

## MATERIALS AND METHODS

The sample of this study consisted of 72 kindergarten children aged four years old in Baghdad city. It's divided into three groups; 24 child in each group (12 males and 12 females) according to: decayed, missing and filled primary teeth, group I: dmft = 0 (caries free), group II: dmft = 1-6 (low to moderate caries), and group III: dmft > 6 (severe caries) according to Shahrabi et al (25) with modification.

Dental caries was diagnosed according to criteria suggested by WHO for the year 1997 (26) by using (dmft/dmfs) index of primary teeth and clinical examination was done by using mouth mirror and WHO probe. Stimulated salivary samples were collected and each child was asked to chew a piece of Arabic gum (0.5 gm) for one minute all saliva was removed by expectoration (27), chewing was continued for five minutes with the same piece of gum and saliva collected in a sterile screw capped bottle. The salivary samples were centrifuged at 4000 r.p.m for 30 minutes; the clear supernatant was separated by micropipette and it was divided into 3 portions in test tubes, stored at -20°C in a deep freeze till the time of analysis, which was carried out at the teaching laboratories of the Medical City Hospital.

Salivary IgA, IgG and IgM levels were determined by single radial immunodiffusion technique (28), using minimum level (ML) plates or low concentration of immunodiffusion plates for quantitative determination of IgA, IgG and IgM range in human saliva. This technique depends on the precipitation reaction to detect the antigen antibody complex reaction in a semisolid medium (Agar). Evaluate results using table of reference in which sample concentrations corresponding to each ring diameter was read for IgA, IgG and IgM in part per million (ppm).

Statistical Analyses were done by using SPSS version 18 (Statistical Package for Social Sciences). The included variables were conveniently described by mean and SD and the parametric statistical tests of significance were used. The analysis of variance and least significant difference were used to test the statistical difference in mean between three groups. The statistical significance, direction and strength of linear correlation between two quantitative variables is measured by



Spearman's rank linear correlation coefficient.  
P value less than 0.05 level of significance was considered statistically significant. The confidence limit was accepted at 95%.

## RESULTS

Caries severity (dt and ds) are seen in Table (1). Results showed decay fraction is the largest while no missing and filled primary teeth were noticed. Higher mean values of dt and ds were recorded among group with dmft > 6.

**Table (1): Caries Severity of Primary Teeth dt and ds (dt= Decayed teeth, ds= Decayed surface) For Three Groups (Group I: dmft=0, Group II: dmft = 1-6, and Group III: dmft > 6) by Gender.**

Gender	No.	Group I (dmft= 0)		Group II (dmft= 1-6)		Group III (dmft> 6)	
		Dt	ds	dt	ds	dt	ds
		Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
M	12	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	2.50 $\pm$ 1.50	3.75 $\pm$ 2.45	7.92 $\pm$ 1.56	12.25 $\pm$ 4.75
F	12	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	4.58 $\pm$ 1.83	6.75 $\pm$ 3.51	8.17 $\pm$ 1.40	18.08 $\pm$ 8.77
T	24	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	3.54 $\pm$ 1.45	5.25 $\pm$ 3.39	8.04 $\pm$ 1.45	15.17 $\pm$ 7.51

**Table (2): Mean Values of Salivary Immunoglobulins (IgA, IgG and IgM) and Statistical Analysis for Three Groups**

Groups	IgA	IgG	IgM
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
Group I (dmft= 0)	61.79 $\pm$ 15.20	43.80 $\pm$ 19.69	20.39 $\pm$ 5.63
Group II (dmft= 1-6)	55.26 $\pm$ 12.74	42.32 $\pm$ 16.71	33.80 $\pm$ 9.48
Group III (dmft> 6)	34.38 $\pm$ 7.81	59.00 $\pm$ 22.00	37.74 $\pm$ 7.10
F	32.46	5.32	56.63
P-value	0.000**	0.007**	0.000**

**\*\*Highly Significant**

The mean values of salivary immunoglobulins (A, G and M) in part per million (ppm) among three groups are demonstrate in Table (2). A higher mean value of IgA was recorded among caries free children compared to other two groups, while a lower value was reported among group with dmft > 6. Analysis of variance (Anova) showed a statistically highly significant difference between three groups. LSD test showed significant difference

between group I and III (Mean difference= 27.41, P= 0.000), group II and II (Mean difference= 20.88, P= 0.000) Figure (1).

A higher value of salivary IgG was noticed among group with dmft > 6, Anova test recorded a statistically highly significant difference between groups. LSD test showed significant difference between group I and III (Mean difference= -15.20, P= 0.009), group II

and III (Mean difference= -16.67 P= 0.004)  
Figure (1).

Concerning salivary IgM, a lower mean value was noticed among caries free children in comparison to other two groups, while the higher value was recorded among group with dmft > 6. A statistically highly significant difference between three groups was recorded by using analysis of variance. LSD test showed significant difference between group I and III (Mean difference= -15.20, P= 0.009), group II and III (Mean difference= -16.67 P= 0.004) Figure (1).

	Group I (dmft= 0)	Group II (dmft= 1-6)	Group III (dmft> 6)
<b>IgA</b>	NS	_____	
	S	_____	S
<b>IgG</b>	NS	_____	
	S	_____	S
<b>IgM</b>	S	_____	
	S	_____	S

**Fig. (1): The Least Significant Difference in IgA, IgG and IgM between Three Groups**

Table (3) illustrates the correlation coefficient between caries – experience of primary teeth (dt and ds) and salivary immunoglobulins (IgA, IgG and IgM) among three groups. A strong negative highly significant correlation was recorded between IgA and caries severity (dt and ds). While a positive highly significant correlation was seen regarding IgG and IgM with dt and ds.

**Table (3): Correlation Coefficient between Caries – Experience (dt and ds) of Primary Teeth and Salivary Immunoglobulins for Three Groups**

	dt		ds	
	r	P	r	P
<b>IgA</b>	<b>-0.75</b>	<b>0.000**</b>	<b>- 0.69</b>	<b>0.000**</b>
<b>IgG</b>	<b>0.30</b>	<b>0.009**</b>	<b>0.32</b>	<b>0.005**</b>
<b>IgM</b>	<b>0.78</b>	<b>0.000**</b>	<b>0.72</b>	<b>0.000**</b>

**\*\*Highly Significant**

## DISCUSSION

Dental caries is a multifactorial disease, the development of caries is a complicated process depends on factors related to de- and remineralization of tooth surface, colonization and metabolism of dental plaque. The progression process is affected by determinants as saliva (29). In this study salivary immunoglobulins A, G and M were searched and related to dental caries. The soft and hard tissues of the oral cavity are under protection by specific and non specific immune system. Their function is to influence the oral micro biota by interfering with adherence or by inhibiting bacterial metabolism (30). Several animal and human studies showed that increased antibody level to streptococcus mutans, either s-IgA or IgG can enhance the elimination of streptococcus mutans from the oral cavity and interfere with its cariogenic potential (31). In present study salivary IgA was estimated in all the three groups and was found to be decreased with increased number of carious lesions, this decrease of antibody titer was statistically significant. These findings were also reported by other studies (32,33). There are many predisposing factors which may influence on salivary immunoglobulin concentration including flow rate, age, diet and inter individual variations (34). The higher levels of salivary IgA may protect against dental caries as a negative strong highly significant correlations were noticed between them. In this study salivary IgG and IgM concentrations were increased in high caries group as positive strong highly significant correlations were found. This was recorded by other studies (35, 36). Furthermore, the IgG antibodies may enhance

phagocytosis and killing of oral microorganisms through activation of complement or opsonization (37, 38). Both secretory IgM and to a lesser degree IgG may serve to replace IgA in some individuals selectively lacking s-IgA (39, 40). Studying the cariogenic bacteria may give an obvious picture in regards to effects of the immune system and dental caries.

## CONCLUSION

It seemed that in children with higher caries activity, there was a lack of local protective mechanism for which there may be an exaggeration of colonization of microorganism on tooth surface thereby increasing susceptibility to dental caries. Hence, it is the Immunoglobulin in saliva that provides protection against dental caries in children, especially IgA and IgM which may play an important role locally.

## REFERENCES

1. Holbrook WP.(1993) Dental caries and cariogenic factors in preschool urban Icelandic children. Caries Res. 27:431-437.
2. Cataldo W, Leone DMD, and Frank G O.(2001) Physical and Chemical Aspects of Saliva as Indicators of Risk for Dental Caries in Humans. J. Dent. Edu. 65:1055-1062.
3. Marilena M, Corina S, Felicia S, Lavinia A, Doina V, Mariana A, and Andreea P.(2003) The Variation of Some Salivary Components In Correlation With Sex And Age At Pu Rosen SF, Bailey JB. Anatomy and physiology of the salivary glands. TMJ .53:254-258.

4. Rosen SF, and Bailey JB. (2011) Anatomy and physiology of the salivary glands. Grand rounds presentation. UTMB, Otolaryngology.
5. Herenia LP.(2002) Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. J Can Dent Assoc. 68(3):170-174.
6. Bashir A.(1999) Saliva not only beneficial but benevolent as well. J K Pract. 1(2):43-47.
7. O'Sullivan EA, and Curzon ME.(2000) Salivary factors affecting dental erosion in children. Caries Res. 34:82-87.
8. Bhatia S, Chawla HS, Tewari A, and Ganguly NK.(1986) Naturally occurring s-IgA saliva of adults and children—correlation with dental caries activity. J Indian Soc Pedo Prevent Dent. 4:1-7.
9. Kirstila V, Tenovuo J, Ruuskanen O, Nikoskelainen J, Irjala K, and Vilja P.(1994) Salivary defense factors and oral health in patients with common variable immunodeficiency. J Clin Immun. 14:229-236.
10. Sundh B, Johansson I, Emilson CG, Nordgren S, and Birkhed D.(1993) Salivary antimicrobial proteins in patients with Crohn's disease. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 76:564-569.
11. Naspitz GM, Nagao AT, Mayer MP, and Carneiro-Sampaio MM.(1999) Anti-Streptococcus mutans antibodies in saliva of children with different degrees of dental caries. Pediatr Allergy Immun. 10:143-148.
12. Fontana M, Dunipace A J, Stookey G K, and Gregory R L.(1999) Intranasal immunization against dental caries with a Streptococcus mutans-enriched fimbrial preparation. Clin Diagn Lab Immunol. 6:405-409.
13. Gleeson M, Hall ST, Warren A M, Flanagan AJ, and Clancy RL.(1999) Salivary IgA subclasses and infection risk in elite swimmers. Immun. & Cell Biol. 77: 351-355.
14. Shillito EJ. and Lehner T.(2012) Immunoglobulins and complement in crevicular fluid, serum and saliva in man. Clin Diagn Lab Immunol. 57: 109-210.
15. Michael E L.(2004) Immunoglobulins. McGraw Publishers.
16. Ewers U, Stiller-Winkler R, and Idel H.(1982) Serum immunoglobulin, complement C3, and salivary IgA levels in lead workers. Environ. Res. 29: 351-357.
17. David A, and Webster B.(1998) Immunodeficiency. Primary Encyclopedia of Immunology (Second Edition) 1276-1282.
18. Klinika ZA, Medicinski F, and Novi S.(2000) Clinical significance of analysis of immunoglobulin A levels in saliva. Diagn Lab Immunol 49:164-168.
19. Olivier M, Craig G, Bao L, Sorina G, Miriam R, Yuko F, Yuetching L, Kathryn D, Nielsen EM, Erica D, Hill R K, Nicole H, and Lazarus EC. (2008) An Indispensable Role for the Chemokine Receptor CCR10 in IgA Antibody-Secreting Cell Accumulation. J. Immun. 181: 6309-6315.
20. Lúdvíksson BR, Arason GJ, Thorarensen O, Ardal B, and Valdimarsson H.(2005) Allergic diseases and asthma in relation to serum immunoglobulins and salivary immunoglobulin A in pre-school children: a follow-up community-based study. 35: 64-69.
21. Ewing P, Otczyk DC, Occhipinti S, Kyd JM, Gleeson M, and Cripps AW.(2010) Developmental Profiles of Mucosal Immunity in Pre-school Children. Clin. & Develop. Immun. 76-81
22. Smith DJ, vanHoute J, Kent R, and Taubman MA.(1994) Effect of antibody in gingival crevicular fluid on early colonization of exposed root surfaces by mutans streptococci. Oral Microbiol. Immunol. 9:65-69.
23. Hofman LF.(2001) Human saliva as a Diagnostic Specimen. J Nutr 131: 1621S-1625S.
24. Anderson AO, Snyder LF, Pitt MLM, and Wood OL.(1989) Mucosal priming alters pathogenesis of Rift Valley fever. Adv. Exp. Med. Biol. 237:727-733.
25. Shahrabi M, Nikfarjam J, Alikhani A, Akhoundin N, Ashtiani M, and Seraj B.(2008) A comparison of salivary calcium, phosphate, and alkaline phosphatase in children with severe, moderate caries, and caries free in Tehran's kindergartens. J Indian Soc Pedod Prevent Dent. 46:121-129
26. WHO (1997) Oral health surveys basic methods 4th ed. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
27. Tenovuo J, and Lagerlöf F.(1996) Saliva In: Textbook of clinical cariology edt. By Thylstrup A and Fejerskov O. 2<sup>nd</sup> ed. Munksgaard, Copenhagen, Denmark. 17-44.
28. Mancini G, Carbonara AO, and Heremans JF. (1965) Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion . Immunochem. 2:235-239.
29. Thylstrup A, and Fejerskov O.(1996) Textbook of clinical cariology. 2<sup>nd</sup> ed. Munksgaard- Denmark.
30. Kilian M, and Bratthal D.(1996) Caries immunology. In: Textbook of clinical cariology edt. By Thylstrup A and Fejerskov O. 2<sup>nd</sup> ed. Munksgaard- Copenhagen, Denmark, chapter 17.

31. Marcotte H, and Lavoie MC.(1998) Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbial Molec Biol Rev.* 62:71.
32. Everhart DL, Bamgboye PO, and Schwartz MS.(1982) Salivary anti-Streptococcus mutans changes over a six-month period in children ages two–five years. *J Dent Res.* 61:386–390.
33. Bowen WH, Cohen B, Cole MF, and Colman G.(1975) Immunization against dental caries. *Br Dent J.* 139:45–58.
34. Widerstrom L, and Bratthall D.(1984) Increased IgA levels in saliva during pregnancy. *Scand J Dent Res.* 92:33-37.
35. deFarias DG, and Bezzerra ACB.(2000) Salivary antibodies, amylase and protein from children with early childhood caries. *Clin Oral Invest.* 7:154-157.
36. Alrudainy OI.(2006) Measurements of salivary and serum immunoglobulins A, G, M and its relation to different degrees of dental caries and gingival condition in selected group of children. M. Sc. Thesis, College of Dentistry, University of Baghdad.
37. Kent R, Smith DJ, Joshipura K, Soparkar P, and Taubman MA.(1992) Humoral IgG antibodies to oral microbiota in a population at risk for root-surface caries. *J Dent Res.* 71:1399–1407.
38. Lehner T.(1992) Immunology of oral diseases. Blackwell Scientific Publications, Oxford. United Kingdom. 3<sup>rd</sup> ed.
39. Brandtzaeg P.(1995) Molecular and cellular aspects of the secretory immunoglobulin system. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* 103:1-19.
40. Fernandes FR, Nagao AT, Mayer MP, Zelante F, and Carneiro-Sampaio MM.(1995) Compensatory levels of salivary IgM anti-Streptococcus mutans antibodies in IgA-deficient patients. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 5(3):151-155.

**Biofilm and Levan Production by *Bacillus* Species Isolated from Human Feces****Mahdi S. AL-Rubaie, Adnan H. Abbas, Isam Sh. Hamza, Amir Kh. Abbas, Saad S. Fakhary & Farked F. Abdelhameed***Ministry of Sciences and Technology / Baghdad / Iraq**E-mail: saad.alatem@yahoo.com***ABSTRACT**

Faecal samples were collected from fifteen healthy adult human volunteers. Heat-treated colonies were recovered and purified by streaking on fresh LB plates. Twenty spore former isolates were used for biochemical analysis by the use of API 50 CHB kit, as *Bacillus insolitus*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus polymyxa* and *Bacillus bodius*. Fifteen *Bacillus* isolates (75%) revealed a mucous phenotype and adhered to the agar surface medium when growing on agar with sucrose as a result for levan production. While 85% of *Bacillus* isolates formed biofilms, which have a protective and adhesive properties and have been associated to a longer persistence of Bacilli in the gastrointestinal tract (GIT) human.

**Keywords: *Bacillus* species. Classification. Biofilm. Levan.****الملخص باللغة العربية**

جمعت خمسة عشر نموذج براز من المتبرعين الاصحاء، وعزلت المستعمرات البكتيرية بعد معاملتها حرارياً وزرعها على أطباق من الوسط LB. تم الحصول على عشرين عزلة بكتيرية مقاومة لدرجات الحرارة العالية تعود إلى *Bacillus insolitus* و *Bacillus laterosporus* و *Bacillus polymyxa* و *Bacillus bodius* بعد تشخيصها بالطرق الكيموحيوية باستخدام API 50 CHB Kit. وقد تبين أن 75% من العزلات البكتيرية منتجة لمادة الليفان وتظهر كمستعمرات مخاطية الشكل ملتصقة على سطح الوسط الزراعي الغني بالسكر، في حين تشكل عزلات بكتيريا *Bacillus* المكونة للفيلم الحيوي 85%، وتضيف هذه الصفة خصائص دفاعية والتصاقية وبقاءها مدة أطول في الجهاز المعدي المعوي للإنسان.

## INTRODUCTION

Formation of biofilms, surface-associated multicellular assemblages, is an important microbial survival strategy (1,2). Relative to the rapid, continual, and extreme changes in environmental conditions that can characterize a planktonic existence, biofilms offer the constituent cells some shelter, enabling them to establish long-term relationships with each other and their immediate surroundings. Cells in different regions of a developing biofilm experience diverse environmental conditions, resulting in marked patterns of cellular differentiation (3,4). Such spatiotemporal organization is particularly striking in biofilms formed by wild strains of the spore-forming bacterium *Bacillus subtilis*. Unlike strains that have been domesticated by decades of propagation in the laboratory (e.g., *B. subtilis* 168), which form thin and relatively undifferentiated biofilms, wild *B. subtilis* strains form elaborate multicellular communities that display conspicuous architectural features, such as fruiting-body-like aerial projections that extend from the surfaces of the biofilm. The tips of these fruiting bodies serve as preferential sites for spore formation (5).

Levansucrase is a fructosyltransferase forming levan from sucrose that is a *B*-2,6-linked fructose homopolymer with some *B*-2,1-linked branched point. Commercial interest in the production of levan has intensified in recent years (6).

Levan has some potential pharmaceutical applications owing to its anticarcinogenic and hypocholesterolemic properties (7). Levan has a number of effects on the immunologic system, including tumor suppression and enhancement of leukocyte antitumor activity (8). In addition to levan formation, levansucrase catalyzes fructose liberation and fructo-oligosaccharide formation concomitantly.

Fructo-oligosaccharides also have potential applications in foods because of their good physiologic functionalities (9). Microbial sources for levansucrase enzyme, such as *Acetobacter diazotrophicus* (4), *B. circulans* (10), *B. natto* (11), and *B. subtilis*, were recently reported by many investigators (12). It was found that *B. subtilis* NRC 33a, which produced both inducible (with sucrose) and constitutive (with glucose) extracellular levansucrase, was the most potent strain and it was chosen for the present work. Some physiologic investigations were tested. Enzymic synthesis of levan and low-

molecular weight fructo- oligo- saccharides was also studied.

It is generally accepted that the primary reservoir of spore-forming Bacilli is the soil and the ability of spores to be dispersed in dust and water has been identified as the cause of their presence in almost every conceivable habitat. Several species of spore-formers are commonly found also in the gastrointestinal tract (GIT) of a variety of animals (13,14). Only few *Bacillus* species are pathogens of animals (*B. cereus* and *B. anthracis*) or insects (*B. thuringiensis*), while the majority of them are nonpathogenic. Their presence in the GIT has been considered as due to the ingestion of bacteria associated with soil, water, air or foods.

However, a new theory is now emerging in which spore-former species are thought to establish an endosymbiotic relationship with their host, being able to survive and proliferate within the GIT and specifically interact with immuno and intestinal cells (15). Recent work has shown that in a murine model ingested spores can safely cross the stomach barrier and germinate in the intestine (16). In the same experimental model it has been also shown that spores can perform a complete life cycle, with germination in the upper part of the intestine, vegetative growth and sporulation before being expelled in the feces (14). Other studies have established that *B. subtilis*, in combination with *Bacteroides fragilis*, is able to induce the development of gut-associated lymphoid tissue (GALT) and preimmune antibody repertoire in rabbits (17).

This study also showed that sporulation, as opposed to vegetative cell growth, is essential for GALT development. An in vitro analysis has also shown that the competence and sporulation factor (CSF) of *B. subtilis*, a five amino acid peptide secreted during exponential growth and acting as a quorum-sensing molecule for the induction of DNA uptake and sporulation, is able to induce heat-shock response in human enterocyte like (Caco-2) cells (18). For these reasons, in this study, we aimed to isolate and identify aerobic spore-formers from the human feces. Strains were characterized and tested for their ability to produce biofilm and levan that would be beneficial to their survival in the gut and that could be desirable for probiosis. The collection of wild Bacilli of human origin described here will most likely provide a useful source of potential biofilm and levansucrase production.

## MATERIALS AND METHODS

### Collection of faecal samples

Faecal samples were collected from fifteen healthy adult human volunteers that did not follow any special dietary regimen and who had not received any antibiotic treatment for at least 3 days.

### Bacterial isolation and characterization

Faecal samples (50mg/10ml buffer phosphate) were heat-treated (80°C for 10min) to kill all vegetative cells and individually placed on LB plates. After 36h of incubation at 37°C, colonies were recovered and purified by streaking on fresh LB plates. Pure cultures were streaked on Difco Sporulation Medium (DSM), incubated at 37°C for 24–36h and checked by light microscopy for the presence of spores. Exponentially growing cells of the various isolates were used for biochemical analysis by the use of API 50 CHB kit (Biomerieux) following the manufacturer's instructions.

Unless otherwise specified, bacteria were grown in LB medium (per one liter: 10gm Bacto-tryptone, 5gm Bacto-yeast extract, 10gm NaCl, pH 7.0).

### Biofilm production

To test biofilm production overnight, cultures were used to inoculate liquid MSgg medium (100mM  $\text{I}^{-1}$  Sodium salt, 98% (4-Morpholinopropan sulfonic acid) (MOPS) pH 7.0, 0.5% glycerol, 0.5% glutamic acid, 5mM potassium phosphate pH 7.0, 50 $\mu\text{l}$  gm  $\text{I}^{-1}$  tryptophan, 50 mgm  $\text{l}^{-1}$  phenylalanine, 2 mM  $\text{l}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ , 0.7 mM  $\text{l}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$ , 50 $\mu\text{M}$   $\text{l}^{-1}$   $\text{FeCl}_3$ , 50 $\mu\text{M}$   $\text{l}^{-1}$   $\text{MnCl}_2$ , 2 $\mu\text{M}$   $\text{l}^{-1}$  thiamine, 1 $\mu\text{M}$   $\text{l}^{-1}$   $\text{ZnCl}_2$ ) (4) and cells grown at 37°C in static condition for up to 48h. Cells forming a solid layer at the liquid-air interface were considered as biofilm producers.

### Screening for Levan-producing on solid medium

*Bacillus* isolates were activated on LB broth at 37°C for 18h, 0.1ml of culture suspension was cultured by streaking on sucrose mineral salt agar and incubated at 37°C for 48h. Mucoid

consistence of bacterial colonies was the indicator of levan production (19-23).

## RESULTS

### Isolation of spore-formers Bacilli from human feces

Samples of feces of healthy human volunteers, collected as described in 'Materials and methods', were heat-treated to kill all vegetative cells and incubated on a solid medium to allow germination and growth of heat-resistant spores. All recovered bacteria were purified and analysed for colony morphology and the presence of spores by light microscopy. From a total of fifteen samples of feces, twenty spore-former isolates were isolated. Twenty spore-formers isolated were characterized at the species level biochemically by the use of API 50 CHB kit as shown in table (1).

**Table (1): Strains of *Bacillus* spp. isolated from feces**

Strains	*Species
**AS1	<i>Bacillus insolitus</i>
AS2	<i>Bacillus laterosporus</i>
AS3	<i>Bacillus insolitus</i>
AS4	<i>Bacillus laterosporus</i>
AS5	<i>Bacillus laterosporus</i>
AS6	<i>Bacillus polymyxa</i>
AS7	<i>Bacillus laterosporus</i>
AS8	<i>Bacillus insolitus</i>
AS9	<i>Bacillus insolitus</i>
AS10	<i>Bacillus polymyxa</i>
AS11	<i>Bacillus insolitus</i>
AS12	<i>Bacillus polymyxa</i>
AS13	<i>Bacillus polymyxa</i>
AS14	<i>Bacillus polymyxa</i>
AS15	<i>Bacillus bodius</i>
AS16	<i>Bacillus polymyxa</i>
AS17	<i>Bacillus insolitus</i>
AS18	<i>Bacillus insolitus</i>
AS19	<i>Bacillus polymyxa</i>
AS20	<i>Bacillus insolitus</i>

\*Species assignment was based on the results of the API 50 CHB kit \*\*AS=Strain number

### Biofilm formation

All 20 isolates were tested for their ability to produce biofilm and levan together (Table 2) instead of 85% of strains belong to *B. insolitus*, *B. polymyxa* and *B. laterosporus* with (17 out of 20) formed biofilms (Fig. 1).



Table (2): Biofilm and levan production

Strains	Species	Levan production	Biofilm production
AS1	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+
AS2	<i>Bacillus laterosporus</i>	-	+
AS3	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+
AS4	<i>Bacillus laterosporus</i>	-	+
AS5	<i>Bacillus laterosporus</i>	-	-
AS6	<i>Bacillus polymyxa</i>	+	+
AS7	<i>Bacillus laterosporus</i>	-	-
AS8	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+
AS9	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+
AS10	<i>Bacillus polymyxa</i>	+	+
AS11	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+
AS12	<i>Bacillus polymyxa</i>	+	+
AS13	<i>Bacillus polymyxa</i>	+	+
AS14	<i>Bacillus polymyxa</i>	+	+
AS15	<i>Bacillus bodius</i>	-	-
AS16	<i>Bacillus polymyxa</i>	+	+
AS17	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+
AS18	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+
AS19	<i>Bacillus polymyxa</i>	+	+
AS20	<i>Bacillus insolitus</i>	+	+



Fig. (1) : biofilm production

### Screening of levan producing isolates

Pure cultures of *Bacillus* isolates were cultured in mineral salts agar media containing sucrose for screening their ability to grow with mucoid appearance as indicator for levan production. Fifteen *Bacillus* isolates (75%) belong to *B. insolitus* and *B. polymyxa* were revealed a mucous phenotype (Fig. 2). Many *Bacillus* species produce levan such as: *B. megaterium* (20), *B. laterosporus* (21), *B. mesentericus*, *Paenibacillus polymyxa* (*B. polymyxa*) and *B. amyloliquefaciens* (22), *B. subtilis* (23), *B. licheniformis* (24).

Levan production from *Bacillus* differ from species to species, the highly levan productivity species was *Paenibacillus polymyxa* (*B. polymyxa*) as mentioned by Han and Clarke, (1996).

Han and Clarke, (1996) found that colonies of *Paenibacillus polymyxa* became gummy and adhered to the agar surface, when growing on agar medium with sucrose as a result for levan production. Ghaly *et al.*, (2007) mentioned that when *B. licheniformis* was grown on agar medium containing sucrose, the colonies had a mucoid slimy appearance which indicated the production of the polysaccharide (levan) from sucrose.

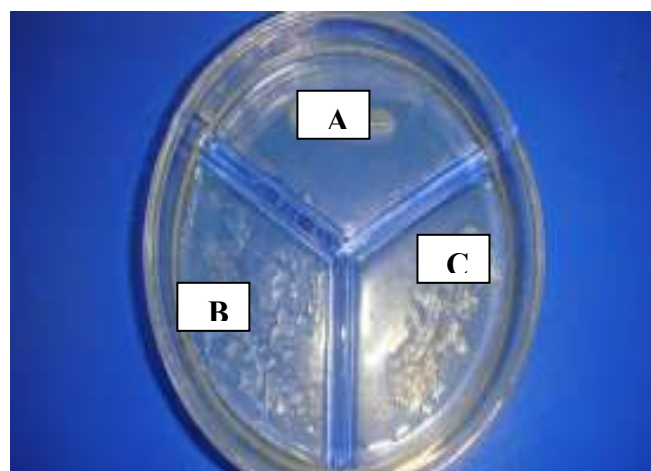


Fig. (2): levan production on mineral salts agar with 20% sucrose. (A) Reference strain of *B. subtilis* PY79 as negative control, (B&C) test isolates namely *B. polymyxa* and *B. insolitus* respectively shows production of levan

## DISCUSSION

Some interesting conclusions can be drawn from this work. In agreement with Bacilli isolated from the soil (5,26), those described here, isolated from a seemingly peculiar environment such as the human feces, displayed biofilm formation. It is not yet known whether those Bacilli are able to form biofilm within the gut but the observation that these properties allows us to hypothesize that they are important in the environment where these bacteria inhabit (14), biofilms have protective and adhesive properties and have been associated to a longer persistence of Bacilli in the GIT of animals (19).

The analysis as shown in table (2) indicates that all strains able to produce levan and biofilms together. These results induced us to speculate that biofilm formation is essential but not sufficient for levan produce. Additional studies will be needed to properly address this point.

Biofilms have been proposed to have protective and adhesive roles for the bacteria producing them. These functions are potentially relevant for bacteria in the gut, and because of the protective environment of the biofilm, could enable survival in the intestinal conditions and adhere to mucus and epithelial cells more effectively than planktonic cells. In addition, within biofilms bacteria can respond to quorum-sensing molecules more easily than planktonic cells. Sporulation is known to be induced by quorum-sensing signals (e.g. the CSF of *B. subtilis*) and this has been shown to be essential for GALT development (17).

Most of isolates form biofilm in liquid media (Fig. 1). Wild strains of *B. subtilis*, the model system for spore-formers, form a robust extracellular matrix in which diverse subpopulations of cells involved in sporulation, motility and matrix formation are encased (27). The extracellular matrix of *B. subtilis* is composed of two proteins, TasA and TapA and by an exopolysaccharide (ESP) (28,29).

The most common ESP found in biofilm produced by *B. subtilis* is levan, which can be formed by either *B*-2,6-linked D-fructose units (type I) or a fructose polymer with a glucose

residue linked to the terminal fructose by a glycoside bond (type II). Levan is synthesized outside the cell following the secretion of an extracellular levansucrase (2,6-*B*-D-fructan-6-*B*-D-fruc-tosyl-transferase), able to transfer the fructose residue to the acceptor levan when sucrose is used as a substrate. Biofilm formation also requires the action of extracellular levansases (*B*-D-fructofuranosidase), responsible for levan degradation (30).

Based on these observations we suggest that those isolates produces a levan-based biofilm. Additional experiments will be needed to clarify the nature of the carbohydrate present in the biofilm that isolates. In *B. subtilis* levansucrases are induced by sucrose and levansases by low concentrations of fructose (29).

## CONCLUSION

Most strains are able to form biofilm and levan. Biofilm formation has been Previously associated to a longer persistence in the GI-tract of intestinal Bacilli (14) is believed to be a beneficial feature of intestinal bacteria. In conclusion, our results suggest that those Bacilli, isolated from human feces are adapted to the intestinal environment and suited to grow and colonize the human gut.

## REFERENCES

1. Davey M E. and Toole GAO. (2000) Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64:847–867.
2. O'Toole GA., Kaplan HB, and Kolter R. (2000) Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* 54:49–79.
3. Huang CT, Xu KD, McFeters GA, and Stewart PS. (1998) Spatial patterns of alkaline phosphatase expression within bacterial colonies and biofilms in response to phosphate starvation. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:1526–1531.
4. DeKievit TR, Gillis R, Marx S, Brown C, and Iglewski BH. (2001) Quorum sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms:

- their role and expression patterns. Appl. Environ. Microbiol. 67:1865–1873.
5. Branda SS, Gonzalez-Pastor JE, Ben-Yehuda S, Losick R, and Kolter R. (2001) Fruiting body formation by *Bacillus subtilis*. Proc. Natl. Acad. Sci. 98:11621–11626.
6. Vina I., Bekers M, Karsakovich A, Linde R, Gonta S, and Toma M. (1998) Some properties of fructose biopolymer levan produced by *Zymomonas mobilis*. Biomass for Energy and Industry. Proceedings of the International Conference. pp 460–463.
7. Kim MG, Seo JW, Song KS, Kim C H, Chung BH, and Ki-Rhee S. (1998) Levan and fructosyl derivatives formation by a recombinant levansucrase from *Rahnella aquatilis*. Biotech. Lett. 20:333–336.
8. Pileggi R. and Khin BW. (1962) Enzymatic colorimetric method. J. Biol. Chem. 40:585–589.
9. Yun JW. (1996) Fructo-oligosaccharides occurrence, preparation and application. Enzyme Microb. Technol. 19:107–117
10. Oseguera P, Guereca L, and Lopez-Munguia A. (1996) Properties of levansucrase from *Bacillus circulans*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 45:465–471.
11. Ammar Y, Matsubara T, Itu K, Iizuka M, Limpaseni T, and Ponsawasdi E. (2002) Some properties of levansucrase of *Bacillus natto* stabilized with periodate oxidized yeast glucomannan. Enzyme Microb. Technol. 30:875–882.
12. Meng G, and Futterer K. (2003) Structural framework of fructosyl transfer in *Bacillus subtilis* levansucrase. Nat. Struct. Biol. 10:935–941.
13. Barbosa TM, Serra CR, La Ragione RM, Woodward M J. and Henriques AO. (2005) Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 71: 968–978.
14. Tam NK, Uyen NQ, Hong HA, Duc H, Hoa TT, Serra CR, Henriques AO, and Cutting SM. (2006) The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives. J. Bacteriol. 188: 2692–2700.
15. Hong HA, Duc leH, and Cutting SM. (2005) The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMS Microbiol. Rev. 29: 813–835.
16. Casula G, and Cutting SM. (2002) *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 68:2344–2352.
17. Rhee K-J, Sethupathi P, Driks A, Lanning KD, and Knight KL. (2004) Role of commensal bacteria in the development of gut-associated lymphoid tissue and preimmune antibody repertoire. J. Immunol. 172:1118–1124.
18. Fujiya M, Musch MW, Nakagawa Y, Hu S, Alverdy J, Kohgo Y, Schneewind O. and Jabri B. (2007) The *Bacillus subtilis* quorum-sensing molecule CSF contributes to intestinal homeostasis via OCTN2, a host cell membrane transporter. Cell Host Microbe. 1:299–308.
19. Huang JM, La Ragione RM, Nunez A, and Cutting SM. (2008) Immunostimulatory activity of *Bacillus* spores. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 53:195–203.
20. Evans TH, and Hibbert H. (1946) Advances in Carbohydrate Chemistry. Academic Press, New York.
21. Hestrin S, and Goldblum J. (1953) Levansucrase. Nature. 172: 1047–1064.
22. Han YW, and Clarke MA. (1996) Production of fructan (levan) polyfructose polymers using *Bacillus polymyxa*. U. S. Patent. 5547863.
23. Shih I. L, Yu YT, Shieh CJ, and Hsieh CY. (2005) Selective production and characterization of levan by *Bacillus subtilis* (Natto) Takahashi. J. Agril. Food Chem. 53:8211-8215.
24. Ghaly AE, Arab F, Mahmoud NS, and Higgins J. (2007) Production of levan by *Bacillus licheniformis* for used as a soil sealant in earthen manure storage structures. Am. J. Biotechnol. & Biochem. 3(2): 47-52.
25. Youngman P, Perkins JB, and Losick R. (1984) A novel method for the rapid cloning in *Escherichia coli* of *Bacillus subtilis* chromosomal DNA adjacent to Tn917 insertion. Mol. Gen. Genet. 195: 424–433.
26. Earl AM, Losick R, and Kolter R. (2007) *Bacillus subtilis* genome diversity. J. Bacteriol. 189:1163–1170.
27. Vlamakis H, Aguilar C, Losick R, and Kolter R. (2008) Control of cell fate by the formation of an architecturally complex bacterial community. Genes Dev. 22:945-953.

28. Branda SS, Chu F, Kearns DB, Losick R, and Kolter R. (2006) A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix. Mol. Microbiol. 59:1229-1238.
29. Romero D, Vlamakis H, Losick R, and Kolter R. (2011) An accessory protein required for anchoring and assembly of amyloid fibres in *B. subtilis* biofilms. Mol. Microbiol. E-published.
30. Marvasi M, Visscher PT, and Casillas ML. (2010) Exopolymeric substances (EPS) from *Bacillus subtilis* : polymers and genes encoding their synthesis. FEMS Microbiol. Lett. 313 :1-9.

## Isolation and Molecular Study of *Acinetobacter* spp. Degrading Phenol from Oil Contaminated Soil in Basrah , Iraq

Adnan A.H. AL-Mousawi

Dept. of Biology / College of Science / University of Basrah / Basrah / Iraq

E-mail: molecular1979@yahoo.com

### ABSTRACT

As the usage of petroleum hydrocarbon products increases , soil contamination with phenol is becoming one of the major environmental problems . To determine phenol contaminated soil ,sixty phenol degrading bacteria were isolated from oil contaminated soil , all of these isolates capable of utilizing 0.2 g/l of phenol in mineral salt media , the biochemical test showed that all of these isolates were belonging to *Acinetobacter* spp. , The PCR amplification for detection of phenol hydroxylase enzymes using DmpN primers showed that all isolates have 100 bp bond

**Key words:** Phenol , Biodegradation , Degrading bacteria , Polymerase chain Reaction , oil contaminated soil

### الملخص باللغة العربية

نتيجة الزيادة في استخدام نواتج المواد الهيدروكربونية ، أصبح تلوث التربة بالفينول من المشاكل البيئية الرئيسية في الوقت الحاضر ، ولتحديد نسبة هذا التلوث ، عزلت 60 عذلة جرثومية محللة للفينول من احد الترب الملوثة بالنفط في البصرة ، اذ لوحظ أن جميع هذه العزلات لها القدرة على استهلاك الفينول بتركيز 0,2 غم / لتر ، أظهرت نتائج الفحوصات البايوكيميائية ان جميع العزلات تعود الى جنس الـ *Acenitobacter* ، أظهرت نتائج تفاعل السلسلة البوليميريكي للكشف عن انزيمات الـ phenol hydroxylase باستخدام بادئ الـ DmpN احتواء جميع العزلات على حزمة واحدة بطول 100 زوج قاعدي.

## INTRODUCTION

Phenol is a man - made as well as naturally occurring aromatic compound , Phenol and phenol derivatives are common constituent of soil contaminated from many industries including oil refineries , pharmaceutical , petroleum , textiles and coal refining . (1 ,2) . Phenolic compound also enter the environment as intermediate during the biodegradation of natural polymers containing aromatic rings , such as lignins and tannins , and from aromatic amino acid precursors, in addition , they may enter the environment as intermediate during the biodegradation of xenobiotic compounds (3) . Phenol and phenolic compounds are hazardous , highly toxic and a source of serious environmental concern (4 ,5) . In recent years there has been an increase in the environment release of harmful chemicals . Currently several commercialized chemical , biological , physical and thermal process are employed for degradation of chemical compounds such as phenol (6). Among all of these methods , biodegradation is environmental friendly and cost effective for pollution remediation in environment (7). Bacteria and fungi constitute the most important of the micro flora present in soils that are polluted with oil hydrocarbons . However the relative contribution of both microbial groups to bioremediation varies widely depending on their specific degrading capabilities and adaptation to the prevailing physico-chemical conditions (8).

Aerobic biodegradation of phenol starts with oxygenation of phenol by phenol hydroxylase enzymes and the genes coding of these enzymes are used for detection of phenol-degrading bacteria by PCR(9). *Acinetobacter* spp. are strictly aerobic gram negative coccobacilli that are widely distributed in soil and water but also commonly found in the hospital environment (10) . *Acinetobacter* spp. have been attracting increasing attention in both environmental and biotechnological applications such as biodegradation , leaching and removal of organic and inorganic man-made hazardous wastes(11).

Few studied on the molecular detection of phenol-degrading bacteria in soil have been published (12) .

The aim of this study are to isolate phenol-degrading bacteria from oil contaminated soil in Basra , and the use of PCR amplification for detection of phenol hydroxylase genes in these isolates .

## MATERIALS AND METHODS

### Samples collection

Soil samples were collected from Shaeba region near the south oil refinery in Basrah which is highly contaminated with crude oil , The samples were collected by sterile plastic container and transferred immediately to the laboratory .

### Growth media

The synthetic phenol broth media used was based on the mineral salt media ( MS medium) containing: 2.75 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> , 2.25 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> , 1 g of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> , 0.2 g of MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O , 0.1 gram of NaCl . 0.2 g of FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O , 0.6 g of bromthymolblue and 0.01 gram of CaCl<sub>2</sub> in 1000 ml double distilled water pH( 6.8- 7) . The synthetic media were supplemented with phenol as the sole carbon source at a concentration of 3mM , Phenol agar media were done by added 15g/l of agar-agar to phenol broth media , both media were sterilized at 121°C for 15 minutes (13) .

### Isolation and Identification of *Acinetobacter* strains

One gram of soil samples was added into (MSM) , Incubated in shaker incubator at 30°C for 7 days . A volume of 5 ml of enrichment media was transferred into freshly prepared media on each week supplemented with 3mM of phenol , after four subsequent subcultures , cultures were purified into phenol agar (14) , The isolates were identified morphological observation and biochemical tests according to Bergy's manual of determinative bacteria (15).

### DNA extraction

DNA was extracted from pure culture isolates using the Wizard genomic DNA purification kit Serial NO. 214567 ( Promega , Madison , WI , USA ) .

### PCR detection of phenol hydroxylase genes

To detect the presence of phenol- degrading genes in the bacterial isolates , PCR amplification was performed using specific primers DmpN ( the gene from dmp operon ) , the PCR product size is 100bp and the nucleotide sequence of these primers is as follows (16) (table 1)

DmpNf : 5'-  
ATCACCGACTGGGACAAGTGGGTAAGA  
CC- 3  
DmpNr : 5'-  
TGGTATTCCAGCGGTGAAACGGCGG-3

**Table (1) : PCR condition for detection of phenol hydroxylase genes**

STEPS	STAGE	TIME (MIN)	TEMPERATURE °C	NO.OF CYCLES
INITIAL DENATURATION	1	2	94	1
DENATURATION	1	1	94	40
ANNEALING	2	1	57	
EXTENSION	3	1	72	
FINAL EXTENSION	1	1	72	1

## RESULTS AND DISCUSSION

Soil contaminated with industrial oil was chosen as the source of microorganism isolation in this study , High probability of the presence of toxic pollutant in this area was reason why site was selected ( 17 ). In this research , Fifty aerobic bacteria were isolated from( MSM) and all of these isolates were identified according to Bergy's manual of determinative bacteria . It was observed that all isolates were Gram –negative coccobacilli in pairs under the microscope , Strictly aerobic , non-motile , and with other chemical identification ( Table 2 ) , all the isolates were identified as *Acinetobacter* spp. , this result are agreed with many researches which focused on the biodegradation of phenol by various microorganisms , Among phenol degrades were several strains of *Acinetobacter* which can use it as a sole energy and carbon source , ( 18 , 19 ,20 ) , In Egypt , Abd-El-Haleem *et al* (21) showed that among twelve phenol – degrading bacteria isolated from different Egyptian ecosystem , four were closely related to *Acinetobacter* , Ying *et al*

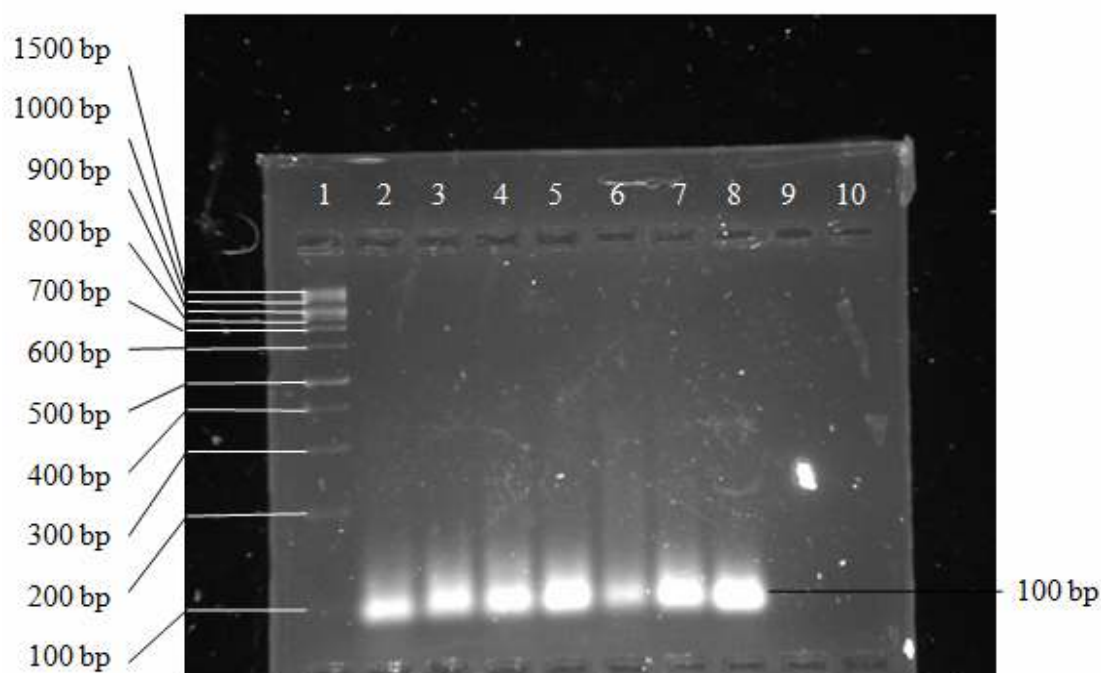
(22) were able to isolate new *Acinetobacter* strain which have a high biodegradation activity and high tolerance of phenol .

**Table (2): Morphological and biochemical characteristic of *Acinetobacter* strains able to grow on (MSM agar) with phenol as unique carbon source.**

Characteristics	Bacterial strain
Gram stain	Negative
Shape	Coccobacilli
Motility	Non motile
Oxidase	Negative
Catalase	Positive
Urase	Positive
Lactose ferment	Negative
H2S production	Negative
Methyl red	Positive
Voges-proskauer	Negative
Indol production	Positive
Citrate utilization	Positive
Hydrolysis of gelatin	Negative
Hydrolysis of starch	Negative

Identification of phenol hydroxylase gene using specific PCR primers (DmpNf and DmpNr) were another goal of this research , The results of amplified template DNA are shown in Fig. (1)

Presence of 100 bp bond in amplified DNA indicated that all isolated bacteria are phenol – degrading because of having phenol hydroxylase gene , The DmpN gene codes for phenol hydroxylase , an enzyme involved in the conversion of phenol into to catechol (23) , A reverse transcriptase PCR were developed for monitoring DmpN expression , Great DmpN expression was observed 15 minutes after maximum phenol concentration was reached in the reactor , Decreased phenol concentration in the reactor caused reduction of DmpN expression (16).



**Fig.(1) : PCR amplification of DmpN genes for detection of phenol hydroxylase gene from purified DNA bacteria isolated from oil contaminated soil , lane 1: 100bp DNA ladder size marker, lane 2-8 : DNA of isolated phenol-degrading bacteria**

## REFERENCES

1. Van SHIE PM. , and Young LY. (1998) Isolation and Characterization of Phenol-Degrading Denitrifying bacteria. *Appl and Environ. Microbiol.* 64 (7):2432-2438
2. Ghadhi SC. , and Sangodkar UMX (1995) Potential of *Pseudomonas cepacia* PAA in bioremediation of aquatic wastes containing phenol . *Proceedings of National symposium frontiers in applied and environmental microbiology* , 11-13 , Dec. Cohn
3. Dean-Ross D. and Rahimi M. (1995) Toxicity of phenolic compounds sediment bacteria . *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55:245-250.
4. Martinkova L. , Uhankova B. , Patek M. , Nesvera J , and Kren V. (2009) Biodegradation potential of the genus *Rhodococcus* . *Environ. Int. J.* 35 : 162- 177.
5. Ajaz M. , Noor N. , Rasool SA. , and Khan SA. (2004) Phenol resistant bacteria from soil : Identification - Characterization and Genetical studies . *Pak . J. Bot.* 36(2): 415-424.
6. Annaduria G. , Juang RS. ,and Duu. J. (2002) Microbiological degradation of phenol using mixed liquors of *Pseudomonas putida* and activated sludge. *Waste Manag .* 22:703-710 .
7. Pazarlioglu NK. , and Telefoncu A. (2005) Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized on activated pumice particles (J ) . *Process Biochem.* , 40 : 1807-1814.
8. Bento FM. , Camarago FAO. , Okeke BC. , and Frankenberger WT. (2005) Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation , biostimulation and bioaugmentation . *Biores. Tech.* 96 : 1049 – 1055 .
9. Futamata H. , Harayama S. , and Watanabe K. (2005) Group – specific monitoring of phenol hydroxylase genes for a functional assessment of phenol-stimulated trichloroethylene bioremediation . *App. and Environ. Microbial.* . 67 : 4671 – 4677 .
10. Dijkshroon L , Nemec A. , and Seifert H. (2007) Increasing threat in hospitals : multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* . *Nat. Rev. Microbiol.* 5 : 939-951
11. Abdel-El-Haleem D. (2003) *Acenitobactor* : environmental and biotechnological applications . *Afr. J. Biotech.* 2 (4) : 71-74 .



12. Watanabe K. , Teramoto M. , Futamata H. , and Harayama S.(1998 ) Molecular detection , isolation , and physiological characterization of functionally dominant phenol-degrading bacteria in activated sludge . App. and Environ. Microbial. 64 : (6) 4396- 4402.
13. Watanabe K. , Yamamoto S. , Hino S. , and Harayama S. (1998) Population dynamics of phenol-degrading bacteria in activated sludge determined by gyrB-targated quantitative PCR . App. and Environ. Microbial. 64 (4):1203-1209 .
14. Nagamani A. , Soligala R. , and Lowry M. (2009) Isolation and characterization of phenol- degrading *Xanthomonas flavus* . Afr. J. Biotech. 8(20) :5449-5453 .
15. Maccfdin JF. (2000) Biochemical test identification of medical bacteria . Williams and Wilkins . London .
16. Selvararatnam S. , Schoedel BA. , McFarland BL. , and Kulpa CF. (1995) Application of reverse transcription PCR for monitoring expression of the catabolic DmpN Gene in a phenol-degrading sequencing batch reactor . App. Environ Microbial . 61(11):3981-3985.
17. Al- Asadi AAB. (2011) An aerobic degradation of crude oil by sulphate reducing bacteria isolated from soils contaminated with petroleum hydrocarbons . J. Thi-Qar Sci. 2(4) :3-12.
18. Kafilzadeh F. , Farhangdoost M. , and Tahery Y. (2010) Isolation and identification of phenol-degrading bacteria from Lake Parishan and their growth kinetic assay . Afr. J. Biotech.9 (40) : 6721-6726 .
19. Breganti F. , Pessione E. , Guinta C. , and Scozzafava A. (1997) Purification , biochemical properties and substrate specificity of a catechol 1,2- dioxygenase from a phenol degrading *Acenitobactor radioresistens* . FEBS Lett . 416 : 61-64.
20. Chibata I. , and Tosa T. (1981) Use of immobilized cells . Annu. Rev. Biophys. Bioeng . 10:197-216.
21. Abd-El-Haleem D. , Moawad H. , Zaki E.A. , and Zaki S. (2002) Molecular characterization of phenol-degrading bacteria isolated from different Egyptian ecosystem . Microb. Ecol. 43:217-224.
22. Ying W. , Ye T. , Bin H. , Hau-bing Z. , Jian-nan B. , and Bao-li C. (2007) Biodegradation of phenol by free and immobilized *Acenitobactor* sp. Strain PD12 . J. Environ. Sci. 19:222-225 .
23. Nurdlund I. , Powlowski J. , and Shingler V. (1990) Complete nucleotide sequence and polypeptide analysis of multicomponent phenol hydroxylase from *Pseudomonas* strain CF600 . J . Bacteriol. 172:6826-6833.

## Species Specific PCR for Detection of *salmonella typhi* in Some Samples of Food

**Khulod I. Hassan**

*Dept. of food sciences/ Faculty of Agricultural Sciences/ Sulaimani University / Iraq*

### ABSTRACT

The availability of reliable, rapid, and test systems for determination of the presence or absence of food-borne pathogens has become increasingly important for the agricultural and food industry, as well as for legislative regulation of food safety. *Salmonella* is the leading cause of food borne pathogen, so a sensitive and specific PCR technique was developed to detect *Salmonella typhi* in some sample of food in Sulamani governorate in Iraq. For achieving this goal, DNA extraction were performed successfully from different samples of food including: cheese (Aushari), unpasteurized milk, unpasteurized fruit juice, raw meat, minced meat and chicken pieces beside cooked food sample including Kabab and cake. Species specific primer for *Salmonella typhi* were used in PCR (polymerase chain Reaction) which detect this strain by producing an amplified band with 615bp in all the samples except the cake. The specificity of the PCR was determined using four strains of salmonella genus including *S. anatum*, *S. brandreup*, *S. sara* and *S. entritidis*. No amplified product observed in any of these strains, indicating that this assay can be suitable for routine analysis of *Salmonella typhi*.

### الملخص باللغة العربية

ان توفر طريقة سريعة ودقيقة للكشف عن وجود المسببات المرضية في الاغذية او عدمه، أصبحت من الامور الهامة في مجال الزراعة والصناعات الغذائية وكذلك لتشريع القوانين لتنظيم سلامة الاغذية. تعد السالمونيلا من المسببات الرئيسة للأمراض الناتجة من الاغذية الملوثة بتلك المسببات المرضية، لذلك تم تطوير طريقة دقيقة ومتخصصة للكشف عن السالمونيلا تاي في بعض نماذج الغذاء المتوافرة في اسواق محافظة السليمانية في العراق. ولتحقيق هذا الهدف تم استخلاص الدنا وبنجاح من نماذج مختلفة من الغذاء تضمنت: جبن الاوشاري، الحليب غير المبستر، عصير الفواكه غير المبستر، واللحم، اللحم المثلث وقطع الدجاج بالإضافة الى نوعين من الاغذية المطبوخة وهي الكباب والكيك. تم استعمال التفاعل التضاعفي المتكرر لسلسلة الدنا وذلك اعتمادا على استعمل بادئات متخصصة للنوع للكشف عن السالمونيلا تاي في تلك الاغذية وتم الحصول على حزمة متضاعفة بحجم جزئي يساوي 615 زوج قاعدي في كل النماذج عدا الكيك. تم دراسة تخصص هذه الطريقة بتجربة انواع اخرى من جنس السالمونيلا وهي كالاتي:

*S. anatum*, *S. brandreup*, *S. sara* and *S. entritidis* ولم تظهر حزمة متضاعفة في اي من الانواع تلك والتي تدل ملائمة هذه الطريقة للكشف الروتيني عن السالمونيلا تاي في الاغذية والمحيط.

## INTRODUCTION

Foods may become contaminated with a wide range of microorganisms, during harvesting, processing and handling operations which most of them have negative effects on humans, costing the food industry (and indirectly, the consumer) many millions of dollars each year. As the world becomes more concerned with safe foods, the analysis of food products for presence of pathogenic microorganisms is one of the basic steps to control safety and quality of food and the demand for rapid detecting of these microbial contaminants will only increase.(1). Among these pathogenic microorganism, *Salmonella* is the leading cause of food borne outbreaks and infections, there are three million deaths worldwide due to *Salmonella* (2). It is facultative anaerobe, gram negative flagellated rod-shaped bacterium which is about 2-3 x 0.4-0.6  $\mu\text{m}$  in size (3). It is expected that *Salmonella* may be present in any raw food materials (4), in part because *Salmonella* is wide-spread in nature. The organism can colonize in a wide variety of hosts and is widely disseminated in the environment (5). Currently, the official procedure for detection of *Salmonella* spp. is a cultural method, and this procedure could take from 3 to 5 days for confirmation, involving a pre-enrichment followed by plating on selective agar which is a disadvantage when the results are needed promptly. Recently, nucleic acid amplification technologies have offered the potential for improved detection of *Salmonella* in the environment, providing greater sensitivity and dramatically speeding up detection, thereby improving the management of outbreaks through more rapid confirmation of the vehicle of infection (6, 7). Molecular techniques such as PCR (polymerase chain reaction) have been gaining popularity as a tool in microbiological diagnosis due to the efficient, rapid and sensitive methods of detecting infectious pathogens, including *Salmonella*, in different types of foods(8,9).

Application of PCR on food require DNA extraction from them and this is difficult method and challenging (10) because any physical or chemical treatment of food samples, such as heat, pH or shear forces results in a decrease on the average size of genomic DNA due to random cleavage of these macro molecules (11). So DNA extraction protocol must be developed on a case-by-case basis for different food matrices,

because of the differences on the type, composition and the level of processing of each food product. Hence, there is a need to use different extraction methods for each type of food matrix to yield good and high quality DNA. In addition the other important prerequisite for application of PCR for detection of bacteria is choosing a suitable primer, which are targeting specific genes for the studied pathogen, for example Perelle et al.(7) developed PCR assay amplifying 285-bp of the *invA* gene of *Salmonella* spp and showed that this assay was highly specific and sensitive, and provide a powerful tool for detection of *Salmonella* in 92 naturally-contaminated milk and meat samples. As part of a major international project for the validation and standardization of PCR for detection of *Salmonella* species, the most selective primer set was found to be that designed by Rahn, et al, (12), which targets other region of the *invA* gene, however Mousavi et al(13) used species specific primers based on *rfbE* gene for routine analysis of *Salmonella typhi*. The aim of this study, was to use species specific PCR for detection of *Salmonella typhi* in some samples of foods in Iraqi market.

## MATERIALS AND METHODS

Eight Samples of food were collected randomly from the Sulaimani market during April to September 2011, including: cheese (Aushari), unpasteurized milk, unpasteurized fruit juice, raw meat, minced meat and chicken pieces beside two samples of cooked food including Kabab and cake. Pre-enrichment of 25 g (25ml for the liquid one) of the each food samples in 25 ml buffered peptone water (BPW) for 16–20 h at 37 °C, was performed before DNA extraction for each sample.

### DNA Extraction

This study was conducted in the laboratory of food science department in Faculty of agricultural science in Sulamani university by extracting DNA from each sample by CTAB method as described by He *et al.* (14) with slight modification for each kind of food. Aliquots 10 ml of various cultures of food samples were centrifuged at 4000 x g for 3

min. The pellet was then resuspended in 5 ml of TE(Tris +EDTA) buffer (pH 7.8) then two kinds of protocol was performed to extract the DNA from the samples as follow :

For instance in meat, minced meat, chicken pieces, cheese, Kabab and cake, 5gm of each sample were grinding in the presence of liquid nitrogen (-170 °C) which it freeze the tissue to become fragile to be a fine powder then added to preheated 10ml of CTAB extraction buffer (cetyl tri methylammonium bromide), for 30 minutes at 65°C with shaking . Then the samples were extracted with 4 ml of phenol chloroform/ Isoamyl alcohol(24:24:1) ,centrifuged for 30 min at 4000rpm, and the step repeated twice, then the aqueous phase was precipitated with 0.1 volume of Ammonium acetate and 2 volume of isopropanol ,then the precipitated DNA was transferred into a fresh tube adding 500 µl of (70%) ethanol, and washed. Finally, it was dissolved in TE (Tris ,EDTA) buffer. Whereas For milk and the juice :1ml of each sample was mixed with an equal volume of CTAB extraction buffer [1.4 M NaCl, 2% CTAB, 100 mMTris, 20 mM EDTA, pH 8.0], 2% of 2-mercaptoethanol and 100 µg/ml of Proteinase K for 1 h at 65°C with shaking. Then the samples were extracted with 2 ml of chloroform, centrifuged for 30 min at 4000rpm.the supernatant precipitated with 2 volumes of CTAB precipitation buffer (40 mM NaCl, 0.5% CTAB) and incubated at room temperature for 60 min, and centrifuged for 30 min at 4000rpm.the pellet was dissolved in 300 µL of 1.2 M NaCl and extracted with an equal volume of chloroform, then the mix centrifuged for 30 min at 4000rpm.DNA in the aqueous phase was precipitated with 0.1 volume of Ammonium acetate and 2 volume of isopropanol .then the precipitated DNA was transferred into a fresh tube adding 500 µl of (70%) ethanol, and washed. Finally, it was dissolved in TE (Tris, EDTA) buffer.

### PCR Reaction

This part of work was conducted in the veterinary center of ministry of agriculture in Sulamani .during June and August 2012. The specific primers for the detection of This part of work was conducted in the veterinary center of ministry of agriculture in Sulamani .during June and August 2012. The specific primers for the detection of *Salmonella typhi* was designed based on the study of Mousavi, et al (13) with the sequences F: GAGGAAGGGAAATGAAGCTTTT and R:

TAGCAAACGTGTCTCCACCATAC which expected to produce 615bp, these primers were provided by Bionerr Company (Korea). PCR reactions were performed with 1×PCR buffer without MgCl<sub>2</sub>; 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 50ng DNA, 0.3 µM each primer; 0.25 mM (each) dNTP; 25 U/ml Taq DNA polymerase (sigma). PCR reactions were carried out in PCR thermal cycler (Biotech,U.K) . Amplification consisted of 35 cycles: 1 min at 94°C, 1 min, 1 min at 35 -61°C (depending on the sequence of the primers) and 1 min at 72°C. . The presence of PCR products was determined by electrophoresis of 10 µl of the PCR product on 1.2% agarose gel electrophoresis and was subsequently visualized by UV illumination after ethidium bromide staining (15).

## RESULTS AND DISCUSSION

### DNA Extraction from food samples

The full amount of DNA obtained in this study (Figure 1) refers to the successful method of DNA isolation from the deferent samples of food. The efficiency of this method to obtain suitable amount of DNA in most samples is due that, liquid nitrogen (-170 °C) was freeze the tissue to become fragile to be a fine powder which increase the surface area of extraction, and the very low temperature prevent DNase activation .Besides the highly versatile cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB), helps lyses the cell membrane and make a complex with the DNA in the sample to protect it from the next steps of extraction. The presence of the DNA produced was determined by electrophoresis of 3 µl of each sample on agarose gel electrophoresis.

### PCR analysis

The major objective of this study was to develop a rapid and reliable method for the detection of *Salmonella* from various sources of food, using PCR assay that based on the products detection on gel electrophoresis in order to offer a simple and economical detection method that is available in most laboratories, the results showed the presence of the amplified band with 615 bp molecular size which was specific for *Salmonella typhi* in all the samples, except the cake after an enrichment step of the food samples (figure 2).



Fig (1): represent the results of DNA extraction from eight samples of food, lane 1: cheese (Aushari) , 2: cake ,3:unpasteurized milk,4: unpasteurized fruit juice ,5:raw meat ,6:minced meat and 7:chicken pieces and 8:represent Kabab , and Gel electrophoresis was performed on (1.2%) Agarose gel and run at 90 volt/cm for one hour.that was performed on (1.2 %) Agarose gel electrophoresis and run at 90 volt/cm for one hour.

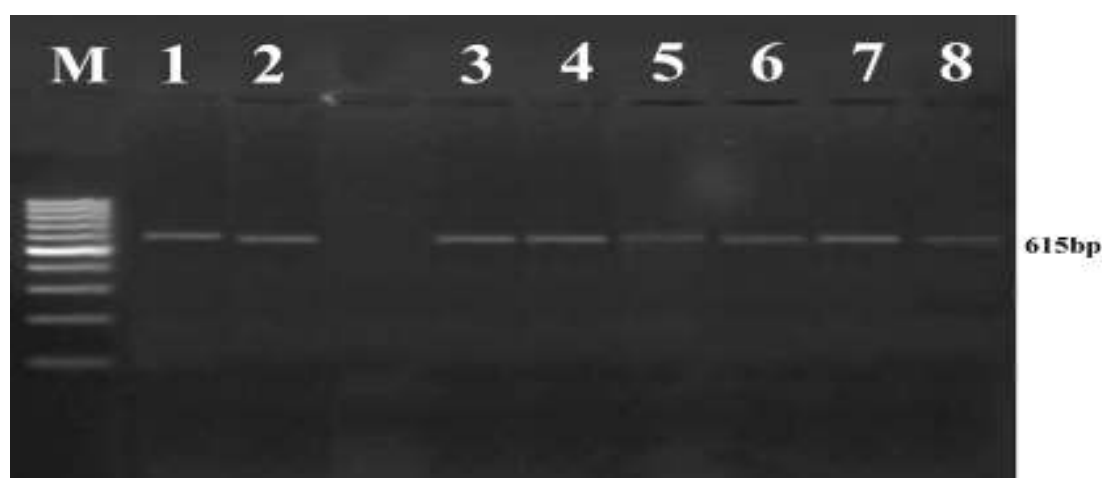


Fig (2) :Represents amplified product with 615 bp using primer specific for *Salmonella typhi* detected in eight sample of food.Lane (M) = 1kb DNA ladder, lane 1: DNA extracted from pure *Salmonella typhi* 2: cheese (Aushari) , un numbered line: cake ,3:unpasteurized milk,4: unpasteurized fruit juice ,5:raw meat ,6:minced meat and 7:chicken pieces and 8:represent Kabab , and Gel electrophoresis was performed on (1.2%) Agarose gel and run at 90 volt/cm for one hour.

*Salmonella* isolates other than *S. typhi* (*S. anatum*, *S. brandreup*, *S. sara* and *S. enteritidis*, or non-*Salmonella* bacterial strains, including *Lactobacillus acidophilus* and *Staphylococcus aureus*, did not generate false-positive results. The results showed that this primer pair was specific for identifying the *S. typhi*. Mousavi et al (13) used the same primers, which based on *rfbE* gene for routine analysis of *Salmonella typhi* in naturally contaminated samples. The PCR procedure is sufficiently sensitive such that, in theory, only a few template molecules are required to initiate the synthesis reactions. However, an enrichment step is still required to detect small numbers of *Salmonella* in food samples, so no positive results obtained in this study without enrichment step. Myint et al. (16) observed similar results without enrichment step, such result was also reported by Jofré et al. (17). Thus, the combination of enrichment and PCR has the advantage of enhancing the sensitivity of *Salmonella*.

The major difficulty with using PCR for pathogen detection in food is the presence of compounds that inhibit the PCR reaction. These compounds can contaminate the DNA templates extracted from food samples and may in turn generate false-negative results (18). Therefore, evaluation and elimination of PCR inhibitory compounds are important steps in the development of PCR assays; the inclusion of pre-enrichment step prior to PCR reaction that involved a dilution of the sample with medium eliminates the effect of PCR inhibiting substances on amplification while increasing the number of detectable *Salmonella*. Also background microorganisms occurring in the food matrix can negatively influence the growth of the target pathogen (19). Under the conditions used here, the PCR detection limit was not influenced by background microorganisms as *Salmonella* cells grew well even in the presence of high levels of background flora. PCR offers a great diagnostic tool in comparison to the culture method based on the amount of time required to confirm the results and the sensitivity of the method as *Salmonella* may enter a viable but nonculturable (VBNC) state, which represents a dormant state of the vegetative cells and a survival strategy for many non sporulating species (20). However there are also the possibility of detecting dead cells, this can be eliminated using real-time PCR, which have recently been employed for *Salmonella* detection (21). In conclusion, the PCR assay used in this study showed a high sensitivity

and specificity for detection of *Salmonella typhi*.

## REFERENCES

1. Vidová B, Godány A, and Šturdík E. (2008) Rapid detection methods of microbial pathogens in foods – a short survey. *Nova Biotechnologica*. 8 (1): 5 – 22.
2. Bhunia A K. (2008) Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis. United States of America: Springer Science + Business Media. LLC.
3. Montville T J, and Matthews KR. (2008) Food Microbiology. ASM Press, Washington DC. 173-188.
4. Bell C, and Kyriakides A. (2002) *Salmonella* - a practical approach to the organism and its control in foods. Blackwell Science, Malden. Mass.
5. Todar K. (2012) Todar's online textbook of bacteriology. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. Available at: <http://www.textbookofbacteriology.net>. 2008-2012.
6. Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, and Helmuth R. (2003) Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of *Salmonella* PCR: towards an International Standard. *Appl Environ Microbiol*. 69(1): 290–296.
7. Perelle S, Dilasser F, and Malorny B. (2004) Comparison of PCR-ELISA and Light Cycler real time PCR assays for detecting *Salmonella* spp. in milk and meat samples. *Mol Cell Probes*. 18 (6):409-420.
8. Bucher O, Holley RA, Ahmed R, Tabor H, Nadon C, Ng LK, and D'Aoust JY. (2007) Occurrence and characterization of *Salmonella* from chicken nuggets, strips, and pelleted broiler feed. *J. Food Prot*. 70(10): 2251-2258.
9. Leader BT, Frye JG, Hu J, Fedorka-Cray PJ, and Boyle DS. (2009) High-throughput molecular determination of *Salmonella enterica* serovars by use of multiplex PCR and capillary electrophoresis analysis. *J. Clin. Microbiol*. 47: 1290-1299.
10. Holden MJ, Blasic JR, Bussjaeger L, Kao C, Shokere LA, Kendall DC, Freese L, and Jenkins GR. (2003) Evaluation of extraction methodologies for corn kernel (*Zea mays*) DNA for detection of trace amounts of biotechnology-derived DNA. *J. Agri. & Food Chem*. 51: 2468-2474.

11. Kakihara Y., Matsufuji H., Chino M, and Takeda M.(2005) Extraction and detection of endogenous soybean DNA from fermented foods. *Food Control* 17(10):808-813.
12. Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galán JE, Ginocchio C, Curtiss R, Gyles GL. (1992) Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Mol.Cell.Probes* 6:271-279.
13. Mousavi SL, Salimiyan J Rahgerdi AK, Amani J, NazarianS, and Ardestani H.( 2006) A rapid and specific PCR–ELISA for detecting *Salmonella typhi*. *Iran. J. Clin. Infec. Dis.*1(3):113-119.
14. He X, Carter J, Brandon DL, Cheng LW, and Mckeon TA. (2007) Application of a Real Time Polymerase Chain Reaction Method to Detect Castor Toxin Contamination in Fluid Milk and Eggs. *J. Agric. Food Chem.* 55: 6897-6902.
15. Sambrook J, MacCallum P, and Russell D.(2000) Molecular cloning: A laboratory Manual. (Third Edition) Cold Spring Harbor Laboratory Press.
16. Myint MS, Johnson Y J, Tablante NL, and Heckert R A.(2006) The effect of pre-enrichment protocol on the sensitivity and specificity of PCR for detection of naturally contaminated *Salmonella* in raw poultry compared to conventional culture. *Food Microbiol.* 23:599–604.
17. Jofré A , Martin B, Garriga M, Hugas M, and Pla M. (2005) Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by multiplex PCR in cooked ham. *Food Microbiol.* 22: 109-115.
18. Elizaquível P, and Aznar R. (2008) A multiplex RTi-PCR reaction for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* on fresh, minimally processed vegetables. *Food Microbiol* 25:705-713.
19. Thisted LS, Lindqvist R, Ballagi-Pordany A, and Danielsson-Tham ML. (2000) A combined culture and PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. *Int. J. Food Microbiol.* 57:63– 73.
20. Lesne J, Berthet S, Binard S, Rouxel A, and Humbert F. (2000) Changes in culturability and virulence of *Salmonella typhimurium* during long-term starvation under desiccating conditions. *Int. J. Food Microbiol. Issues* 2–3, 60:195-203.
21. McCarthy N, Reen F J, Buckley JF, Frye JG, Boyd EF, and Gilroy D. (2009) Sensitive and rapid molecular detection assays for *Salmonella enterica* Serovars Typhimurium and Heidelberg. *J. Food Protec.* 72(11): 2350-2357

## Antibacterial and Antioxidant Activity of Fresh and Dried Aloevera Gels

Alia F. Hachim, Sundus H. Ahmed & Mona Qadoori

Ministry of Science and Technology / Baghdad / Iraq

E-mail: hams\_63@yahoo.com

### ABSTRACT

The antioxidative properties of *Aloe vera* gels white fresh and dried, brown and black, were investigated by two methods: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and superoxide anion radicals scavenging. The results had shown that the fresh and white dried gels had the highest activity in scavenging radicals in DPPH and super oxide radicals system in compaired with brown and black gels. The *in vitro* antibacterial properties of *Aloe vera* gels were detected against pathogenic bacteria. The white fresh and dried gel extract showed the highest zone of inhibition against all the pathogens. Hence it is suggested that *Aloe vera* gel extract could be a new source as antioxidant and antibacterial activity with potential applications for reducing levels of free radicals .

**Keywords:** *Aloe vera*; antioxidant activity; 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), superoxide anion radicals scavenging

### الملخص باللغة العربية

إن الفعالية المضادة للاكسدة لهلام نبات الصبار *Aloe vera* الابيض المجفف والطري وذو اللون البنّي والاسود قد شخصت باستخدام طريقتين هي طريقة 1 و 1 ثنائي فينيل 2 بكريل هايدرازيل و السوبر اوكسايد انيون في اراحة الجذور الحرة اذ بينت النتائج بان الهلام الابيض الطري والمجفف يمتلكان أعلى فعالية في اراحة الجذور الحرة للمركب و 1 ثنائي فينيل 2 بكريل هايدرازيل و السوبر اوكسايد انيون مقارنة بالهلام البنّي والاسود . وقد شخصت فعالية هلام نبات الصبار تجاه البكتريا المرضية اذ أظهر الهلام الابيض الطري والمجفف اعلى منطقة تثبيط تجاه كل الممرضات. لذلك يمكن اقتراح نبات الصبار كمصدر جديد لمضادات الاكسدة ومضاد للبكتريا الممرضة ويمكن تطبيقه في اراحة الجذور الحرة .



## INTRODUCTION

*Aloe vera* is an ornamental and medicinal plant. It is being used therapeutically, since Roman times (1), different properties being ascribed to the inner colorless leaf gel and to the exudates from the outer layers. Aloe has a history of traditional use by Native Americans for stomach disorders and intestinal disorders including constipation, hemorrhoids, colitis and colon problems. It is said to be a natural cleaner, powerful in penetrating tissues, relieving pain associated with joints and muscles, bactericidal, a strong antibiotic, virucidal when in direct contact with long periods, fungicidal, antiinflammatory, instrumental in increasing circulation to the area, breaking and digesting dead tissue and moisturizing tissues. The gel stimulates cell growth and as such enhances the restoration of damaged skin. It moisturizes the skin because it has a water holding capacity (2). Reactive oxygen species (ROS) is continuously produced during normal physiologic events and they can easily initiate the peroxidation of membrane lipids, leading to the accumulation of lipid peroxides. Under pathological conditions, ROS is overproduced and results in oxidative stress. There are a lot of antioxidants that are introduced to minimize actions of ROS. Phenol compounds can trap the free radicals directly or scavenge them through a series of coupled reactions with antioxidant enzymes (3). The purpose of the present study was to investigate the antioxidant and antimicrobial properties of *Aloe vera* gel.

## MATERIALS AND METHODS

### Collection of Plant Material

*Aloe vera* leaves and the black dried *Aloe vera* gel were purchased from the local market.

### Preparation of *Aloe vera* Gel

The fully expanded leaves of *Aloe vera* were selected from the plants, washed with distilled water and subjected to surface sterilization with 70% ethyl alcohol followed by 0.1% HgCl<sub>2</sub>. The parenchymatous covering of the leaves were peeled and the gel drained out. Slurry was formed with the help of pestle and mortar.

### Test Organisms

Cultures of human pathogenic bacteria such as, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes* and *Staphylococcus aureus* isolates were used in this study. These isolates were obtained from Central Health Laboratory.

### Screening of Phytochemical Components:

Phytochemical components were analyzed qualitatively according to (4).

**Tests for saponins:** 2 ml of extract in a test tube was vigorously shaken for 2 min. observed in each extract tested indicated the presence of saponins.

**Tests for steroids:** 5 drops of concentrated H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was added to 1 ml of the extracts, a reddish brown color formed at the interface was indication of the presence of steroids.

**Tests for flavonoids:** 0.5 ml of 2% AlCl<sub>3</sub> ethanol solution was added to 0.5 ml of the extracts. After that temperature, the absorbance of was measured at 420 nm. a yellow color indicated the presence of flavonoid.

**Test for phlobatannins:** 2 ml of *Aloe vera* extract was boiled with 1% aqueous hydrochloric acid, a reddish precipitate was taken as evidence for the presence of phlobatannin.

**Test for tannins:** 0.20 g of the sample was added to 20 ml of 50% methanol. This was shaken thoroughly and placed in a water bath at 80° C for 1 h to ensure uniform mixing. The extract was filtered into a 100-ml volumetric flask, followed by the addition of 10 ml of 17% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and was thoroughly mixed. The mixture was made up to 100 ml with distilled water, mixed and allowed to stand for 20 min. The bluish-green color developed at the end of the reaction mixture of different concentrations ranges from 0 to 10 ppm.

### Antibacterial activity assay

Antibacterial activity of different samples of the gels studied were determined by agar well diffusion method (5) on nutrient agar medium. Wells were made in nutrient agar plate using cork borer (5 mm) and inocula containing 10<sup>6</sup> CFU/ml of bacteria were spread on the solid media with a sterile swab moistened with the bacterial suspension. The dried gel were reconstituted in water to a concentration of 100 mg/ml. 100 µl gel of each was placed in the well made in the inoculated plates. Also 100 µl of water was placed in the well separately as a control. Antibiotics Gentamycin (1 mg/ml)

and Streptomycine (streptomycine sulphate IP (1mg/ml) at their respective dosage were also tested for comparative efficacy. The plates were incubated for 24 h at 37 °C and the zone of inhibition if any around the well was measured in millimeter. For each treatment, three replicates were maintained.

#### DPPH radical scavenging assay

DPPH radical scavenging activity was done (6). In brief the reaction mixture containing 1 mL of DPPH solution (0.1 mmol /L, in 95% ethanol v/v) with different concentrations of the gel was shaken and incubated for 20 min at room temperature and the absorbance was read at 517 nm against a blank. The radical scavenging activity was measured as a decrease in the absorbance of DPPH and calculated using the following equation:  
Effect of scavenging (%) =  $[1 - A_{\text{sample}}(517\text{nm}) / A_{\text{control}}(517\text{nm})] \times 100$ .

#### Superoxide radical scavenging assay

The superoxide radical scavenging activity of the Gels was measured according to the literature method (7). The reaction mixture containing PMS (0.1 mmol/L), NADH (1 mmol/L), NBT (1 mmol/L) in phosphate buffer (0.1 mol/L, pH 7.4) with different concentrations of the extract was incubated at room temperature for 5 min and the color was read at 560 nm against a blank. The scavenging effect was calculated using the following equation:

Effect of scavenging (%) =  $[1 - A_{\text{sample}}(560\text{nm}) / A_{\text{control}}(560\text{nm})] \times 100$ .

#### Statistical Analysis:

Data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The data obtained were subjected to ANOVA test to determine whether there was significant difference between Aloe vera gels.

### RESULTS AND DISCUSSION

The phytochemical active compounds of *Aloe vera* were qualitatively analyzed and the results were presented in Table (1). In analysis of Tannin compounds brownish green color developed to indicate the presence of Tannin. Similarly based on the presence or absence of colour change indicate positive and negative results are indicate. In this screening process Tannin, Saponin, Flavonoids and Terpenoids gave positive results and phlobactanins and

Steriods gave negative results. The antibacterial activity of test gels was shown in Table (2). The antibacterial efficacy of various gels white brown and black against the pathogenic bacteria showed varied level of inhibition. The activity of the different gels were compared with standard drugs, Streptomycine and Gentamycine. The result shown there was differences in antibacterial activity against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*: we found that the fresh gel have the highest antibacterial activity in compare with the other gels, than other gels( Dried white, Brown and Black), probably active component in *Aloe* are thought to be related to their toxicity to microorganisms. Phenolic compound act by denaturing proteins and disrupting cell membrane (8). They act as a disinfectant, as a tuberculocidal agent and have been proposed to have direct antimicrobial activity (9,10) .

**Table (1) :Qualitative analysis of photochemical components of *Aloe Vera***

Phytochemical components of qualitative analysis	Results
Tannin	+
Phlobatannins	-
Saponin	+
Flavonoids	+
Steriods	-

Gels were subjected for the evaluation of antioxidant activity by using various *in vitro* model systems. DPPH radical scavenging activity was observed in all the gels, the white gel ( Dried and Fresh gels ) showed dominant activity followed by brown gel and black gels. The IC<sub>50</sub> values were calculated and are depicted in (Table 3 ) our result showed that white gel fresh and dried had the highest IC 50 0.92 and 0.87 , respectively , in DPPH scavenging free radical in compare with brown and black gel 0.66 and 0.43, respectively. Proton radical scavenging action is an important attribute of antioxidants, which is measured by DPPH radical scavenging assay. Hydrogen donating ability of the antioxidants

molecules contributes to its free radical scavenging nature. Superoxide radical is known to be a very harmful species to cellular components as a precursor of more reactive oxygen species, (11). The result of super oxide radical scavenging assay showed that white dried and fresh gels had the highest super oxide scavenging activity 0.83 and 0.77 in comparison with the brown and black gels table 3. The superoxide radical is known to be produced *in vivo* and can result in the formation of  $H_2O_2$  via dismutation reaction. Moreover, the conversion of superoxide and  $H_2O_2$  into more reactive species, e.g., the hydroxyl radical, has been thought to be one of the unfavorable effects caused by superoxide radicals(11).

**Table( 2): Antibacterial activity of different solvent extracts of Aloe Vera**  
Inhibition zone mm against clinical bacteria

Sample of Gels	1	2	3	4	5	6
White Gel (fresh)	30	27	24	21	26	28
White Gel (dried)	25	27	22	20	26	20
Brown Gel (dried)	16	12	13	17	20	15
Black Gel (dried)	10	7	11	8	12	6
Streptomycin	22	20	25	26	20	19
Gentamycin	25	27	20	22	27	22

(1)*Bacillus cereus* (2) *Bacillus subtilis*  
(3)*Escherichia coli* (4)*Klebsiella pneumonia*  
,(5)*Salmonella typhi*, (6)*Staphylococcus*

\* Average of three replicates

**Table(3): IC<sub>50</sub> values of the respective extracts in different *in vitro* models.**

IC 50 (mg/mL)		
Sample	DPPH radical scavenging activity	Super oxide radical scavenging assay
White Gel (Fresh)	0.92 ± 0.20	0.83 ± 0.31
White Gel (dried)	0.87 ± 0.30	0.77 ± 0.27
Brown Gel(dried)	0.66 ± 0.21	0.58 ± 0.19
Black Gel(dried)	0.43 ± 0.18	0.27 ± 0.23

Values are mean±SD of 3samples

## REFERENCES

- Morton JF. (1961) Folk uses and commercial exploitation of aloe leaf pulp. *Econ. Bot.* 15: 311- 319.
- Lawles, J. and Allan J. (2000) The Clinical Composition of *Aloe vera*, In: *Aloe vera* natural wonder cure. Torsions, Publishing Ltd., London, United Kingdom. pp 161-171.
- Reynolds T. and Dweck AC (1999) *Aloe vera* leaf gel: a revise update. *J. Ethnopharmacol.*, 68: 3-37.
- Harborne J, Chapman B, and Hall C. (1973) *Phytochemical Methods: A Guide to Technique of Plant Analysis*. J. Ethnopharmacol., 25(9): 171-174.
- Karthikeyan A., Shanthi V. and Nagasathaya A.(2009) Preliminary photochemical and antibacterial Screening of crude extract of the leaf of *Adhatoda vasica*. *L. Int. J. Green Pharmacy*, 3: 78-79.
- Nagai T, Inoue R, Inoue H and Suzuki N(2003) Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chem.*; 80: 29-33.
- Halliwell B and Gutteridge JMC(1985) In Free radicals, ageing and disease, free radicals in biology and medicine (2<sup>nd</sup> ed.). Oxford: Charendon Press.; 279-315.
- Lai LS, Chou ST and Chao WW (2001) Studies on the ant oxidative activities of Hsian-

tsao (*Masona procumbens* Hemsl) leaf gum. J Agri Food Chem.; 49: 963-968.

9. Dubai YU. Muhammad S and. Aliyu BS,( 2007) Antibacterial activity of anthraquinone fraction of *Vitex doniana*. Pakis. J. Biol. Sci: 1-3

10. Reynolds T. and. Dwec AC,( 1999) *Aloe vera* leaf gel: a revise update. J. Ethnopharmacol., 68: 3-37.

11. Lee SE, Hwang HJ, Ha JJ, Jeong HS and Kim TH(2003) Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. Life Sci; 73

## Novel Synthesis of 7-MercaptoBenzo[b]thiophen and 7-Mercaptobenz[1,2]isothiazole

Loai Q. Abdul- Rahman ,Adel Al- Ramahi & Khaled A. Abu- Hammour

Faculty of Pharmacy / Isra University / Amman / Jordan

### ABSTRACT

A novel 7-mercapto-benzo[b]thiophen and benz[1,2]isothiazole were synthesized by using their 7-hydroxy-derivatives applying Newman-Kwart rearrangement of its thiocarbamate derivatives. They are important synthetic targets because of the interesting biological activities shown by members of this class of compounds. The structures of all the newly synthesized compounds were confirmed by elemental analysis and IR, <sup>1</sup>H NMR, and mass spectral data.

**Key words:** 7-Hydroxybenzo[b]thiophen, 7-hydroxybenz[1,2]isothiazole, Newman-Kwart rearrangement, 7-mercaptobenzo[b]thiophen, 7-mercaptobenz[1,2]isothiazole, the 2-carbohydrazides, 2-carboxamide derivatives

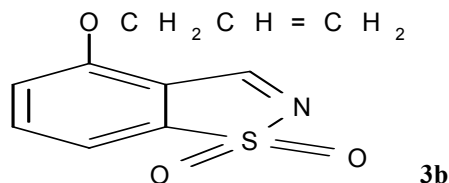
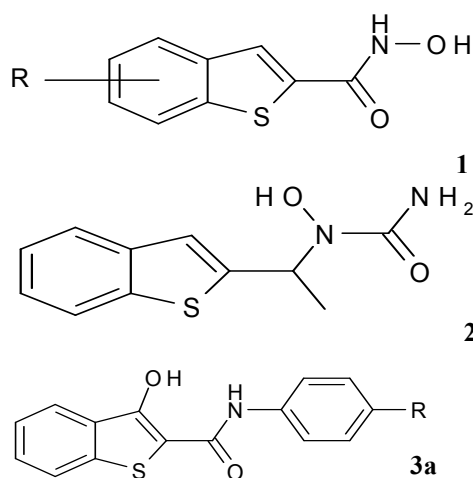
### الملخص باللغة العربية

حضرت مركبات 7- مركابتو بنزو ثايوفين و 7- مركابتو بنزو ثايازول بطريقة مبتكرة ابتداء من معوضات ال 7- هيدروكسي للمركبين بنزو ثايوفين و بنزو ثايازول باستخدام طريقة نيومان - واط لاعادة التنظيم. المركبات المحضرة تمثل نواة لمركبات ذات تأثيرات بايولوجية مهمة في مجال البنزو ثايوفين و البنزو ثايازول. جميع المركبات الجديدة اثبتت باستخدام التحليل الكيميائية المعتمدة.

## INTRODUCTION

The main area of activity in the chemistry of benzo[*b*]thiophene, in the eighties and nineties of the last century, centered on the synthesis of its derivatives that are analogues of bioactive indole derivatives including indole alkaloids (1-3). These analogues, benzothienyl-hydroxamic acids (**1**) were described as potent histone deacetylase inhibitors, potentially valuable as antitumor agents (4). Zileuton (**2**) benzothiophene derivative with a hydroxyurea side chain is a potent 5-lipoxygenase inhibitor and is used in asthma therapy (5). Antiinflammatory activity, based on inhibition of 5-lipoxygenase, was also observed for 3-hydroxy-benzothiophene-2-carboxanilides (**3a**) (6) and probenazole (**3b**) reported to act against a wide range of plant pathogens (fungi, bacteria and viruses) (7).

The applications of Newman-Kwart rearrangement are reported to be very diverse (8). These results captured our attention and as a continuing of our programmed we decided to go further in the study of this type of reactions by investigating the possibility to synthesis the novel 7-mercaptobenzo[*b*]thiophen derivatives starting from the 7-hydroxybenzo[*b*]thiophen derivatives. By similar method 7-hydroxy[1,2]benzisothiazole (4) has been converted to the 7-mercaptobenz [1,2] isothiazole. The 7-mercapto-benzo[*b*]thiophen and-benz[1,2]isothiazole represent a novel starting material for building block for more complex structures.



## MATERIALS AND METHODS

All reagents were purchased from commercial sources and were used without further purification unless otherwise noted. Melting points (mp) were determined on Mel-Temp II apparatus and are uncorrected. Infrared spectra were run on Impact 410 spectrophotometer using KBr film. Absorption band position is given in  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$  NMR spectra were recorded on (300 MHz) spectrometer. Chemical shifts are expressed in ppm related to tetramethylsilane. Mass spectra were obtained on either a Mariner Mass Spectrum or a MAT-212 mass spectrometer. Elemental analyses were determined on Carlo Erba 1106 elementary analysis apparatus. Each of the target compounds was purified by silica gel (60 Å, 70–230 mesh) column chromatography. Concentration and evaporation of the solvent after reaction or extraction were carried out on a rotary evaporator (Buchi Rotavapor) operated at reduced pressure.

The preparation of 7-mercaptobenzo[*b*]thiophen (**7a**, and **b**)*O*-(7-hydroxybenzo[*b*]thiophen)-*N,N*-dimethylthiocarbamate (**5a**, **b**)

A solution of *N,N*-dimethylthiocarbamoyl chloride (0.37 mol) in dry tetrahydrofuran (100 ml) was added during 20–30 min to a stirred, cooled ( $0^\circ\text{C}$ ) solution of 7-hydroxybenzo[*b*]thiophen (**4a**, **b**) (0.37 mol) and potassium hydroxide (21 g) in (250 ml) water at such a rate that the temperature did not exceed more than  $10^\circ\text{C}$ . completed the addition, the ice-bath was removed, then the mixture was stirred for a further 10 min., and made alkaline with 10% aqueous potassium hydroxide (125 ml). The mixture was extracted with benzene, and the combined extracts were washed with saturated sodium chloride then water, and dried evaporation of solvent gave yellow plates (82%) from methanol-water, m.p.  $123.5\text{--}124.5^\circ\text{C}$  (found: C, 66.35 H, 5.06

N,6.45 %;  $M^+$ , 217.  $C_{12}H_{11}NOS$  required C,66.35 H,5.04 N,6.45%;  $M$ , 217);  $\nu_{\max}$ . 1540 (C=S)  $cm^{-1}$ ;  $\delta$  3.43, 3.46 (6H, s, NMe<sub>2</sub>), 8.23(d, 3-H), and 7.13-7.80 (m, Ar-H).

*S*-(7-hydroxybenzo[b]thiophen)-*N,N*-dimethylthiolcarbamate (6a,b)

A solution of *O*-(7-hydroxybenzo[b]thiophen)-*N,N*-dimethylthiocarbamate (3g, mol) in diphenylether (50-60 ml) was kept under nitrogen at 240-250°C for 10-15 min. then cooled. Light petroleum (360 ml) was added, and then the mixture was left overnight at 0°C. The resulting brown-yellow solid was filtered off and recrystallised from light petroleum (b.p. 40-60°C), to give a pale yellow needles 90 % yield, m.p. 103-103.5°C (found: C,66.33 H,5.06 N,6.43 %;  $M^+$ , 217.  $C_{12}H_{11}NOS$  required C,66.33 H,5.06 N,6.34 %;  $M$ , 217);  $\nu_{\max}$ . 1670 and 1690 (C=O) $cm^{-1}$ ;  $\delta$  3.43, 3.16 (6H,s,NMe<sub>2</sub>), 8.23(d,3-H), and 7.13-7.80 (m, Ar-H).

General procedure for 7-Mercaptobenzo[b]thiophen (7a,b)

A stirred solution of *S*-(7-hydroxybenzo[b]thiophen)-*N,N*-dimethylthiolcarbamate (3.32g, 0.020 mol) in methanol (20ml) containing 10% aqueous sodium hydroxide (0.8g,0.020 mol) was heated under nitrogen for 1h. The alkaline mixture was washed with chloroform to remove the unhydrolyzed starting material; it was acidified, extracted with ether, and dried. Evaporation of the solvent left a yellow solid (2.8 g, 87%) from n-hexane, m.p.70.5-71.5°C (found: C,57.83 H,3.61%;  $M^+$ , 166.  $C_8H_6S_2$  required C, 57.83 H,3.63%,  $M$ , 166);  $\nu_{\max}$ . 3400 (br. as film), 3600 (sharp, in  $CCl_4$ ) (SH)  $cm^{-1}$ ;  $\delta$ 8.16(s,1H,3-H<sub>BT</sub>), 7.72-6.88(Ar-H<sub>BT</sub>).

**Similar procedures of (5 and 6) was carried out for the preparation of 7-hydroxybenz[1,2]isothiazole (13,14).**

*O*-(7-hydroxybenz[1,2]isothiazole)-*N,N*-dimethylthiocarbamate (13).

Applying the same procedure used for (5) 90% of yield of the title compound was obtained from methanol, m.p. 108.5-109.5°C (found: C, 50.42 H, 4.20 N, 11.76 %;  $M^+$ , 238.  $C_{10}H_{10}N_2OS_2$  required C, 50.35 H, 4.24 N,11.75%;  $M$ , 238);  $\nu_{\max}$ . 1540 (C=S)  $cm^{-1}$ ;  $\delta$  3.43, 3.46 (6H, s, NMe<sub>2</sub>), 8.09(s, 3-H), and 7.13-7.80 (m, Ar-H)

*S*-(7-hydroxybenz[1,2]isothiazole)-*N,N*-dimethylthiolcarbamate (14).

A solution of *O*-(7-hydroxybenz[1,2]isothiazole)-*N,N*-dimethylthiocarbamate (3g, 0.012mol) in triethylene glycol dimethylether (100 ml) was kept under nitrogen at 240-250°C for 10-15 min. then cooled, water (360 ml) was added, and then the mixture was left overnight at 0°C. The

resulting brown-yellow solid was filtered off and recrystallised from water, to give a pale yellow needles 78% yield, m.p (100.5-101°C decompose) ( found: C, 50.43 H, 4.20 N, 11.75 %;  $M^+$ , 238.  $C_{10}H_{10}N_2OS_2$  required C, 50.43 H, 4.20 N, 11.75 %; M, 238);  $\nu_{\max}$ . 1670 and 1690 (C=O) $cm^{-1}$ ;  $\delta$  3.43, 3.16 (6H,s,NMe<sub>2</sub>), 8.09(s,3-H), and 7.13-7.80 (m, Ar-H).

#### 7-mercaptobenz[1,2]isothiazole(15).

Applying procedure used for the hydrolysis of (7) the title compound was obtained in 72% yield from n-hexane, m.p. 97 °C ( found: C, 50.60 H, 3.01 N, 8.43 %;  $M^+$ , 166.  $C_7H_5NS_2$  required C, 50.60 H, 3.20 N, 8.44%; M, 166);  $\nu_{\max}$ . 1628(C=N)  $cm^{-1}$ ;  $\delta$  8.09 (s,3-H), and 7.13-7.80 (m, Ar-H).

#### Preparation of 7-Hydroxy-benzo[b]thiophene-2-carbohydrazides (8)

To a solution of (4) (10 mmol) in methanol (20 mL), hydrazine hydrate (7 mL) was added dropwise under ice cooling. The mixture was then refluxed for 4 h. After completion of the reaction (monitored by TLC), the mixture was acidified with HCl (2N) to pH = 4-4.5 under ice cooling. The precipitated product were collected, washed with cold water and recrystallized from methanol. Yield: 75% pale yellow solid, m.p. 98-99 °C (found: C, 51.25 H, 3.96 N, 13.28 S, 14.97%;  $M^+$ , 208  $C_9H_8N_2O_2S$  required C, 51.91 H, 3.87 N, 13.45 S, 15.40%; M 208);  $\nu_{\max}$  1600  $cm^{-1}$  (C=O); 3300  $cm^{-1}$  (NH-NH<sub>2</sub>);  $\delta$  7.40 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 7.51-7.83 (m, 4H, Ar-H); 7.69 (s, 1H, NH); 9.28 (s, 1H, OH).

#### 7-Hydroxy-N-(propan-2-ylideneamino)-benzo[b]thiophene-2-carboxamide (10)

To a suspension of the hydrazides (8) (5 mmol) in methanol (10 mL), (10 mmol) of acetophenone was added and the mixture was heated to reflux for 1h. After cooling, the precipitated solid product was collected by filtration and recrystallized from ethanol. Yield: 87%, white solid m.p.: 240 °C; (found: C,66.66 H,4.93 N,8.64 S,9.87% ;  $M^+$  324  $C_{18}H_{16}N_2O_2S$ ,required C,66.66 H,4.95 N,8.56 S,9.87%; M 324);  $\nu_{\max}$  1624  $cm^{-1}$  (C=O); 3157-3236  $cm^{-1}$  (NH);  $\delta$  1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 7.43-7.92 (m, 4H, Ar-H); 11.05 (s, 1H, NH); 13.22 (s, 1H, OH).

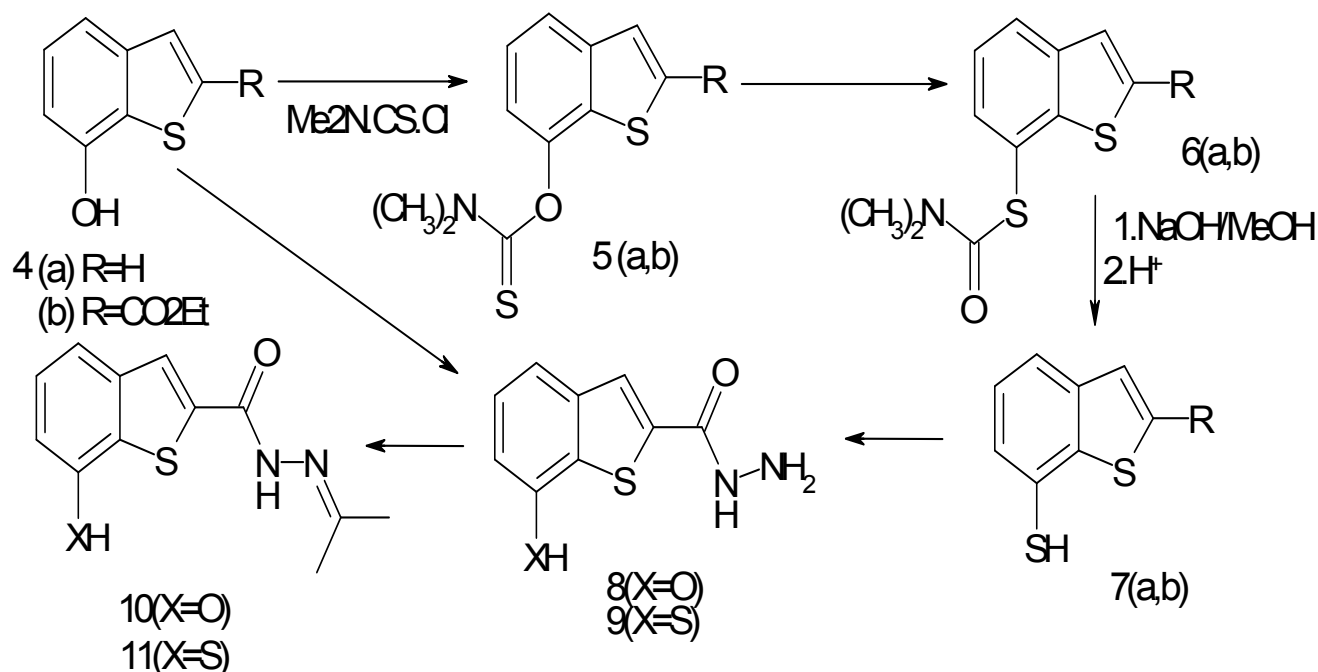
## **RESULTS AND DISCUSSION**

A practical synthesis of 7-hydroxybenzo[b]thiophene (4a) and 7-hydroxybenz[1,2]isothiazole (12) derivatives were earlier accomplished through demethylation of the methyl ether (9).

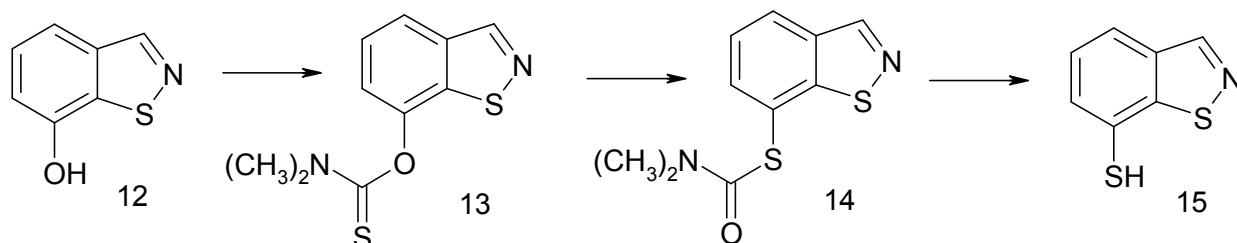
7-hydroxybenzo[b]thiophens (4a, and b) were reacted with freshly prepared thiocarbamoyl chloride to give the thiocarbamates (5a, and b) under nitrogen the reaction proceeded in a relatively high yield. The thiocarbamate derivatives were treated with diphenyl ether at 220-250°C Newman-Kwart rearrangement takes place to give the thiolcarbamate derivative (6a, and b) after triturating with petroleum ether (40-60°C) gave needles in good yield.

Hydrolysis of (6a, b) accomplished the 7-mercaptobenzo[b]thiophen derivative (7a, and b). The later (7b) and the 7-hydroxybenzo[b]thiophene-2-carboxylates (4b) were anticipated to undergo hydrazinolysis. Reaction between the acid chloride of (4b, and 7b) and hydrazine hydrate afforded the acid hydrazide (8, 9) in good yield. The IR spectra showed the N-H stretching absorption near 3140  $cm^{-1}$  and the C=O stretching one at 1640  $cm^{-1}$ . After having successfully prepared the carbohydrazides 8 and 9, it was of interest to study their behaviour towards ketones and aldehydes. When a mixture of 8 or 9 and ketone/aldehyde in a molar ratio of 1:2 was refluxed in methanol for 1 h, the N-aminoalkenyl-3-hydroxy-benzo[b]thiophene-2-carboxamides (10, and 11) were obtained as solid materials in 85-92% yield.





The formation of these Schiff bases was indicated by the presence in their IR spectra of the azomethine (CH=N) stretching band at 1600 cm<sup>-1</sup>, combined with the disappearance of the NH<sub>2</sub> stretching band.



7-hydroxybenz[1,2]isothiazole (**12**) was treated with thiocarbonyl chloride to afford the carbamate derivative (**13**) in 90% yield, heating the later in triethylene glycol dimethyl ether the reaction was cooled and diluted with water produced the thiolcarbamate (**14**) in 78% yield [tarry material upon heating (**14**) in diphenyl ether]. Hydrolysis of the later using 5% sodium hydroxide afforded the 7-mercaptobenz[1,2]isothiazole (**15**) in 72% yield (10-12).

## REFERENCES

1. Iddon B. and Scrowston RM.(1970) Stepwise Oxidation of Thiophene and Its Derivatives by Hydrogen Peroxide Catalyzed. *Advances in heterocyclic chemistry*, Vol. 11, Academic Press, p.177.

2. Scrowston RM.(1981) Recent Advances in the Chemistry of Benzo [b] thiophenes *Advances in heterocyclic chemistry*, Vol. 29, Academic Press, p.171.

3. Chandrani M. and Asish D.(2001) Certain aspects of the chemistry of hydroxybenzo[b]thiophene *J. Indian Inst. Sci.* 81: 417-430.

4. Rahman LKA and Scrowston RM.(1983) Chemistry of Heterocyclic Compounds: Synthesis of Fused Heterocycles, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*:2972.

5. Marín-Luna M, Alajarin M, Ortín MM, Sánchez-Andrada P, and Vidal A. (2008) Benzylic Newman-Kwart Rearrangement Triggered by Phosphanes. 12<sup>th</sup> international electronic conference on synthetic organic chemistry, Nov. 1-30.

6. Svoboda J., Stadler M., Jandera A., Panajotova V., and Kuchar M. (2000)

Synthesis and biological evaluation of new antiinflammatory 1-benzothiophene-2-carboxanilides .Collect. Czech. Chem. Commun. 65:1082.

7. Michiaki I.(2001) probeazole a plant defense activator, *pesticide outlook* . Feb doi:10.1039/b100805f

8. Lloyd-Jones GC.; Moseley JD.; and Renny JS.(2008) Mechanism and Application of the Newman-Kwart O→S Rearrangement of O-Aryl Thiocarbamates. *Synthesis* . 661.

9. Boschelli DH., Connor DT., and Wright CD.(1995) 1,3,4-Oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole, and 1,2,4-triazole analogs of the fenamates: in vitro inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activities. . *Chem. Abstr.* 122,23836.

10. Hogarth PM., Pietersz GA., and Moloney GP.(2004) 1,4-Benzothiazepines,3-Hydroxy-benzo[b]thiophene-2-carboxamides and Benzothieno[2,3-e][1,3]oxazines Derived from Thiosalicylic Acid. *Chem. Abst.* 141:123552.

11. Brooks DW., and Summers JB.(1991) In *Perspectives in Medicinal Chemistry*. *Chem. Abst.* 115: 92059.

12. Deng W., Lye PL., Lim YH., and WO L. (2006) 2006101454, (20<sup>th</sup> Mar.), *Chem. Abstr.* 145: 377189.

## Minimax Estimation of the Scale Parameter of the Laplace Distribution under Quadratic Loss Function

Nadia H. Al- Noor & Huda A. Rasheed

*Dept. of Mathematics / College of Sciences / Al- Mustansiryah University / Baghdad / Iraq*

*E –mail: nadialnoor@yahoo.com*

### ABSTRACT

The object of the present paper is to finding the minimax estimators of the scale parameter of the Laplace distribution under quadratic loss function by applying the theorem of Lehmann (1950). Through simulation study the performance of this method compared with the classical maximum likelihood estimator with respect to mean squared-errors (MSEs). We conclude that the minimax estimator with small values of  $c$  gives the best results, followed by the maximum likelihood estimator.

**Keywords:** Minimax estimator; Bayes estimator; Maximum likelihood estimator; Laplace distribution; Mean squared error; Quadratic loss function

### الملخص باللغة العربية

يتضمن البحث الحالي إيجاد مقدرات صغرى الكبريات لمعلمة القياس لتوزيع لابلاس تحت دالة الخسارة التربيعية من خلال تطبيق نظرية ليتمان (1950). تم توظيف دراسة محاكاة لمقارنة أداء هذا الأسلوب مع أداء مقدر الإمكان الأعظم الكلاسيكي باعتماد متوسط مربعات الخطأ (MSEs) كمعيار للمقارنة وتم التوصل إلى أن مقدر صغرى الكبريات مع القيم الصغيرة من  $c$  يعطي أفضل النتائج يليه مقدر الإمكان الأعظم.

## INTRODUCTION

The minimax estimation was introduced by Wald (1950) from the concept of game theory. It opens a new dimension in statistical estimation and enriches the method of point estimations. Von Neumann (1944) introduced the word minimax (1). Podder et al. (2004) studied the minimax estimator of the parameter of the Pareto distribution under Quadratic and MLINEX loss functions (2). Also, Dey (2008) studied the minimax estimator of the parameter for the Rayleigh distribution under quadratic loss function (3). Shadrokhi and Pazira (2010) studied the minimax estimator of the parameter for the minimax distribution under several loss functions (4). Masoud Yarmohammadi and Hassan Pazira (2010) estimate the parameter  $\theta$  (when  $\lambda$  is known) by using the technique of minimax approach of the parameter of the Burr Type Xii Distribution (1). Iman Makhdoom (2011) studied the minimax estimation of the parameter of the Generalized Exponential distribution (5).

The Laplace distribution also referred to as the double exponential distribution has wide applications. It can be used to model the difference between the waiting times of two events generated by two random processes. It can also be used to describe breaking strength data, modeling the differences in flood stages, etc(6). Julia and Vives - Rego (2008) presented an application of the skew-Laplace distribution to flow cytometry data (7). Ali (2010) submitted Bayesian analysis of simple and mixture of Laplace distribution; he presented an overall comparison using various types of informative and non informative priors under different types of loss functions (8). Narges Abbasi (2011) has dealt with the aspect of the Bayesian inference of the discrete Laplace distribution; she made comparison between the Bayes' estimator and the maximum entropy estimator for discrete Laplace distribution (9).

In the current study we present comparison of maximum likelihood estimator of the scale parameter of the Laplace distribution and minimax estimator using non informative prior under quadratic loss function. We shall estimate the scale parameter of the Laplace distribution using the technique of minimax approach under quadratic loss function, which is essentially a Bayesian approach and compare this estimator with classical Maximum likelihood estimator (MLE).

## The Laplace Distribution

The classical Laplace distribution with mean zero and variance  $\sigma^2$  was introduced by Laplace in 1774. The distribution is symmetrical and leptokurtic (10).

This distribution has been used for modeling data that have heavier tails than those of the normal distribution.

Let us consider  $x_1, x_2, \dots, x_n$  to be a random sample of  $n$  independent observations from a Laplace distribution having pdf:

$$f(x; a, \theta) = \frac{1}{2\theta} \exp\left[-\frac{|x-a|}{\theta}\right]; -\infty < x < \infty \quad (1)$$

$$-\infty < a < \infty, \theta > 0$$

Where  $a$  is the location parameter and

$\theta$  is the scale parameter.

The cumulative distribution function is given by:

$$F(x; a, \theta) = \begin{cases} 1 - \frac{1}{2} \exp\left[-\frac{a-x}{\theta}\right] & \text{for } x \geq a \\ \frac{1}{2} \exp\left[-\frac{x-a}{\theta}\right] & \text{for } x < a \end{cases} \quad (2)$$

## Maximum Likelihood Estimation

The likelihood function for the Laplace pdf is given by:

$$L(x_i; a, \theta) = \left(\frac{1}{2\theta}\right)^n \exp\left[-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}\right] \quad (3)$$

By taking the log and differentiating partially with respect to  $\theta$ , we get:

$$\frac{\partial \ln L(x_i; a, \theta)}{\partial \theta} = \frac{-n}{\theta} + \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta^2} \quad (4)$$

Then the MLE of  $\theta$ , denoted by  $\hat{\theta}_{ML}$ , is the solution of equation (4) after equating the first derivative to zero. Hence:

$$\hat{\theta}_{ML} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |x_i - a|$$

### Minimax Estimation

we derive the minimax estimator of the parameter  $\theta$  for the Laplace distribution by applying a theorem, which is due to Hodge and Lehmann (1950) and can be stated as follows:

### Lehmann's Theorem:

Let  $\tau = \{F_\theta; \theta \in \Theta\}$  be a family of distribution functions and  $D$  a class of estimators of  $\theta$ . Suppose that  $d^* \in D$  is a Bayes estimator against a prior distribution  $\xi^*(\theta)$  on the parameter space  $\Theta$  and the risk function  $R(d^*, \theta) = \text{constant}$  on  $\Theta$ ; then  $d^*$  is a minimax estimator of  $\theta$  [3].

The main results are contained in the following theorem.

### Theorem:

Let  $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)$  be  $n$  independently and identically distributed random variable drawn from the density (1). Then:

$\hat{\theta}_{MQL} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{n + c}$  is the minimax estimator of the scale parameter of the Laplace distribution for the quadratic loss function of the type:

$$L(\theta, \hat{\theta}) = \left( \frac{\theta - \hat{\theta}}{\theta} \right)^2 \quad (6)$$

Where  $\theta$  is the parameter to be estimated and  $\hat{\theta}$  is the estimate of  $\theta$ .

To prove the theorem mentioned above. We use Lehmann's Theorem, which was stated before. Here, we consider the Quadratic loss function (QLF) of the form (6) which is a non-negative symmetric and continuous loss function of  $\theta$  and  $\hat{\theta}$  (3,5). This theorem can be proved through applying these two steps:

1. Finding the Bayes estimator  $\hat{\theta}$  of  $\theta$ .
2. Showing that the risk function of  $\hat{\theta}$  is a constant.

Let us assume that  $\theta$  has Jeffrey's non-informative prior density defined as:

$$\begin{aligned} g(\theta) &\propto \frac{1}{\theta^c} ; \theta > 0, c \in \mathbb{R}^+ \\ (5) \quad g(\theta) &= k \frac{1}{\theta^c} \quad (7); \text{ where } k \text{ is a constant} \end{aligned}$$

Combining the likelihood function (3) and the prior  $g(\theta)$  in (7), the posterior distribution for the parameter  $\theta$  given the data  $(x_1, x_2, \dots, x_n)$  is:

$$\begin{aligned} h(\theta|x) &= \frac{\prod_{i=1}^n f(x_i|\theta) g(\theta)}{\int_{-\infty}^{\infty} \prod_{i=1}^n f(x_i|\theta) g(\theta) d\theta} \\ &= \frac{\frac{1}{\theta^{n+c}} e^{-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}}}{\int_0^{\infty} \frac{1}{\theta^{n+c}} e^{-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}} d\theta} \quad (8) \end{aligned}$$

$$\text{Let: } y = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}$$

Then the posterior distribution become as follows:

$$h(\theta|x) = \frac{-\left(\sum_{i=1}^n |x_i - a|\right) \left[\frac{1}{\theta}\right]^{n+c-1} e^{-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}}}{\theta^{n+c} \Gamma(n+c-1)} \quad (9)$$

According to the QLF of the form (6), we can obtain  $\hat{\theta}$  such that:

$$\hat{\theta} = \frac{E\left(\frac{1}{\theta} | X\right)}{E\left(\frac{1}{\theta^2} | X\right)} = \frac{\int_0^{\infty} \frac{1}{\theta} h(\theta|x) d\theta}{\int_0^{\infty} \frac{1}{\theta^2} h(\theta|x) d\theta}$$

$$\hat{\theta} = \frac{\int_0^{\infty} \frac{1}{\theta} \left[ \frac{1}{\theta} \left( -\sum_{i=1}^n |x_i - a| \right) \left( \frac{1}{\theta} \right)^{n+c-1} e^{-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}} \right] \left( -\sum_{i=1}^n |x_i - a| \right) \left( \frac{1}{\theta} \right)^{n+c-1} e^{-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}} d\theta}{\int_0^{\infty} \frac{1}{\theta^2} \left[ \frac{1}{\theta} \left( -\sum_{i=1}^n |x_i - a| \right) \left( \frac{1}{\theta} \right)^{n+c-1} e^{-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}} \right] \left( -\sum_{i=1}^n |x_i - a| \right) \left( \frac{1}{\theta} \right)^{n+c-1} e^{-\frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta}} d\theta}$$

On simplification, we get the minimax estimator ( $\hat{\theta}_{MQL}$ )

$$\hat{\theta}_{MQL} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{n + c} \quad (10)$$

Now, we should prove that, the risk function of the estimator  $\hat{\theta}_{MQL}$  is a constant:

$$\begin{aligned}
 R_{\hat{\theta}_{MQL}}(\theta) &= E[L(\theta, \hat{\theta}_{MQL})] = \\
 &= E\left[\frac{(\theta - \hat{\theta})^2}{\theta^2}\right] \\
 &= \frac{1}{\theta^2} [ \theta^2 - 2\theta E(\hat{\theta}_{MQL}) + E(\hat{\theta}_{MQL})^2 ] \\
 &= \frac{1}{\theta^2} \left[ \theta^2 - \frac{2\theta}{(n+c)} E\left(\sum_{i=1}^n |x_i - a|\right) + \frac{1}{(n+c)^2} E\left(\sum_{i=1}^n |x_i - a|\right)^2 \right]
 \end{aligned}
 \tag{11}$$

Now, If  $x$  has a Laplace  $(a, \frac{1}{\theta})$  distribution then,

$$\frac{2 \sum_{i=1}^n |x_i - a|}{\theta} \sim \chi_{(2n)}^2$$

So,  $E(T) = \frac{1}{\theta}$  and

$$E\left(\sum_{i=1}^n |x_i - a|\right) = \frac{1}{\theta}$$

$$E(T)^2 = \frac{1}{\theta^2} \text{ then,}$$

$$E\left[\sum_{i=1}^n |x_i - a|\right]^2 = \frac{2}{\theta^2} (4n + \frac{1}{n})$$

Substituting for  $E(\frac{1}{\theta})$  and  $E(T)^2$  in (11) gives:

$$\begin{aligned}
 R_{\hat{\theta}_{MQL}}(\theta) &= \frac{1}{\theta^2} \left[ \theta^2 - \frac{2\theta}{(n+c)} \left(\frac{1}{\theta}\right) + \frac{(4n + \frac{1}{n})\theta^2}{4(n+c)^2} \right] \\
 \Rightarrow R_{\hat{\theta}_{MQL}}(\theta) &= 1 - \frac{2n}{(n+c)} + \frac{(4n + \frac{1}{n})}{4(n+c)^2}
 \end{aligned}$$

, which is a constant.

So, according to the Lehmann's theorem it follows that:

$$\hat{\theta}_{MQL} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - a|}{n+c}$$

is the minimax estimator of the scale parameter  $\theta$  of the Laplace distribution under the quadratic loss function of the form (6).

### Simulation Study

Mean Squared Errors (MSEs) are considered to compare the different estimators of the scale parameter  $\theta$  which obtained by the method of maximum likelihood and minimax for quadratic loss function. In this simulation study, the number of replication used was  $I = 3000$  samples of sizes  $n = 5, 10, 20, 30, 50, 100$  from the Laplace distribution with  $a = 2$ ,  $\theta = 1$  and 3, using the different values of  $c$ ,  $c = 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4$ . The MSE of an estimator is defined by:

$$\text{MSE}(\theta) = \frac{\sum_{i=1}^I (\theta_i - \theta)^2}{I}
 \tag{12}$$

The results were summarized and tabulated in tables 1 and 2 for the MSE and  $E(\hat{\theta})$  of the different estimators for all sample sizes and also presented them in Figures 1 and 2.

### DISCUSSION AND CONCLUSION

Through the simulation study it appears from tables 1 and 2 with figures 1 and 2, that the minimax estimator under quadratic loss

function  $E(\hat{\theta}_{MQL})$  is the best estimator when  $c=1$  for all sample sizes, followed by the same estimator with  $c = 1.5, 0.5$  respectively and then maximum likelihood estimator  $E(\hat{\theta}_{ML})$ .

When  $c = 2$ , we can see that  $E(\hat{\theta}_{MQL})$  is also better than  $E(\hat{\theta}_{ML})$  for small and moderate sample sizes ( $n \leq 50$ ), and we can see that  $E(\hat{\theta}_{MQL})$  and  $E(\hat{\theta}_{ML})$  have approximately are identical when the sample size equal to 100.

**Table (1): Biases and MSEs of different estimators for the parameter  $\theta$  of the Laplace distribution when  $\theta = 1$**

n	Criteria	$\hat{\theta}_{M-L}$	$\hat{\theta}_{M-L}$					
			c = 0.5	c = 1	c = 1.5	c = 2	c = 3	c = 4
5	$E(\hat{\theta})$	1.0009	0.9099	0.8341	0.7699	0.7149	0.6255	0.5560
	MSE	0.1954	0.1696	0.1632	0.1685	0.1809	0.2165	0.2573
10	$E(\hat{\theta})$	1.0029	0.9552	0.9118	0.8721	0.8357	0.7715	0.7163
	MSE	0.1011	0.0937	0.0913	0.0928	0.0971	0.1120	0.1320
20	$E(\hat{\theta})$	1.0031	0.9786	0.9553	0.9331	0.9119	0.8722	0.8359
	MSE	0.0518	0.0498	0.0489	0.0493	0.0505	0.0554	0.0629
30	$E(\hat{\theta})$	1.0038	0.9874	0.9715	0.9560	0.9411	0.9125	0.8857
	MSE	0.0336	0.0327	0.0323	0.0324	0.0330	0.0354	0.0392
50	$E(\hat{\theta})$	1.0001	0.9902	0.9805	0.9710	0.9616	0.9435	0.9260
	MSE	0.0201	0.0198	0.0197	0.0198	0.0201	0.0211	0.0227
100	$E(\hat{\theta})$	0.9990	0.9941	0.9891	0.9842	0.9794	0.9699	0.9606
	MSE	0.0099	0.0098	0.0098	0.0098	0.0099	0.0102	0.0107

**Table (2): Biases and MSEs of different estimators for the parameter  $\theta$  of the Laplace distribution when  $\theta = 3$**

n	Criteria	$\hat{\theta}_{M-L}$	$\hat{\theta}_{M-L}$					
			c = 0.5	c = 1	c = 1.5	c = 2	c = 3	c = 4
5	$E(\hat{\theta})$	3.0028	2.7298	2.5023	2.3098	2.1448	1.8767	1.6682
	MSE	1.7588	1.5265	1.4690	1.5170	1.6285	1.9486	2.3164
10	$E(\hat{\theta})$	3.0088	2.8655	2.7353	2.6163	2.5073	2.3145	2.1491
	MSE	0.9098	0.8432	0.8218	0.8350	0.8744	1.0082	1.1880
20	$E(\hat{\theta})$	3.0093	2.9358	2.8659	2.7993	2.7357	2.6167	2.5077
	MSE	0.4664	0.4479	0.4409	0.4438	0.4552	0.4994	0.5661
30	$E(\hat{\theta})$	3.0115	2.9621	2.9143	2.8681	2.8233	2.7377	2.6572
	MSE	0.3026	0.2940	0.2905	0.2917	0.2970	0.3187	0.3529
50	$E(\hat{\theta})$	3.0004	2.9707	2.9415	2.9130	2.8850	2.8305	2.7781
	MSE	0.1811	0.1784	0.1775	0.1782	0.1806	0.1899	0.2045
100	$E(\hat{\theta})$	2.9971	2.9822	2.9674	2.9528	2.9384	2.9098	2.8812
	MSE	0.0892	0.0886	0.0885	0.0888	0.0895	0.0922	0.0964

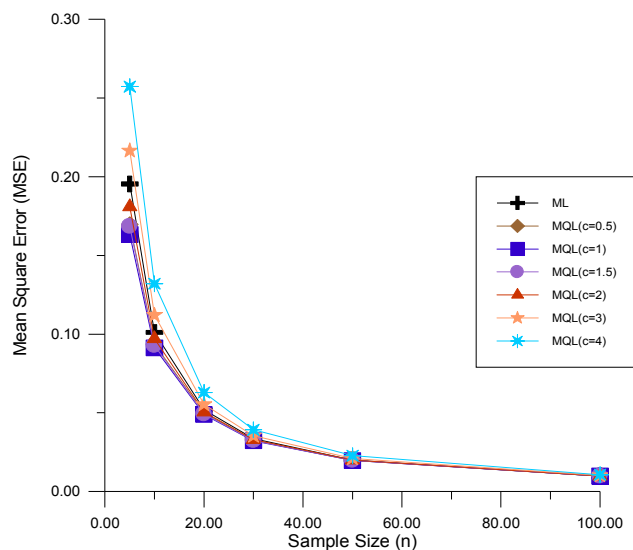


Fig. (1): MSE's of the ML and MQL Estimators with different values of c

when  $\theta = 3$ .

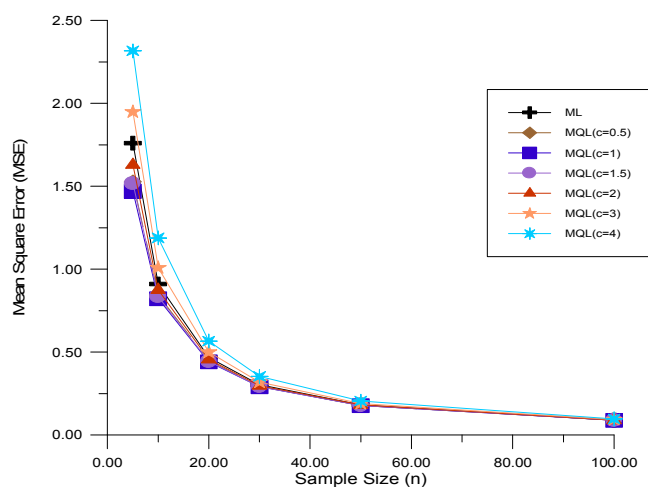


Fig. (2): MSE's of the ML and MQL Estimators with different values of c when  $\theta = 3$ .

From tables 1 and 2, we can see that  $E(\hat{\theta}_{MQL}) < \theta$  for all cases while  $E(\hat{\theta}_{ML}) < \theta$  only for large sample size ( $n = 100$ ).

We can also notice that, MSE increases when the scale parameter  $\theta$  increases, but MSE decreases for all cases when the sample sizes increases.

Thus, the study concludes that the minimax estimator under quadratic loss function

$(\hat{\theta}_{MQL})$  is better than the classical maximum likelihood estimator  $(\hat{\theta}_{ML})$  for estimating  $\theta$  parameter of the Laplace distribution especially with a small value of c (equal or less than 2). MSE increases when the scale parameter  $\theta$  increases, on the other hand, MSE decreases for all cases when the sample sizes increases.

## REFERENCES

1. Yarmohammadi M. and Pazira H. (2010) Minimax Estimation of the Parameter of the Burr Type Xii Distribution. *Austr. J. Basic and Appl. Sci.* 4( 12): 6611- 6622.
2. Podder CK, Roy MK, Bhuiyan, KJ, and Karim A. (2004) Minimax estimation of the parameter of the Pareto distribution for quadratic and MLINEX loss functions. *Pak. J. Statist.* 20(1): 137-149.
3. Dey S. (2008) Minimax Estimation of the parameter of the Rayleigh Distribution under Quadratic loss function. *Data Sci. J.* 7: 23-30.
4. Shadrokh A, and Pazira H. (2010) Minimax estimation on the minimax distribution. *Int.J. Statis. Sys.* 5(2): 99-118.
5. Makhdoom I., (2011) Minimax estimation of the parameter of the generalized exponential distribution. *Int. J. Acad. Res.* 3 (2): 515-527.
6. Krishnamoorthy K. (2006) Handbook of statistical distributions with applications. Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC Press.
7. Julia O, and Vives-Rego J. (2008) A microbiology application of the skew-Laplace distribution. *SORT* 32(2): 141-150.
8. Ali S. (2010) Statistical inference for the simple and mixture of Laplace distribution via Baysian approach. Msc. Thesis. Quaid-I-Azam University.
9. Abbasi N. (2011) Comparison of Bayes' estimator and Maximum Entropy estimator for discrete Laplace distribution. *Int. J. Contemp. Math. Sci.* 6(9): 447- 452.
10. Wu F. (2008) Applications of the normal Laplace and generalized normal Laplace Distributions. Msc. Thesis.University of Victoria.
11. Ross MS. (2009) Introduction to probability and statistics for engineers and scientists. 3<sup>rd</sup> Ed. Academic Press.



قسم الدراسات العربية

***ARABIC SECTION***

## تأثير اضافة فيتامين C وازهار نبات الكجرات الى عليقة فروج اللحم في الاداء الانتاجي

(1) سنبل جاسم حمودي، (1) لمى خالد بندر، (2) فراس مزاحم الخيلاني، (2) رعد فاضل حمد

(1) كلية الزراعة / جامعة بغداد / جمهورية العراق (2) الهيئة العامة للبحوث الزراعية / وزارة الزراعة / بغداد / جمهورية العراق

### الملخص باللغة العربية

اجريت هذه التجربة في محطة ابحاث الدواجن التابعة للهيئة العامة للبحوث الزراعية / وزارة الزراعة للمدة من 1 / 7 ولغاية 11 / 8 / 2010 لمقارنة اضافة فيتامين C وازهار نبات الكجرات الى عليقة فروج اللحم في الاداء الانتاجي. استخدم في التجربة 540 فرخاً من افراخ فروج اللحم غير المجنس من سلالة اربريكرز بعمر يوم وبوزن ابتدائي 44 غم / فرخ وزعت على 3 معاملات: الاولى معاملة السيطرة بدون اي اضافة، المعاملة الثانية اضافة فيتامين C (250 غم / طن علف) والمعاملة الثالثة اضافة ازهار نبات الكجرات (6 كغم / طن علف) تضمنت كل معاملة 6 مكررات (30 فرخاً / مكرر). ودرست التأثيرات الانتاجية، معدل وزن الجسم، الزيادة الوزنية، معدل استهلاك العلف، معامل التحويل الغذائي ونسبة الهلاكات ونسبة التصافي واوزان بعض الاعضاء والوزن النسبي لقطعيات الذبيحة. ان اضافة ازهار نبات الكجرات وفيتامين C قد ادى الى تحسن معنوي ( $p < 0.05$ ) في الاداء الانتاجي. إذ اظهرت النتائج ان اضافة ازهار نبات الكجرات قد زادت معنوياً ( $p < 0.05$ ) من معدل وزن الجسم والزيادة الوزنية واستهلاك العلف كما تحسن معنوياً معامل التحويل الغذائي مع انخفاض معنوي في نسبة الهلاكات مقارنة مع معاملتي Vit. C والسيطرة وهذه النتائج وضحتها قيم الدليل الانتاجي كما تحسن الاداء الانتاجي في معاملة اضافة Vit. C عنها في معاملة السيطرة. زادت معنوياً ( $p < 0.05$ ) نسبة التصافي واوزان القطعيات الرئيسية في الذبيحة (قطعتي الفخذ والصدر) في معاملة ازهار نبات الكجرات بالمقارنة مع المعاملتين.

### ABSTRACT

This experiment was conducted at poultry research station, State Board of Agricultural Research Ministry of Agriculture from 1/7 to 11/8/2010. To study the effect of supplemental Vit. C and Roselle in broiler diets on productive performance 540 day old unsexed broiler chicks (Arbore Acres) were used in this study. They were randomly distributed to 3 treatments. Control, Vit. C (250 g /ton) and Roselle (6 kg / ton) for 6 replicate (30 chicks per replicate). Body weight, gain, feed consumption, feed conversion ratio, mortality, dressing percentage, giblets and carcass cuts were studied. The results showed that supplementing Vit. C and Roselle flower supplemented to the diet increased significantly ( $p < 0.05$ ) in productive performance. Supplementing Roselle flower to the diet increased significantly ( $p < 0.05$ ) body weight, weight gain, feed conversion ratio and decreased mortality compared with Vit. C and control groups, so that results revealed by production index, also productive performance improved in Vit. C treatment compared with control group. Dressing percentage and carcass cuts (thigh, drumstick and breast) increased significantly in Roselle flower treatment than the other treatments.

## المقدمة

معاملات تضمنت كل معاملة 6 مكررات (30 فرخا / مكرر) وزعت عشوائيا على 18 حجرة (3×2.5 م). ربيت الافراخ من عمر يوم واحد ولغاية 42 يوما. قدمت عليقة البادئ من عمر يوم واحد ولغاية 21 يوما وعليقة النمو من عمر 22 يوم ولغاية 42 يوما بأضافة فيتامين C (250 غم / طن علف) وازهار نبات الكجرات (6 كغم/طن علف) للمعاملة الثانية منذ اليوم الاول من عمر الافراخ وحتى نهاية التجربة عند عمر 42 يوم. والجدول (1) يبين مكونات العليقة ونسبها المستخدمة في التجربة وتحليلها الكيميائي المحسوب.

ربيت الافراخ تربية ارضية على نشارة من الخشب ووضعت الافراخ في حجرة مزودة بمنهل بلاستيكي ارضي سعة 3 لتر ومعلق دائري بلاستيكي خلال الاسبوع الاول استبدل المنهل بمنهل بلاستيكي اوتوماتيكي معلق والمعلق معلق دائري وقد وفر الماء والعلف بصورة حرة *Ad libitum* طيلة مدة التجربة وكانت الاضاءة مستمرة لمدة 24 ساعة. درست العديد من الصفات الانتاجية هي: وزن الجسم الحي، الزيادة الوزنية، معامل التحويل الغذائي، معدل استهلاك العلف ونسبة الهلاكات وحسب ما ذكره الزبيدي (14). وحسب مقياس الدليل الانتاجي Production Index

كما جاء في (15) وقدرت نسبة التصافي، الوزن النسبي لبعض الاعضاء الداخلية المأكولة وقطيعات الذبيحة وفق ما ذكره إبراهيم (16).

تم تحليل البيانات البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار متعدد الحدود (17) واستعمل البرنامج الاحصائي الجاهز (18) في التحليل الاحصائي.

جدول (1) النسب المئوية والتركيب الكيميائي للعليقة المستخدمة خلال فترة التجربة

المكونات	البادئ 0 - 21 يوما	النهائي 22 - 42 يوما
ذرة صفراء	50	58
حنطة	5	3.5
كسبة فول الصويا (44%بروتين)	34.4	26.3
مركز بروتيني *	5	5
دهن	3.3	5
حجر كلس	0.7	0.7
ملح	0.3	0.3
داي كالكسيوم فوسفيت	1.3	1.2
التركيب المحسوب **		
البروتين الخام%	22	19
الطاقة المتمثلة كلف/كغم سرعة	3000	3197

بالنظر للظروف الجوية الحارة التي يمر بها العراق خلال اشهر السنة فان ذلك يؤدي الى تعرض الطيور الى الاجهاد الحراري صيفا مما ينعكس على تدهور الصفات الانتاجية والفسلجية وضعف في الجهاز المناعي وبالتالي ضعف مقاومة الطير للأمراض وزيادة نسبة الهلاكات وارتفاع حجم الخسائر الاقتصادية لمشاريع تربية فروج اللحم والدجاج البياض، إذ ان افضل اداء للطيور يكون في درجة حرارة بيئية تقع ضمن منطقة التعادل الحراري بين 18- 28 م ° (1).

ويظهر الاجهاد الحراري العديد من التأثيرات على الطيور منها انخفاض استهلاك العلف وتدهور كفاءة التحويل الغذائي (2) واعاقة امتصاص العناصر الغذائية من الامعاء الدقيقة (3) وزيادة الوقت اللازم لوصول الطيور الى الوزن التسويقي (4) وانخفاض وزن الجسم (5) واتبعت العديد من الطرق المختلفة لتخفيف الاجهاد الحراري منها اضافة الفيتامينات والاملاح والكلوكوز واستخدام المضادات الحيوية والادوية المسكنة والمهدئة وغيرها.

ومن الاساليب الاخرى التي ساهمت بشكل واسع في تخفيض الاجهاد الحراري Vit. C الذي له دور في تحفيز نظام المناعة في الجسم وتحسين فعالية وتكاثر الخلايا اللمفية نوع T ونوع B وزيادة قوتها على مهاجمة وتحطيم مسببات

المرض (6). ولأن العالم اتجه في الآونة الاخيرة الى استخدام الاعشاب الطبية ومستخلصاتها لاحتوائها على العديد من المركبات الفعالة فان نبات الكجرات واحد من هذه النباتات التي تستخدم اوراقه الكاسية في العديد من الاستخدامات الطبية لاحتوائها على مركبات فينولية لها القدرة على تثبيط اكسدة الدهون بابطاء تكوين البيروكسيدات (7) وتحتوي على مصدر اخر له دور كمضاد للاكسدة هو الانثوسيانين (8). كما تحتوي الاوراق على بعض الاحماض العضوية منها (Tartaric acid, citric acid) بنسبة 3-4 % (9).

ومن اهم المواد الموجودة في اوراق نبات الكجرات الكاسية فيتامين C (10) والذي هو موضوع دراستنا هنا لمقارنته مع اضافة فيتامين C الى عليقة فروج اللحم خلال اشهر الصيف الحار وبناء على دراسات اجريت في العراق على استخدام اوراق نبات الكجرات في علائق الدجاج البياض (11) وفروج اللحم (12، 13).

## المواد وطرائق العمل

اجريت هذه التجربة في محطة ابحاث الدواجن التابعة الى الهيئة العامة للبحوث الزراعية في وزارة الزراعة للمدة من 2010/7/1 ولغاية 2010/8/11 لمقارنة اضافة فيتامين C والكجرات الى عليقة فروج اللحم في الاداء الانتاجي ونسبة التصافي واوزان القطيعات وبعض الاعضاء الداخلية. واستخدم في التجربة 540 فرخا من افراخ فروج اللحم غير المجنس من سلالة اربريكرز وزعت الافراخ بعمر يوم واحد ووزن ابتدائي 44 غم/ فرخ الى 3

من خلال نتائج هذه الدراسة يمكن الاستنتاج بان التحسن المعنوي في اداء الطيور في معاملة Vit. C قد يعود الى ان Vit. C يصنع في داخل الجسم من الكلوكوز عن طريق حامضي glucuronic و gulonolactone بواسطة انزيم gulonolactone oxidase - L (20) وربما الاحتياجات الفسلجية لفيتامين C تفوق قابلية تصنيعه في ظروف الاجهاد الحراري بسبب زيادة الاجهادات التأكسدية و انتاج البيروكسيدات الدهنية و بروتينات الصدمة (21، 22، 23، 24) عليه اضافة النسبة الداخلة في التجربة من Vit. C ساندت الكمية المصنعة منه في الجسم وكان لها دور في تحسين الاداء الانتاجي، علاوة على ان وجود Vit. C يحفز نظام المناعة في الجسم من خلال تحسين وتكاثر الخلايا اللمفية نوع T و B وزيادة قدرتها على مهاجمة وتحطيم مسببات الامراض (6) لذا قلت نسبة الهلاكات في المعاملة المحتوية على Vit. C اما عن اضافة نبات الكجرات الى العليقة وتحسين الصفات الانتاجية في هذه المعاملة بشكل يتفوق حتى على معاملة Vit. C فان احتواء نبات الكجرات على العديد من المكونات الفعالة له الدور الكبير في التأثير منها المركبات الفينولية phenolic compounds والاحماض العضوية Citric acid و Tartaric acid ومركبات الانثوسيانين وبعض العناصر المعدنية مثل Ca، P، Na اضافة الى احتوائه على فيتامين C (8، 10).

اذ لنبات الكجرات خصائص مضادة للاكسدة (25) وربما لوجود كل هذه المكونات التي يحتويها هذا النبات فانه يؤدي الى تحسين الاداء الانتاجي، اذ ان المستويات العالية من Vit. C الموجودة في الكجرات لها دور في خفض الاجهاد الذي يتعرض له الطيور كنتيجة لخفضها درجات حرارة الجسم ومعدلات التنفس ومن ثم زيادة تناول العلف (26) ولها دور ايضا في تحفيز الجهاز الهضمي وزيادة انتاج الانزيمات (27) وربما يكون التحسن في الاداء الانتاجي لوجود الاحماض العضوية اذ بين Patten و Waldroup (28) ان اضافة الاحماض العضوية لعلائق فروج اللحم تزيد من الاداء الانتاجي للطيور.

واشار Lohakara (29) إلى ان اضافة Vit. C الى علائق فروج اللحم Ross المعرض للاجهاد الحراري له تأثير معنوي في تحسين نسبة التصافي لصالح معاملة اضافة Vit. C مقارنة مع مجموعة السيطرة. وهذا يدعم نتائج دراستنا كون البحث شمل اضافة Vit. C ونبات الكجرات ايضا يحتوي على Vit. C عليه يمكن التوصية الى استخدام ازهار نبات الكجرات كاضافة طبيعية محتوية على العديد من المكونات التي لها اثرها الفعال في خفض تأثير الاجهاد الحراري الذي تتعرض له طيور فروج اللحم المرباة في فصل الصيف كبديل لاستخدام فيتامين C (المركب الكيميائي الصناعي) المتوفر في الاسواق.

\* استخدم المركز البروتيني نوع Wafi 5% يحتوي على 40% بروتين خام و 2100 طاقة ممثلة.  
\*\* حسب قيم التركيب الكيميائي للمواد العلفية الداخلة في تركيب العليقة طبقا لما ورد في تقارير مجلس البحوث الوطني الأمريكي (19).

### النتائج والمناقشة

يشير الجدول (2) الى وجود فروق معنوية ( $p < 0.05$ ) في معدل وزن الجسم والزيادة الوزنية واستهلاك العلف ومعامل التحويل الغذائي ونسبة الهلاكات حيث زادت معنويا معدلات وزن الجسم للطيور التي اضيفت الى علائقها 6 كغم من الكجرات / طن علف وكانت 2275 غم تلتها معاملة اضافة 250 غم من فيتامين C / طن علف (2160) غم في حين سجلت معاملة السيطرة (1958 غم) ادنى وزن للجسم وسارت معدلات الزيادة الوزنية واستهلاك العلف بنفس منحني اوزان الجسم من حيث الزيادة المعنوية ( $p < 0.05$ ) لمعاملة الكجرات ثم Vit. C واخيرا معاملة السيطرة كما تحسن معامل التحويل الغذائي وبالاتجاه نفسه المذكور للصفات المدروسة ولكون التجربة اجريت في فصل الصيف فظهرت معاملة السيطرة زيادة معنوية في نسبة الهلاكات وكانت 8.6% واقل نسبة هلاكات في التجربة سجلتها معاملة اضافة الكجرات (2.6%) الى العليقة وحتى اقل من معاملة Vit. C (4.0%).

هذا التحسن الحاصل في الاداء الانتاجي لمعاملة اضافة نبات الكجرات انعكس على جميع الصفات اللاحقة التي درست في البحث حيث زادت نسبة التصافي في معاملة استخدام ازهار نبات الكجرات وكانت 75% مقارنة بمعاملي اضافة فيتامين C والسيطرة وسجلنا 74.1 و 73.0% على التوالي كذلك في اوزان القطيعات الرئيسية (الصدر، الفخذ، عصا الطبال) وكما موضح في الجدولين (3 و 4) ولم تظهر فروق معنوية في اوزان القانصة والقلب ودهن البطن بين معاملات التجربة المختلفة و خلاصة النتائج من هذه الدراسة كانت موضحة في الشكل (1) الذي يبين قيم الدليل الانتاجي للمعاملات الثلاثة اذ كما هو معروف ان الدليل الانتاجي ياخذ بنظر الاعتبار متوسط وزن الجسم ونسبة الحبيوة وعدد ايام التربية وكفاءة التحويل الغذائي وجميع هذه المؤشرات مدروسة في البحث وسجلت ارتفاع في معاملة اضافة ازهار نبات الكجرات عنها في معاملي اضافة فيتامين C والسيطرة وكانت 289.8 و 262.6 و 217.4 لمعاملات التجربة الكجرات وفيتامين C والسيطرة على التوالي.

جدول (2) تأثير اضافة فيتامين C وازهار نبات الكجرات الى عليقة فروج اللحم في الاداء الانتاجي عند عمر 42 يوماً

المعاملة	معدل وزن الجسم (غم)	معدل الزيادة الوزنية (غم)	معدل استهلاك العلف (غم)	معامل التحويل الغذائي غم علف/غم زيادة وزنية	نسبة الهلاكات %
السيطرة	c 22.3 ± 1958	c 30.2 ± 1914	c 18.2 ± 3751.4	a 0.2 ± 1.96	a 0.5 ± 8.6
فيتامين C	b 18.4 ± 2160	b 25.6 ± 2116	b 23.1 ± 3971.1	b 0.6 ± 1.88	b 1.2 ± 4.0
الكجرات	a 20.1 ± 2275	a 16.8 ± 2231	a 32.2 ± 4060.4	c 0.7 ± 1.82	c 0.8 ± 2.6

\* الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين متوسطات المعاملات  
 \* : وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (p<0.05)

جدول (3) تأثير اضافة فيتامين C وازهار نبات الكجرات في عليقة فروج اللحم في نسبة التصافي والوزن النسبي لبعض الاعضاء الداخلية عند عمر 42 يوماً

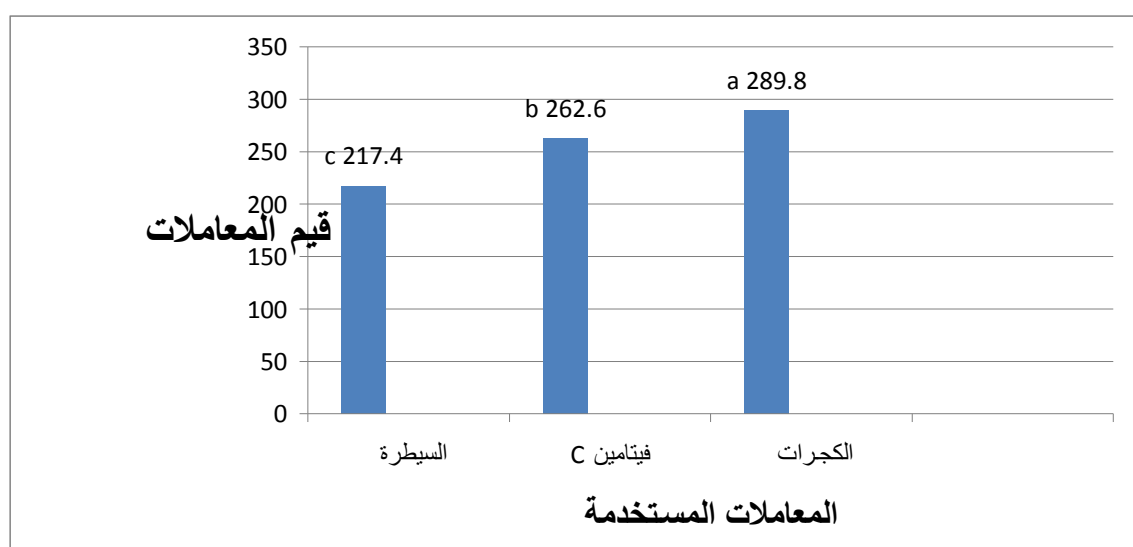
المعاملة	نسبة التصافي %	الكبد	القائمة	القلب	دهن البطن
السيطرة	±73.0c 4.2	b 0.4 ± 2.0	a 0.1 ± 1.4	a 0.65 ± 0.41	a 0.52 ± 1.2
فيتامين C	b 2.3 ± 74.1	a 0.1 ± 2.6	a 0.3 ± 1.5	a 0.23 ± 0.43	a 0.12 ± 0.92
الكجرات	a 1.06 ± 75.0	a 0.5 ± 2.7	a 0.6 ± 1.5	a 0.11 ± 0.42	a 0.73 ± 0.97

\* الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين متوسطات المعاملات  
 \* : وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (p<0.05)

جدول (4) تأثير اضافة فيتامين C وازهار نبات الكجرات في عليقة فروج اللحم في الوزن النسبي للقطيعات الرئيسية (الصدر، الفخذ، عصا الطبال) عند عمر 42 يوماً

المعاملة	الصدر	عصا الطبال	الفخذ
السيطرة	c 0.1 ± 28.1	c 0.07 ± 12.2	c 0.8 ± 13.1
فيتامين C	b 0.4 ± 30.2	ab 0.11 ± 13.6	ab 0.1 ± 15.0
الكجرات	a 0.01 ± 31.5	a 0.05 ± 13.9	a 0.42 ± 15.5

\* الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين متوسطات المعاملات  
 \* : وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (p<0.05)



الشكل (1) تأثير مقارنة اضافة فيتامين C وازهار نبات الكجرات الى عليقة فروج اللحم في قيم الدليل الانتاجي

\* : وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (p<0.05)

## المصادر

11. الخيلاني، فراس مزاحم، حمودي، سنبل جاسم ، البندر، لمى خالد ، كاظم، صباح صالح. (2009) تأثير إضافة الكركديه (*Hibiscus sabdariffa* (Roselle) الى عليقة الدجاج البياض على الصفات الانتاجية ونوعية البيض خلال موسم الصيف. مجلة التغذية والاعلاف المصرية 12 (3): 771 – 779.
12. حمودي ، سنبل جاسم ، البندر، لمى خالد ، سليمان، نجلاء كمال . (2009) تأثير إضافة أزهار الكركديه (*Hibiscus sabdariffa* (karkade) الى عليقة فروج اللحم على الصفات الانتاجية والفسولوجية خلال فصل الصيف. مجلة التغذية والاعلاف المصرية، 12 (1): 169 – 175.
13. حمودي، سنبل جاسم ، الخيلاني ، فراس مزاحم. (2010) تأثير إضافة مستويات مختلفة من نبات الكجرات في العليقة في الاداء الانتاجي لفروج اللحم. المؤتمر العلمي الرابع للمركز القومي للبحوث- مصر: 634 – 654.
14. الزبيدي، صهيب سعيد علوان. (1986) إدارة الدواجن . مطبعة جامعة البصرة . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.
15. ناجي، سعد عبد الحسين. (2006) دليل تربية فروج اللحم. الاتحاد العراقي لمنتجي الدواجن وجمعية علوم الدواجن النشرة الفنية (12) بغداد – العراق.
16. ابراهيم، اسماعيل خليل. (2000) تغذية الدواجن. ط2 . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . مطبعة جامعة الموصل.
17. Duncan A. (1955) Multiple rang and multiple F test. Biometrics 11: 1 – 42.
18. SAS (2001) SAS users Guide: statistics version, 6<sup>th</sup> ed. SAS Institute Inc., Cary. NC.
19. National Reserch Council . (1994) Nutrient Requirements of poultry. 9<sup>th</sup> rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. USA.
20. Pardue SL. (1983) Relationship of ascorbic acid to physiological stress in the domestic fowl . Ph . D. thesis, North State University, Raleigh.
21. McDowell LR. (2000) Vitamins in animal and human nutrition. 2<sup>nd</sup> ed. Iowa State University press.
22. Sahin K. and Kucuk O. (2001) Effect of vitamin C and vitamin E on performance digestion of nutrient and carcass characteristic of Japanese quails reared under
1. Freeman BM. (1988) Stress and domestic fowl in biochemical research: Physiological effects of the environment. W. Poult. Sci. J. 44: 41- 44.
2. Sahin K. and Kucuk O. (2003) Heat stress and dietary vitamin supplementation of poultry diets. Nutrition abstracts and reviews series B: Livestock feeds and feeding. 73: 41R - 50R.
3. Garriga C., Hunter RR, Amat C, Planas JM, Mitchell MA, and Moreto M. (2006) Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum. Am. J. Physiol. Regul. integr. Comp. physiol. 290 (1): 195 – 201.
4. Ozbey O. and Ozcelik M. (2004) The effect of high environment temperature of growth performance of Japanese Quail with different body weight .Int. J. Poult. Sci.3:468 – 480.
5. Roussan D A., Khwaldeh GY, Haddad RR, Shaheen IA, Salame G, and Al - Rifai R. (2008) Effect of Ascorbic acid, Acetyl salicylic acid, sodium bicarbonate and potassium chloride supplementation in water on performance of broiler chicken exposed to heat stress. J. App. Poult. Res.17 (1): 141 – 144.
6. Helmila H. (1997) Vitamin C intake and susceptibility to the common cold. Brit. J. Nutr., 77: 59 – 72.
7. Arora AM., Nair G, and Strasburg GM. (1998) Structure activity relationships for antioxidant activities of series of flavonoids. J. Free Radical Biol. Med. 24:1355 – 1363.
8. Tsai PJ., Mcintosh J, Pearce P, Caden B, and Jordan TB. (2002) Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa*.) extract. Food Res.Int. 35: 351 – 356.
9. Mazza G. and Miniati E. (1993) Anthocyanin in fruit vegetables and grains. CRC press. Boca, Roton. FL.
10. Fasoyiro SB., Babolola SO, and Owosibo T. (2005) Chemical composition and sensory quality of fruit – flavored Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Drinks. W. J. Agri. Sci. 1(2): 161 – 164.

- chronic heat stress 34° C. J. Anim. Physiol. Anim. Nutri. 83: 335 – 341.
23. Zulkifli I. MT, Chenorma DA. , and Israf ARO. (2002) The effect of early age feed restriction on heat shock protein 70 response in heat – stressed female broiler chickens. Brit. Poult. Sci. 43 (1): 141 – 145.
  24. Zulkifli I. PK, Liew D, Israf AR, and Omar MH. (2003) Effects of early age feed restriction and thermal conditioning on heterophil / lymphocyte ratio, heat shock protein 70 and body temperature of male broiler chickens subjected to acute heat stress. J. Therm. Biol. 28 (3): 217 – 222.
  25. Duh P D. and Chin Y. (1977) Antioxidative activity of three herbal water extracts. Food Chem, 60 (1): 639 – 645.
  26. Mckee JS. and Harrison PC. (1995) Effects of supplemented ascorbic and on the performance of broiler chickens exposed to multiple concurrent stressors. Poult. Sci. 74: 1772 – 1785.
  27. Ramakrishna R, Platel RK, and Srinivasan K (2003) In vitro influence of species and spice - active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. Nahrung. 47 (6): 408 – 412.
  28. Patten JD. and Waldroup PW. (1988) Use of organic acids in broiler diets. Poult. Sci. 67 (8): 1178 – 1182.
  29. Lohakara JD., Ryn MH, Hahn TW, Lee JK, and Chae BJ. (2005) Effect of supplemental ascorbic acid on the performance and immunity of commercial broiler. J. App.Poult. Res. 14: 10 – 19.

## فعالية مستخلصات بذور نبات حب الدبق *Loranthus europeus linn* في علاج الحروق

(1) جنان علي عبيد، (2) سندس حميد احمد، (3) قاسم محمد الساعدي (2) فلاح الحسن (2) محمد جعفر

(1) المعهد الطبي التقني / بغداد / العراق (2) وزارة العلوم والتكنولوجيا / بغداد / العراق (3) وزارة التربية / بغداد / العراق

### الملخص باللغة العربية

اجريت هذه التجربة لمعرفة فعالية المستخلصان المائي و الكحولي الحار لبذور نبات حب الدبق في علاج الحروق. استخدمت (80) من ذكور الفئران البيضاء المقسمة الى (8) مجاميع والموضوعة في اقفاص خاصة مزودة بالماء و الغذاء و الضوء. هيئت الفئران بحرق جزء من ظهرها و تعقيمه ثم حرقه بحامض الهيدروكلوريك (HCL 37%). اعتبرت المجموعة الاولى كمجموعة سيطرة و تركت بدون علاج. عولجت المجموعة الثانية بمرهم الحروق (celavex cream) بينما عولجت المجاميع الستة الباقية بالمستخلصين المائي و الكحولي (5,10,20 %).

اظهرت النتائج بعدم وجود تحسن في المجاميع كافة خلال (14) يوم الاولى من المعالجة ماعدا مجموعتي المستخلص المائي و الكحولي (20%) حيث بدا الحرق يتماثل للشفاء. بدأت حالة الحرق بالتحسن في يوم (21) للمعالجة في مجاميع المستخلصين (5, 10%) وبنسبة اعلى في مجموعتي (20%). شفيت الحروق تماما في مجاميع المستخلصين (5,10%) وظهر الشعر في مجموعتي المستخلصين (20%) بعد الشفاء التام للحرق في اليوم (30) للمعالجة اما في اليوم (40) للمعالجة ظهر الشعر في مجاميع المستخلصين (5,10%) ومارسوا حياتهم بشكل طبيعي. بقيت مجموعة السيطرة و مجموعة المتعاجة بمرهم الحروق كما هي خلال (40) يوم من التجربة.

### ABSTRACT

This study shown the activity of hot watery and alcoholic extract of seed of *Loranthus europeus linn* in the treatment of burns. 80 male white mice divided into 8 groups were put in cages provided with water, food and light. The mice prepared to experiment by shaving a part of back region, sterilized then burn by HCL 37%. The first group leave without treatment as control group. Second group treated with celavex cream, while treated the remaining six groups by hot watery and alcoholic extracted at (5, 10, 20)% concentration respectively. All the groups dont show any improvement during first (14) days of treatment except groups of 20% start healing. In (21) days of treatment, burns start to heal in groups (5 & 10)% and at high rate in groups 20%. Burns recovery completely in groups (5&10)% and the hair grow in burn area in groups 20% after 30 days of treatment. In 40 days of treatment, the hair grow in groups (5&10)% . control group and second group were treated with celavex cream still without improvement.



4. عرض الراشح للنبيذ المركزي بسرعة (2500) دورة / دقيقة لمدة (15) دقيقة .

5. ركز الراشح باستخدام جهاز المبخر الدوار عند حرارة (45) م.

6. جفف النموذج شبه الجاف في فرن عند حرارة (37) م للحصول على جفاف تام للنموذج ثم حفظ النموذج في الثلاجة في قناني نظيفة لحين الاستخدام.

2. المستخلص الكحولي الحار Hot alcoholic extract

حضر المستخلص تبعا للطريقة التي اعتمدها *Deshmukh and Borle* (8) وكما يلي :

1 . اخذ (50) غم من مسحوق البذور الجافة للنبات ووضع في كشتبان (Thumble) في منظومة الاستخلاص المستمر (Soxhlet apparatus).

2 . اضيف (700) مل من كحول ايثيلي (95%) وترك النموذج لمدة (7) ساعات عند حرارة (60) م .

3. رشح النموذج بورق ترشيح (Whatman No. 1) واكملت الخطوات المتبقية كما في طريقة تحضير المستخلص المائي الحار .

تهيئة الحيوانات المختبرية استخدمت (80) من ذكور فئران بيضاء سويسرية من سلالة BALB/C تراوحت اعمارها بين (12-16) اسبوع واوزانها بين (26-28) غم مقسمة الى (8) مجاميع ربيت الفئران في اقفاص خاصة مع تهيئة الظروف المناسبة من ماء، ضوء وغذاء . حضرت الفئران للتجربة بإزالة الشعر من منطقة الظهر ونسبة (15%) من مساحة الجسم الكلية طبقا لطريقة Richardson and AL-Jabri (9) وعُملت المنطقة بالكحول الايثيلي (70%) . باستخدام قطارة زجاجية تحتوي على حامض HCL تركيز (37%) حرقت المنطقة بسكب عدة قطرات منها على المنطقة حيث تكون مساحة الحرق متماثلة في جميع الفئران .

تركت المجموعة الاولى بدون علاج كمجموعة سيطرة . عولجت المجموعة الثانية بكريم الحروق (Celavex cream) وعولجت بقية المجاميع الستة باستعمال المستخلصين المائي والكحولي الحار بتركيز (5, 10 & 20) % . فحصت الفئران في اليوم الاول والسابع والرابع عشر والحادي والعشرون والثلاثون والاربعين للمعالجة.

#### النتائج والمناقشة

##### حالة الحرق في اليوم الاول للمعالجة

بين شكل (1) عدم وجود اية تغيرات على الحيوانات المختبرية سوى احمرار الجلد وتورمه في منطقة الحرق وهذا يعود الى حساسية الجلد ازاء الحامض.



شكل (1) : حالة الحرق في اليوم الاول للمعالجة

#### المقدمة

لقد دأب العلماء والباحثون في مجال إنتاج الأدوية والعقاقير الطبية على إيجاد علاجات بديلة (Alternative medicine) من منتجات طبيعیه عسی أن يكون لها تأثير أكثر تخصصاً من العلاجات التقليدية. (1&2) وقد ظهر اتجاه متزايد بشكل ملحوظ في العودة إلى العلاج بالنباتات الطبية والرجوع إلى أساليب الطب الشعبي التي كانت سائدة سابقاً . وهذا الاتجاه يعود إلى عدة عوامل منها ما تحتويه هذه النباتات من مواد فعالة ذات أهمية وفائدة عظيمة لتأثيرها الفسيولوجي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان (3). ومن هذه النباتات حب الدبق، وهو نبات اخضر ذو فروع متشعبة وينتشر في المناطق الشمالية من العراق كالسليمانية وراوندوز والعمادية . يمتاز نبات حب الدبق بكونه نبات اقتصادي يستخدم في العديد من بلدان العالم . حيث استعمل المستخلص المائي لسبقان وأوراق هذه النباتات كعلاج ضد الإصابة بداء حمى الفأر الناتجة عن عضه الفأر (rat-bite poisoning) (4). فضلاً عن ذلك فإن الخلاصة المائية لأوراق نباتات هذا الجنس تستخدم كعلاج ضد التدرن (5) . ويستخدم النبات بأكمله كمنبه فعال (Powerful stimulant) وكمعجل للولادة فضلاً عن استخدامه كعلاج عند الإصابة بارتفاع ضغط الدم الناتج عن تصلب الشرايين (6) . وعلى ضوء ما تقدم فقد هدفت التجربة لمعرفة الفعالية الطبية لبذور نبات حب الدبق في معالجة الحروق وتصنيع المراهم من مستخلصاته النباتية خاصة في ظرفنا الحالي لما يتعرض له شعبنا من الحروق جراء الهجمات الارهابية وما تسببه من حروق بدرجات متفاوتة مسببة الكثير من الوفيات.

#### المواد وطرق العمل

##### جمع وتصنيف النبات

تم الحصول على بذور نبات حب الدبق من الاسواق المحلية في بغداد في شهر شباط (2010) . حفظت البذور في اكياس نايلون في درجة حرارة الغرفة لحين استعمالها . صنف النبات في المعشب النباتي في قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بغداد . طحنت بذور النبات بواسطة هاون خزفي وحفظ المسحوق في اوعية بلاستيكية محكمة الغلق في درجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال . دون اسم النبات وتاريخه وموقع جمعه على الاوعية.

##### تحضير المستخلصات النباتية:

1. المستخلص المائي الحار Hot water extract

حضر المستخلص المائي الحار وفقاً للطريقة التي اعتمدها *Anesini and perez* (7) وكالاتي:-

1. اخذ (50) غم من مسحوق المادة الجافة لبذور النبات ووضع في دورق خاص سعة (1000) مل .

2. اضيف اليه (500) مل من الماء المغلي وترك الدورق في حاضنة هزازة لمدة (24) ساعة في حرارة (37) م .

3. رشح المستخلص المائي باستخدام قمع بخنر الحاوي على قطعة من الشاش الطبي لازالة اجزاء النبات الكبيرة .

ثم باستخدام أوراق ترشيح . Whatman No.1

## حالة الحرق في اليوم السابع من المعالجة

لم تتماثل الحروق للشفاء في هذه الفترة رغم المعالجة بالمستخلص المائي والكحولي الحار وبالتراكيز المختلفة وذلك نتيجة الى تاثر الحروق بالبيئة المحتوية على بكتيريا وفطريات وفايروسات وجميعها مسببات مرضية وبنسب متفاوتة. وكما تشير الدراسات ان المسببات البكتيرية تحتل مواقع متقدمة في التهابات الحروق نتيجة الى اختراق جلد المصاب نتيجة الحرق محدثة المرض (10 & 11) فضلا عن ظهور سلالات جديدة من البكتيريا وبالذات بكتيريا (Staphylococcus aureus) المتعددة المقاومة (Multi-resistant) لمعظم المضادات الحيوية مما يؤخر او يمنع شفاؤها (12 & 13). وكذلك الاصابة بالفطريات من الجنس Aspergillus التي تمتلك قابلية انزيمية عالية تمكنها من استغلال مختلف مصادر المواد الغذائية وتحملها لمختلف الظروف البيئية فهي تستطيع النمو في درجات حرارة ورطوبة مختلفة فضلا عن انتشارها الواسع وعزلها من بيئات مختلفة وانتاجها الالاف من الكونيدات التي تتميز بصغر حجمها وبقاؤها عاقلة في الهواء مما يساعد على انتشارها بسهولة (3 & 14) وهذا بالتالي يؤدي الى تلوث الحروق.

## حالة الحرق في اليوم الرابع عشر من المعالجة

نلاحظ في الشكل (2) ان الحرق لم يتماثل للشفاء ولا زالت هناك بعض الالتهابات والاحمرار والقروح وبالذات في مجموعة السيطرة ومجموعة كريم الحروق (Celavex cream) ومجموعتي المستخلصين (5 & 10%) ولكلا المستخلصين المائي والكحولي الحار مما يشير الى ان العلاجات المستخدمة لا تؤثر بدرجة كافية على النمو الجرثومي لكل من المسببات المرضية.

بينما اظهرت مجموعتي المستخلصين 20% ولكلا المستخلصين المائي والكحولي الحار هناك تاثير واضح لهما من خلال كبر معدل قطر التثبيط في الحروق وتماثلها للشفاء مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة المعالجة بكريم الحروق والتراكيز المنخفضة للمستخلص من كلا النوعين. وهذا يدل على كفاءة المستخلص في تركيز 20% لاحتوائه على مواد فعالة نتيجة الاستخلاص بالماء الحار او الكحول الحار وتأثيرها بالتالي على المسببات المرضية المسببة لالتهاب الحروق ومن هذه المواد الفعالة الفلافونيدات والصابونين والكلايكوسيدات المعروفة بقابليتها على الذوبان في الماء عند استخدامها للاستخلاص (15).



شكل (2) تأثير المحلول المائي والكحولي (20%) في اليوم 14 للمعالجة

## حالة الحرق في اليوم الحادي عشر للمعالجة

نجد في الشكل (3) ان الحرق في مجموعة السيطرة والتي لم تعالج باي مستخلص او كريم والمجموعة الثانية قد تقرن الجلد عند حواف منطقة الحرق ومركز الحرق ولا زالت الانسجة الجلدية رخوة ومحمرة. اما المجموعتان المتعالتان بالمستخلص المائي والكحولي الحار (5 & 10%) فقد بدأت بالتحسن حيث صغر قطر الحرق وبدأ الجلد المحروق بالشفاء والشعر بالنمو عند حواف المنطقة.

اما المجموعة التي عولجت بالمستخلص المائي والكحولي الحار 20% فقد تماثل الحرق للشفاء بنسبة اعلى حيث صغر قطر الحرق بدرجة كبيرة وظهر على شكل ندبة صغيرة في منطقة الحرق ونما الشعر الذي غطى مساحة واسعة من المنطقة. وهذا يدل على ان تركيز (20%) للمستخلص شفى الحروق بصورة ملحوظة بعد (21) يوم من العلاج مقارنة مع مجموعتي السيطرة ومجموعة الكريم (Celavex cream) وبدرجة اقل في مجموعتي المستخلصين المائي والكحولي الحار (5 & 10%).

وكان المستخلص الكحولي الحار بتركيز 20% اكفاً بقليل من المستخلص المائي الحار بنفس التركيز وكما توضحه صور اليوم (21) بعد المعالجة ويعود السبب الى استخدام الكحول الايثيلي (80%) في الاستخلاص حيث يتم في هذا الاستخلاص الحصول على مركبات تذوب في الماء فضلا عن المركبات التي تذوب بالكحول اضافة الى طبيعة المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي الحار ولا سيما الزيوت الطيارة والزيوت الثابتة الاساسية وهذه الزيوت لها تأثير مضاد للإحياء المجهري (16).





## حالة الحرق في اليوم الثلاثون للمعالجة

بين الشكل (4) عدم وجود تغيير في فتران مجموعة السيطرة والمجموعة المتعالتان بكريم الحروق (Celavex cream) بل ان الجلد تقرن من الحواف وبقي النقيح والاحمرار والتورم في مركز الحرق وهذا يعود الى عدم تاثير المرهم على المسببات المرضية البكتيرية والفطرية وذلك لقلة تركيز المواد الفعالة وهي مادة (cetrimide) 0.5% w/w. بينما تماثلت للشفاء مجموعتي المستخلصين 5% ولكن بدرجة اقل من مجموعتي 10% وذلك بسبب فعالية المواد الكيميائية الموجودة في المستخلصين وتثبيطها للمسببات المرضية البكتيرية والفطرية بعد مرور 30 يوما على العلاج (17) او كما فسر (18) كفاءة المستخلص في علاج الحروق والاصابات الجلدية الفطرية وذلك بارتباط الدباغيات الموجودة في المستخلص مع الكيراتين مما يقوي الجلد ويجعله اكثر مقاومة للتحلل بواسطة الانزيمات الفطرية.

اما فيما يخص المجاميع التي عولجت بالتركيز 20% لكلا المستخلصين المائي والكحولي الحار والتي تماثلت للشفاء في اليوم (21) بعد المعالجة نلاحظ في الصور ان الشعر قد غطى منطقة الحرق بكاملها واصبحت تمارس حياتها بصورة طبيعية.

	
المعالجة بكريم الحروق	مجموعة السيطرة
	
كحولي حار 5%	5% مائي حار
	
كحولي حار 10%	مائي حار 10%
	
كحولي حار 20%	مائي حار 20%

شكل (3): تأثير المستخلص المائي و الكحولي (20%) في اليوم 21 للمعالجة

	
كحولي حار 5%	5% مائي حار
	
كحولي حار 10%	مائي حار 10%

شكل (4): تأثير المستخلص المائي والكحولي (5 &amp; 10%) في اليوم الثلاثون

**حالة الحرق في اليوم الرابعين للمعالجة**

وضح الشكل (5) انه لم يكن هناك تأثير ملحوظ على المجموعة المتعالجة بكريم الحروق (Celavex cream) بل ان الاعراض بقيت كما هي ولم تلاحظ أي بوادر للشفاء. وكذلك مجموعة السيطرة فلا زال قطر منطقة الحرق كما هو والجلد متقشر ومتورم ومحمّر ولم يلاحظ أي نمو للشعر عند حواف منطقة الحرق.

اما المجاميع التي عولجت بالمستخلص المائي والكحولي الحار تركيز 5%. فقد تماثلت للشفاء وكما تبين الصورتان منطقة الحرق قد اختفت كلياً او بقيت مجرد ندبة مغطاة بالشعر والمجاميع التي عولجت بالمستخلص المائي والكحولي الحار 10 % فقد تماثلت للشفاء التام والنمو الكامل للشعر الذي غطى منطقة الحرق وكما تبينه الصور. اما المجاميع التي عولجت بالمستخلص المائي والكحولي الحارين 20% فهي تماثلت للشفاء كما بينا سابقاً في اليوم (21) من المعالجة .

	
المعالجة بكريم الحروق	مجموعة السيطرة
	
كحولي حار 5%	5% مائي حار
	
كحولي حار 10%	مائي حار 10%

شكل (5): حالة الحرق في اليوم 40 للمعالجة



## المصادر

1. الربيعي، أمينة صبيح (2007) التأثير الوراثي والخلوي للمستخلصات النباتية المائية لبذور نبات حب الدبق وفول الصويا والسمنكي ومزيجهم في الفئران البيضاء أطروحة دكتوراه. كلية العلوم - جامعة بغداد.
2. حسن، مفيد قائد احمد (2002) استخدام بعض المستخلصات النباتية لتثبيط الأثر السمي الوراثي لبعض العقاقير المضادة للسرطان في الفار - أطروحة دكتوراه / كلية العلوم - جامعة بغداد.
3. السمال، ميثم احمد محمد (2001) دراسة تأثير المستخلص الزيتي للحبة السوداء المحلية *Nigella satian* في نمو بعض الأحياء المرضية والمعزولة من حالات مرضية سريرية. رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري جامعة بغداد.
4. Robert E. (1984) Vegetable material media of India and Ceylon  
"Bishen singh mahendrs pol singh, Indian health. 227-228.
5. Chakra VHL. (1976) Plant wealth of Iraq. vol-1, Ministry of Agriculture & Agrarian Refrom. Baghdad- Iraq. P: 335.
6. Mahran HEG and Nett R. (1967) medicinal plants. 1<sup>st</sup> ed. Anglo-Wgyption Book shop, Cairo- Egypt: pp: 194-195.
7. Anesini C, and Perez C. (1993) Screening of plant used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol. 39 (2): 119-128.
8. Deshmuk SD, and Borle MN. (1973) Studies on the insecticidal properties of indigenous plant products. Indian J. Enthonopharmacol. 37(1): 11-18.
9. Richardson MD. and AL-Jabre SH. (1994) Pathogenesis of dermatophytosis. Science Bracelone. pp: 77-79.
10. Kim DH. (2000) Replication selective microbiology agents, fighting cancer with targeted germ warfare. J. Clin. Invest. 10S: 837-839.
11. Jean SS. ;Teny LJ. ; Hsueh PR. ; Ho SW. and Luh LT. (2002)  
Antimicrobial susceptibilities among clinical isolated of extended - spectrum cephalosporin, resistant germ -negative bacteria in a Taiwanese University hospital, J. Antimicrob. Chemother. 49:69-76 .
12. Ang JY. ; Ezike E. and Asmar BI. (2004) Antimicrobial resistance, Symposium Year: 71 (3) : 229-239.
13. العاني، اوس هلال جاسم (1998) دراسة تأثير مكونات الحبة السوداء المحلية *Nigella Sativa Linn* وتأثير مستخلصاتها على بعض الأحياء المجهرية - رسالة ماجستير / كلية العلوم الجامعة المستنصرية.
14. العاملي، زينة طارق عبد الوهاب (2001) عزل وتشخيص بعض الفطريات المسببة للإصابات الجلدية في الحيوانات والعاملين عليها ومعالجتها باستخدام مستخلصات الحبة السوداء والثوم. رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .
15. الفرطوسي، عدنان جاسم محمد (2002) . دراسات كيميائية حيوية ودوائية لبعض مستخلصات بذور نبات حب الدبق. رسالة ماجستير / كلية العلوم - جامعة البصرة .
16. Forbes BA. ; Sahn DF. and Wessfeld AS. (2007) Baley and Scotts diagnostic microbiology: 12<sup>th</sup> ed. P. 1031
17. Savluchinske SF.;Cario J. ;Gigante B. and Marcelo J. (1997) Antimicrobial activity of dehydroabietic acid derivatives. Vital real, Portugal.p. 129
18. Rosenthal JR. (1990) Fungal infection of the skin in infections diseases. 2<sup>nd</sup> U.S. A.

القيمة التشخيصية لأضداد الأنزيم النسيجي المخاطي وأضداد الكليادين من نوع IgA, IgG في الأطفال المشتبه بإصابتهم بالداء الزلاقي في مدينة الرمادي - العراق

(1) نهاد محمد حامد، (1) محمد قيس العاني، (2) محمد ماهر مشرف ، (3) سليم عبيد كاطع

(1) كلية العلوم / جامعة الأنبار / العراق (2) كلية الطب / جامعة الأنبار / العراق (3) وزارة الصحة / دائرة صحة الأنبار / العراق

البريد الإلكتروني : mohammedqais1975@yahoo.com

### الملخص باللغة العربية

هدفت الدراسة الحالية تشخيص الأطفال المصابين بمرض الداء الزلاقي Celiac disease بالكشف عن مستضدات الأنزيم النسيجي المخاطي للطبقة الخارجية للأمعاء الدقيقة anti-tissue transglutaminase (tTG) والكشف عن الأجسام المناعية المضادة للكليادين anti-Gliadin antibody (AGA) من نوع IgA و IgG بطريقة الاليزا ( Enzyme linked immunosorbant assay) في مصل دم المرضى المشتبه بإصابتهم بهذا المرض . شملت الدراسة جمع نماذج الدم من 157 طفل من الأطفال المراجعين إلى مستشفى النسائية والأطفال التعليمي في الرمادي، ومستشفى الفلوجة العام، وعيادات الأطباء الخارجية . أظهرت النتائج ظهور 19 حالة موجبة ونسبة (12.1%) لاختبار anti-tTG-IgA و 58 حالة موجبة ونسبة (51.7%) لاختبار anti-tTG-IgG. أظهرت النتائج ظهور 69 حالة موجبة ونسبة (61.6%) لاختبار AGA-IgG وأظهرت النتائج ظهور 75 حالة موجبة ونسبة (66.9%) لاختبار AGA-IgA. استنتجت الدراسة أن الفحص tTG-IgA من الاختبارات الهامة للكشف عن المرض ويمكن الاستفادة منه إضافة إلى الفحوص المختبرية الأخرى .

**الكلمات المفتاحية :** الأنزيم النسيجي المخاطي، أضداد الكليادين ، الأجسام المضادة IgA, IgG ، الداء الزلاقي ، مدينة الرمادي

### ABSTRACT

The current study aimed to evaluate the diagnostic value of celiac disease in children by the use of anti-tissue transglutaminase IgA and IgG by (Enzyme linked immunosorbant assay) ELISA. Blood samples were collected from 157 patient suspected of having celiac disease in Maternity and children teaching hospital in Ramadi and Al-Falluga general hospital . Out of the total samples 19(12.1%) cases gave positive results by tTG . IgA and 58 (36.9%) by tTG-IgG . Out of the total samples 69(61.6%) cases gave positive results by AGA . IgG and 75 (66.9%) by AGA-IgA. The study concluded that anti-tissue transglutaminase by ELISA is important test for the diagnosis of celiac disease in addition to many other laboratory methods .

## المقدمة

الكلوتين والجسم المستضد للإنزيم النسيجي المخاطي يؤدي إلى تحفيز السيتوكينات (Cytokines) ، لتقوم بعملية نقل البروتينات إلى المنطقة المتضررة ويتم هذا بواسطة الخلايا الطلائية المعوية وهذه العملية تستمر كلما استمرت عملية امتصاص الكلوتين ( 10 ) . بمجرد تنشيط الكليادين تقوم DQ2 بتنشيط DQ8 وبذلك يتم تنشيط خلايا T-Cell التي بدورها تقوم بإفراز الانترفيرون من نوع IFN- $\gamma$  ، في حين إفراز الأنزيمات مثل metalloproteinases تسبب التحطيم والضرر لمخاطية الأمعاء (11).

## الاختبارات المصلية : Serological Test

إن توفر الفحوصات المخبرية الخاصة والحساسية بدرجة عالية يسهل ويشدّد تشخيص مرض الداء الزلاقي . لقد استخدمت الاختبارات التشخيصية لفحص المرضى المشتبه بهم بمرض الداء الزلاقي بعد الالتزام والاستجابة للحمية الغذائية الخالية من الغروية وفحص المرضى الذين يعانون من أعراض خارج الجهاز الهضمي (12).

تتضمن الاختبارات المتوفرة وهي Anti-Gliadin Antibodies و Anti-Endomysal و Anti-Reticulin Antibodies, Antibodies tissue transglutaminase (13) ، لا تُعدّ أضداد Anti-Gliadin Antibodies حساسة بما فيه الكفاية؛ لكي تستخدم في كشف مرض الداء الزلاقي إلا في الأطفال الأصغر من ثماني عشرة سنة (14). على الرغم من الجدل الجديد للأجسام المضادة إذ أصبحت طريقة اختبار نزع الأميد فعاله في التشخيص ، قد تتجاوز عملية التشخيص استخدام الأجسام المضادة من نوع ARA والمقاسة بصورة نادرة وكذلك استخدام الأجسام المضادة نوع EMA واستخدام الأجسام المضادة الناقلة للكلوتامين نوع Anti-tTG (15). لقد سمحت التحسينات في تقنيات قياس الأنزيم للنسيج المخاطي لناقلة الكلوتامين بقياس نسبة الأجسام المضادة في المصل (7). وأكدت البحوث أن انتشار الداء الزلاقي في العراق يكون بحدود 400:1 أي ما يقارب 25% (24) .

## المواد وطرق العمل

تم جمع 157 عينة مشكوك بإصابتهم بمرض الداء الزلاقي محالين من قبل أطباء الاختصاص نتيجة التشخيص السريري أو الاعراض السريرية للمرض من اسهال حاد وانتفاخ وآلم بطني مزمن وصغر القوام و 27 عينة قياسية من الأطفال غير المصابين بالمرض وليس لديهم اعراض سريرية مشابهة للمرض ، جميع العينات كانت من الفئة العمرية من سنة اشهر ولغاية 12 سنة ، و بمعدل وزن-60 ( 7 ) كغم من الفترة تشرين الاول 2010 ولغاية اذار 2011 في مستشفى النسائية و الأطفال التعليمي في الرمادي و مستشفى الفلوجة العام ، حيث تم سحب كمية من الدم مقدارها 5ml وضعت في انبوبة اختبار white tube بعدها تم فصل الدم في جهاز الطرد المركزي لغرض الحصول على المصل serum بعدها حفظ المصل في المجمدة بدرجة 40-م لحين إجراء الاختبارات المناعية Anti-tTG, IgG و

بعد الداء الزلاقي (Celiac disease) من أمراض المناعة الذاتية والذي يظهر بصورة شائعة كاضطراب معوي ، يحدث عند الأشخاص الذين لديهم استعداد وراثي للإصابة بالمرض عند تناول بروتين الكلوتين الموجود في الحنطة ، والشعير والجاودار. أن أهم العوامل الوراثية المساهمة في ظهور المرض هي جزيئات مستضد تقديم كريات الدم البيضاء (HLA) صنف (DQ2) و (DQ8) ، وجد أن 95% من المرضى يحملون مورثات مشفرة لجزيئات HLA DQ2 و بقية المورثات لجزيئة (HLA-DQ8) (1). تشترك المناعة الفطرية والمناعية في نشوء مرض الداء الزلاقي وتؤدي إلى تسطح الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة (2). بالإضافة إلى الأعراض السريرية وتضرر الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة فإن تناول الكلوتين يحفز بدوره إنتاج الأجسام المضادة الخاصة بالمرض والموجهة ضد الأنزيم (Transglutaminase) و ببتيدات الكليادين المشتقة من الكلوتين (Gluten derived Gliadin Peptides - (3). بالإضافة إلى رد الفعل المناعي للكلوتين تم اكتشاف بعض الأجسام المضادة الذاتية الموجهة ضد الأنزيم النسيجي (tTG) في عينات الدم والغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة لمرضى الداء الزلاقي (4). إن أنزيم (tTG) هو أنزيم معتمد على الكالسيوم يظهر داخل وخارج الخلية ويشترك في العمليات الفسلجية مثل تكوين مواد خارج الخلية Extracellular Matrix (Formation) والتصاق الخلايا (Cell Adhesion) وكذلك موت الخلايا (Apoptosis). إن الوظيفة الرئيسة لهذا الأنزيم هو تكسير الأواصر الببتيدية (Isopeptides) بين بروتين الكلوتامين (Glutamine) protein وبقايا اللايسين (Lysine residues) مما يؤدي إلى حصول تعديل في هذه البروتينات بعد تحولها (5).

في حالة نشوء الداء الزلاقي، يقوم الأنزيم النسيجي (tTG) بتكوين (Neo-epitopes) بواسطة عمليتي (Deamidation) و (Cross-linking) لببتيدات الكلوتين في الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة وبالتالي يحفز بدوره استجابة الخلايا المناعية من النوعين (B-Cell و T-Cell) ضد الكلوتين والأنزيم النسيجي ذاته (tTG) (6). منذ التعرف على الأنزيم النسيجي (tTG) المضاد الرئيسي الذاتي في مرض الداء الزلاقي (7)، فإن الأجسام المضادة المصلية (Anti-tTG) قد استغلت بصورة واسعة كعلامة تشخيصية لوجود مرض الداء الزلاقي. الجيل الثاني من الاختبارات المناعية للأجسام المضادة (Anti-tTG Antibody) باستخدام المستضدات البشرية قد بينت وجود دقة تشخيصية للمرض مقارنة مع فحص (EMA) التقليدي (8). إن الأجسام المضادة للأنزيم النسيجي من النوع (Anti-tTG - IgA) أكدت وجود حساسية وتحديد عاليين للداء الزلاقي بينما الأجسام المضادة من النوع (Anti-tTG-IgG) تكون موجودة ولكن بنسبة أقل (9). تحدث عملية الامتصاص للكلوتين في الأمعاء الدقيقة من خلال منطقة (Zonulin) ؛ ونتيجة لذلك الامتصاص يحدث تفاعل للجسم المضاد لبروتين



(%)، أما مجموعة الأطفال الأصحاء فظهرت 4 حالات وبنسبة إصابة (14.8 %) كما هو مبين في جدول (2) .

ذكر (21) أن ظهور النتيجة الموجبة لهذا الفحص غير كافية ؛ لتأكيد مرض الداء الزلاقي؛ لأن الفحص يُعد ذا خصوصية قليلة للمرض، وأن اختبار AGA – IgG مقياس أكثر حساسية، ولكن أقل خصوصية لأمراض الداء الزلاقي . تكون أهمية الاختبار في الأشخاص الذين لديهم نقص IgA- Deficient (22) 3. تقدير الأجسام المضادة لأنزيم النسيج

المخاطي tissue-transglutaminase tTG-IgA. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن عدد الأطفال المصابين 19 حالة وبنسبة إصابة (12.1 %) ولم تظهر أي حالة إصابة لهذا الاختبار للأطفال غير المصابين وأطفال السيطرة جدول (3) . في الدراسات المحلية أشار (23) إلى أن الاختبار tTG-IgA هو أكثر أهمية؛ لتشخيص المرض وأن سلبية هذا الاختبار لا تنفي حدوث المرض، وأشار (24) إلى التأثير الكبير لاختبار tTG-IgA وحساسيته في التشخيص . أظهر (25) أن الأجسام المضادة tTG-IgA تسبب الضرر للأمعاء الدقيقة حيث أظهرت النسبة بحدود (15.5%) عند قياس نسبة الأجسام المضادة للأطفال المصابين بالداء الزلاقي، ومرضى الصرع في تركيا. وأكد (26) في دراسة أجراها في الهند على الأطفال المصابين بالمرض أهمية اختبار tTG في تشخيص مرض الداء الزلاقي. أوضح (27) في دراسة أجراها لتحديد نسبة الأجسام المضادة tTG-IgA للأطفال المصابين بالداء الزلاقي في اليونان، حيث كانت النسبة (8.6%)، وأكد بأن الاختبار يكون أكثر تخصصاً. وفي دراسة أخرى أجراها (28) في الولايات المتحدة الأمريكية أظهرت نسبة الأجسام المضادة tTG-IgA بحدود (13.0%) . تكمن أهمية الاختبار إلى خصوصية tTG-IgA العالية جداً حيث تصل إلى (100%) إذ إن صفة الأجسام المضادة tTG تكون متخصصة مع المرضى المصابين بالداء الزلاقي، أما الذين لا يعطون نتيجة موجبة لهذا المرض فإن ظهور anti-tTG antibodies يكون محدوداً وهذا ما أكدته (29).

4- تقدير الأجسام المضادة لأنزيم النسيج

المخاطي tissue-transglutaminase tTG-IgG. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن 58 حالة أعطت نتيجة موجبة في الأطفال المصابين وبنسبة (51.7 %)، بينما الأطفال غير المصابين، والأطفال الأصحاء لم تظهر لديهم أي حالة إصابة كما هو مبين في جدول (4) .

في دراسة أجراها (30)؛ لتشخيص الأجسام

AGA – IgA, IgG. تم استخدام طريقة المتبعة من قبل (16). و الذي يعتمد على استخدام عده فحص من شركه Orgentec الألمانية وباستخدام جهاز ELISA. الأساس العلمي لهذا الاختبار هو وجود antigen لهذا الاختبار ضد antibodies لهذا الانزيم وبعد تخفيف المصل وبنسبة 1: 1000 يتم إضافته إلى الحفر المغطاة بهذا الانتجين بعدها يتم اضافته انزيم الاقتران horseradish peroxidase بعدها تغسل الحفر بمحلول الغسل بواسطة جهاز ELISA Washer بعدها يضاف كاشف TMB وتغسل بواسطة جهاز الغسل بعدها يضاف موقف التفاعل Supstrate ومن ثم تقرأ على طول موجي 450 nm .

الحسابات :

يتم قراءة النتائج على جهاز ELISA Reader وبعدها تثبت النتائج وتُقارن على stander carve وبعد ذلك تحدد القيم عن طريق القيم الطبيعية الموجودة في أكت . Cut off .  $\geq 10 \text{ u/ml}$  لاختبار tTG بينما اختبار AGA . Cut off  $\geq 12 \text{ u/ml}$

### النتائج والمناقشة

1- قياس الأجسام المضادة نوع Anti – Gliadin-IgA أظهرت هذه الدراسة توزيع نسب الإصابة على المجموع الدراسة إذ كان عدد الإصابات للمجموعة المرضية 75 حالة وبنسبة (66.9%) بينما مجموعه غير المرضى كانت بحدود 8 حالات وبنسبة (17.7 %) بينما المجموعة القياسية أظهرت لدينا حالتين وبنسبة (7.4 %) كما هو مبين في جدول (1) . إن خصوصية اختبار AGA – IgA في تشخيص مرض الداء الزلاقي تُعد منخفضة؛ والسبب في ذلك يعود إلى ظهور الأجسام المضادة مع الأمراض المعوية الأخرى، ومنها عدم تحمل حليب الأبقار cow's milk intolerance وأيضا التهابات المتسببة عن سوء الامتصاص (17) تكمن أهمية الاختبار في متابعة الحمية الغذائية للأطفال الذين يتناولون بروتين الكروتين لاسيما للأطفال المصابين بمرض الداء الزلاقي ويُعد أكثر تخصصاً (18) ويُعد أقل قيمة في تأكيد وتشخيص مرض الداء الزلاقي ، وتعود أهمية اختبار AGA إلى ارتباطه مع ألياف Reticulin fibers، وبالتالي تنشيط نظام المناعة عن طريق الاشتراك مع جسم مضاد معين؛ لتحطيم النسيج (19). يعد اختبار AGA – IgA أكثر خصوصية Specificity ولكن أقل حساسية Sensitivity . وهذا ما أكدته (20)

2 - قياس الأجسام المضادة Anti – gliadin – IgG

أظهرت الدراسة الحالية أن عدد الحالات الموجبة للأطفال المصابين كانت 69 حالة مرضية وبنسبة (61.6 %). أما الأطفال غير المصابين فكانت عدد الحالات 6 وبنسبة (13.3)

الزيادة في نسبة الأجسام المضادة يمكن أن يرتبط بأمراض أخرى غير مرتبطة بأمراض الداء الزلاقي . بين (34) ارتفاع نسبة الأجسام المضادة في حالات الإصابة بمرض اعتلال الكلية . وكذلك ارتفعت نسبة الأجسام المضادة مع فايروس نقص المناعة البشرية (35) .

المضادة من نوع tTG - IgG حيث أظهرت النسبة بحدود (45 % ) .

عُدَّ (31) ان اختبار tTG هو فحص مهم؛ لتأكيد تشخيص مرض الداء الزلاقي . وأكد (32) عند اجراء دراسة على الأطفال المصابين بالمرض في لاتفيا أهمية الاختبار في تشخيص المرض إذ أظهرت النسبة في التشخيص بحدود (27.7%). أوضح (33) أن

جدول (1) توزيع نتائج اختبار AGA-IgA لمجاميع الدراسة .

مجاميع الدراسة	العدد الكلي	القيمة الموجبة	النسبة المئوية %
الأطفال المصابين	112	75	66.9
الأطفال غير المصابين	45	8	17.7
أطفال السيطرة	27	2	7.4

جدول (2) توزيع نتائج اختبار AGA-IgG لمجاميع الدراسة

مجاميع الدراسة	العدد الكلي	القيمة الموجبة	النسبة المئوية %
الأطفال المصابين	112	69	61.6 %
الأطفال غير المصابين	45	6	13.3 %
أطفال السيطرة	27	4	14.8 %

جدول (3) توزيع نتائج اختبار tTG-IgA لمجاميع الدراسة .

مجاميع الدراسة	العدد الكلي	القيمة الموجبة	النسبة المئوية %
أطفال المصابين	112	19	12.1 %
الأطفال غير المصابين	45	—	—
أطفال السيطرة	27	—	—

جدول (4) يبين توزيع نتائج اختبار tTG-IgG لمجاميع الدراسة .

مجاميع الدراسة	العدد الكلي	القيمة الموجبة	النسبة المئوية %
الأطفال المصابين	112	58	36,9 %
الأطفال غير المصابين	45	—	—
أطفال السيطرة	27	—	—

#### المصادر

- Jabri B;and Sollid LM.(2009) Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. Nat Rev Immunol ,9:858–70.
- Van Heel DA;and West J.(2006) Recent advances in coeliac disease. Gut
- Niveloni S; Sugai E; Cabanne A; Vazquez H; Argonz, J; and Smecuol E.(2007) Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides as predictors of celiac disease: 55:1037–46.

- 120:636-651.
13. Agardh D, Bodil R, Ake L, and Pal S .(2005) Calcium activation of tissue transglutaminase in radioligand binding and enzyme-linked autoantibody immunoassays in childhood celiac disease. *Clinica Chimica Acta*, 358: 95 – 103
14. Rostami K, Malekzadeh R and Shahbazkhani, B.(2004) Coeliac disease in Middle Eastern countries: a challenge for the evolutionary history of this complex disorder. *J. Digest Liver Dis.* 36: 694–69.
15. Sugai E, Vazquez H, and Nuchman F. (2006) Accuracy of Testing for Antibodies to Synthetic Gliadin Related Peptides in Celiac Disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 4:112-117.
16. Williams CN.(1997) Celiac disease past,present and future . *Can.J.Gastroenterol.* 11:647-649.
17. Murray JA , Herlein J , Mitros F, and Goeken J. (2000) Serologicaltesting for celiac disease in the united states results of amultilaboratory comparison study . *clin Diag Lab immunol* . 7:584-587.
18. Spickett G.( 1999) Oxford hand book of clinical immunology.
19. Unsworth DJ , Manual JA, and Walker S.(1981) New immunofluorescent blood test for gluten sensitivity. *Arch Dis Child.* 56 : 864-868.
20. Cora D, Re A , Puliti A ., Caselle M, and Sbrana I .(2006) Celiac disease and autoimmune diseases.*BMC.*7:413.
21. Kumar V, Jarzabek-Chorzelska M, Sulej J, Karnewaska K, Farrell T, and Jablonska, S.(2002) Celiac disease and immunoglobulin A deficiency: How effective are the serological methods of diagnosis. *Clin Diag Lab Immunol*; 9: 1295-1300.
- prospective assessment in an adult population with a high pretest probability of disease. *Clin Chem*;53:2i86–92.
4. Korponay-Szabo` IR , Kovacs JB , Czinner A , Goracz G , Vamos A ; and Szabo` T.( 1999) High prevalence of silent celiac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*;28:26–30.
5. Lorand L, and Graham RM.(2003) Transglutaminases: crosslinking enzymes with pleiotropicfunctions. *Nat Rev Mol Cell Biol.*4:140–56.
6. Louka AS, and Sollid LM.( 2003) HLA in coeliac disease: unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tiss Antig*; 61:105–17.
7. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, and Riecken EO.(1997) Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med.*,3:797-801.
8. Lewis NR, and Scott BB.(2006) Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther*;24:47–54.
9. Feighery L, Collins C, and Feighery C .(2003) Anti-transglutaminase antibodies and the serological diagnosis of coeliac disease. *Br J Biomed Sci*;60:14–8.
10. Smecuol E , Sngai E, and Niveloni S.(2005) Permeability Zonulin Production and Enteropathy in Dermatitis Herpetiformis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 3:335-341.
11. Kagnoff MF, and Yamada T.( 1995) Textbook of Celiac disease. *Gastroenterology.* Philadelphia, Lippincott;1643-1661.
12. Fasano A . and Catassi C . (2001) Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease : an evolving spectrum . *Gastroenterol* ,

- (2008) Prevalence of Celiac Disease Among Dyspeptic Patients: A Community Based on Control Study. Turk. J. Gastroenterol., 19:2.
30. Villalta D, Maria G , Marilina, T, Elio T , Ignazio B, Giampaola P, Sergio S, and Nicola B.(2010) Testing for IgG class antibodies in celiac disease patients with selective IgA deficiency A comparison of the diagnostic accuracy of 9 IgG anti-tissue transglutaminase, 1 IgG anti- gliadin and 1 IgG anti-deaminated gliadin peptide antibody assays, Clinica Chimica Acta. 382: 95 – 99.
31. Stenberq PE, Bodle R , and Klas S .(2008) Transglutaminase and the pathogenesis of coeliac disease. J.Europ. Int.Med. 19:83-91.
32. Leja M , Una K , Gunars F , Biruta B , Didzis G , and Viesturs B .(2011) Changing Patterns of Serological testing for Celiac Disease in Latvia. J.Gastroin. liver dis. 20(2): 121-126.
33. Kull K , Uibo O , Salupere R , Metskula K, and Uibo R. (1999) High Frequency of Antigliadin Antibodies and Absent Ulcerative Colitis. J .Gastroenterol ., 34: 61-5.
34. Ots M , Uibo O , Metskula K , Uibo R, and Salupere V.(1999) IgA antigliadin antibodies in patients with IgA nephropathy: the secondary phenomenon? Am. J. Nephrol., 19:453-8.
35. Zuin G ., Fontana M , Morelli , A , Sangaletti O , Marchisio P., and Principi N.(1996) Antigliadin antibodies in HIV- infected children. Pediatr AIDS HIV infect.7:409-412.
22. Dahlbom I , Olsson M , and Forooz NK .( 2005) Immunoglobulin G (IgG) anti-tissue transglutaminase antibodies used as markers for IgA-deficient celiac disease patients. Clin Diagn Lab Immunol;12:254e8.
23. Abdel- Elah S. (2003) Childhood Celiac Disease, Clinical Features and Immunopathological Correlation. PH.D Thesis in Pathology. Iraqi College of Medicine, Al-Nahrain University.
24. To'ma M. (2004) Immunopathological and clinical evaluation of celiac disease in Iraq. Thesis of PH.D in Pathology. Iraqi College of Medicine, Baghdad University.
25. Ertekin V, Selimoglu M, Tan H , and Konak M.(2010) Prevalence of celiac disease in a sample of Turkish children with epilepsy ,Pediatr Neurol.42 (5): 112-116
26. Makharia K , Verma K, Amarchand R , Bhatnagar S , Das P, Goswani A , Bhatia V, Ahuja V , and Anand K.(2011) Prevalence of celiac disease in the northern part of India community based study. J. gastroenterol. Hepatol .713:42-53
27. Kakleas K , Christina K, Elena C, Asteroula P , Vassilis P , Aspasia F and Kyriak IK (2010) The prevalence and risk factors for 125 celiac disease among children and adolescents with type 1 diabetes mellitus .J. diabet. Res. Clin. Pract. 90:202-208.
28. Bao F, Liping Yu , Sunanda B , Tianbao W, Edward J, Hoffenberg M and George S .(1999) Eisenbarth. One Third of HLA DQ2 Homozygous Patients with Type 1 Diabetes Express Celiac Disease-Associated Transglutaminase Autoantibodies J. Autoimm.13:143-148.
29. Al-Tintas E , Senli MS. and Sezgin O.

التحري عن طفيلي *Balantidium coli* في المياه المعبأة

أمير خضير عباس ، عصام شاكر حمزة ، سندس علي جاسم ، سعد صباح فخري ، فرقد فرحان عبد الحميد

مركز بحوث تلوث الغذاء - وزارة العلوم والتكنولوجيا ، بغداد / جمهورية العراق

## الملخص باللغة العربية

طفيلي (*Balantidium coli*) من اكبر الطفيليات الابتدائية المهددة التي تصيب الانسان والحيوان وينسب في احداث مرض الديزنتريا البلاتيديا Balantidiasis وتتضمن الاعراض السريرية للمرض الزحار المصحوب بالدم او المخاط ، التقيئ ، الصداع ، الغثيان ، الم في البطن ، التهاب القولون وتقرحات في الامعاء الغليظة ، ينتقل الطفيلي الى الانسان من خلال تناول الماء والغذاء الملوثن بالطور المعدي المتكيس ، يهدف البحث ولاول مرة في العراق التحري عن طفيلي *B. coli* في المياه المعبأة في هذا البحث تم فحص (35) منتج من المياه المعبأة سعة (20) لتر جمعت بصورة عشوائية من الاسواق المحلية لمدينة بغداد للتحري عن طفيلي *B. coli* بواسطة الفحص المجهرى المباشر كذلك تم التحري عن بكتريا دلائل التلوث الميكروبي (Coliform group ، *Streptococcus* spp ، *Pseudomonas aeruginosa*) لتحديد مدى صلاحية المياه المعبأة للاستهلاك البشري بموجب المواصفات القياسية العراقية.

أظهرت النتائج احتواء اربعة منتجات (11.4%) من المياه المعبأة على طفيلي *B. coli* في حين أظهرت عشر منتجات احتوائها على بكتريا دلائل التلوث الميكروبي وأظهرت ثلاث منتجات من اربعة نتائج موجبة لتواجد طفيلي *B. coli* وخلوها من بكتريا دلائل التلوث الميكروبي وهذا يشير بان طفيلي *B. coli* اكثر مقاومة للمعقمات وان بكتريا دلائل التلوث الميكروبي مؤشر لايعتمد عليه لتحديد وجود او عدم وجود طفيلي *B. coli* في المياه المعبأة.

## ABSTRACT

*Balantidium coli* is the largest ciliated protozoan parasite that infect humans and animals and caused a disease called Balantidiasis , clinical symptoms include dysentery ( Blood or mucus ) , Vomiting , headache , nausea , abdominal pain , colitis and ulcers in large intestine . The parasite transmitted to humans through consumption of contaminated food and water with infective cysts.

The aim of this study at the first time in Iraq detection of *B. coli* in bottled water . In this research thirty- five products of bottled water ( 20 liter ) collected randomly from local markets around Baghdad capital were examined for both detection of *B. coli* by direct microscopic examination and detection of bacterial indicators ( Coliform group , *Streptococcus* , *Pseudomonas aeruginosa* ) in order to gauge the safety of bottled water for humans consumption according to Iraqi Standard Specification for bottled water.

The results show four products (11.4)% of bottled water contain the parasite *B. coli* while ten products contain bacterial indicators , three from four positive products for *B. coli* appear free from bacterial indicators that is mean the *B. coli* is more resistance to disinfection and bacterial indicators is not reliable index for the presence or absence of *B. coli* in bottled water.

## المقدمة

المعابة وبالنظر لعدم وجود مختبرات متخصصة في التحري عن الطفيليات المنقولة بمياه الشرب لذا يهدف البحث ولأول مرة بالعراق التحري عن طفيلي *B. coli* في المياه المعابة علما بأنه تم تثبيت وجود الطفيلي في العراق وتمييزه في المختبر (10).

## المواد وطرائق العمل

## النمذجة

تم فحص (35) منتج من المياه المعابة سعة (20) لتر المنتج محليا المبينة تفاصيلها في جدول رقم (1) سحبت بصورة عشوائية من الاسواق المحلية لمدينة بغداد للفترة من أيار / 2010 ولغاية تشرين الثاني /2010.

التحري عن طفيلي *B. coli* في المياه المعابة

تم التحري عن طفيلي *B. coli* بطريقة الفحص المجهرى المباشر وذلك باخذ (100) مليلتر ماء من كل عبوة مياه (بعد رجها جيدا) في انبوب زجاجي نظيف ومعقم وينبذ في جهاز الطرد المركزي بسرعة (1500) دورة/دقيقة لمدة ثلاث دقائق ثم يتم التخلص من الرائق وتم تؤخذ قطرة من العالق على شريحة زجاجية وتفحص مباشرة بالمجهر الضوئي بقوة (40X) (10).

طريقة تصبغ طفيلي *B. coli*

استخدم محلول اليود الذي حضر من اذابة (50) غرام من اليود و (100) غرام من يوديد البوتاسيوم في (1000) مليلتر من الماء المقطر اللاأيوني وقبل الاستعمال مباشرة يخفف محلول اليود بنسبة 1:5 بالماء المقطر اللاأيوني ، يحضر هذا المحلول قبل تصبغ الطفيلي مباشرة وذلك بوضع قطرتين صغيرتين من العينة المركزة على شريحة زجاجية ويضاف الى احدهما قطرة من محلول اليود المخفف وتغطي كل قطرة بغطاء الشريحة وتفحص بالمجهر الضوئي بقوة (40X) للتحري عن الطفيلي بطوريه المتغذي والمتكيس حيث يفحص النموذج المركز غير المصبوغ اولاً ثم يتم تأكيد التشخيص بفحص القطرة المصبوغة باليود (10).

## الكشف عن بكتريا دلائل التلوث الميكروبي

لمعرفة مدى صلاحية النماذج المسحوبة للاستهلاك البشري تم التحري عن بكتريا دلائل التلوث الميكروبي ( *Streptococcus* ، *Coliform* groups ، *Pseudomonas aeruginosa* ) حسب الطرق القياسية (11).

طفيلي *Balantidium coli* (*B. coli*) من الطفيليات المرضية المشتركة بين الانسان والحيوان والذي يتسبب في احداث مرض *Balantidiasis* ، وهو من اكبر الطفيليات المهددة والوحيدة التي تصيب الانسان (1)، وتمتاز دورة حياة الطفيلي بكونها بسيطة وغير معقدة ولا تحتاج الى مضيف وسطي لاكمال دورة الحياة ويمر الطفيلي خلال دورة حياته بطورين هما الطور المتغذي Trophozoite الذي يمتاز بكبر حجمه (0.03-0.15) ملليمتر وعرض (0.025-0.12) ملليمتر ويمتاز بشكله البيضي او المستطيل ويغطي سطح الطفيلي بالاهداب التي تساعده على الحركة اللولبية المميزة ويحتوي الطور المتغذي على نواتين احدهما كبيرة *Macronucleus* ويكون شكلها مشابه الى شكل الكلية او حبة الفاصوليا اما الثانية فتكون صغيرة *Micronucleus* التي تقع خلف النواة الكبيرة ، للطفيلي فجوتين متقلصتين التي تساعده في تنظيم الضغط الازموزي وفي المقدمة الامامية يتواجد التجويف الفمي Cytostome ، اما الطور المتكيس Cyst فيكون دائري الشكل ويتراوح قطره (0.04-0.06) ملليمتر ويحاط بغلاف مكون من عدة طبقات التي تحميه من حموضة المعدة عند تناوله عن طريق الماء او الغذاء ، يتحطم الطور المتكيس في درجة حموضة اقل من (5 PH) (2).

تبدأ دورة حياة الطفيلي عند تناول الانسان الماء او الغذاء الملوثين بالطور المتكيس والذي يعتبر الطور المعدي حيث ينتقل الى الامعاء الدقيقة ويتحول الى الطور المتغذي ويتركز الطور المتغذي في الاغوار والقولون للامعاء الغليظة ، ويعيش الطور المتغذي في التجويف Lumen وفي بعض الاحيان يخترق الطبقة المخاطية Mucosa وي طرح الطور المتغذي خارج الجسم عن طريق الغائط وعند ملامسة الغائط للخضار او تلوث مصادر مياه الشرب تحدث الإصابة للانسان (3).

ان حوالي 1% من سكان العالم يصاب بمرض *Balantidiasis* ومعظم الاصابات تحدث في البلدان المتطورة عند تلوث مصادر مياه الشرب ويمكن ان يحدث وباء للمرض عند تلوث مصادر مياه الشرب بغائط الانسان او الحيوانات المصابة (4) مثل الابقار والجاموس والجمال والاعنام والكلاب والقطط والخنازير والقرود (5) كذلك يمكن ان ينتقل الطفيلي ميكانيكياً بواسطة الحشرات وخاصة الصراصير (6).

يتصف مرض *Balantidiasis* غالباً بعدم ظهور اعراض المرض لكن في بعض الاحيان تظهر اعراض الاسهال وفقدان الوزن والزعاج المصحوب بالتهاب واضطراب في الامعاء وبصورة خاصة القولون الذي يتسبب في احداث اسهال شديد يحتوي على الدم او المخاط مع الغائط مع الم في المعدة وارتفاع درجة الحرارة (3).

لقد ازداد الاقبال على استهلاك المياه المعابة خلال ثلاثين سنة الاخيرة بالرغم من ارتفاع اسعارها مقارنة بمياه الشرب وذلك لاسباب عديدة منها فقدان الثقة بالمياه المزودة من قبل سلطة المياه ، الطعم والاعتقاد بان المياه المعابة هي اكثر صحية وامانا (7) مما ادى الى انتشار واسع للمعامل المنتجة لهذه المياه واستيرادها بكميات كبيرة ، ان استهلاك مثل هذه المياه يجب ان يكون خالي من مسببات المرضية المختلفة (بكتريا ، طفيليات ، فيروسات) (8,9)، لذا ازداد الاهتمام بالتحري عن مسببات المرضية المنقولة بالمياه

## النتائج والمناقشة

يمكن ان يحدث وباء للمرض عند تلوث مصادر مياه الشرب (16).

## الاستنتاجات:

تواجد طفيلي *B. coli* في المياه المعبأة سعة (20) لتر واحتمالية الإصابة بهذا الطفيلي عند تناول هذه المياه ، وعدم الاعتماد على بكتريا دلائل التلوث الميكروبي كمؤشر لوجود او عدم وجود مسببات المرضية (الطفيليات ، الفيروسات) في المياه المعبأة.

## التوصيات:

اخذ الاحتياطات اللازمة لمنع حدوث تلوث مصادر مياه الشرب ببراز الانسان او الحيوان (مياه الصرف الصحي) والقضاء على الحشرات والقوارض في معامل انتاج المياه المعبأة اضافة الى تشديد الرقابة الصحية على معامل انتاج المياه المعبأة كذلك نوصي باجراء دراسات حول تواجد طفيلي *B. coli* في براز الحيوانات (الكلاب، القطط، القوارض والمجترات) لمعرفة الدور الذي تلعبه هذه الحيوانات في نقل الإصابة الى الانسان.

## المصادر

1. Frederick L S. and Lynn R A. (2008) Current world status of *Balantidium coli*. Clin. Microbiol. Rev. 21(4):626-638.
2. Garcia L S.(2008) *Balantidium coli*. Emerging protozoan pathogens. In N. A. Khan (ed):353-366.
3. Gonzales D., Siman P., Delomo M., and Corejoso H. (2000) Balantidiasis. Gastroenterol. Hepatol. 23(3):129-131.
4. Walzer P D., Judson FN., Murphy KH., Healy GR., English DK., and Schultz M G.(1973) Balantidiasis outbreak in Truk. Am. J. Trop. Med. Hyg.22:33-41.
5. Frank E G.(2005) Human Balantidiasis in Iran ,are Camel reservoir host? Trend. Parasitol. 21(12):553-555.
6. Tatfenq Y M., Usuanlele MV., and Orukpe A. (2005) Mechanical transmission of pathogenic organism, the role of cockroaches. J. Vector. Born. 42(4):129-134.
7. Magda M M., Engy MA., and Mohamed MM. (2008) Quality of bottled water brands in Egypt.Part 2, Biological Water Examination. J. Egypt Public Health ASSOC . 83(5,6):467-486.

أظهرت نتائج التحري عن طفيلي *B. coli* أحتواء اربعة منتجات بالرمز (BW7، BW10، BW14، BW29) على الطور المتغذي للطفيلي جدول رقم (2) الذي امتاز بكبر حجمه وحركته اللولبية النشطة وسطحه المغطى بالاهداب والذي تم تشخيصه بسهولة (1). صورة رقم (1).

بينت نتائج التحري عن بكتريا دلائل التلوث الميكروبي عدم مطابقة (10) منتجات من المياه المعبأة المفحوصة للمواصفة القياسية العراقية لمياه الشرب المعبأة م.ق.ع. 2011/ (12) لاحتوائها على البكتريا *Coliorm* و *Streptococcus* وبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* جدول رقم (2).

ان تواجد طفيلي *B. coli* في المياه المعبأة يشير وبشكل قاطع الى تلوث مصادر المياه المستخدمة في الانتاج ببراز الانسان او الحيوان وهذا كان واضحاً من خلال تواجد بكتريا دلائل التلوث الميكروبي في (10) منتجات (13). وأظهرت منتجات المياه المعبأة بالرمز (BW10، BW14 و BW29) احتوائها على طفيلي *B. coli* وخلوها من بكتريا دلائل التلوث الميكروبي جدول رقم (2) مما يشير الى عدم كفاءة عملية التعقيم المستخدمة في القضاء على الطفيليات من جهة حيث تمتاز الطفيليات بصورة عامة (خاصة الطور المنكيس) بمقاومتها للمعقمات المستخدمة في تعقيم مياه الشرب اكثر مما تتحمله بكتريا دلائل التلوث الميكروبي (1) وعدم الاعتماد على بكتريا دلائل التلوث الميكروبي كمؤشر لوجود او عدم وجود طفيلي *B. coli* في مياه الشرب المعبأة من جهة اخرى.

ان احتواء اربعة منتجات من مجموع (35) منتج من المياه المعبأة على طفيلي *B. coli* وبنسبة (11.4)% تعتبر نسبة عالية جداً ويمكن ان تشكل خطورة على الصحة العامة خاصة الاشخاص اللذين يتناولون المياه المعبأة بصورة مستمرة ويعانون من ضعف في الجهاز المناعي مثل الاطفال حديثي الولادة والكبار في السن والاشخاص اللذين يعانون من ضعف وتنشيط في الجهاز المناعي مثل مرضى الايدز والسرطان (14،15).

في مثل هذه الحالات فإن الطور المتغذي يمكن ان يخترق الغشاء المخاطي *Mucosa* و *Sub mucosa* للأمعاء الغليظة حيث لهذا الطفيلي القابلية على افراز انزيم *Hyaluronidase* الذي يساعد في تحلل انسجة الامعاء واختراق بطانتها مسبباً خراجات ومن ثم تقرحات في الامعاء الغليظة (1) تكون الأعراض المصاحبة لهذه الحالات شديدة متمثلة بالزحار المصحوب بالدم او المخاط، القيء، الصداع، الغثيان، ألم في البطن، التهاب القولون، التهاب الزائدة الدودية وتقرحات في الامعاء الغليظة وفي الحالات الشديدة ممكن ان يؤدي النزيف الشديد الى الصدمة والموت (2،3).

ليس هناك دراسات عن طفيلي *B. coli* في المياه المعبأة وتعتبر هذه الدراسة الاولى بهذا المجال في العراق وحتى من خلال الشبكة العنكبوتية لم يتسنى لنا الاطلاع على بحوث عن هذا الطفيلي في المياه المعبأة لذا نقترح اجراء دراسات وبحوث عن الطفيليات المتواجدة في المياه المعبأة واطافة التحري عن الطفيليات الى المواصفة القياسية العراقية لمياه الشرب المعبأة ، ولمنع الإصابة بطفيلي *B. coli* يجب الاهتمام بعملية تعقيم مياه الشرب حيث تعتبر الطريقة الرئيسية لانتقال هذا الطفيلي الى الانسان حيث

protozoan parasites,a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. J. Water and Health.5(1):1-38

8. World Health Organization.(2008) Bottled drinking water, Geneva.
9. Emmanuel N K., Aikaterini NK. and Georgios AF.(2008) Monitoring microbiological quality of bottled water as suggested by HACCP methodology. J. Food Control. 19(10):957-961.
10. Amir K A., Isam SH., Farked FA., Eman AK., and Sundus AJ.(2012) Detection and cultivation of *Balantidium coli* from food .Int.J.Sci. & Tech.7(2):132-137.
11. APHA (American Public Health Association).(2005) Standard methods for the examination of water and wastewater,21<sup>th</sup> Ed. APHA,INC, Washinton,DC.
12. IQS. 1937/1995.Bottled drinking water.
13. Osman GA., Ali MS., Kamel M M. and Herrawy AZ.(2009) Assessment of bottled water quality using microbial indicators. Mid. East J. Sci. Res.4(4):341-347.
14. Udeh E O., Goselle O N., D-Popova DD.,Abelau M., Gean N., and David JS. (2008) The prevalence of intestinal protozoans in HIV/AIDS patients in Abuja,Nigeria. Sci. Wor. J. 3(3):1-7.
15. Suleyman Y., Fevzi A., Izzet S., and Metin A. (2004) Dysentery caused by *Balantidium coli* in a patient with non-Hodgkin's lymphoma from Turkey. Wor. J. Gastroenterol. 10(3):458-459.
16. Panagiotis K., Christina K. and Huw S.(2007) water transmission of



جدول (1) نماذج المياه المعبأة المفحوصة

ت	رمز المنتج	المنشأ	تأريخ الإنتاج وفترة نفاذ الصلاحية
1	BW1	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
2	BW2	بغداد / العراق	إنتاج 2010/4/11 صالح لمدة سنة
3	BW3	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
4	BW4	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
5	BW5	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
6	BW6	بغداد / العراق	إنتاج 2010/4/15 تأريخ الانتهاء 2010/10/15
7	BW7	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
8	BW8	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
9	BW9	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
10	BW10	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
11	BW11	بغداد / العراق	انتاج 2010 صالح لمدة سنة
12	BW12	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
13	BW13	بغداد / العراق	انتاج 2010 صالح لمدة سنتين
14	BW14	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
15	BW15	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
16	BW16	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
17	BW17	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
18	BW18	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
19	BW19	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
20	BW20	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
21	BW21	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة
22	BW22	بغداد / العراق	غير مثبت على بطاقة الدلالة

غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW23	23
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW24	24
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW25	25
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW26	26
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW27	27
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW28	28
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW29	29
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW30	30
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW31	31
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW32	32
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW33	33
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW34	34
غير مثبت على بطاقة الدلالة	بغداد / العراق	BW35	35



صورة (1) الطور المتغذي لطفيلي *B. coli* (40X)

جدول (2) نتائج فحص وتحليل نماذج المياه المعبأة

رمز المنتج	العدد الاحتمالي لبكتريا Coliform MPN/100ml	العدد الاحتمالي لبكتريا <i>Streptococcus</i> MPN/100ml	بكتريا <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> Membrane filter/250ml	<i>B. coli</i> Trophozoite
BW6	+ve	-ve	-ve	-ve
BW7	+ve	+ve	+ve	+ve
BW10	-ve	-ve	-ve	+ve
BW11	+ve	+ve	-ve	-ve
BW13	+ve	+ve	-ve	-ve
BW14	-ve	-ve	-ve	+ve
BW17	+ve	-ve	-ve	-ve
BW18	+ve	-ve	-ve	-ve
BW21	-ve	-ve	+ve	-ve
BW22	+ve	+ve	+ve	-ve
BW24	-ve	-ve	+ve	-ve
BW29	-ve	-ve	-ve	+ve
34BW	-ve	-ve	+ve	-ve

## أثر تراكيز عنصري الزئبق والرصاص المقاسة عمليا من عينات بيئية وبيولوجية على صحة العاملين في شركة الفرات العامة في جمهورية العراق

(1) وعد عماد الدين قاصد ، (2) فرقد عبدالله رشيد ، (1) سهير خلف نجم ، (1) بيداء مال الله علي ، (1) علاء طه ياسين ، (1) سهى غالب صبري

(1) وزارة الصناعة والمعادن / بغداد / العراق (2) وزارة العلوم والتكنولوجيا / بغداد / العراق

### الملخص باللغة العربية

تهدف الدراسة الاطلاع على الواقع البيئي لشركة الفرات العامة ومدى التلوث الحاصل نتيجة استخدام الزئبق والرصاص وقياس تراكيزهما في أقسام مختلفة من الشركة . وتضمنت الدراسة اخذ عدة نماذج مختلفة من (ماء الشرب، النباتات، التربة، هواء، عينات دم) من أماكن مختلفة في الشركة مثل (قسم الصودا الكاوية، مصنع البراين، قسم حامض الكبريتيك المركز، مصنع الأكياس، قسم الخدمات الصناعية، الإدارية، الورشة) . فورنت النتائج مع المحددات القياسية لمعرفة مدى التجاوز عن الحدود المسموح بها في بيئة العمل.

أثبتت الدراسة تجاوز بعض القياسات الحدود المسموح بها لتركيز الرصاص في مياه الشرب حيث كانت 0.047 ملغم/لتر في قسم حامض الكبريتيك، 0.026 ملغم/لتر في مصنع البراين، 0.026 ملغم/لتر في مصنع الأكياس. أما بالنسبة لتركيز الزئبق فكانت النتيجة اقل من 0.001 ملغم/لتر لكافة الأقسام وهي ضمن الحدود المسموح بها. كما بينت الدراسة ارتفاع تركيز الرصاص في عينات الدم المسحوبة من العاملين في الشركة والتي كانت أعمارهم تتراوح ما بين (32-45) سنة وهذا يدل على تعرضهم للمخاطر بشكل مباشر ولذا يجب الإرشاد والتوعية لإتباع كافة التعليمات الخاصة بالسلامة المهنية. بينما نجد أن أغلب العمال لم يؤشر لديهم تجاوز لتركيز الزئبق في الدم عن الحدود المسموح بها. أثبتت الدراسة القابلية العالية لنبات الفيكس - الموجود في موقع الشركة - على تجميع وحجز العناصر الثقيلة (الرصاص والزئبق) مقارنة مع نماذج النباتات الأخرى كما وجد أن النماذج المختلفة للتربة لم تتجاوز تراكيز الزئبق والرصاص الحدود المسموح بها. وكانت نتائج دراسة تركيز الزئبق والرصاص في الهواء لمواقع العمل في بعض أقسام الشركة ضمن الحدود المسموح بها وهذا يدل على أن بيئة العمل جيدة وكفؤة من حيث التهوية و منظومات سحب الأبخرة والغازات.

**الكلمات المفتاحية:** شركة الفرات العامة، الرصاص، الزئبق، نبات الفيكس، نبات الديباج، نبات النخيل

### ABSTRACT

The study aims to see the environmental situation of the Public Furat Company and the extent of the pollution produced by the use of mercury, lead, measure there concentrations in different sections of the company. The study took several different models of (drinking water, plants, soil, air, blood samples) from different places in the company such as (Department of caustic soda, drills manufacturer, Department of concentrated sulfuric acid, plant bags, Department of Industrial Services, Management, workshop) . Results were compared with standard parameters to determine the extent to waive the limits in the work environment.

The study proved some measurements exceeded the permissible limits for the concentration of lead in drinking water which was 0.047 mg / l in the Department of sulfuric acid, 0.026 mg / L in a drills manufacturer, 0.026 mg / l in factory bags. As to the concentration of mercury result was less than 0.001 mg / l for all Departments and are within the permissible limits.

The study also demonstrated the high concentration of lead in blood samples drawn from the employees of the company, which was aged between (32-45) years and this shows their exposure to risk directly, and must therefore guidance and education to follow all instructions on occupational safety. While we find that most workers did not indicate they have exceeded the concentration of mercury in the blood for the permissible limits.

The study proved the high susceptibility of the Ficus plant - located in the company's positions - the collection and reservation of heavy metals (lead and mercury) compared with models of other plants also found that different models of the soil did not exceed concentrations of mercury and lead limits.

The results of the study was, lead and mercury concentrations for the air in the workplace in some sections of the company within the permissible limits and this indicates that the work environment is good and efficient in terms of ventilation systems and the withdrawal of vapors and gases.

## المقدمة

للرصاص استخدامات في مجالات صناعية عديدة منها : صناعة البطاريات و المطاط و البلاستيك و السيراميك و الطلاء و الصناعات الكهربائية وكما يدخل في صناعة الأنابيب و العلب المعدنية وكثير من الصناعات الأخرى يصل الرصاص إلى الإنسان عن طريق التنفس و الهضم . وتعد التربة و الغبار المصدر الأساس للإصابة وأن الرصاص المبتلع من أي مصدر (ماء، هواء، تربة) يمكن أن يتجمع في الجسم و يسبب تلفا واضحا للكلى، الكبد، الدماغ ، الجهاز التناسلي ، ويعمل على تثبيط إنتاج الإنزيمات وأكثر منطقة يتجمع بها هي العظام . يتداخل الرصاص (في المستويات الغير سامة) مع وظيفة كريات الدم الحمر أما في المستويات السامة فقد يسبب تلف للكريات والأطفال على الخصوص هم الأكثر تأثر بالتسمم بالرصاص حيث يتسبب عنه التخلف العقلي (5)

## المخاطر الصحية للرصاص :

مادة الرصاص تصيب العاملين سواء كانوا يتعاملون معها نتيجة الظروف الصناعية العملية أو غير العاملين الذين يتعرضون لحالات التسمم بفعل دخول مركبات الرصاص الغير عضوية إلى الجسم نتيجة التلوث البيئي. وأن حالات الإصابة تكون أما عن طريق الاستنشاق للأبخرة و الغبار فهي تصيب الجهاز التنفسي أو تكون الإصابة للجهاز الهضمي نتيجة ابتلاع مركبات الرصاص. و الرصاص المتبخر من حاويات مادة الرصاص وتحت درجات حرارة عالية تعتبر كافية لتوليد خطر التسمم وعادة هناك تسمم مزمن وهناك تسمم حاد ومن أعراضه فقر الدم والشحوب والضعف والصداع وسرعة الغضب والانفعال . أما العاملين الذين يتعاملون بمادة كبريتيد الرصاص فإن هذه المادة تنترسب على اللثة مما يؤدي إلى ظهور خط أسود مزرق على اللثة والشفة وأن ترقط الشبكية تعتبر من العلامات المبكرة للتسمم بالرصاص وعند حالات التسمم المزمن يسبب عجز الكليتين وعجز الكبد والام في المفاصل وتراكم مادة الرصاص في الدم والإدرار وتصلب العضلات وشلل الأطراف التسمم بالرصاص ممكن أن يؤدي إلى حدوث نوبات صرع وهذيان وتقيؤ شديد ونحول عام وإغماء (6).

## التسمم بالرصاص

لا تقتصر مخاطر المواد الكيميائية على العمال الذين تتطلب مهنتهم التعامل مع هذه المواد ، فقد تكون نحن معرضين للإخطار الكيميائية في منازلنا عبر سوء الاستخدام أو بشكل عرضي نتيجة لتلوث البيئة إذ إن المواد الكيميائية قد تلوث الهواء الذي نتنفسه والماء الذي نشربه والطعام الذي نتناوله . ويكون التسمم عن طريق (7) الجهاز التنفسي، الجهاز الهضمي، والجلد

**الجهاز التنفسي :** وهو أهم وسائل دخول الرصاص إلى جسم الإنسان عن طريق تلوث الهواء ويتم استنشاقه على شكل غبار أو دخان داخل الرئتين ومنها إلى الدم.

**الجهاز الهضمي :** من النادر إن يحدث التسمم عن طريق الجهاز الهضمي حيث إن 90% من الرصاص المبتلع يخرج مع البراز ويتم امتصاص نسبة قليلة منه فتدخل إلى كريات الدم الحمراء و ثم إلى الكبد والكلى وتخزن في العظام والشعر والأظافر .

**الجلد :** مركبات الرصاص العضوية يمكن إن تمتص عن طريق الجلد مثل رابع إيثيل الرصاص وكذلك مستحضرات التجميل الحاوية على الرصاص

باتت مشكلة التلوث البيئي تترك فكر المصلحين والعلماء والعقلاء وتقض مضاجعهم، فبدعوا يدقون نواقيس الخطر، ويدعون لوقف أو الحد من هذا التلوث الذي تتعرض له البيئة نتيجة للنهضة الصناعية والتقدم التكنولوجي في هذا العصر، فالتلوث مشكلة عالمية، لا تعترف بالحدود السياسية لذلك حظيت باهتمام دولي ، لأنها فرضت نفسها فرضا، ولأن التصدي لها يجاوز حدود وإمكانات التحرك الفردي لمواجهة هذا الخطر المخيف، و الحق أن الأخطار البيئية لا تقل خطرا عن النزاعات والحروب والأمراض الفتاكة إن لم تزد عليها (1).

أدى التوسع الصناعي السريع في معظم دول المنطقة إلى ظهور أعراض التدهور البيئي ، ويمثل التلوث الصناعي مشكلة ملموسة في العديد من الدول، حيث أثرت الملوثات السائلة على الثروة السمكية وتدهور الموارد المائية وإلحاق الضرر بالإنتاج الزراعي، كما كان لها آثار بالغة الخطورة على الصحة العامة ونوعية البيئة (2).

من المسلم به إن القطاع الصناعي من أكبر القطاعات استخداما للمواد الأولية في عملياته الإنتاجية وكتحصيل حاصل لهذا الاستخدام الكبير للمواد الأولية بمختلف أنواعها وخصائصها الكيميائية والفيزيائية فإنه من أكثر القطاعات تلوثا للبيئة، وللتلوث آثارا مباشرة على صحة الإنسان لأنها تسبب له مختلف الأمراض التنفسية والعصبية والنفسية.

ومعلوم لدى أي متخصص بشؤون البيئة، إن البيئة تعرف بأنها ذلك الجزء الذي يؤثر فيه الإنسان ويتأثر به ومكونات التلوث الصناعي هي: أشعة الشمس، الأرض والتربة، المياه، الهواء، النباتات، الحيوانات إن هذه المكونات تتأثر بسبب التلوث الصناعي بدرجات متفاوتة طبقا لعوامل متعددة أهمها (3):

1. نوع الصناعة
2. حجم المصنع
3. عمر المصنع ونظام الصيانة فيه
4. حجم الإنتاج
5. نوع التقنيات المستخدمة
6. أنواع المواد الأولية والوقود المستخدم
7. نوع الوسائل المعتمدة للحد من التلوث ومدى كفاءتها من الناحية العملية

لوحظ في السنوات الأخيرة تزايد الاهتمام بمشاكل التلوث الصناعي و كيفية مكافحته كوسيلة فعالة لحماية البيئة واتخاذ الإجراءات المناسبة للسيطرة على مصادر التلوث و معالجة الملوثات داخل الوحدات الإنتاجية ومن أهم الملوثات الصناعية هي العناصر الثقيلة، تعد العناصر الثقيلة من بين الملوثات الغير تقليدية والسامة مثل (الزئبق، الرصاص، الكروم، الكاديوم) و وجود هذه العناصر في البيئة بتركيز عالية تعد من المشاكل المهمة بسبب ما تمتلكه من خاصية سمية للكائنات الحية جميعها و كذلك قابليتها على التراكم في أنسجة بعض الكائنات وانتقالها عبر السلسلة الغذائية إلى الإنسان (4).

## الرصاص :

وهو من العناصر الأولى التي أستخدمها الإنسان منذ حوالي 5000 سنة حيث كان يستخدم في تحسين النيبيذ، يعد الرصاص من العناصر السامة و المؤذية لكل الكائنات الحية بما فيها الإنسان. وهو من العناصر المعدنية الثقيلة ذو لون أزرق أو فضي مسود لين قابل للتشكيل والطرق ينصهر عند درجة 327°م وموصل جيد للحرارة ، ومقاوم للتآكل و له كثافة عالية ، و يوجد في الطبيعة بصيغة  $Pb^{+2}$

متطورة ودقيقة لمعالجته وكذلك توضع حدود مشددة لتركيز الزئبق في مناطق التصريف لما له من تأثيرات خطيرة على صحة الإنسان (10).

يوجد الزئبق بشكل طبيعي في أنسجة الجسم حيث يأتي مع الغذاء اليومي المعتاد (الخبز، الدقيق، الحليب، اللحوم، الأسماك حيث يتركز فيها بشكل كبير) وكذلك الفواكه وهذا يعتمد على نوع وظروف التربة وما يضاف إليها من مخصبات ومبيدات .

إما في الهواء يشكل بخار الزئبق مع دقائق الغبار والعوالق الهوائية الأخرى أحد المخاطر الجدية على صحة الإنسان لأن الأبخرة بعد استنشاقها تنتشر بسرعة فائقة خلال الأغشية وتحدث أكسدة لبعض مركبات الزئبق في الدم فيتحد الزئبق المتكون من عملية الأكسدة مع البروتين وهيموغلوبين الدم ويؤدي بالتالي إلى نقص الأوكسجين

وللحماية الفردية والجماعية من خطر الزئبق يجب إن يحفظ في أماكن محكمة مع وضع علامات تحذير تشير إلى خطورته حيث أنه يتبخر في درجات الحرارة الاعتيادية ، وعند استخدامه في التحليل الكهربائي للملح لتوليد الصودا الكاوية فإنه من الضروري إن يكون مغطى بالماء كلياً إما قاعات العمل فلا تكون من الخشب وذلك لأنه يخرق وينساب داخل الشقوق ولا بد إن تكون الأرضيات من الخرسانة كما ويجب لبس الملابس الواقية لتفادي امتصاصه من قبل الجلد إضافة إلى غسل اليدين بعد العمل وتنظيف الأسنان كما ويجب إن تكون قاعات العمل ذات تهوية جيدة وتوفير أجهزة سحب للهواء ودافعات للهواء ووسائل التبريد (11-13).

#### مركبات الزئبق :

تنقسم إلى قسمين (12):

مركبات الزئبق غير العضوية : يختصر عادة اسم هذا الصنف من مركبات الزئبق ليكون مجرد (زئبق غير عضوي) وتشمل هذه التسمية معدن الزئبق نفسه مركبات الزئبق العضوية : شهدت عقود السنوات الأخيرة اهتماماً متزايداً بخطر الزئبق ومشكلاته العضوية وخاصة الزئبق المثلي فلقد ثبت إن مركبات الزئبق التي تطرح إلى البيئة إنما تتحول إلى مركب الزئبق المثلي بتأثير بعض الأحياء المجهرية.

قدر عمر النصف البيولوجي للزئبق المثلي في جسم الإنسان بحوالي سبعين يوماً لكن مشكلة هذا المركب أنه يقاوم التحول في الطبيعة خارج حدود جسم الإنسان ويبقى ساماً لمدة طويلة .

#### المخاطر الصحية (11)

1. استنشاق أبخرة الزئبق يسبب رعشة في اللسان و الشفتين والأصابع تبدأ بالخلل و عدم القدرة على العمل وقلة النوم .
2. يظهر في الفم طعم معدني لاذع.
3. لون الشفة رمادي و تتساقط الأسنان.
4. يسبب الحساسية للجلد والجهاز التنفسي ، والاكزيما للعمال الذين يتعاملون مع الزئبق.
5. عجز الكبد و الكليتين نتيجة زيادة البروتين في الدم و تسمم في الجهاز العصبي.
6. يضر ويضعف الجهاز المناعي فينتج عن ذلك أمراض الحساسية والربو وإضعاف الخلايا البيضاء المتعادلة.
7. كما يمكن إن ينتقل عبر المشيمة ويسبب إضرار للجنين كقلة الأوكسجين في الدم والفيتامينات مما تسبب تشوهات وإعاقة للجنين.

#### أعراض التسمم بالرصاص

- مغص معوي
- إمساك
- فقدان الشهية
- ظهور خط ازرق بين اللثة والأسنان
- تحلل كريات الدم الحمر
- إجهاض الولادات
- ضمور الكلى
- الأرق والصداع
- تشوش الوعي وتلف المخ

#### أضرار الرصاص (8)

1. يسبب الصداع والضعف العام و قد يؤدي إلى غيبوبة و حدوث تشنجات قد تؤدي للوفاة.
2. يؤدي إلى إفراز حامض البوليك و تراكمه في المفاصل والكلى.
3. يقلل تكوين الهيموغلوبين الدم.
4. يحل محل الكالسيوم في أنسجة العظام.
5. يؤدي إلى القلق النفسي و الليلي.
6. يسبب التخلف العقلي لدى الأطفال.

#### السلامة المهنية (9):

اهتمت الدول ومنذ وقت مبكر بالصحة المهنية حيث أكدت على حماية العامل من أخطار المهنة ، ويهدف الفحص الدوري إلى اكتشاف المرض المهني في أطواره الأولى قبل أن تظهر علاماته وأعراضه وبذلك يكون الأمل في نجاح العلاج كبير. وللفحص الطبي الدوري يجب إجراء عدة فحوصات طبية للتأكد من سلامة العاملين وهي:

1. صور الدم الكامل.
2. نسبة الرصاص بالدم.
3. فحص وظيفة الكليتين.
4. فحص الجهاز العصبي.
5. فحص السائل المنوي.
6. فحص الأسنان واللثة.
7. أشعة الصدر والعظام.
8. تحليل الإدرار العام.

#### الزئبق :

يعتبر من العناصر الثقيلة التي تتواجد في البيئة وتستخدم بشكل واسع في الصناعة والزراعة وأنماط أخرى من الاستخدامات مما يزيد فرص التعرض لمركبات هذا العنصر. و نظرا لكون كافة مركباته ذات تأثير يهدد صحة الإنسان فإن إمكانية التسمم بالزئبق متوقعة و هناك خطورة عند التعرض المستمر للمواد الكيميائية الحاوية على الزئبق و لو بكميات قليلة .

و من خواص الزئبق إنه لا يذوب في الماء و له القابلية على التبخر لونه فضي أو رمادي موصل جيد للحرارة والكهربائية و له القدرة على تنويع معادن أخرى مكوناً معها الملاجم (amalgams) يوجد على عدة أشكال أما عنصر حر أو أملاح أو مركبات عضوية (10).

يدخل في العديد من الصناعات مثل الصناعات الكيميائية ( صناعة الأصباغ، المبيدات، صهر المعادن، الخلايا الالكترونية، ورش العمل الكهربائية، صناعة الكلور القاعدي وتحضير أملاح العوامل المساعدة ، صناعة عجينة الورق، ومن أشهر استخداماته هو دخوله في أجهزة قياس الحرارة ومقاييس الضغط.... الخ ) . تبعاً لذلك يظهر الزئبق في الفضلات الصناعية بنسب كبيرة فعليه يجب وضع تكنولوجيات

**ثانيا : الزئبق**

- الحد المسموح به في مياه الشرب (15) 0.001 ppm  
 الحد المسموح به في التربة والنبات (1-1.5 ppm) (16)  
 الحد المسموح به في الهواء (0.1mg/m<sup>3</sup>) (17)  
 الحد المسموح به في الدم (0.02 ppm) (19)

**المواد وطرائق العمل****جمع النماذج**

تم إجراء زيارة ميدانية إلى شركة الفرات العامة للاطلاع على الواقع البيئي والاستماع إلى شرح مفصل عن الأقسام التي تتعامل مع الزئبق والرصاص ومن أجل الوقوف على مدى التلوث الحاصل بهذين العنصرين تم أخذ نماذج مختلفة من عدة مواقع ضمن الشركة وهي كالآتي :

- 1. مياه الشرب :** أخذت نماذج مختلفة من مياه الشرب لبيان مدى التلوث بالرصاص والزئبق لعينات ماء الشرب ومقارنتها مع المحددات القياسية وهي كالآتي (قسم الصودا الكاوية، مصنع البرلين، قسم حامض الكبريتيك المركز، مصنع الأكياس، قسم الخدمات الصناعية، الإدارية، المياه الرئيسية الداخلة إلى الشركة).
- 2. النبات :** جمعت نماذج من النباتات الموجودة في الشركة لمعرفة مدى تلوثها بعنصري الزئبق والرصاص. وقد لوحظ قلة النباتات وأن أغلب النباتات لا يمكنها النمو بسبب تلوث التربة (أخذت الأوراق الفتية ووضعت في أكياس معلمة وأغلقت جيدا) وكانت النماذج كالآتي
  - أ. نبات الديباج :** وهو من النباتات دائمة الخضرة وله قابلية على مقاومة الملوحة وهو النبات الوحيد الذي وجد بالقرب من مصنع الصودا الكاوية .
  - ب. نبات الفيكس مستدقة الأوراق :** وهي نباتات دائمة الخضرة موجودة في عدة مواقع من الشركة
  - ج. نبات النخيل :** وهو نبات دائم الخضرة موجود فقط بالقرب من مقر إدارة الشركة
- 3. التربة :** جمعت نماذج من التربة ( بعد قشط حوالي 10 سم من التربة العليا ووضعت في أكياس معلمة وأغلقت جيدا) في مواقع مختلفة من الشركة وهي كالآتي (مصنع الصودا الكاوية، مصنع الأكياس، الورشة المركزية، مصنع حامض الكبريتيك ) .
- 4. الغبار :** جمعت نماذج من الغبار المتطاير في وحدات العمل والإنتاج في قسم الصودا الكاوية لمعرفة مدى تلوث الهواء بأبخرة الزئبق والرصاص ، وتم استخدام جهاز Dust mater المزود بفلتر من نوع Glass microfiber (HFA) filter ولفترة زمنية ربع ساعة وكانت المواقع كالآتي (قسم الصودا الكاوية، قسم الكلور، قسم البرلين ) .
- 5. الدم :** سحبت عينات من دم العاملين في الشركة لمعرفة تركيز الزئبق والرصاص في أجسامهم ومدى تعرضهم لأخطار هذين العنصرين ومقارنة النتائج مع المحددات القياسية.

8. يسبب اضطرابات للهرمونات وبعض الغدد الصماء.

9. أخطر أنواع الزئبق هو مثيل الزئبق الذي يسبب شلل للجهاز العصبي والعمى

**شركة الفرات العامة للصناعات الكيماوية**

تأسست الشركة عام 1963 وارتبطت مع مصنع النسيج الناعم في الحلة عام 1987 (14).

تصنف المصانع الكيماوية والبلاستيكية ومصنع النشا من الأنشطة الملوثة للبيئة والتي لها تأثيرات عديدة على نوعية البيئة المحيطة تقع هذه المصانع في مناطق مختلفة فهي موزعة على الشكل الآتي:-

المصانع الكيماوية ومصنع الأكياس البلاستيكية تقع هذه المصانع على الطريق بين مدينتي المسيب والسدة . ويبعد بمسافة (4) كم عن مدينة المسيب وعلى مسافة (3) كم عن مدينة السدة .

**مصنع النشا والدكسترين**

يقع هذا المصنع على الطريق بين مدينتي الحلة والديوانية ومجاور لمدينة الهاشمية وكان في البداية يبعد عنها بحدود (2) كم إلا أن زحف المدينة وتوسعها باتجاه المصنع جعل منها ملاصقة له بمرور الزمن وبذلك أصبح الموقع مجاور للمخطط الأساسي للمدينة .

**المناطق المحيطة**

تحيط بالمصانع الكيماوية أراضي زراعية وبساتين كذلك يوجد مجمع سكني في الجهة المقابلة للمصنع تبعد حوالي (1.5) كم وشيد هذا المجمع لإسكان العاملين في الشركة . لقد تنوعت منتجات الشركة فشملت تصنيع حامض الكبريتيك والصودا الكاوية وحامض الهيدروكلوريك والهاليو والكلور السائل وكلوريد ألحديك وكبريتيت الصوديوم والنشا والأكياس البلاستيكية .

**دور الزئبق والرصاص في الشركة**

يدخل عنصري الزئبق والرصاص في عمل شركة الفرات لإنتاج الصودا الكاوية وحامض الهيدروكلوريك المركز تستخدم تقنية التحليل الكهربائي لملاح الطعام لإنتاج الصودا والحامض. حيث تتألف الخلية من قطبين موجب وسالب. الزئبق موجود في الخلية والذي يصب على شكل حوض بمساحة 300م<sup>2</sup> وبسمك 85 سم مغمور فيه أقطاب من الكرافيت وهذه الأقطاب تكون محمولة بواسطة أعمدة من الرصاص .

يتم العمل في البداية بتحضير المحلول الملحي من كلوريد الصوديوم بتركيز 380 غم/لتر ويضخ الزئبق بواسطة مضخات إلى حوض الخلية الكهربائية مع المحلول الملحي لاستخلاص هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 35% ويحدث التلوث بالزئبق نتيجة ضخ وغسل الزئبق .

أما التلوث بالرصاص يكون نتيجة الغازات المتفاعلة (الكلورين) مع الحامضات ويذاب على شكل كلوريد الرصاص في الماء.

**المحددات المسموح بها لعنصري الزئبق والرصاص****أولا : الرصاص**

- الحد المسموح به في مياه الشرب (0.001 ppm) (15)  
 الحد المسموح به في التربة والنبات (3.48 ppm) (16)  
 الحد المسموح به في الهواء (2 mg/m<sup>3</sup>) (17)  
 الحد المسموح به في الدم (0.8 ppm) (18)

جدول رقم (2) تركيز عنصري الزئبق و الرصاص في نماذج الدم المسحوبة من العاملين

ت	الجنس	العمر	مكان العمل	تركيز الرصاص ppm	تركيز الزئبق ppm
1	ذكر	45	قسم البنية	0.31	—
2	ذكر	39	قسم الصودا	0.90	0.009
3	ذكر	37	قسم الصودا	0.86	0.01
4	ذكر	37	قسم الصيانة	0.06	0.003
5	ذكر	45	قسم الصيانة	0.20	—
6	ذكر	44	الإنتاج	0.70	—
7	أنثى	32	الإدارية	0.91	—
8	أنثى	42	قسم الكمياء	0.99	—
9	أنثى	42	قسم الصيانة	0.53	0.007

قياس تراكيز عنصري الزئبق والرصاص في النباتات المتواجدة في موقع الشركة

يوضح الجدول (3) التراكيز لنماذج النباتات المختلفة حيث وجد إن أعلى تركيز لعنصر الرصاص كان في نموذج نبات الفيكس المأخوذ من قرب الورشة حيث كانت 0.14 ملغم / لتر إما بالقرب من مصنع الصودا سجل نفس النبات تركيز عنصر الرصاص 0.08 ملغم / لتر وهذا يدل على القابلية العالية لنبات الفيكس في تجميع أيونات الرصاص على السطح وداخل أنسجة الأوراق وبهذا يمكن زيادة زراعة هذا النوع من النبات في كافة أنحاء الشركة للتقليل من التلوث.

وقد سجلت بعض الملاحظات منها :

1. أغلب العمال ملتزمين بقواعد وشروط السلامة المهنية ومنها ليس المعدات الوقائية مثل البدلات والأحذية الخاصة بالعمل وكذلك الكمادات وخصوصاً في وحدة إنتاج الكلور والبرلين .
2. توجد في الشركة وحدة للطبابة تعنى بسلامة العاملين وتعمل بنظام البطاقات الصحية وتقوم بأجراء فحوصات دورية للعاملين .
3. الغطاء النباتي قليل بين كافة أقسام الشركة ولا توجد إلا بعض النباتات القليلة دائمة الخضرة .
4. تراكم طبقة من الأملاح على التربة الموجودة في حدائق والأراضي بين أقسام الشركة .

### النتائج والمناقشة

#### قياس تراكيز عنصري الزئبق والرصاص في مياه الشرب.

يشير الجدول رقم (1) إلى تراكيز العنصرين في عينات مياه الشرب المأخوذة من بعض أقسام الشركة ، نجد أن بعض الأقسام يوجد لديها تلوث بالرصاص حيث أن تركيزه عالي في بعض الأقسام مقارنة مع تركيزه في محطة الماء الرئيسي فقد تجاوزت بعض العينات الحدود المسموح بها لتركيز الرصاص في مياه الشرب ولذا يجب اخذ الحيطة والحذر ومعالجة الموضوع لما له من أهمية على سلامة العاملين ، وللمعالجة توضع محطة (R.O) لتنقية مياه الشرب والتخلص من هذه المشكلة.

أما بالنسبة لعنصر الزئبق فلم يؤثر أي قسم من أقسام الشركة تجاوز عن الحدود المسموح بها وهذا يدل على الإجراءات المحكمة التي تتخذها الشركة للحد من تسرب الزئبق إلى بيئة العمل.

جدول رقم (1) تراكيز عنصري الزئبق والرصاص في مياه الشرب

ت	اسم العنصر	قسم لصودا الكاوية	مصنع البرلين	محطة الماء الرئيسي	قسم حامض الكبريتيك	مصنع الأكياس	وحدة التبريد	قسم الإدارية
1	تركيز الرصاص ppm	0.017	0.026	0.008	0.047	0.026	0.012	0.013
2	تركيز الزئبق ppm	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

#### قياس تراكيز عنصري الزئبق والرصاص في دم العاملين.

يوضح الجدول رقم (2) نتائج فحص الدم المسحوبة من العاملين في بعض أقسام الشركة حيث تراوحت أعمارهم ما بين (32-45) سنة نجد بعض العاملين ارتفعت لديهم تركيز الرصاص عن الحدود المسموح بها مما يوضح تعرضهم لمخاطر بشكل مباشر وهنا يجب إتباع كافة الإرشادات الوقائية الخاصة بالسلامة مثل ارتداء الكمادات طول فترة العمل وكذلك البدلات الواقية ، إما بالنسبة لتركيز الزئبق نجد أغلب العمال لم يؤثر تجاوز للتركيز المسموح بها للزئبق في الدم وأعلى قيمة سجلت كانت 0.01 ملغم / لتر وأقل قيمة كانت 0.007 ملغم / لتر .

بالنسبة لعنصر الزئبق فقد سجلت تراكيز عالية تتجاوز الحدود المسموح بها فقد كانت أعلى قيمة 1.80 ملغم/لتر في نبات الفيكس المتواجد بالقرب من مصنع الصودا وأقل قيمة 1.25 ملغم / لتر لنبات الفيكس الموجود بالقرب من الورشة وهذا دليل واضح على قابلية النبات في حجز العناصر الثقيلة والتقليل من التلوث وهذه النتائج تتفق مع ما حصل عليه بعض الباحثين (20).

أما النباتات الأخرى فكانت تركيز عنصر الزئبق فيها أقل من المحددات المسموح بها



### جدول رقم (3) تراكيز عنصري الرصاص والزنك في بعض النباتات الموجودة في الشركة

ت	اسم النموذج و الموقع	تركيز Pb ppm	تركيز Hg ppm
1	نبات الديباج - مصنع الصودا	0.03	0.166
2	نبات الفيكس - مصنع الصودا	0.08	1.804
3	نبات الفيكس - مصنع الأكياس	0.01	1.240
4	نبات الفيكس - الورشة	0.14	1.250
5	نبات نخيل الزينة - الإدارية	Nil	0.390

### قياس تراكيز عنصري الزئبق و الرصاص في بعض عينات الهواء لمواقع عمل داخل الشركة

يوضح الجدول رقم (5) تركيز العناصر في هواء الموجود في بيئة العمل لبعض أقسام الشركة فمثلاً مصنع الصودا كان فيها تركيز الرصاص 0.05 ملغم/م<sup>3</sup> وقسم البرابن كان تركيز الرصاص 0.01 ملغم/م<sup>3</sup> أما بالنسبة لتركيز الزئبق فكان 0.04 ملغم/م<sup>3</sup> لجميع العينات وهذه التراكيز تعتبر ضمن الحدود المسموح بها في بيئة العمل. أما بالنسبة لتركيز الغبار فكان يتراوح ما بين (3.3، 4.0) ملغم/م<sup>3</sup> لبعض مواقع العمل في أقسام الشركة ونستنتج بأن الهواء في بيئة العمل لأقسام الشركة ضمن الحدود المسموح بها و التهوية جيدة ونوصي بالاهتمام بالصيانة والإدابة لمعدات التهوية وأجهزة سحب الأبخرة والغازات لكي تبقى بيئة العمل ملائمة للعمال

### جدول رقم (5) تراكيز عنصري الرصاص و الزئبق في هواء بعض أقسام الشركة

ت	موقع أخذ النموذج	تركيز Pb mg/m <sup>3</sup>	تركيز Hg mg/m <sup>3</sup>	تركيز الغبار mg/m <sup>3</sup>
1	مصنع الصودا	Nil	0.042	5.3
2	مصنع الحامض	0.01	0.040	3.3
3	قسم البرابن	0.01	0.040	4.0

### قياس تراكيز عنصري الزئبق و الرصاص في بعض نماذج التربة الموجودة في الشركة.

يوضح الجدول رقم (4) تركيز العنصرين في نماذج التربة لبعض المواقع في الشركة حيث أن أغلب النماذج لم تسجل وجود لتركيز الرصاص فيها ما عدا النموذج المأخوذ من التربة بالقرب من مصنع الصودا كان تركيز الرصاص 0.47 ملغم/لتر و نموذج بالقرب من مصنع الحامض بتركيز 0.04 ملغم/لتر وهما لم يتجاوزا الحدود المسموح بها لتركيز الرصاص في التربة.

أما عنصر الزئبق فأن جميع النماذج وجد بها تركيز للزئبق و بحدود قليلة لم تتجاوز الحدود المسموح بها ومن هذا يتضح إن التربة الموجودة بالقرب من بعض مرافق الشركة لا تصلح لزراعة بعض النباتات خاصة الورقية و الجذرية خوفاً من امتصاص و تجمع للعناصر الثقيلة داخل الأوراق والجذور ثم انتقالها إلى الإنسان في حالة تناولها.

### الاستنتاجات

الهدف من الدراسة هو الاطلاع على الواقع البيئي في شركة الفرات العامة ومن اجل الوقوف على مدى التلوث الحاصل بعنصري الزئبق و الرصاص في بعض أقسام الشركة. بعض الأقسام يوجد لديها تلوث بالرصاص في مياه الشرب حيث أن تركيزه عالي مقارنة مع مياه الإساءة وتجاوزت الحدود المسموح بها. بينما لم يؤثر أي قسم من أقسام الشركة تجاوز تركيز الزئبق عن الحدود المسموح بها. ارتفاع تركيز الرصاص في نماذج الدم المسحوبة لبعض العمال وتجاوزها الحدود المسموح بها بينما لم تتجاوز تراكيز الزئبق للحدود المسموح بها في الدم. وجد إن تركيز عنصري الزئبق والرصاص عالية في نماذج أوراق النبات وخاصة نبات الفيكس مما يدل على القابلية العالية لهذا النبات على تجميع وحجز العناصر الثقيلة والتقليل من تلوث البيئة. لم يلاحظ تجاوز لتراكيز عنصري الرصاص و الزئبق في نماذج التربة عن الحدود المسموح بها. تراكيز العنصرين في الهواء لمواقع عمل في بعض أقسام الشركة كانت ضمن الحدود المسموح بها وهذا يدل على إن بيئة العمل جيدة و كفوءة من حيث التهوية.

### جدول رقم (4) تراكيز عنصري الرصاص والزنك في بعض نماذج التربة الموجودة في الشركة

ت	موقع أخذ النموذج	تركيز Pb ppm	تركيز Hg ppm
1	مصنع الصودا الكاوية	0.47	0.165
2	مصنع الأكياس	Nil	0.162
3	الورشة المركزية	Nil	0.100
4	مصنع الحامض	0.04	0.100
5	المشروع الجديد	Nil	0.120

10. Srivastava RC. (2000) Guidance and awareness raising materials under new UNEP Mercury program ( Indian scenario ) , center for Environment Pollution monitoring and Mitigation.

11. مجلس ادارة برنامج الامم المتحدة البيئية . (2003) حالة البيئة العالمية ومساهمة برنامج الامم المتحدة للبيئة في الجهود المبذولة للتصدي للتحديات البيئية ، تقرير المدير المنفذ - التقييم العالمي للزئبق ، نيروبي ، الدورة الثانية والعشرون 3-7 شباط .

12. قسم الصحة والسلامة البيئية ، دائرة الصحة البيئية ، وزارة البيئة . (2011) الدروس المستفادة من مرض ميناماتا وإدارة الزئبق في اليابان . اليابان . ص 51

13. الظاهر ، عدنان (2009) التلوث والبيئة / الزئبق .مجلة الحوار المتمدن ، اغسطس 16

14. عبد الحميد ، حيدر محمد . (2000) تقييم الواقع و الأداء البيئي لشركة الفرات العامة للصناعات الكيماوية ، تقرير فني 15. المواصفة العراقية القياسية لمياه الشرب . م ق ع / 417 لسنة (2001).

16. الحديثي ، عزام حمودي خلف . (1987) تأثير مخلفات مجاري بغداد في الرستمية على نمو وانتاج الذرة الصفراء واحتمالات تلوث التربة كيميائيا . أطروحة ماجستير ، جامعة بغداد - كلية الزراعة

17. نتائج أعمال الرقابة و التدقيق التخصصي على النشاط البيئي في مديرية بيئة بغداد للفترة من 2007-

2010 (تقرير فني) وزارة البيئة

[http://www.bsa.iq/pbf/beeah\\_bagh2010.pbf](http://www.bsa.iq/pbf/beeah_bagh2010.pbf).

18. Lars B., Milena H., Barbara M., Gerd S., Darija G., Vesna F., Sergio D., and John M. (2006) Urinary Mercury in people living near point sources of mercury emissions. Sci. total environ. 368 ( 1): . 326- 334.

19. خليل ، سامية . (2002) دراسة التلوث لبيئي بالرصاص في مصنع مسبك الرصاص . أطروحة ماجستير ، جامعة بغداد - كلية الطب البيطري .

20. طاهش ، عبد الله حسين عبد الله (2008) استجابة نبات الفيكس نتيدا لبعض المعاملات لتخفيض الأثر الضار للتلوث بالرصاص . أطروحة ماجستير . المركز الوطني للمعلومات NIC . بغداد.

21. برونكزوك ج. (2006) برنامج منظمة الصحة العالمية وانشطتها بشأن الزئبق ، الرصاص ، الكاديوم . المحفل الحكومي الدولي المعني بالسلامة الكيميائية IFCS . 25-29 ايلول

## التوصيات

هناك بعض التوصيات التي تخص شركة الفرات العامة منها

- الاهتمام بكافة الأقسام بحيث تكون بيئة العمل ملائمة لجميع العمال.
- الاهتمام بالصحة والسلامة المهنية للعمال وخاصة الذين يتعرضون لتراكيز عالية من الرصاص والزئبق.
- استخدام تقنيات و تكنولوجيا حديثة في العمل لتكون بديل عن استخدام الزئبق والرصاص في الإنتاج.
- الاهتمام بزراعة النباتات بكثرة وخاصة دائمة الخضرة وفي كافة المواقع.
- أجراء المزيد من الدراسات للمواقع الأخرى التابعة لنفس الشركة وكذلك دراسة للمنطقة المحيطة ومعرفة مدى التلوث.
- زيادة الوعي البيئي لدى العاملين وذلك من خلال المحاضرات والإرشادات والدورات التدريبية للارتقاء بالمستوى البيئي للشركة.
- دعم مادي و معنوي للعمال الذين يصابون بأمراض مهنية نتيجة تعرضهم لإخطار التلوث بحيث تتكفل الشركة بعلاجهم.

## المصادر

1. الحوسني، طلال بن سيف عبد الله (2005) حماية البيئة الدولية من التلوث . ص 7 .
2. حمزة، احمد. (1985) تقييم معايير وبرامج مكافحة التلوث الصناعي في الدول العربية بمنطقة غربي آسيا، ندوة أنسب المعايير للملوثات الصناعية المسموح بها في البيئات العربية المختلفة ، قطر .
3. القزاز، إسماعيل إبراهيم كوريل، عادل عبد المالك . (2010) نظام الإدارة البيئية بموجب متطلبات مواصفة الايزو 14001:2004 . المملكة الأردنية الهاشمية ، مكتبة الراتب العلمية. ص 40-42.
4. قاصد ، وعد عماد الدين (2006) استخدام خلايا بكتيريا *Enterobacter Spp* المقيدة في ازالة الرصاص من البيئة المائية . أطروحة ماجستير . جامعة بغداد / كلية العلوم .
5. العلي ، وداد . (2005) التلوث البيئي في مجلس التعاون الخليجي ، مؤسسة الانتاج البرامجي المشترك لدول مجلس التعاون الخليج العربي. ص 277.
6. منى ، عامر احمد غازي (2001) سبل حماية و تحسين بيئة المصانع ، الطبعة الثانية ، بغداد . ص 69
7. القحطاني ، جابر سالم. (2006) التسمم بالرصاص يتلف الدماغ والكلية والكبد . جريدة الرياض العدد 13881 . <http://www.alriyadh.com>

8. عيسى، محمود احمد (2009) الحد من الملوثات الصناعية الحد من الملوثات الصناعية السائلة و المخاطر البيئية والصحية لمياه الصرف الصناعي الندوة العربية حول ترشيد استهلاك المياه في الصناعة . المنظمة العربية للتنمية الصناعية و التعدين المكتب الإقليمي - القاهرة

9. Conrad LI. Stanitski, and Peter CJ. (2005) Chemistry: the molecular science. Thomson brooks\ cole. P.941.

## استخدام التقنيات الكهروكيميائية في ترسيب الكروم من المياه الصناعية

(1) وعد عماد الدين قاصد ، (2) عصام احمد عطية، (2) سهير خلف نجم، (2) أسيل طامي عبدالجبار، (2) أنعام عبد الواحد حسان

(1) وزارة الصناعة والمعادن / بغداد / العراق (2) وزارة العلوم والتكنولوجيا / بغداد / العراق

## الملخص باللغة العربية

تم تصميم منظومة مختبرية لترسيب ايونات الكروم من المحاليل المائية القياسية وهي عبارة عن وعاء للتفاعل مغمور فيه حلقات من الحديد ترتبط بأسلاك مع مجهر للقدرة يمكن من خلاله التحكم بشدة التيار كذلك مع محرك ميكانيكي بسرعة ثابتة.

كما حددت الظروف الملائمة للترسيب وكانت (35) م° أفضل درجة حرارة عند رقم هيدروجيني (3) وبزمن (4) ساعات و بتيار (1.2) أمبير وبمساحة سطحية (60) سم<sup>2</sup>/لتر.

أثبتت الدراسة كفاءة المنظومة في ترسيب ايونات الكروم المطروح من المياه الصناعية للشركة العامة للصناعات الكهربائية وبكفاءة 60 %

تعد تقنية الترسيب الكهروكيميائي من أحد طرق المعالجة التي يمكن تنفيذها بسهولة لأنها لا تحتاج إلى إضافات ومواد كيميائية.

الكلمات المفتاحية: إزالة الكروم، تلوث البيئة بالمعادن الثقيلة، ترسيب الكروم السداسي

## ABSTRACT

Laboratory system was designed for precipitating chromium ions of aqueous standard Solutions which is a receptacle in which irons rings that connecting with wires and power supply using to control the current and also connecting with mechanical stirrer with fixed speed.

Appropriate conditions was determine for precipitating , the best temperature 350°C PH (3) time (4) hours , current (1.2)A and surface area (60)cm<sup>2</sup>/L

The study proved the efficiency of the system in chromium ions precipitation from industrial water of State Company of Electrical Industries the efficiency 60%.

Electro chemical precipitation technique is one of treatment methods that can be implemented easily because they don't need chemicals.

## المقدمة

## الكروم كيميائياً :

يعد الكروم العنصر الأول في سلسلة العناصر الانتقالية للجدول الدوري. عدده الذري (24)، ووزنه الذري (51.996) وله تكافؤ من 1 إلى 6 يتوافر الكروم بصورة رئيسية في مناجم أو محاجر حديد الكروم ( $\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$ ) (6).

يتوافر الكروم ثلاثي التكافؤ في المياه الطبيعية بشكل هيدروكسيد وثنائي هيدروكسيد ورباعي هيدروكسيد الكروم أما الكروم السداسي التكافؤ فيتوافر بشكل  $\text{CrO}_4^{2-}$  و  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ . كما يتوافر الكروم بالشكلين الثلاثي والسداسي في جداول الماء.

يعد الكروم من الملوثات الكبيرة لمقذوفات صناعات مختلفة مثل (الجلود، والطلاء الكهربائي) التي تتميز بسميتها العالية ، ويستخدم الكروم في عمل السبائك وكذلك تضاف مركبات الكروم لماء التبريد للحد من تآكل المراحل البخارية (7).

## الفضلة الصناعية

يمكن تعريف الفضلة الصناعية على إنها المخلفات الناتجة بعد أي عملية تصنيعية وبسبب المشاكل التي تسببها هذه المخلفات صممت العديد من الطرائق الفيزيائية والكيميائية لإزالة أيونات العناصر الثقيلة من المقذوفات الصناعية ، ومن الطرائق المستخدمة لإزالة العناصر الثقيلة من المياه هي (8) (الترسيب، التبادل الأيوني، التناضح العكسي، التقنيات الكهروكيميائية).

## التقنيات الكهروكيميائية

أو تسمى تكنولوجيا المعالجة الكهروكيميائية وهي واحدة من الطرق الاقتصادية والملائمة لمعالجة بعض المياه الصناعية ذات المعالجات المعقدة .

وهي ليست تكنولوجيا حديثة فقد عرفت منذ عام 1890 ولكن لم تستخدم بشكل أساسي في معالجة المياه الملوثة حيث كان يتوقع في الماضي أن كلفتها سوف تكون عالية إلا أن هذه الطريقة أثبتت ملائمتها لمعالجة المياه الصناعية المطروحة من المعامل مثل (إزالة الألوان، المطاط، الإصباغ، الصناعات الكهربائية، كافة الصناعات التي تطرح عناصر ثقيلة) (9,10) وهذه التقنية لها استخدامات في العديد من المجالات وهي:

- 1- الحد من استخدام العوامل المساعدة الكيميائية لتحليل مواد.
- 2- مراقبة التلوث ومستوى العامل المساعد في عملية المعالجة.
- 3- معالجة وتعقيم مياه المسابح وكذلك تعقيم الأدوات الطبية باستخدام العوامل المؤكسدة.
- 4- إزالة التلوث في المياه مثل أيونات المعادن والمواد العضوية الناتجة من الصناعة .

اهتم الإنسان منذ فجر الحياة بالمياه لأنها الشريان الأساس للحياة على الأرض ، وان الوثائق التاريخية تبين لنا أن الإنسان عاش بجانب مصادر المياه دائماً ، وان دولا وحضارات عريقة انهارت بسبب سوء استخدام الموارد المائية أو قتلها.

وقد أدت المعدلات السريعة للتنمية الصناعية والزراعية ، وكذلك الزيادة الكبيرة في عدد سكان العالم إلى الزيادة في الطلب على المياه للأغراض المختلفة ، كما أن مشكلة التلوث قد رافقت التطور الصناعي الهائل وشملت جوانب عديدة من أكثرها خطورة تلوث المياه الجوفية ومياه الأنهار والبحيرات لما لذلك من آثار مباشرة على حياة الناس وتقدم المجتمعات (1).

ونظراً لما يشكله التلوث الصناعي من ضرر على المسطحات المائية شرع العديد من القوانين التي تحدد نوعية المخلفات الصناعية التي تلقى في النهر، إلا أن ضعف تطبيق هذه القوانين من أصحاب المعامل والصناعات المختلفة ، أما بسبب الكلفة العالية لطرائق المعالجة أو بسبب ضعف الوعي البيئي للعاملين في الصناعة حيث أصبح التلوث الصناعي يشكل خطراً على المياه السطحية، ومن ثم خطراً على حياة الكائنات الحية (2).

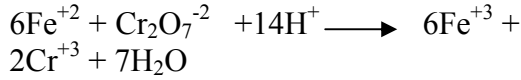
يعرف التلوث البيئي بأنه الإخلال بالتوازن الطبيعي لمكونات البيئة الذي يؤثر في حياة الكائنات الحية. ونتيجة للتقدم الصناعي والسكاني بات تلوث المياه من المشاكل الرئيسية التي تواجه الإنسان لأهمية المياه بالنسبة له (3).

يأتي التلوث الصناعي نتيجة لفاعليات الإنسان المختلفة والعمليات الصناعية التي يقوم بها، ومن الصناعات التي تشكل خطراً على حياة الإنسان التي باتت مخلفاتها الصناعية تشكل خطراً على الكائنات الحية تلك التي تستخدم العناصر الثقيلة مثل صناعة البطاريات، والطلاء الكهربائي، ومعامل الدباغة، وصناعة الأصباغ، ويعود السبب في ذلك إلى عدم قدرة النهر على التخلص منها ذاتياً، فضلاً عن قدرتها على التراكم الحيوي في أنسجة الكائنات الحية (4).

يطلق لفظ العناصر الثقيلة على العناصر التي تزيد كثافتها عن خمسة أضعاف كثافة الماء. وللعناصر الثقيلة أهمية قصوى حتى ولو كانت بتركيز نزره ولكنها ممكن أن تكون سامة عندما تهضم بكميات كافية إلى أن تصل تركيزها سقوفاً محددة تصبح بعدها خطرة عن طريق التدخل في نمو

الخلايا والجهاز الهضمي (5) للعناصر الثقيلة من الخطورة ما يسبب الأذى للإنسان فمثلاً الكاديوم يسبب ضرر في الرئة وفي الأغشية وكذلك يؤدي إلى السرطان أما الكروم فهو مسرطن في حالته التأكسدية السداسي وأيضاً يؤدي إلى الحساسية والغثيان ، والرصاص يسبب ضرر للجهاز العصبي وجهاز الدوران ويؤدي إلى فشل كلوي.

تهدف الدراسة إلى إيجاد طرق معالجة للكروم المطروح مع المياه الصناعية بديلة عن الطرق القديمة والتقليدية والتي تحتاج إلى خطوات معقدة وإضافة مواد كيميائية ، وتعد تقنية الترسيب الكهروكيميائي من الطرق الفعالة لكونها لا تستخدم بهذه الطريقة مواد كيميائية للترسيب أو المعادلة وبهذه لا يوجد احتمالية حدوث تلوث ثانوي بسبب المواد الكيميائية المضافة .



### العوامل المؤثرة في عملية المعالجة الكهروكيميائية

هناك العديد من العوامل المؤثرة منها (13-15):

1. الأس الهيدروجيني: حيث يلعب دوراً هاماً في عملية المعالجة ووجد أن القيمة الواطئة للأس الهيدروجيني تكون مفضلة لأن القطب يصبح أكثر فاعلية ويزيد من اختزال الكروم. وتتراوح قيمة الـ PH ما بين (3-2.5) إما القيمة الواطئة جداً تكون غير مفضلة لأنه يسبب انخفاض سعة اختزال الحديد وكذلك يحدث تآكل للأقطاب ولا يتحرر غاز الهيدروجين وبذلك تكون عملية الترسيب غير ملائمة.
2. التوصيلية الكهربائية : وهي إحدى العوامل المهمة فكما تزداد قيمة التوصيلة تزداد كفاءة الإزالة كما وإنها تحدد أيضاً استهلاك الفولتية والطاقة حيث كلما زادت التوصيلية الكهربائية يقل من استهلاك الطاقة ووجد أن القيمة المثلى للتوصيلية تكون بين  $\mu\text{s/cm}$  (300 - 500)
3. الفولتية : تؤثر الفولتية على حدوث عملية تجمع الملوثات على سطح المحلول .
4. شدة التيار : ويقصد به التيار المجهز للقطب. وهو يحدد كمية الأيونات التي تعالج كهروكيميائياً وتختلف كثافة التيار المرغوبة حسب الظروف فمثلاً تفضل الكثافة العالية عند الترسيب في الخزانات الكبيرة. بينما تكون كثافة التيار الواطئة ملائمة لعملية التجميع الكهروكيميائي والتي تستخدم مرشحات الفحم .
5. درجة الحرارة : وتعد من العوامل المهمة حيث عند زيادتها تؤدي إلى زيادة في كفاءة الإزالة بسبب زيادة في حركة الأيونات والتي بالتالي تسهل عملية التصادم بين المواد المرسبة والأيونات (16,17).
6. المسافة بين الأقطاب : يجب أن تكون المسافة بين القطبين كبيرة عندما تكون التوصيلية الكهربائية عالية نسبياً وفي الحالات ذات القيمة العادية للتوصيلية يجب تقليل المسافة بين الأقطاب لأنها ستؤدي إلى خفض من قيمة استهلاك الطاقة وبدون تغيير في التيار .

### فوائد ومضار المعالجة الكهروكيميائية :

الفوائد :

1. طريقة سهلة وتتطلب أجهزة ومعدات بسيطة .
2. معالجة المياه الصناعية بهذه الطريقة تعطي نتائج جيدة حيث تكون المياه غير ملوثة وعديمة الرائحة
3. الحماية المتكونة عبارة عن أوكسيدات وهيدروكسيدات . وكمية الحماية قليلة مقارنة مع الحماية المتكونة نتيجة إضافة المواد الكيميائية المرسبة .
4. المواد الطافية المتكونة يمكن فصلها بسهولة بواسطة الفلتر .
5. المياه المعالجة بهذه الطريقة تكون كمية الأملاح الذاتية TDS واطئة مقارنة مع طرق المعالجات الكيميائية التقليدية .
6. إزالة للمواد شبيه غروية بطريقة سريعة وسهلة .

### نظام المعالجة الكهروكيميائية

يتضمن وعاء تفاعل حاوي على فوهتين لدخول وخروج المياه الملوثة وقد يسبق بوحدة معالجة أولية مثل الترسيب لجعل المياه أكثر ملائمة للمعالجة الكهروكيميائية. ويتبع المفاعل وحدة معالجة متقدمة لإزالة الرواسب المتكونة بعد المعالجة الكهروكيميائية (18).

يتم استخدام الأقطاب المغمورة في المفاعل (أنود و كاثود) وهذه تكون من مواد مثل الحديد والألمنيوم أو سبيكة الستلس ستيل أو الكرافيت. يمرر تيار كهربائي (DC) باستخدام منظم قدرة إلى الأقطاب لتوليد أيونات موجبة وسالبة لها القابلية على الارتباط مع أيونات المعادن والتي تكون عادة مواد ملوثة. التيار الكهربائي يعمل على توليد مجموعة الأكسدة مثل (HOCl) والتي تؤكسد أو تحطم الملوثات العضوية مثل الإصباغ وكذلك توليد فقاعات غاز الهيدروجين من قطب الكاثود وهذه الفقاعات تعمل على جعل الملوثات طافية على السطح .

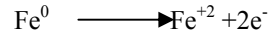
### المبادئ الأساسية للتفاعلات الكهروكيميائية

تعتبر مبادئ الترموديناميك موضحة للعلاقة بين الطاقة الحرة مع جهد القطب وطبيعة التفاعل الكيميائي (11)، ويعتبر سطح القطب هو المكان الذي يعطى الأيونات واستلام الإلكترونات والمحلول هو الوسط الناقل للأيون والسلك الكهربائي هو الناقل للإلكترونات.

### التفاعلات الكيميائية التي تحدث على القطبين

كفاءة العملية الكهروكيميائية تعتمد على نوع التفاعلات التي تجري على القطب الموجب والقطب السالب فمثلاً ما يحدث على القطب الموجب ( الأنود ) (12-19):

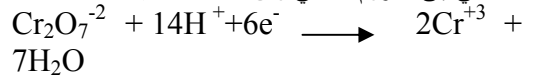
يعمل على طرح الأيونات بحيث يتأين الحديد مولداً أيون الحديدوز مع الإلكترونات



- وفي المحلول تتفاعل ستة أيونات من الحديدوز مع الكروم السداسي فيتكون أيون الحديدك ويختزل الكروم السداسي إلى الكروم الثلاثي وفق المعادلة الآتية :

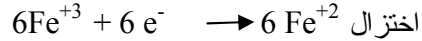


تتولد ذرات الهيدروجين (عددها 14) تساعد في اختزال الكروم السداسي إلى الكروم الثلاثي وفق المعادلة الآتية :



أما على القطب السالب (الكاثود) :

تتم عمليات الاختزال وكذلك توليد أيون الهيدروجين ونتيجة ارتباط أيونين هيدروجين يتكون غاز الهيدروجين والذي يلاحظ على شكل فقاعات وبوجود أيونات الهيدروجين تساعد على اختزال الحديد والكروم السداسي إلى الكروم الثلاثي وفق المعادلات الآتية :



الحديد



تصادم غاز الهيدروجين

وزن مادة الدايكرومات = وزن الكروم

الوزن الجزيئي للدايكرومات الوزن الذري للكروم

وبالتعويض في القانون أعلاه يكون الوزن المطلوب 1.4 g ويحضر المحلول بحجم (3) لتر.

#### دراسة العوامل المؤثرة :

الغرض من هذه الدراسة هو تحديد بعض الظروف الملائمة لإزالة وترسيب الكروم من المحاليل المائية بواسطة تقنية كهروكيميائية . ومن هذه العوامل هي :

#### 1. تأثير الرقم الهيدروجيني

استخدمت محاليل الكروم القياسية بتركيز (500) ملغم / لتر ذات أرقام هيدروجينية مختلفة (2, 3, 4, 5) باستخدام جهاز مقياس الدالة الحامضية ، ولم يستخدم رقم هيدروجيني أعلى من 5 وذلك لترسب أيونات الكروم . تم تعديل الرقم الهيدروجيني بواسطة HCL, NaOH، مع تثبيت درجة الحرارة عند 35<sup>0</sup>م (درجة حرارة الغرفة) والزمن أربع ساعات والتيار 1.2 أمبير والمساحة السطحية 60 سم<sup>2</sup>/لتر لكل من الأنود والكاثود .

#### 2. تأثير درجة الحرارة

استخدمت نفس الطريقة المذكورة أعلاه مع تغيير درجة حرارة المنظومة الحاوية على محلول الكروم في كل مرة إذ كانت ( 30, 35, 40, 45, 50)م<sup>0</sup> مع تثبيت الرقم الهيدروجيني (3) والزمن أربع ساعات والتيار (1.2) أمبير. والمساحة السطحية 60 سم<sup>2</sup>/لتر لكل من الأنود والكاثود .

#### 3. تأثير الوقت

الغرض هو معرفة الوقت اللازم الذي تستغرقه العملية والذي يكون كافي لإزالة أيونات الكروم . واعتمدت الطرق المذكورة آنفا مع تغير الوقت إذ كان ( 1, 2, 3, 4) ساعات مع تثبيت قيم الرقم الهيدروجيني 3 ودرجة الحرارة 35<sup>0</sup>م والتيار (1.2) أمبير والمساحة السطحية 60 سم<sup>2</sup>/لتر

#### 4. تأثير التيار

اعتمدت الطرق المذكورة آنفا مع تغيير كمية التيار المار في المنظومة الكهروكيميائية إذ كانت (1.2, 1.8, 2.4) أمبير مع تثبيت الظروف الأخرى PH=3 ، حرارة 35<sup>0</sup>م والزمن أربع ساعات والمساحة السطحية 60 سم<sup>2</sup>

#### 5. المساحة السطحية

تم تغير المساحة السطحية لحلقات الحديد المستخدمة في المنظومة المذكورة إذ كانت (60, 120, 180) سم<sup>2</sup> مع تثبيت الظروف الأخرى PH=3 ، حرارة 35<sup>0</sup>م والزمن أربع ساعات والتيار 1.2 أمبير

7. لا يستخدم بهذه الطريقة مواد كيميائية للتரசيب أو المعادلة وبهذه لا يوجد احتمالية حدوث تلوث ثانوي بسبب المواد الكيميائية المضافة .

8. يمكن إن تحمل الفقاعات الغازية المتولدة المواد الملوثة إلى السطح المحلول والذي يمكن جمعها وإزالتها بالقشط .

9. عمليات التحلل الكهربائي مسيطر عليه كهربائياً لتعقيم المياه لذلك فإنها تتطلب صيانة أقل ومكان أصغر

10. يمكن استخدام هذه التقنية في المناطق الريفية حيث الكهرباء غير متوفرة إذ يمكن ربط الوحدة بخليعة شمسية والتزود بالطاقة.

#### المضار :

1. الأقطاب تستهلك وتذوب نتيجة الأكسدة لذا تحتاج إلى استبدالها بانتظام.

2. استخدام الكهرباء قد يكون مكلف في بعض المناطق.

3. قد يتكون غشاء اوكسيدي غير منفذ للماء حول قطب الانود ويؤدي ذلك إلى فقدان الكفاءة وزيادة استهلاك الطاقة .

4. يتطلب توصيلية كهربائية عالية للمياه الصناعية وقد يميل الهيدروكسيد إلى الذوبان في بعض الحالات.

#### المواد وطرائق العمل

#### وصف المنظومة

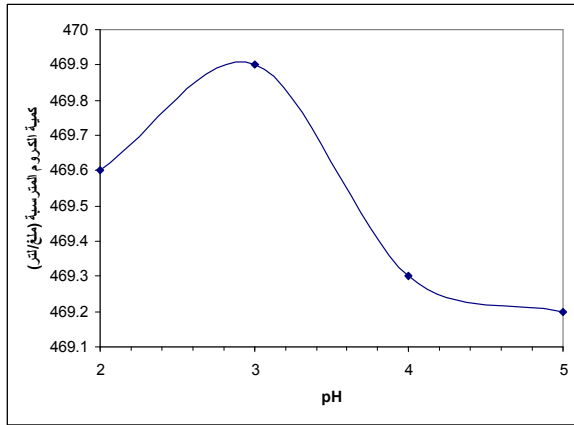
تتألف المنظومة من وعاء زجاجي للتفاعل بحجم (5) لتر وارتفاع (25) سم وقطر (15) سم يكون حاوي على فوهتين واحدة من الأعلى والثانية من الأسفل لتزوير المحاليل المائية بواسطة مضخة دافعة من الأعلى وجمع الناتج من الأسفل. يغمر داخل وعاء التفاعل حلقات من الحديد (نوع كاربون ستيل بسلك 1 ملم) بعدد (14) حلقة وقطرها (11) سم المسافة بين حلقة وأخرى (1) سم بحيث يكون الارتفاع الكلي للحلقات (13.5) سم وتربط هذه الحلقات مع أسلاك كهربائية بطريقة تتأوبه بين الحلقات بحيث تشكل قطبين أنود وكاثود وتربط الأسلاك مع جهاز قدرة ذات تيار (DC) يمكن من خلالها التحكم بشدة التيار المار في الأسلاك . يتم اختيار مساحة ثابتة لتعطي كثافة تيار متغيرة وزيادة بالفولتية (12)، و كذلك يحتوي وعاء التفاعل على محرك ميكانيكي بسرعة دوران ثابتة (300) دورة في الدقيقة و تم إضافة 3 g/l NaCl للحصول على توصيلة كهربائية ثابتة 3ms/cm. يجمع الناتج النهائي من الفوهة السفلى ويرشح ثم يؤخذ الراشح لقياس تركيز الكروم فيه بواسطة المطياف الذري اللهب .

#### تحضير المحلول القياسي للكروم

تم تحضير محلول قياسي بتركيز (500) ملغم / لتر وذلك بوزن (1.40) غم من مادة دايكرومات البوتاسيوم  $K_2Cr_2O_7$  وإذابته في (1) لتر من الماء المقطر اللابايوني وذلك بتطبيق التالي:

## 2. الرقم الهيدروجيني

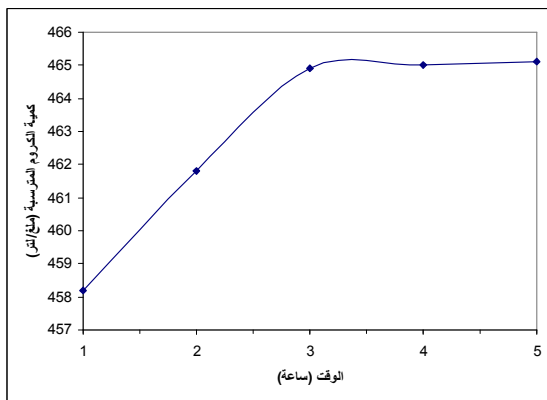
يظهر الشكل (2) العلاقة بين قيم الرقم الهيدروجيني و كمية الكروم المترسبة و يلاحظ من الشكل وجود فرق في كمية الكروم المترسبة مع ارتفاع الرقم الهيدروجيني و لغاية  $PH = 3$  وأثبتت الدراسات أن أفضل رقم هيدروجيني يحدث عملية الترسيب يتراوح ما بين (3-2.5) و يلاحظ في الشكل أن أفضل قيمة للرقم الهيدروجيني كانت عند  $PH = 3$ ، وهذه النتائج تتفق مع ما حصل عليه الباحثين (13).



شكل (2) تأثير الرقم الهيدروجيني على كمية الكروم المترسبة

## 3. الوقت

الشكل رقم (3) يوضح العلاقة بين كمية الكروم المترسب و الزمن حيث يتبين أن عملية الترسيب تصل إلى حالة الاستقرار (عدم زيادة في كمية المادة المترسبة بزيادة الوقت) في غضون (4) ساعات، وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه الباحثين (15)



شكل (3) تأثير الزمن على كمية الكروم المترسبة

## اختبار قابلية المنظومة الكهروكيميائية في إزالة الكروم من المياه الصناعية

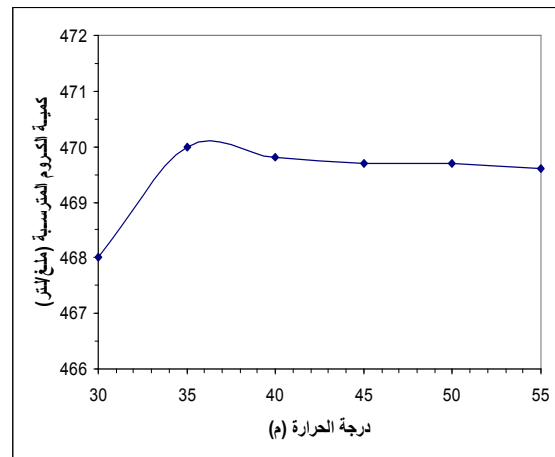
تم جلب نموذج من مياه صناعية مطروحة (قبل المعالجة) من الشركة العامة للصناعات الكهربائية وتم تمرير هذه المياه على المنظومة الكهروكيميائية وبالظروف الملائمة التي تم تثبيتها لمعرفة قابلية المنظومة في ترسيب الكروم وبدون إضافة مواد كيميائية (كما هو معمول به في الشركة) كما تم فحص تركيز العناصر الأخرى المتواجدة في المحلول ومقارنتها مع تركيزها بعد التمرير على المنظومة الكهروكيميائية.

## النتائج والمناقشة

دراسة العوامل المؤثرة في ترسيب الكروم :  
تمت دراسة تأثير بعض العوامل المؤثرة في ترسيب الكروم من المحاليل المائية وحسب طرق العمل المذكورة في الجانب العملي، وكانت النتائج على النحو التالي:

### 1. درجة الحرارة

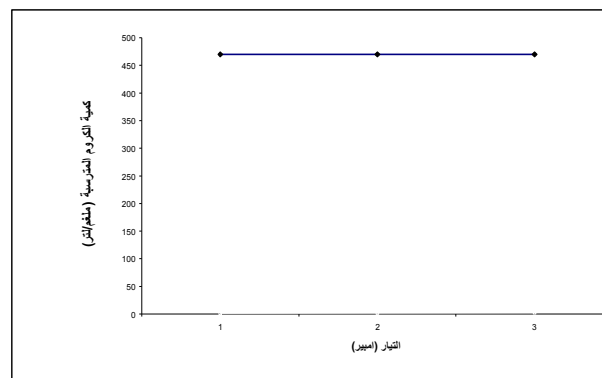
يوضح الشكل رقم (1) تأثير درجات الحرارة المختلفة في ترسيب الكروم باستخدام المنظومة الكهروكيميائية حيث يلاحظ وجود فرق في كمية الكروم المترسبة بزيادة درجة الحرارة أي أن الحرارة عامل مؤثر في هذه العملية وكما يوضح الشكل أن أفضل درجة حرارة كانت  $35^{\circ}C$  حيث نقل كمية المادة المترسبة بزيادة درجة الحرارة، وهذه النتائج لا تتفق مع النتائج التي حصل عليها الباحثين (16) حيث وجدوا أن اختزال الكروم السداسي يزداد بازدياد درجة الحرارة، بينما الباحثين (20) أثبتوا أن زيادة درجة الحرارة يؤدي إلى انتشار الايون وزيادة الذوبانية وبهذا لا يتكون راسب .



شكل (1): تأثير درجة الحرارة على كمية الكروم المترسبة

#### 4. شدة التيار

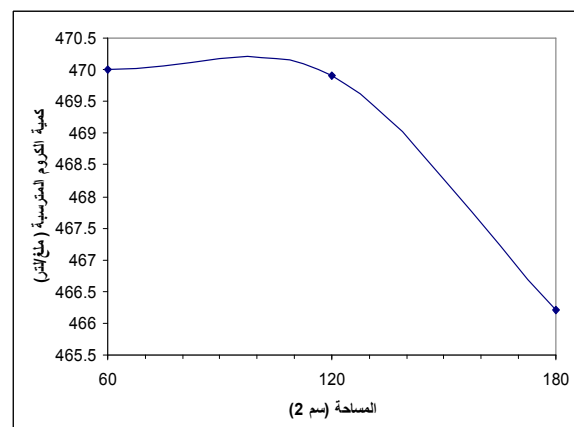
يوضح الشكل رقم (4) تأثير التيار على كمية المادة المترسبة حيث نجد أن أفضل كمية للمادة المترسبة عند تيار (1.2) أمبير و لا تتأثر بزيادة التيار.



شكل (4) يوضح شدة التيار على كمية الكروم المترسبة

#### 5. المساحة السطحية

من الشكل رقم (5) يتضح المادة المترسبة تقل بزيادة المساحة السطحية حيث يبين الشكل أن أفضل مساحة (60) سم<sup>2</sup>/لتر.



شكل (5) يوضح تأثير المساحة السطحية على كمية الكروم المترسبة

#### 6. كفاءة المنظومة المقترحة في الترسيب .

الهدف من هذه التجربة هو لمعرفة إمكانية المنظومة الكهروكيميائية المقترحة في ترسيب الكروم في نموذج المياه الصناعية قبل المعالجة التي جلبت من الشركة العامة للصناعات الكهربائية

ويوضح الجدول رقم (1) كفاءة المنظومة في الترسيب حيث بلغت 60 % من تركيز الكروم المتواجد في النموذج الأصلي الذي جلب من الشركة ويوضح الجدول رقم (1) كفاءة المنظومة في الترسيبات حيث بلغ تركيز الكروم 631

ملغم/لتر أي ما يعادل 60% من تركيز الكروم المتواجد في النموذج الأصلي الذي جلب من الشركة .

كما يوضح الجدول تراكيز العناصر الأخرى المتواجدة في نموذج الأصلي (المياه الصناعية قبل المعالجة) ومقارنة تراكيزها في الراشح والراسب بعد تمرير المياه على المنظومة الكهروكيميائية .

جدول رقم ( 1 ) كفاءة المنظومة المقترحة في ترسيب الكروم

ت	العنصر	التركيز في النموذج الأصلي ملغم/لتر	التركيز في الراشح ملغم/لتر	التركيز في الراسب ملغم/لتر
1	Cr	1050	420	631
2	Zn	160	30	150
3	Fe	—	20	20
4	Cu	20	10	5.5
5	Cd	10	—	9.1

#### الاستنتاجات

بعد ترسيب الكهروكيميائي من العمليات التي يمكن استخدامها في منظومات المعالجة البيئية لإزالة تلوث مياه الفضلات الصناعية و توصلت الدراسة الحالية إلى الاستنتاجات الآتية.

1. حددت الدراسة الظروف الملائمة والأفضل لحدوث عمليات الترسيب للكروم وكانت أفضل درجة حرارة هي (35) م<sup>0</sup> وأفضل رقم هيدروجيني هو (3) والزمن الكافي لترسيب أفضل كان في غضون (4) ساعات وكذلك أثبتت الدراسة أن أفضل تيار كان (1.2) أمبير بمساحة سطحية (60) سم<sup>2</sup>/لتر.

2. في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها صممت منظومة للترسيب و هي عبارة عن وعاء تفاعل مع أقطاب من الحديد على شكل حلقات مبروطة مع جهاز قدرة يمكن من خلالها التحكم بشدة التيار المار . وكذلك يحتوي الوعاء على محرك ميكانيكي بسرعة دوران ثابتة (300) دورة/دقيقة.



العاملة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية في سامراء وإيجاد المعالجات اللازمة لها . رسالة ماجستير - جامعة تكريت

5. Wakle JJ.(2000) Removal of heavy metals from waste water .Brigham young University press .
6. WHO.(1999) Stander methods for the examination of water and waste water . 20th edition .
7. Wahab HS., kassid WI. and Kamas MT.(2002) Recovery of chromium from industrial solid waste by acid leaching .Iraqi J.chem. 28(4):743-749.
8. Walton PH.(1995) Methods of metal capture from effluent . In: Chemistry of waste minimization Clarke , J.h (ed) .Blackie Academic and Professional , New york , P. 482 – 483 .
9. Walsh FC. (2001) Electrochemical technology for environmental treatment and clean energy conversion .pure Appl.chem. 73 (12):1819-1837.
10. Mohta A. (2007) Electro – chemical treatment of waste water . M.SC. thesis college of Biotechnology of Environment of sciences, Thapar University.
11. Kuriacose JC, and Rajarm.J.(1984) Chemistry in engineering and technology (II) . [McGraw – Hill publishing company limited .New Delhi .
12. Aguilar R M , Rodrguez SA , and Soto MG (2005) Process analysis for treatment of industri of plating waste water simulation and control approach . Chem.Engin .J. 105 : 139 – 145
13. Gheju M. ,Lovi A. , and Balcu I. (2008), Hexavalent chromium reduction with scrap iron in continuos-flow system : part 1:Effect of feedsolution PH, J.Hazardous materials 153( 1-2 ): 655-662
14. Rodriguez R. , Mendoza V. , Puebla H. and Martinez D.(2009) Removal of Cr(VI) from waste waters at semi – industrial electrochemical react rotaing ring electrodes . J. Hazard . Mater . 30;163(2-3):1221-1229 .
15. Sergio M. MiriamR. , and Ricardo A.(2003) Electrochemical process to remove Hexavalent chromium from industrial wastewater in a Rotation electrode reactor . water intelligence online IWA Publishing journals Vol.(2)
16. Abdo A. , and Sedhmed G.H. (1998) Anew technique for removing hexavalent chromium from waste water and energy generation via galvanic reduction with scrap iron . Ener. Conver. & manag, 39 : 943 – 951

3. أثبتت الدراسة كفاءة المنظومة في ترسيب الكروم المطروح من مياه الصناعية للشركة العامة للصناعات الكهربائية و بكفاءة تقدر بحوالي (60%).

4. تعد هذه الطريقة من المعالجات التي يمكن تنفيذها بسهولة لأنها لا تحتاج إلى إضافة مواد كيميائية و الراسب المتكون يمكن معالجته لأنه مكون من أوكسيدات للحديد والكروم وعناصر أخرى بكميات أقل.

#### التوصيات

1. تعتبر الطريقة اقتصادية للتخلص من الكروم السداسي و تحويله إلى الكروم الثلاثي و بدون استخدام مواد كيميائية إضافية.
2. كمية Sludge الخبث أقل بكثير من الطرق الكيميائية المتبعة.
3. الطريقة لا تحتاج إلى تيارات عالية حيث (1.2) أمبير/سم<sup>2</sup> تعتبر تيار مثالي و فولتية بحدود (2.5) فولت والزمن أربع ساعات لإكمال العملية علماً إن العملية خلال (60) دقيقة تعتبر جيدة.
4. المادة المستخدمة على القطبين هي الحديد التي دائماً متوفرة نتيجة الأعمال الميكانيكية في المعامل.
5. تعتبر طريقة مثالية لأقسام الطلاء الكهربائي حيث لا تحتاج إلى وحدات معالجة مكلفة.
6. الخبث المنتج في هذه الطريقة غير ملوث ويعتبر صدأ الحديد بالدرجة الأولى والكروم الثلاثي بالدرجة الثانية.
7. يمكن جعلها طريقة إنتاجية بسهولة لأنها لا تحتاج معدات كثيرة.
8. طريق أمينه كهربائياً لأنها تستخدم تيار مستمر .
9. لا تحتاج إلى حرارة عالية فدرجة (35) م° كافية للعمل.
10. الحامضية التي تعمل بها بحدود (3) .
11. تطبق هذه الطريقة على المياه الصناعية المطروحة من معامل الدباغة و أقسام الطلاء الكهربائي.
12. عمل منظومات ريادية و بمعدل (1) طن باليوم (8) ساعات لتعميق الدراسة فيها.

#### المصادر

1. محمود، باسل محمود.(2005) الازالة الحيوية للكروم من مياه المخلفات الصناعية .رسالة ماجستير، جامعة بغداد – كلية العلوم .
2. قاصد، وعد عمادالدين.(2006) استخدام خلايا بكتيريا *Enterobacter spp.* المقيدة في إزالة الرصاص من البيئة المائية .رسالة ماجستير، جامعة بغداد – كلية العلوم
3. مولود، بهرام خضر وحسين علي السعدي وفوزي شناوة الزبيدي.(1994) علم البيئة ،وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بابل 404 – 405 .
4. السامرائي، حازم جاسم محمد.(2002) دراسة تراكيز العناصر الثقيلة في مياه الفضلات الصناعية للشركة

17. Bakir VO. , Gonen N. , and Koparals S. (1994) Removal of chromium from aqueous solutions and plating bathrinse by an electrochemical method . int . J Env. Studies.45 : 81- 87.
18. Elsayed EM. , and Saba AE. (2009) the electrochemical treatment of toxic hexa valent chromium from Industrial effluents using rotating cylinder electrode cen . Int . J electrochemical . sci. 4 : 627-639 .
19. Gayathri R., and Kumar PS. (2010) Recovery and reuse of hexavalent chromium from aqueous solutions by a hybrid technique of electrodialysis and ion exchange . Braz.J. chem.. Eng . 27 (1): 125-129
20. Daneshwars N. , Oladegaragoze A. , and Djafarzadeh N. (2006), Decolorization of basic dye solution by electro coagulation: Aninvestigation of the effect of operational parameters ; J. of Hazardous Materials , B129 : 116-122.

## **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**

### ***INTERNATIONAL JOURNAL of Science and Technology (IJST)***

#### **Aims and Scope**

*International Journal of Sciences and Technology (IJST)* is an international scope journal. The journal is edited by an international recognized Editorial Board. It is published online and printing hard copies every three months.

IJST publishes original research papers on all aspects of science and technology including scientific disciplines of Microbiology, biotechnology, cell biology, ecology, entomology, environmental science, forestry, genomics, horticulture, animal science, plant sciences, proteomics, agricultural and food science, biostatistics, biological sciences and bioengineering, computer science and engineering and water resources.

Authors are required to sign a Copyright Form granting the publishing rights for all papers accepted for publication. Production will not start until we have received of a signed Copyright Form available at <http://www.icast-jo.com>

#### **General Instructions**

IJST will publish original full papers, short research communications, and letters to the editor. Full papers should be concise without compromising clarity and completeness, and should generally occupy no more than 10 published pages. Short research communications should not be more than 5 printed pages (excluding references and abstract). Results and Discussion section should be combined followed by conclusion. Materials and Methods will remain as a separate section.

#### **Submission of Manuscripts**

Authors are required to submit their articles to IJST online for quick and more efficient processing at <http://www.ijst-jo.com>

Prior to submission, Authors may contact the EDITORIAL BOARD SECRETARY to inquire about the suitability of their work at: [info.icast@yahoo.com](mailto:info.icast@yahoo.com)

## **Preparation of Manuscripts**

### **Language**

Papers must be written in English and in Arabic, in both cases abstract in second language require. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission. Manuscripts that are deficient in this respect may be returned to the author for revision before scientific review.

## **Presentation of Manuscripts**

- \* Title
- \* Author names and addresses
- \* Abstracts (Not more than 250 words)
- \* Key words
- \* Introduction
- \* Materials and Methods
- \* Results and Discussions
- \* References (Use numbering in the text instead of full references.  
Give full references at the end of the manuscript
- \* The photographs should be of high quality resolution
- \* Graphs should be in clearly visible form so that it may become easy to redraw

The manuscript should be prepared using Microsoft Word with the following layout.

1. Manuscript should contain title page, abstract, main body, and references.
2. Tables should be added after references and each new table should be on a separate page.
3. Figures should follow the tables, putting each figure on a separate page ensuring that the figure is at least the size it will be in the final printed document. Number each figure outside the boundary of figure. Resolution of the figures should be at least 400 pixels/cm (1000 pixels/in).
4. Number manuscript pages consecutively and activate line numbering.
5. The manuscript should be double-spaced. The beginning of each new paragraph must be clearly indicated by indentation. Left-justify the text and turn off automatic hyphenation. Use carriage returns only to end headings and paragraphs. Artificial word breaks at the end of lines must be avoided. Do not insert spaces before punctuation.
6. Please use standard fonts such as Normal Arial. Use consistent notations and spellings
7. Please follow internationally accepted rules and conventions for gene and protein names, units, for symbols, and for capitalization in text, tables, and figures.

### **Title Page**

The title page should include a concise and informative title, author names in full, and affiliations. The name of the corresponding author as well as his/her mailing address, telephone and fax numbers, and e-mail address should be provided in a footnote.

### **Abstract**

The abstract should be one paragraph, no longer than 250 words. No references should be cited in the abstract. Abbreviations should be avoided, but if they have to be used, they must be defined the first time they appear. A list of keywords (up to six) must be included after the abstract for indexing purposes. Words that appear in the title should not be repeated in the keywords.

### **General Arrangement of Text**

The text should be divided into sections with the headings: Introduction, Materials and Methods, Results, and Discussion. Subheadings within sections except introduction can be used to clarify their contents. Introduction and Discussion sections may contain present tense to convey generally accepted information. Materials and Methods and Results are normally written in the past tense.

#### *1. Introduction*

The introduction should define the problem and provide sufficient information to explain the background but there is usually no need for a comprehensive literature survey. The objectives should be stated but it should not contain a summary of the results.

#### *2. Materials and Methods*

Sufficient detail must be provided to allow the work to be repeated. This section should contain the experimental protocols and the origin of materials, tissue, cell lines, or organisms.

#### *3. Results*

The Results section should be in logical order presenting the experimental results. Please do not include any interpretations, inferences, arguments or speculations in this section.

#### *4. Discussion*

The authors should interpret their results clearly and suggest what they might mean in a larger context. Please do not repeat the information provided in the Results section.

### **Acknowledgements**

Assistance received from funding agencies and colleagues should be acknowledged in this section.

### **References**

Published or "in press" articles may be included in the reference list. Unpublished studies should be referred to as such or as a personal communication in the text. Citations of references should use square brackets, e.g. [1,3,5-7]. The lists of references, tables or figures should be numbered consecutively starting from 1. The references should contain the last names and initials of up to four authors, year of publication, title of the paper, and the title of the journal. These should be followed by the volume and page numbers. References to books should include the title of the book, the year of publication, the publishing company and the place of publication. Some examples are given below.

Smith PF, Patel KR, Al-Shammari AJN. 1980. An Alde hydro-Phosphoglycolipid from *Acholeplasma granularum*. *Biochem.Biophys. Acta* 617: 419-429

Sambrook J, Russell DW. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.

McCarthy, AJ. 1989. *Thermomonospora*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (ed. Williams ST, Sharpe ME, Holt JG), Vol. 4, pp. 2552-2572. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.

If web site references are used, the URL should be included next to information in the text. Please check the references carefully for accuracy, missing information, and punctuations.

#### Example

Department of Health: The Interdepartmental Working Group on Tuberculosis 1999. The Prevention and Control of Tuberculosis in the United Kingdom [Online] [accessed 2000 September]. Available from URL <http://www.doh.gov.uk/tbguide1.htm>

### **Tables and Figures**

Tabulation and illustration should not be used for points that can be adequately and concisely described in the text. Tables and figures should be understandable on their own without reference to the text. Explanatory footnotes should be related to the legend or table using superscript lower-case letters. All abbreviations should be defined after the footnotes below the table or by reference to a previous table in the same paper.

### **Review Process**

The Journals aim at rapid publication of research results while maintaining a rigorous peer review process. The editors will provide an initial response to all pre-submission enquiries within two week. In addition, they will make every effort to give authors a decision following peer review within maximum four to eight weeks of an article's submission. If the review process takes longer due to special circumstances, authors will be notified promptly by e-mail. Accepted articles will be published online within two weeks. Suggestions by the editors about revision do not imply that a revised version will necessarily be accepted. If minor revision is required, authors should return a revised version in two weeks. If major revision is required, authors should return a revised version within three months. You must clearly indicate the changes that have been made. Revised manuscripts that are not resubmitted within the indicated time frames will be treated as a newly submitted manuscript. Authors who disagree with Editor's decisions may contact the Chief Editor for final decision. The Editor and the Publisher are not responsible for the scientific content and statements of the authors of accepted papers.

### **Proofs**

Manuscripts should be checked carefully before submission since substantial alterations will not be permitted at the 'proof' stage. The editors reserve the right to make minor alterations to the text without altering the scientific content. Corrections should be sent to publisher in one communication. If corrections are not received within 48 hours, publisher reserves the right to proceed with publication.

### **Reprints**

Reprints may be ordered in quantities of 30 using the form supplied with the proofs.

### **Publication Charges**

Because the IJST is auto- self dependent, we will ask the author to pay US\$200.00 as publication charge.

### **Ethical Issues**

It is assumed all authors have approved the submitted manuscript, which is the responsibility of corresponding author. If accepted, the article must not be published elsewhere in any form, without the consent of the editors and publisher.

### **Reproducing Published Articles**

Individuals wishing to reproduce figures, tables and excerpts of text from articles published in IJST for non-commercial purposes may do so providing the original publication is acknowledged accordingly and the authors' approval is obtained, and in this case no special permission is needed from either the publisher or the editors. Authors may also include the article in a thesis without special permission. In all other cases, permissions may be sought directly from IJST.

**N.B** The views expressed in this issue are of the authors and do not necessarily reflect the views of the Editorial Board or the policies of the International Centre.

**Copyright © 2012** by the International Centre for Advancement of Sciences and Technology.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced or copied in any form or by any means without prior written permission from the Editor-in-Chief of the Journal.