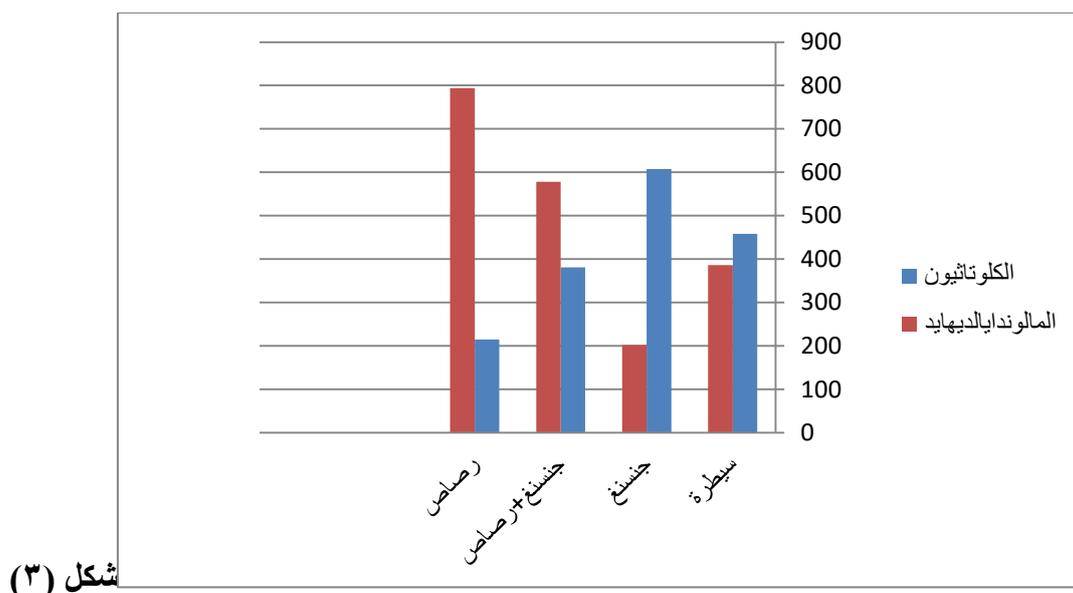


شكل (٢) تأثير زيت نبات الجنسغ بتركيز 200 ملغم/كغم من العلف على مستوى انزيمات الكبد AST و ALT وحدة دولية / لتر.

ويظهر الشكل (٣) حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى انزيم الكلوثاينون في انسجة الكبد في المجموعة المعاملة بالرصاص في حين نرى حدوث تحسن في المجموعة المعاملة بالنبات فقط والآخرى المعاملة بالرصاص والنبات سويه مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث ارتفع مستوى الانزيم ارتفاعاً معنوياً .

كذلك حدوث ارتفاع في مستوى انزيم المألوندايالديهايد معنوياً في انسجة الكبد في المجموعة المعاملة بالرصاص في حين نرى تحسن وانخفاض في المجموعة الثانية والثالثة

المعاملة بزيت نبات الجنسغ مقارنة مع مجموعة السيطرة ان الارتفاع المعنوي الحاصل في مستوى الكلوثاينون وانخفاض تركيز مستوى المألوندايالديهايد في نسيج الكبد بعد المعاملة بزيت نبات الجنسغ قد يعزى الى تنشيط المواد الفعالة الموجودة في الجنسغ والتي تعمل كمضادات للاكسدة ادت الى كبح تكوين الجذور الحرة حيث احتوائها على القلويدات والكلالايكوسيدات التي ادت الى التقليل من بيروكسيده الدهون للاغشية الخلية والحفاظ عليها من التأثير الضار (Lan, et.al., (Jankeer, 2010) .2013)



شكل (٣)

تأثير زيت نبات الجنسنگ بتركيز 200 ملغم/كغم من العلف على مستوى انزيمات الاكسده الكلوثاينون والمالوندايالديهيد

نانومول /غم.

efficacy of red ginseng for
erectile dysfunction. Int. J.

Daniel, W.W. (2010).
"Biostatistics" 9th ed., John Wiley
and Sons, U.S.A. p 783.

Fabricant, D. S. And Farnsworth,
N. R. (2001). The value of plants
used in intraditional medicine for
drug discovery. Environm.
Health. Perspect. 109 suppl., p
69-75.

Francis, F. H. (2004). History of
midicine in china when medicine
took an alternative path. Vol. 8,
No. (1). McGill Journal of
Medicine.

Jain, N. C. (1986). Shalms
veterinary hematology . Lea and
Febiger, U.S.A. pp. 276-282.

المصادر:

Aronson, J.K. (2008). Meyler's
side effects of herbal
medicines. Elsevier. ISBN:
97800809.

Attele, A.S., Wu, J.A. and Yuan,
C.S. (1999). Ginseng
pharmacology: multiple
constituents and multiple action.
Biochem. Pharmacol., 58: 1685-
93.

Ali, K. And Levent, A. (2008).
Effects of *Panax Ginseng* on
fluoride- induced haematological
pattern changes in mice. Res.
Rep. Fluor. 41(1) 67-71.

Choi, H. K., Seong, D. H. And
Rha, K. H. (1995). Clinical

american ginseng extracts a neutral effect on blood pressure in individuals with hypertension. American Heart Association.

Mi, R. L., Jin, Y. M. and Chang, K. S. (2017). Chronic dietary ginseng extract administration ameliorates antioxidant and cholinergic system in the brains of aged mice. *J. Ginseng Res.* 41, p 615- 619.

Reitman, S. And Frankel, S.(1957). A calorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and pyruvic transaminase. *Am. J. Clin.*, 28: 56- 63.

Tapsell, L. C., Hemphill, I., Cobiac, L. (2006). Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Med. J. Anst.*; 185(4 suppl): 24-54.

Volken, E., Nurperi, G., Ahmet, B. (2001). N-acetyl-cystine reduces cerebral lipid peroxidation in rat model of infantile hydrocephalus. *J. Neurol. Sci.*, p. 1302- 1310.

James, R. C., Goodman, D. R. and Harbison, R. D. (1982). Hepatic glutathion and hepatotoxicity, change induced by selected marcortics. *J. Pharma. Therp.*, 221: 708- 714.

Jankeer, M. H. (2012). Effect of lead on some anti-oxidants and lipid peroxidation in blood of white male albino rats. *Al-Rafidain Science*, Vol. 23, No.(2), p. 55-69.

Kim, D. H.(2012). Chemical diversity of *Panax ginseng*, *Panax qumquifobum* and *Panax notoginseng*. *J. Ginseng Res.*, 36: 1-15.

Lan, S. L., Chang, W. C., Hee, D. H., Young, C. L., Ung, K.C. and Yong, C. K. (2013). Hyperlipidic and anti-oxidant properties of phenolic compound- Rich extract from white ginseng (*Panax ginseng*) in cholestrol- fed Rabbits., *J. Molecules*; Vol.(8), p. 12548- 12560.

Stavro, M. P., Minna, W., Tibor, F.H., Lawrence, A. L. and Vladimir, V. (2006). North

تأثير شراب الكوكاكولا الحاوي على الكافيين في احداث التشوهات العيانية والآفات النسجية المرضية في دماغ اناث

الحوامل

الفئران البيض

، اروى ادريس احمد

د. هاني مال الله حمودي

الخلاصة

تم اجراء الدراسة الحالية للتعرف على تأثير الكوكاكولا على دماغ الفئران البيض الحوامل من نوع *Mus musculus* حيث تم استخدام اربع تراكيز تصاعديّة وهي على التوالي (2,3,4,6) مل / كغم من وزن الجسم، تم تجريعها للفئران من اليوم السابع للحمل (مرحلة تكوين الاعضاء) الى اليوم الثامن عشر يوم التشريح ، اظهرت النتائج العيانية تشوهات عديدة في الدماغ منها عدم انتظام حويصلات الدماغ وتضخمها مع ظهور مناطق شاحبة اللون في بعض حويصلاتها ، وتمثلت الآفات النسجية بانتفاخ بعض الخلايا العصبية في الطبقة الضفيرية وظهور بعض مناطق الاحتشاء في الطبقة الجزئية الخارجية وظهور ارتشاح الخلايا الالتهابية وعلامات احتقان الوعاء الدموي ، وتحلل بعض الكريات داخل الوعاء، فضلا عن التنخر الواسع والتنخر التجلطي في النسيج العصبي لقشرة المخ.

Abstract

The present study carried out to explore the effect of coca cola on the brain of pregnant white mice *Mus musculus* ,four ascending concentration were used respectively (2 , 3 , 4 , 6) mg / kg b.w ,was injured at the 7th day (Organogenesis) till 18th of gestation (day of anatomy).

The morphological results showed several brain abnormalities, including irregular and hypertrophy of brain vesicles with the emergence of areas paleness in some vesicle.

The histopathological lesion showed swelling of some nerve cells in the plexiform layer , infraction of some areas in the outer molecular layer , inflammatory cells infiltration and signs of blood vessel congestion and red blood cells lysis inside the blood vessel , as well as the extensive necrosis and coagulative necrosis in the nervous tissue of the cerebral cortex.

المقدمة

المشروبات الغازية هي مشروبات صناعية مضاف اليها مواد حافظة وغازات ونكهات تعطىها الطعم المميز الذي يختلف من نوع الى اخر حسب النكهة المضافة، تعد المشروبات الغازية في الوقت الحاضر من أكثر المشروبات استهلاكاً بين الجنس البشري في معظم دول العالم، وتهدف هذه المشروبات الى ارواء العطش ، حيث يقبل الناس على شربها في الايام الحارة لاعتقادهم بانها تزيل العطش ولكن هذا الاعتقاد خاطئ فأن الانسان بعد شربها يحتاج الى سبعة اضعافها من الماء لاستعادة التوازن نتيجة تسببها في حصول خلل في سوائل الجسم ، فضلا عن اعتبارها من المنبهات لاحتوائها على نسب مختلفة من الكافيين ، وتشمل المشروبات الغازية الكوكاكولا والبيبيسي واشباهها والتي تحوي على نسب من الكافيين والتي تعمل على تنبيه الجهاز العصبي المركزي مسببة الشعور بالنشاط الحيوي والتركيز والحالة المزاجية المريحة ، يعد شراب الكوكاكولا مشروب مرطب يعرف في أمريكا بالـ "كوك" وهو ماء مكرن أي مضاف له غاز ثاني اوكسيد الكربون مع محليات (سكر أو اسبرتم) ومادة أو نكهة الكولا والكافيين

ومواد أخرى (BFS,2008) ،وقد اشار الباحثين الى الاضرار الصحية لشراب الكوكاكولا حيث ذكر بعض الباحثين الى ان مستهلكي المشروبات الغازية يقل لديهم كمية الكالسيوم والمغنيسيوم، وحامض الاسكوربيك، والرايبوفلافين وفيتامين A (Jacobson,2005)، في حين اشار باحثين اخرين الى الاضرار الكبيرة بسبب تناول المفرط للمشروبات الغازية وخصوصا تسببه في احداث هشاشة ونخر العظام وترققها لدى صغار وكبار السن لا سيما النساء الحوامل وكان يعتقد بان ذلك يرجع الى حامض الفوسفوريك الا ان احتواءه على الكافيين مع مكونات أخرى كانت سببا في تلك النتائج السلبية (Tuker,etal.,2006)، كما ان المشروبات التي تحوي على الكافيين تسبب في التهيج العصبي والقلق والتقيؤ والإسهال والمغص الحاد وتقلص العضلات في الأطفال الصغار (Castellanos and Rapoport,2002)، كما وجد ان مشروب الكولا الحاوي على السكر يرتبط بخطر ارتفاع ضغط الدم ولم توضح الصورة فيما إذا كان السبب يعود للكافيين او الى محتوياته من

(Roberto,et al;2002) والذي اشار الى ان مادة الكافيين في المنبهات ومنها الكوكاكولا هي احدى مثيرات الجهاز العصبي السمبثاوي والجرعات المفرطة تسبب في حدوث اضرار على الدماغ وحصول تشوهات مظهرية فيه .

اما على مستوى التغييرات النسجية المرضية فقد اظهرت النتائج العديد من التأثيرات للتركيز المستخدمة مقارنة مع مجموعة السيطرة (الصورة: ٣) ففي المجموعة الجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 2 مل/ كغم من وزن الجسم لوحظ انتفاخ Swelling بعض الخلايا العصبية في الطبقة الضفيريةplexiform Layer (الصورة:٤) ، وهذه الملاحظات تتفق مع ما اشارت اليه (السلطان،٢٠٠٥) في دراستها تأثير ادوية التدخين الرئوي في تكوين الجهاز العصبي المركزي في اناث الفئران الحوامل بازدياد حدة الآفات النسجية وتمثلت بانتفاخ الخلايا العصبية ، اما عند المجموعة الجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 3 مل/ كغم من وزن الجسم فقد اظهر الفحص النسجي حالات انكماش Shrinkage الخلايا باتجاه النواة ، مع ظهور التنخر Necrosis في خلايا اخرى (الصورة:٥) ، وظهر بعض مناطق الاحتشاء Infarction في الطبقة الجزئية الخارجية (الصورة:٦) كما اشار الباحث (Basheer,et al ;2004) وربما يعود السبب

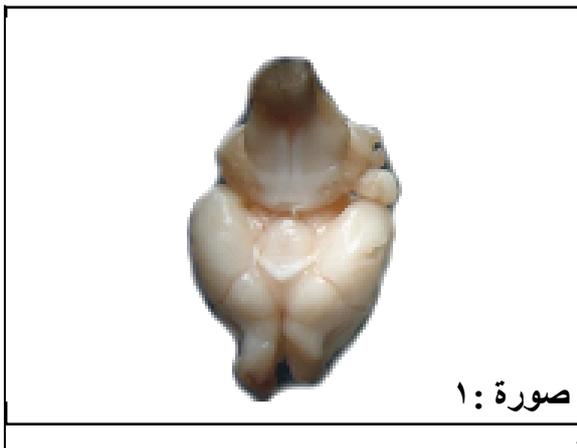
المتعادل 10%، وبعد ذلك تم غسل العينات بماء الحنفية الجاري لمدة نصف ساعة واستخدمت سلسلة تراكيز تصاعديّة من الكحول الايثيلي (٧٠%-١٠٠%) واجري الترييق باستخدام الزايلول، بعدها اجريت عملية الطمر بشمع البارافين النقي درجة انصهاره ٥٤ وصبت العينات في قوالب حديدية ثم اجريت عملية التقطيع النسجي للنماذج ولونت بملون الهيماتوكسلين-ديلا فيلد وملون الأيوسين المزدوج Delafield's Hematoxylin and Eosin Stain ، ثم اجريت عملية الارساء باستخدام الـ D.P.X ، فحصت المقاطع النسجية بالمجهر المركب الضوئي Light Microscope من نوع Richert Neover ، وصورت المقاطع باستخدام مجهر مركب مزود بكاميرا رقمية نوع Olympus OM- Japan .

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج المظهرية عدة تشوهات في دماغ اناث الفئران الحوامل الجرعة بشراب الكوكاكولا في الدراسة الحالية مقارنة مع مجموعة السيطرة (الصورة:١) ففي المجموعة التجريبية الجرعة بشراب الكوكاكولا بتركيز 6 مل / كغم لوحظ عدم انتظام حويصلات الدماغ وتضخمها مع ظهور مناطق شاحبة اللون في بعض حويصلاته (الصورة:٢) مماثلا لما اشار اليه

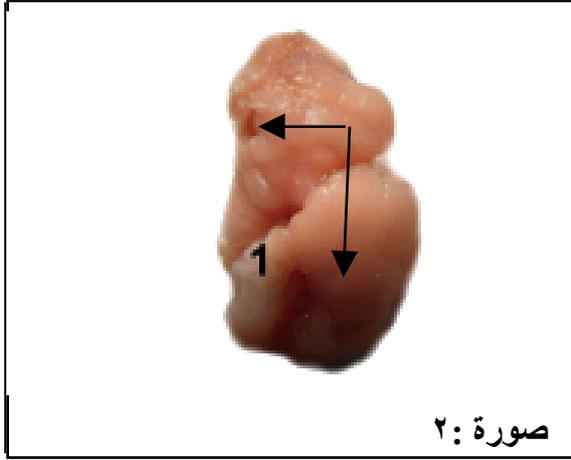
كمية الكافيين في الجرعة المستخدمة المؤثرة على انسجة الدماغ التي تنتج الدوبامين، مما يؤدي الى ايقاف عمل مستقبلات الادينوسين وتعطيلها، ومن ثم يتسبب بعبور الكافيين لحواجز الدماغ بسهولة وحدوث اضرار واسعة في النسيج العصبي لقشرة الدماغ، اما عند المجموعة الجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 6 مل/كغم من وزن الجسم فقد ازدادت حدة الآفات النسجية المرضية وتمثلت بظهور ارتشاح الخلايا الالتهابية **Inflammation cells infiltration** وعلامات احتقان **Congestion** الوعاء الدموي، وتحلل **Hemolysis** بعض الكريات داخل الوعاء، فضلا عن التخر الواسع في اجزاء من نسيج قشرة الدماغ (الصورة: ١٠) ويعزى السبب الى ظهور النزف الدموي **Haemorrhage** في النسيج العصبي ينتج من تأثير المنبهات عند الجرعة المفرطة ومحتوياتها من الكافيين ودورها في حدوث تكلل للصفائح الدموية و النزف الدموي في الظهارة العصبية لقشرة الدماغ (Kuczkowski,2009).

الى ازدياد التأثير التراكمي للكافيين في انسجة الدماغ، وفي المجموعة الجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 4 مل/كغم من وزن الجسم فقد تمثلت التغيرات النسجية بانكماش الخلايا، وتكسر وتحطم النواة **Damaged nucleus** في بعض الخلايا العصبية وظهور خلايا بلعمية كبيرة **Macrophages** (الصورة: ٧) مماثلا لما اشارت اليه (السبعوي، ٢٠٠٥) في دراستها تأثير عقار السايكلوفوسفوميد في النسيج العصبي للفئران المهقأ بظهور خلايا بلعمية في انسجة الدماغ، كما اشارت النتائج الى ظهور حالات من التخر التجلطي **Coagulative necrosis** في النسيج العصبي لقشرة المخ **Cerebral cortex**، وانكماش بعض الخلايا (الصورة: ٨) تتفق مع ما اشارت اليه (السلطان، ٢٠٠٥)، كما لوحظ ظهور التخر الواسع فضلا عن ازدياد حالات الانتفاخ لبعض الخلايا العصبية في الطبقة الجزيئية الخارجية (الصورة: ٩) مماثلا لما اشار اليه (Wendler, et al;2007) الى ان سبب ظهور التغيرات النسجية لقشرة الدماغ يعود الى



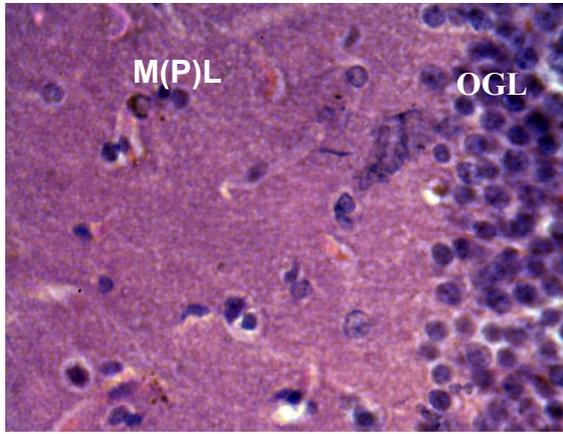
صورة ١:

صورة ١: دماغ مجموعة السيطرة والتي تظهر حويصلات الدماغ بصورة طبيعية (الأسهم) في أنثى الفار الحامل.



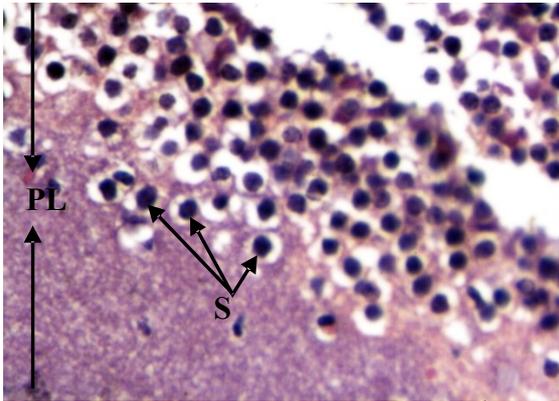
صورة ٢:

صورة ٢: ظهور مناطق شاحبة اللون في بعض حويصلاتته (1)، تضخم Hypertrophy (HY) بعض حويصلاتته (الأسهم) لدماع أنثى الفار الحامل الجرعة بشراب الكوكاكولا بتركيز 6 مل / كغم من وزن الجسم.



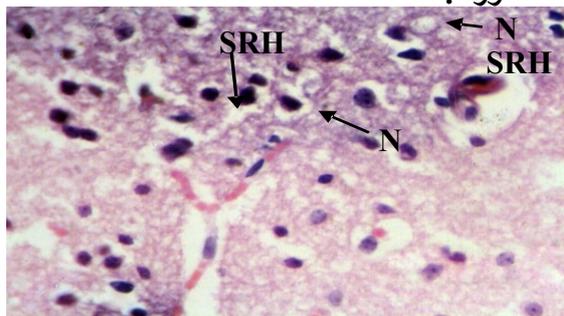
صورة ٣:

صورة ٣: مقطع مستعرض لدماع أنثى فار حامل لمجموعة السيطرة يبين المادة السنجابية (GM) Gray matter، وظهور الطبقة الجزيئية (الضفيرية) M(P)L Molecular (plexiform) Layer والطبقة الحبيبية الخارجية (OGL) Outer granular layer في قشرة المخ. (ملون



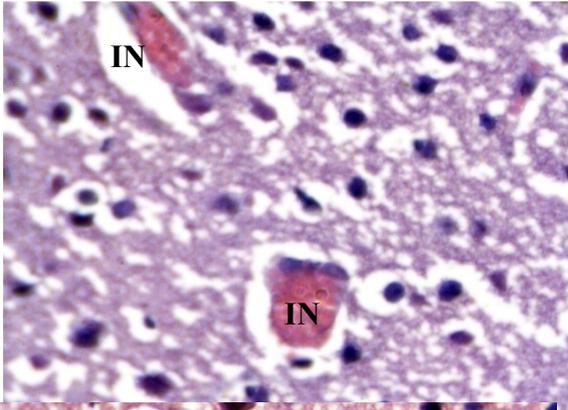
صورة ٤:

صورة ٤: مقطع مستعرض في دماغ أنثى فار حامل جرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 2مل /كغم يوضح انتفاخ (S) لبعض الخلايا العصبية في طبقة (PL). (ملون H&F ، < 400X

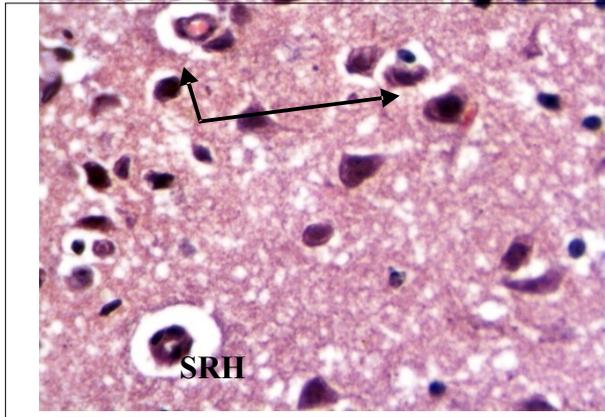


صورة ٥:

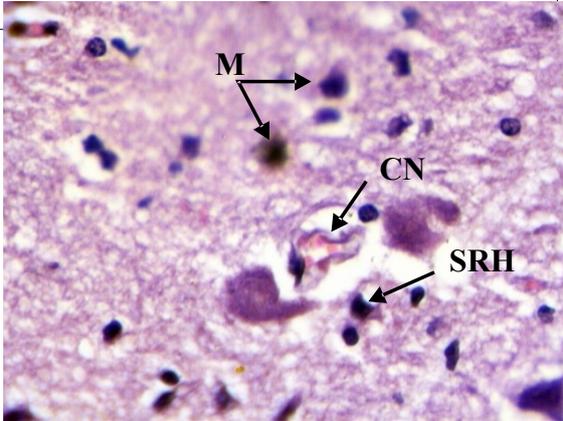
صورة ٥: مقطع مستعرض في دماغ أنثى فار حامل جرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 3مل /كغم يبين حالة الـ (SH)، والـ (N) لبعض الخلايا العصبية. (ملون H&F ، < 400X



صورة ٦: مقطع مستعرض في دماغ أنثى فار حامل مجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 3مل /كم يوضح مناطق الـ (IN) في الطبقة (PL). (ملون H&E).
تكبير. (400X).

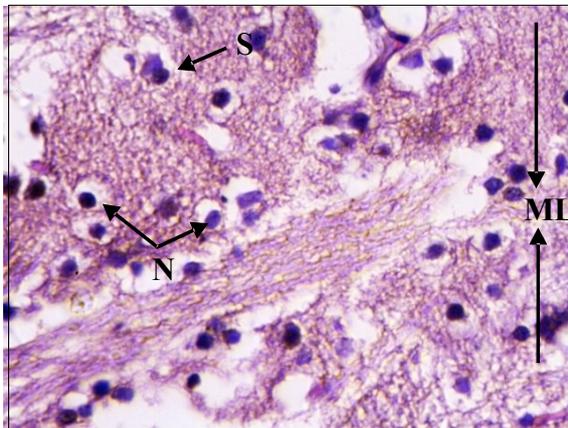


صورة ٧: مقطع مستعرض في دماغ أنثى فار حامل مجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 4مل /كم يبين الـ (SH)، وتكسر وتحطم النواة () لبعض الخلايا العصبية. (ملون H&E).
تكبير. (400X).



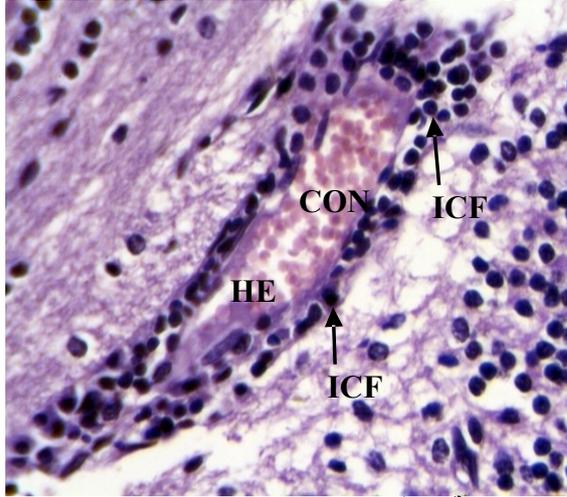
صورة ٨: مقطع مستعرض في دماغ أنثى فار حامل مجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 4مل /كم يوضح الـ (M)، والـ (CN)، والـ (SH) لبعض الخلايا العصبية. (ملون H&E).
تكبير. (400X).
تكبير. (400X).

صورة ٨:



صورة ٩: مقطع مستعرض في دماغ أنثى فار حامل مجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 6مل /كم يبين الـ (N) الواسع، والـ (S) لبعض الخلايا العصبية في الـ (ML). (ملون H&E).
تكبير. (400X).

صورة ٩:



صورة ١٠:

صورة ١٠: مقطع مستعرض في دماغ أثنى فار حامل مجرعة بشراب الكوكاكولا تركيز 6مل/كغم يوضح ارتشاح الخلايا الالتهابية (ICF)، واد (CON)، واد (HE) لبعض الكريات داخل الوعاء فضلا عن الـ (N) الواسع في نسيج قشرة الدماغ. (ملون H&E. تكبير. 400X).

تكبير. 400X).

رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل،
العراق.

٤. السعاوي، رشا عزيز محمد
احمد (2005). التأثيرات النسيجية المرضية المحدثة
بعقار Cyclophosphamide في النسيج
العصبي للفئران المهقاء *Mus musculus*. رسالة
ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الاجنبية

1.BFS,(2008).Brand Fact Sheet,
Coca-Cola official website
[http:// www. virtualvender.coca-cola.com/ft/index.jsp](http://www.virtualvender.coca-cola.com/ft/index.jsp).

2.Mikkelson, Barbara. ;and
Mikkelson, David P.
(2004)."Acid Slip".

Miners, J. O. and
McKinnon, R. A.(2000)
"CYP1A," in Metabolic Drug
Interactions, R. H. Levy, K. E.
Thummel, W. F. Trager, P.
D.Hansten, and M. E.
Eichelbaum, Eds., pp. 61-73,

المصادر العربية

١. المعموري، رفاة هاني عبد اللطيف (2001).
تأثير الكحول على غرس الاجنة والخصوبة في الفار.
رسالة ماجستير، كلية الطب، جامعة تكريت،
العراق.

٢. الحاج، حميد احمد (2010). التحضيرات المجهرية
الضوئية-التقنيات المجهرية، الطبعة الأولى قسم العلوم
الحياتية، مركز الكتب الأردنية، الجامعة الأردنية عمان،
الأردن. ١٦٧-١٧٦.

٣. السلطان، ريا غالب سعد الله (2005). تأثير
بعض ادوية التدرن الرئوي الريفامبين

Rifampicin

والبايرزينا مايد Pyrazinamide على تكوين
الجهاز العصبي

المركزي واحداث تشوهات في الفار الابيض
السويسري *Mus musculus*.

- detaction by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs, *J. Exp. Parath.* 113(4):267-271.
١٠. Bancroft, J. D.; and Steven, A. (1982). *Theory and Practice of histological techniques*. 2nd ed. Churchill living stone, Edinburgh, London and New York: pp,501-513.
1١. Roberto, C.; Christian, B.; Isabella, S.; and Lukas S. (2002). Coffee acutely increases sympathetic nerve activity and blood pressure independently of Caffeine Content Role of Habitual Versus Non habitual Drinking. *Circulation*; 106:2935-2940.
1٢. Basheer, R.; Strecker, R.E.; Thakkar, M.M.; and McCarley, R.W. (2004). "Adenosine and sleep-wake regulation". *Prog. Neurobiol.*; 73 (6): 379-96.
1٣. Wendler, C. C.; Amatya, S.; McClaskey, C.; Ghatpande, S.; Fredholm, B B.; and Rivkees, S. A. (2007). All adenosine receptors play an essential role in protecting the embryo against hypoxia. *Proc. Natl.Sci. U. S. A.*; 104,9697-9702.
1٤. Kuczkowski, KM. (2009). "Caffeine in pregnancy". *Arch. Gynecol. Obstet*
- Lippincott Williams and Wilkins, New York, NY, USA,.
3. Kristan, Jr, WB.; Calabrese, RL.; and Friesen, WO. (2005). "Neuronal control of leech behavior". *Pro. Neurobiol.*; 76 (5): 279-327.
4. Grillner, S. (2005). "Mechanisms for selection of basic motor programs—roles for the striatum and pallidum". *Trends Neurosci.*; 28 (7): 364-370.
5. Mwinyi, A.; Bailly, X.; Bourlat, SJ.; Jondelius, U.; Littlewood, DT.; and Podsiadlowski, L. (2010). "The phylogenetic position of *Acoela* as revealed by the complete mitochondrial genome of *Syngasteros coffensis*". *BMC Evolutionary Biology* 10: 309. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=2973942>.
٦. Biernacki, B.; Wofodarczyk, B. and Minta, M. (2000). Effect of sodium valproate on rat embryo development in vitro. *Bull. Vet. Interspulaway* ., 44:201-205.
٧. Padmanbhan, K.; Singh, G.; and Singh, S. (1981). Malformation of eye resulting from maternal hyper vitaminosis during gestation in the rats. *Acata. Anato.* 110(4):291-298.
٨. Jaoa, L.; Solange, M.; Rosaangel, Z. and Hlmar, T. (2006). *Toxoplasma gondii*

دراسة التغيرات الوراثية لنبات الحنطة الناتجة عن التلوث بالمعادن الثقيلة

دلال عبد الله فتحي

أ.م.د. محمد ابراهيم خليل*

الخلاصة

اجريت دراسة تأثير ثلاثة انواع من المعادن الثقيلة وهي النحاس والكاديوم والرصاص وبعده تراكيز لكل عنصر على التغيرات الوراثية لنبات الحنطة *Triticum aestivum* L. باستخدام طريقة التضخيم العشوائي متعدد الاشكال RAPD - PCR حيث اوضحت النتائج حدوث تغيرات على مستوى الحامض النووي منقوص الاوكسجين نتيجة لتأثير المعادن الثقيلة وازداد هذا التغير مع زيادة تركيز العنصر في التربة مقارنة بمعاملة السيطرة . كما تم استخدام طريقة محورة لعزل الحامض النووي بطريقة كهوءة من النبات دون استخدام النتروجين السائل .

Abstract

A study was conducted of Genetic variation of wheat plant as a results of heavy metals pollution. The effect of three types of heavy metals (Copper, Cadmium and lead) in several concentrations have been studied on genetic variation of wheat plant (*Triticum aestivum* L.) by using the random amplification polymorphism DNA PCR, the results showed there are many changes an deoxyribonucleotide as a results of heavy metals effects and these changes increased by increasing the heavy metals concentration in soil comparing with control. As well as the using of modification method for DNA extraction showed a good method to get pure DNA without using liquid nitrogen

المقدمة

تعد مشكلة تلوث نبات الحنطة بالمعادن الثقيلة من أكثر المشاكل التي تعاني منها العديد من البلدان النامية نتيجة لعلاقتها الوثيقة بحياة الانسان وصحته إذ يؤدي تواجدها في التربة الى حصول إنخفاض في معدل نمو النبات (Vassilev,2003). يعد استخدام طريقة RAPD PCR احدى الطرق الفعالة والسريعة في قياس التغيرات على المستوى الجزيئي للحامض النووي منقوص الاوكسجين نتيجة لتأثره بالعوامل والملوثات البيئية ، حيث تعطي مؤشرا لتغير تسلسل الواعد النروجينية والتي تمثل الشفرة الوراثية المتحكمة بكل الفعاليات الحيوية داخل الكائن الحي وان اي تغير في هذه التسلسلات تعمر على تغيير العديد من الصفات والفعاليات الحيوية سلبا ام ايجابا وحسب صيغة التغير الحاصل .

ونظرا لأهمية هذا الموضوع فقد جاءت هذه الدراسة لتوضيح تأثير العناصر الثقيلة وتأثيرها على المستوى الجزيئي لأحد أصناف الحنطة الناعمة (صابر بيك) (*Triticum aestivum* L) من حيث حدوث تغيرات على مستوى الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) والذي يعد مخزن المعلومات الذي يعطي ويتحكم بصفات النبات ومايبدية من مظهر خارجي وسلوك فسلجي، (الطائي ، ٢٠١٨) .

يُعرف التلوث البيئي بأنه التغير في تركيب أحد العناصر الرئيسة للبيئة وهذا التغير قد يحدث بصورة طبيعية أو بتأثير الإنسان أو الحيوان، وإن التصرف غير المقبول للإنسان يعد من أغلب المشاكل الحالية مما يتسبب في التلوث البيئي لتحقيق مصلحة ذاتية (حسين،2000) .

وغالبا ما يؤدي التصنيع دون تخطيط بيئي مناسب الى تصريف النفايات الصناعية والصرف الصحي الغنية بالمعادن الثقيلة والعناصر السامة الاخرى في الانهار والاجسام المائية وغالبا ما تستعمل هذه المياه لأغراض الزراعة مثل الري مما يؤدي الى تلوث الترب الزراعية بالمعادن الثقيلة . ان القضايا المتعلقة بسلامة الغذاء في مثل هذه الممارسات الزراعيه والمخاطر الصحية الضارة المحتملة تجعلها واحدة من أكثر الاهتمامات البيئية (Saggoo and Gupta, 2013) .

إن التلوث بالمعادن الثقيلة مشكلة بيئية رئيسة وذلك لان ملوثاتها ضاره بالكائنات الحية (Gratao et al.,2005) . تعد محاصيل الحبوب من أهم المحاصيل الحقلية الاستراتيجية في العالم لاسيما محصول الحنطة الذي يعد في طليعة المحاصيل الحقلية التي يستهلكها البشر في العالم بأسره (راضي،2001) .

حفظت العينات بدرجة حرارة 80-°م لحين
الاستخدام (الطائي، 2018).

2- طريقة CTAB

سحقت 200 ملغم من اوراق نبات الخنطة
الى قطع صغيرة باضافة 500 مايكروليتر CTAB
buffer ثم نقل المستخلص النباتي الى انايب صغيرة
ووضعت في حمام مائي بدرجة حرارة 55°م لمدة
15 دقيقة بعدها وضعت الانايب في جهاز الطرد
المركزي بقوة 12000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق ثم
تم نقل الرائق الى انايب اخرى إذ تم اضافة 250
مايكروليتر كلوروفورم: كحول الايزوامايل بنسبة
(24:1) وتم مزجه بتحريك الانبوب ثم طرد مركزي
13000 دورة/دقيقة لمدة 1 دقيقة بعدها نقلت
الطبقة العليا الرائفة الى انايب اخرى جديدة ليتم
اضافة 50 مايكروليتر من 7.5 Ammonium
Acetate تبعها اضافة 500 مايكروليتر من
الايثانول المبرد ثم تم قلب الانايب عدة مرات لترسيب
الـ DNA ووضعت في -20°م بعد ذلك طرد
مركزيًا 13000 دورة/دقيقة لمدة 1.5 دقيقة إذ تم
التخلص من الرائق والاحتفاظ بالراسب، بعد ذلك
اضيف 500 مايكروليتر من 70% ايثانول مبرد مع
قلب الانايب لغرض المزج ثم طرد مركزيًا 13000
دورة/دقيقة لمدة 1.5 دقيقة بعدها تم التخلص من

Materials and Methods

اجريت دراسة تأثير عدة تراكيز من المعادن
الثقيلة على تغير الحامض النووي DNA في نبات
الخنطة وذلك باستخدام طريقة التضخيم العشوائي
متعدد الاشكال لدراسة التباينات المحتملة نتيجة تاثير
عدة تراكيز من المعادن الثقيلة حيث تم زراعة بذور
الخنطة الناعمة ممثلة بصنف صابر بيك بتاريخ بواقع
(10) بذرة /أصيص وبمعدل ثلاثة مكررات لكل
تركيز لكل معدن (1، 0.5، 0.25، 0.1، 0.05،
0.01، 0.025) غم /لتر لمدة ١٢٠ يوم بعدها
حصدت النباتات وتم اجراء الخطوات التالية :

استخلاص الحامض النووي (DNA) من نبات الخنطة

استخدمت ثلاثة طرق لعملية الإستخلاص
وتشمل:

1- طريقة العدة الجاهزة (Kit)

استعملت طريقة العدة الجاهزة المستوردة من
شركة Promega الامريكية
(Wizard Genomic DNA
Purification Kit) وحسب تعليمات الشركة
الجاهزة وباستعمال النتروجين السائل لسحق نماذج
النباتات المختلفة وبعد انتهاء عملية الاستخلاص

جديد وأضيف بقدر حجمه محلول isopropanol المبرد وتم مزجه عن طريق قلب الانبوب عدة مرات ووضع في الثلج لمدة خمس دقائق، ثم طرد مركزي بسرعة 13500 دورة/دقيقة لمدة أربع دقائق . بعدها تم التخلص من الرائق وغسل الراسب بإضافة 500 مايكروليتر من ethanol 70% ثم طرد مركزيًا بسرعة 13500 دورة/دقيقة لمدة 2 دقيقة، بعد ذلك تم التخلص من الايثانول وتم قلب الانبوب على ورق نشاف للتخلص من الايثانول المتبقي ثم ذوب الراسب باستعمال الماء المقطر وحفظت العينات بدرجة حرارة -80°م لحين الاستعمال و اجري قياس نقاوة وتركيز الحامض النووي منقوص الاوكسجين المستخلص باستعمال جهاز Nanodrop Bioscience™ Biodrop DUO UV/Vis Spectrophotometer وتم الكشف عن وجود الحامض النووي DNA باستخدام الترحيل الكهربائي بواسطة هلام الاكاروز، (ناجي، 2013).

التضخيم العشوائي متعدد الاشكال – RAPD PCR

استعملت اربع بادئات للتضخيم العشوائي للـ DNA بطول 10 قاعدة نروجينية تم تجهيزها من قبل شركة Promega ومنشأها امريكي وكنت

الرائق واضيف 500 مايكروليتر من الايثانول المبرد 70% ومزجت بعد ذلك طرد مركزيًا 13000 دورة/دقيقة لمدة 1.5 دقيقة ثم تركت لكي يجف الراسب لمدة 15 دقيقة إذ اضيف 250 مايكروليتر من محلول rehydrate ثم وضعت في حمام مائي لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 65°م بعدها وضعت في درجة حرارة 4°م (Yu, et al., 2017).

3_ طريقة (Sodium dodecyl Sulphate) SDS

استعملت طريقة الـ SDS في إستخلاص الحامض النووي من نبات الخنطة والمتبعة من قبل Sika وآخرون، (2015) إذ أخذت عينات النباتات الجافة وقطعت إلى قطع صغيرة وطحنت في هاون خزفي مع إضافة 400 مايكروليتر من محلول الاستخلاص والمتكون من (200 مل من 1M Tris-Hcl PH7.5 و(50 مل 0.5) EDTA PH8 و(50 مل 5M Nacl) و(650 مل ماء مقطر) ثم أضيف المزيد من محلول الاستخلاص الى ان وصل الى حجم 1200 مايكروليتر، بعد ذلك نقل المحلول مع النبات المطحون من الهاون إلى انبوب eppendorf ووضع في جهاز الطرد مركزي بقوة 13,500 دورة/دقيقة لمدة أربع دقائق، ثم نقل الرائق إلى انبوب

دقائق بعدد دورات ٤٤ دورة، رفعت العينات من جهاز المبلمر بعد إنتهاء وقت التفاعل . وتم وضع 5 مايكروليتر من كل عينة في حفر هلام الأكاروز الذي تم تحضيره سابقا، مع ترحيل 3 مايكروليتر من الدليل الحجمي (DNA ladder-100 bp) ولمدة ساعة كاملة، بعدها تم تعريضه لمصدر الأشعة فوق البنفسجية نوع UVP Inc. TM20/U.S.A وصور باستعمال كاميرا رقمية . (ناجي، 2013).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

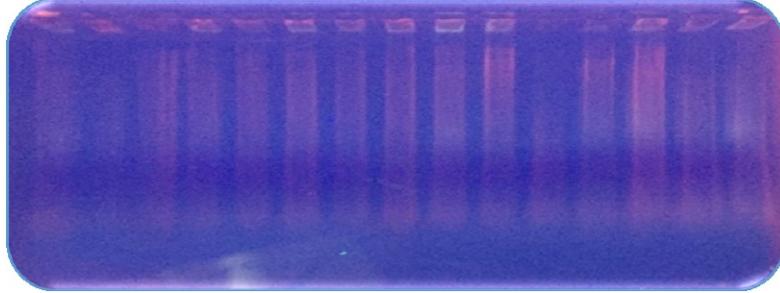
استخلاص الـ DNA

اوضحت نتائج استخلاص الـ DNA أن افضل طريقة للحصول على الحامض النووي بشكل نقي ومناسب لتفاعل الـ PCR هي طريقة استعمال SDS . إذ لم يتم الحصول على الحامض النووي باستعمال العدة الجاهزة بعد سحق العينات بالنتروجين السائل وقد يعود السبب في ذلك الى تحطم الـ DNA بعد سحق العينات باستعمال النتروجين السائل بواسطة انزيم DNase المتحرر من الخلايا وكذلك لم يتم الحصول على الحامض النووي باستعمال طريقة CTAB حيث لم تكن مناسبة للعينات قيد الدراسة.

تعد طريقة SDS من الطرائق السهلة والسريعة بالاضافة الى كفاءتها بالحصول على المادة

كالتالي : OPJ-2 CTCCATGGGG (يوسف وآخرون، 2011) و 05 OPC-12-1 TGTCATCCCC (داؤد وآخرون، 2016) و AAAGCTGCGG (Tidke and ، 2017)، RPI-1 -3 -4 CCTGGGTGGA و Ranawade UBC-13 (Tahir, 2008) ، بعد معرفة افضل درجة ارتباط باستخدام طريقة التضخيم المتدرج وافضل تركيز للـ DNA تم تحضير خليط التفاعل بحجم 25 مايكروليتر والذي يتكون من (12.5 مايكروليتر) Master mix و (7 مايكروليتر) ماء مقطر خالي من الأيونات و (2.5 مايكروليتر) من البادئ (Primer) و (3 مايكروليتر) من الـ DNA في أنابيب إندروف صغيرة بحجم (0.2 مل) وتم تحريك الأنبوب لمزج مكونات التفاعل ثم وضعت العينات في جهاز المبلمر الحراري Thermocycler لاتمام التفاعل حسب البرنامج التالي: Initial denaturation بدرجة حرارة 94 °م لمدة دقيقتين و Denaturation بدرجة حرارة 94 °م لمدة دقيقة و Annealing بدرجة حرارة 37 ± 5 °م لمدة دقيقتين و Extension بدرجة 72 °م و Final extension بدرجة حرارة 72 °م لمدة سبعة

الوراثية من العينات الجافة ولا تحتاج الى استعمال
التروجين السائل لطحن العينات التي يصعب الحصول
عليها وخطورة التعامل معها . يوضح الشكل (1)
كفاءة الطريقة لاستخلاص DNA وبنقاوة عالية .



الشكل (1) الترجيل باستخدام هلام الاكاروز 2%

تضاعف في دراسته على نبات النخيل . وكان البادئ
OPC-12 افضل بادئ في تضخيم أكبر عدد من
المواقع في الحامض النووي بينما كان البادئ RPI-1
اقل كفاءة من بين البادئات المستعملة في تفاعل
RAPD-PCR إذ اظهر اقل عدد من المواقع
المضخمة في الحامض النووي DNA.

يعد اختبار RAPD-PCR احد
التقنيات الأكثر موثوقية للكشف عن تغير أو تلف
الحامض النووي وان التغيرات التي تحدث في شكل الـ
RAPD بعد المعاملة بالمعادن السامة تشمل التغير
في شدة الحزم وكذلك إكتساب أو فقدان حزم مقارنة
بمعاملة السيطرة (Gurusubramanian, 2011).
هذه الحزم تميز بوضوح العينات المتعرضة
للمعادن الثقيلة وهي بمثابة علامة لتقييم العرض
البيئي، إذ قد تكون منتجات تضخيم RAPD

تمكنت البادئات (OPC-12 وOPJ-5
وUbc-13) من اظهار عدد من الحزم إذ أن
ظهورها في بعض تراكيز المعادن الثقيلة وغيابها في
معاملة السيطرة يدل على أن هذه الحزم قد تشير الى
التعبير الجيني للجينات المتأثرة بالمعادن الثقيلة والتي
اختفت في معاملة السيطرة كما

تعزى قدرة البادئات على اظهار الحزم في جميع
المعاملات الى عدم حدوث طفرة دالة على تعدد
الاشكال او ارتباط هذه البادئات بالمناطق المكتملة لها
في الـ DNA (داؤود وآخرون، 2016) . بينما فشل
البادئ RPI-1 في انتاج حزم عند حجم (100،
200، 300، 400، 500، 600) bp تحت
تراكيز المعادن الثقيلة وربما قد يعود السبب الى غياب
المواقع المتممة لتسلسلات البادئات على جينوم نبات
الحنطة وهذا ينسجم مع ما توصل اليه ياسين،
(2011) بعدم تمكن عدة بادئات من اظهار نواتج

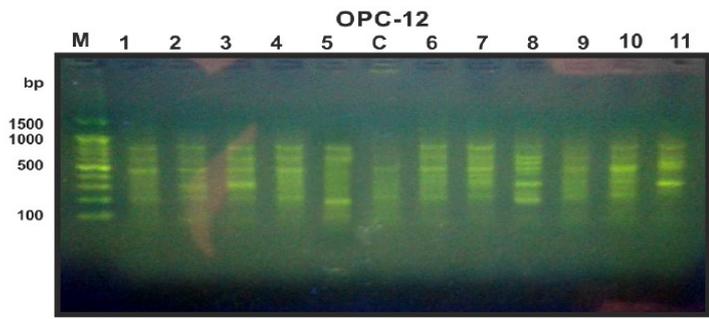
إذ يشير العدد الكبير من الحزم الجديدة التي لوحظت في العينات المعرضة للمعادن إلى أن التعرض الطويل الأجل للجرعات العالية من المحتمل أن يتسبب في حدوث طفرات على المستوى الجينومي في نباتات *Urtica dioica* (Gjorgieva et al., 2013). كما عزی Nelson et al., 1996) التغيرات في شكل الـDNA مثل التغيرات في شدة الحزم

(Xue et al., 2006). وهذا يتفق مع ما لاحظته Saleh (2016) بأن اختفاء حزم الحامض النووي يمكن ان تكون مرتبطة بعرقلة او الحد من بلمرة الحامض النووي في تفاعلات الـPCR. إذ تؤثر المعادن الثقيلة على الحامض النووي بشكل مباشر أو غير مباشر من خلال زعزعة البنية الحلزونية المزدوجة للحامض النووي (Anastassopoulou, 2003) وعدم التطابق بين القواعد المتعلقة بالأحماض النووية (Batri et al., 2016).

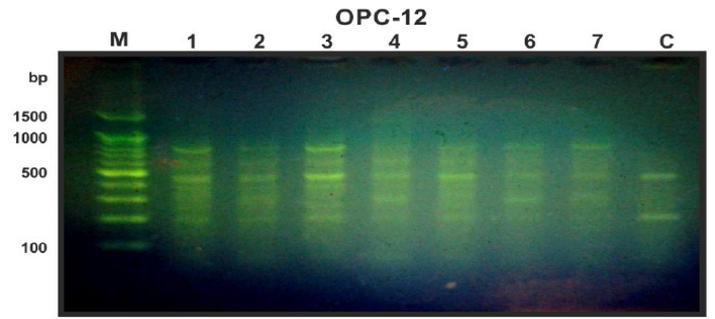
تحليل نتائج تفاعل RAPD-PCR

الجديدة مرتبطة بالطفرات وعمليات حذف كبيرة (ارتباط قبل البادئ) أو إعادة التركيب المشابه (تسلسلان يطابقان مع التسلسل الأولي) (Atienzar and Jha, 2006). كما ان امكانية تضخيم نتائج الـPCR هو بسبب قدرة البادئ على الوصول الى بعض المواقع بعد التغيير التركيبي. إذ ينتج عن الطفرات ظهور حزم جديدة في حين يرتبط إختفاء الحزم بتلف الـDNA (Cenkci et al., 2009).

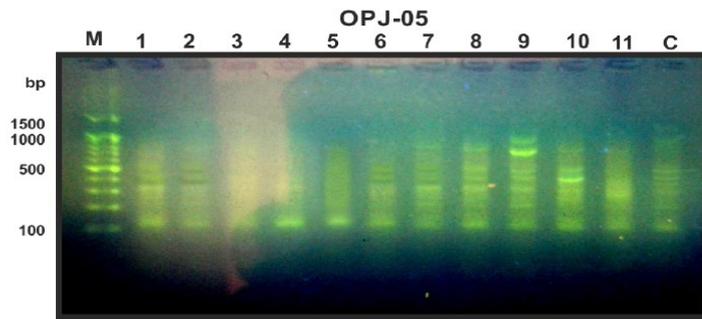
وفقدان الحزم إلى التغيرات في المواقع الاولية للنيوكليوتيد ويرجع ذلك أساساً إلى إعادة ترتيب الجينوم أو بسبب الطفرات أو تلف الحامض النووي في مواقع الارتباط التمهيدي، أو إلى وجود معقد ضخم يحتمل أن يمنع إنزيم تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) إذ من المرجح أن تكون التغيرات الملاحظة في أنماط RAPD ناتجة عن مجموع التغيرات في الحامض النووي مثل الطفرات والتغيرات التركيبية بالإضافة إلى ذلك، يمكن للـdimers تغيير بنية الحامض النووي وهذه التغيرات تأثير كبير على حركة أحداث تفاعل البلمرة المتسلسل



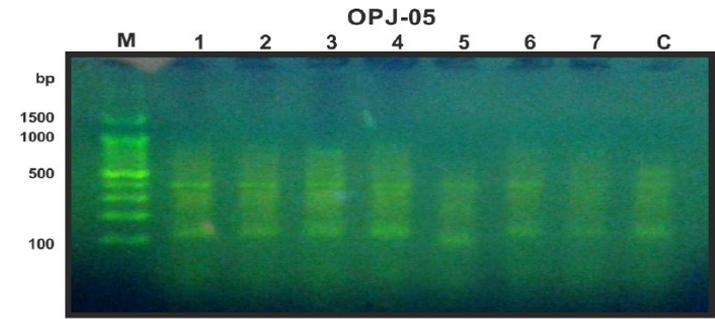
1- كاسيوم 0.01 ملغم/لتر 2- كاسيوم 0.025 ملغم/لتر 3- كاسيوم 0.25 ملغم/لتر 4- كاسيوم 0.5 ملغم/لتر
 5- كاسيوم 1 ملغم/لتر C- معاملة السيطرة 6- نحاس 0.01 ملغم/لتر 7- نحاس 0.025 ملغم/لتر
 8- نحاس 0.1 ملغم/لتر 9- نحاس 0.25 ملغم/لتر 10- نحاس 0.5 ملغم/لتر 11- نحاس 1 ملغم/لتر



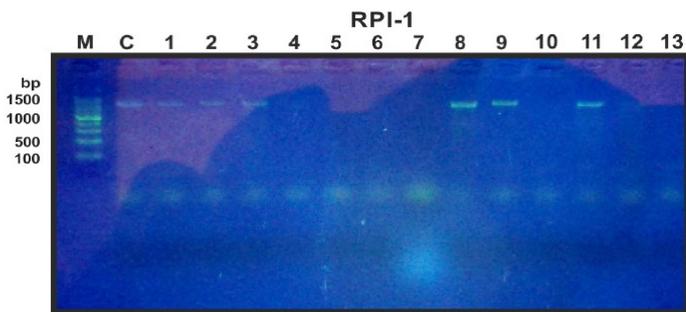
1- رصاص 0.01 ملغم/لتر 2- رصاص 0.025 ملغم/لتر 3- رصاص 0.05 ملغم/لتر 4- رصاص 0.1 ملغم/لتر
 5- رصاص 0.25 ملغم/لتر C- معاملة السيطرة 6- رصاص 0.5 ملغم/لتر 7- رصاص 1 ملغم/لتر



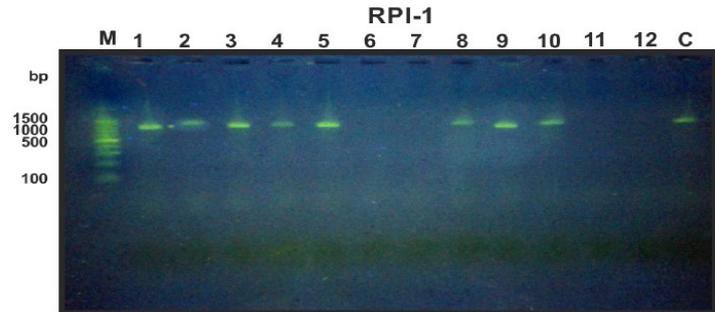
1- كاسيوم 0.01 ملغم/لتر 2- كاسيوم 0.025 ملغم/لتر 3- كاسيوم 0.25 ملغم/لتر 4- كاسيوم 0.5 ملغم/لتر
 5- كاسيوم 1 ملغم/لتر 6- نحاس 0.01 ملغم/لتر 7- نحاس 0.025 ملغم/لتر 8- نحاس 0.1 ملغم/لتر
 9- نحاس 0.25 ملغم/لتر 10- نحاس 0.5 ملغم/لتر 11- نحاس 1 ملغم/لتر C- معاملة السيطرة



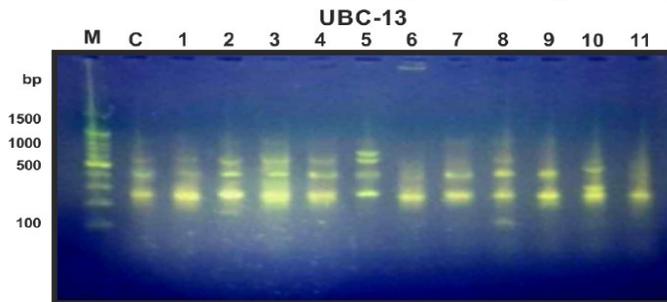
1- رصاص 0.01 ملغم/لتر 2- رصاص 0.025 ملغم/لتر 3- رصاص 0.05 ملغم/لتر 4- رصاص 0.1 ملغم/لتر
 5- رصاص 0.25 ملغم/لتر C- معاملة السيطرة 6- رصاص 0.5 ملغم/لتر 7- رصاص 1 ملغم/لتر



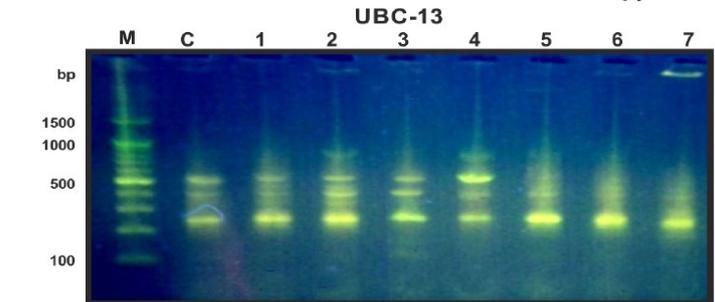
C- معاملة السيطرة 1- نحاس 0.01 ملغم/لتر 2- نحاس 0.025 ملغم/لتر 3- نحاس 0.1 ملغم/لتر
 4- نحاس 0.25 ملغم/لتر 5- نحاس 0.5 ملغم/لتر 6- نحاس 1 ملغم/لتر 7- نحاس 1 ملغم/لتر
 8- نحاس 0.01 ملغم/لتر 9- نحاس 0.025 ملغم/لتر 10- نحاس 0.1 ملغم/لتر 11- نحاس 0.25 ملغم/لتر
 12- نحاس 0.5 ملغم/لتر 13- نحاس 1 ملغم/لتر



1- رصاص 0.01 ملغم/لتر 2- رصاص 0.025 ملغم/لتر 3- رصاص 0.05 ملغم/لتر 4- رصاص 0.1 ملغم/لتر
 5- رصاص 0.25 ملغم/لتر 6- رصاص 0.5 ملغم/لتر 7- رصاص 1 ملغم/لتر 8- كاسيوم 0.01 ملغم/لتر
 9- كاسيوم 0.025 ملغم/لتر 10- كاسيوم 0.25 ملغم/لتر 11- كاسيوم 0.5 ملغم/لتر 12- كاسيوم 1 ملغم/لتر
 C- معاملة السيطرة

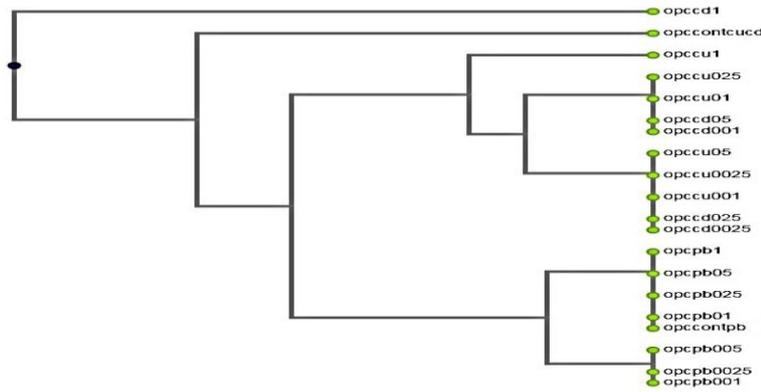


C- معاملة السيطرة 1- نحاس 0.01 ملغم/لتر 2- نحاس 0.025 ملغم/لتر 3- نحاس 0.1 ملغم/لتر
 4- نحاس 0.25 ملغم/لتر 5- نحاس 0.5 ملغم/لتر 6- نحاس 1 ملغم/لتر 7- كاسيوم 0.01 ملغم/لتر
 8- كاسيوم 0.025 ملغم/لتر 9- كاسيوم 0.25 ملغم/لتر 10- كاسيوم 0.5 ملغم/لتر 11- كاسيوم 1 ملغم/لتر



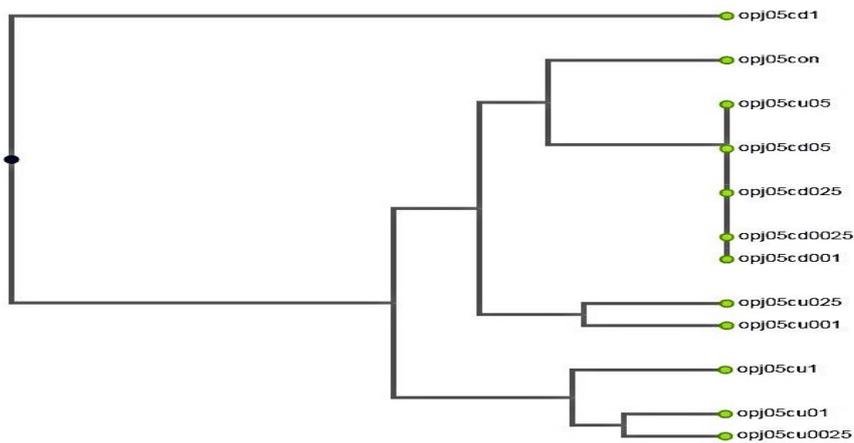
C- معاملة السيطرة 1- رصاص 0.01 ملغم/لتر 2- رصاص 0.025 ملغم/لتر 3- رصاص 0.05 ملغم/لتر
 4- رصاص 0.1 ملغم/لتر 5- رصاص 0.25 ملغم/لتر 6- رصاص 0.5 ملغم/لتر 7- رصاص 1 ملغم/لتر

الشكل (٢) يوضح تضخيم الحامض النووي منقوص الاوكسجين باستخدام اربع بادئات عشوائية لكل تركيز



الشكل (٣) dendrogram باستخدام
UPGMA cluster analysis يوضح
التقارب والتباعد الوراثي لتأثير العناصر الثقيلة
(الرصاص والنحاس والكاديوم) باستخدام البادئ
OPC-12 على نبات الحنطة

استعملت برنامج D-UPGMA في تحليل
نتائج تفاعل الـ PCR باستخدام نظام
0، 1 لاعداد الحزم المتكونه وغير المتكونه في هلام
الأكاروز لتقدير الاختلافات على المستوى الجزيئي
للحامض النووي الـ DNA والنتائج من تأثير المعادن
الثقيلة بمختلف تراكيزها مقارنة بمعاملة السيطرة
(Pandi et al.,2018).



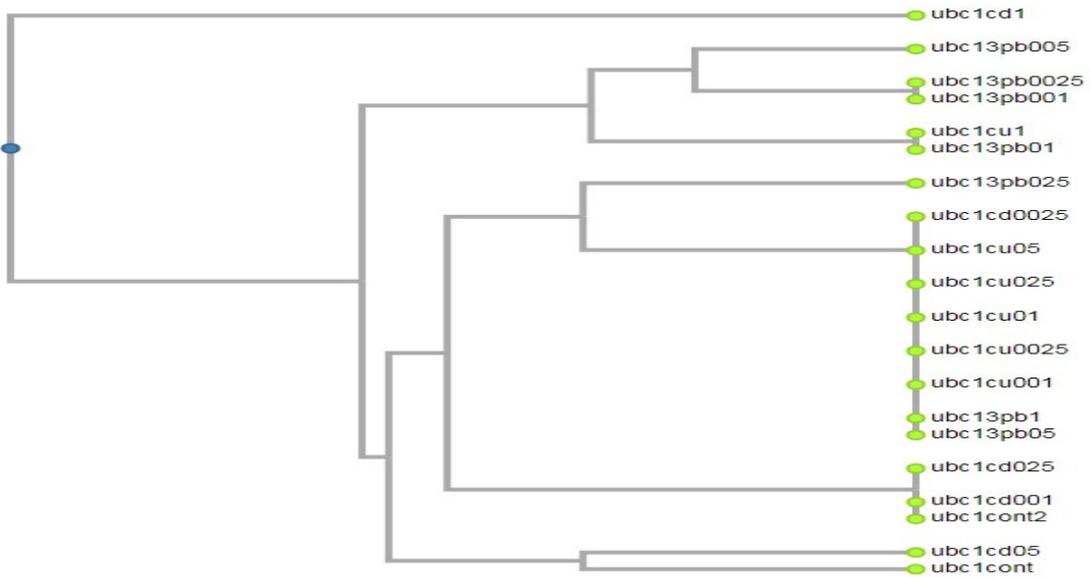
الشكل (٤) dendrogram باستخدام UPGMA cluster analysis يوضح التقارب والتباعد الوراثي
لتأثير العناصر الثقيلة (الرصاص والنحاس والكاديوم) باستخدام البادئ OPJ-05 على نبات الحنطة



الشكل (٥) dendrogram باستخدام UPGMA cluster analysis يوضح

التقارب والتباعد الوراثي لتأثير العناصر الثقيلة (الرصاص والنحاس والكاديوم) باستخدام

البادئ RPI-1 على نبات الخنطة



الشكل (٦) dendrogram باستخدام UPGMA cluster analysis يوضح التقارب والتباعد الوراثي

لتأثير العناصر الثقيلة (الرصاص والنحاس والكاديوم) باستخدام البادئ UBC-13 على نبات الخنطة

الكاديوم بتركيز 1 غم/لتر الذي اظهر تباعداً وراثياً أكبر مقارنة باقي التراكيز.

كما اظهر (الشكل ٤) باستخدام البادئ OPJ-05 ان التراكيز (0.01، 0.025 ، 0.25 ، 0.5)

اظهر الرصاص في (الشكل ٣) باستخدام البادئ OPC-12 تقارباً وراثياً مع معاملة السيطرة في حين ابدى الكاديوم والنحاس تباعداً وراثياً يليه

البروتينات والانزيمات المتحركة في جميع الصفات المظهرية .

تشير نتائج تفاعل RAPD-PCR الى حدوث تغيير على المستوى الجيني للحامض النووي DNA وهذا ما يفسر التغيرات الحاصلة في المظهر الخارجي للعديد من الصفات المدروسة نتيجة لتأثير المعادن الثقيلة وحسب تراكيزها على تركيب الجينات وتعبيرها المسيطر على الفعاليات الحيوية المختلفة لنبات الحنطة .

المصادر Reference

حسين، فلاح حسن (2000). "الواقع البيئي لحافظة بابل عام 2000"، الندوة العلمية الاولى عن التلوث البيئي لحافظة بابل _ كلية العلوم، جامعة بابل: صفحة 5- 17 .

راضي، فائق حسن على (2001). تأثير طرائق استخدام الالار والحتوى الرطوبي للتربة في النمو والحاصل وبعض الجوانب الفسيولوجية لنبات الحنطة (*Triticum aestivum L.*)، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل .

الطائي، محمد إبراهيم خليل (2018). البايولوجي الجزئي دليل الى تفاعل سلسلة متعدد البلمرة (PCR)، دار الكتب والدراسات العليا الارازيطة _ الاسكندرية: صفحة 224 .

كادميوم و(0.01، 0.25، 0.5) نحاس تقارباً وراثياً في حـيين ابـتت التراكيز (1، 0.1، 0.025) نحاس تباعداً وراثياً، كذلك ابدى الكادميوم بتركيز 1 غم/لتر تباعداً وراثياً كبير مع معاملة السيطرة .

اثبت الباديء RPI-1 في (الشكل ٥) عدم كفاءته في تضخيم حزم الحامض النووي DNA . كما تبين من (الشكل ٦) باستعمال الباديء -UBC 13 حصول تقارب وراثي بين الرصاص والنحاس والكادميوم بجميع التراكيز وبين معاملة والسيطرة ماعدا الكادميوم بتركيز (1غم/لتر) الذي أظهر تباعداً وراثياً كبيراً مقارنة باقي التراكيز .

تعد العوامل البيئية من العوامل الاساسية المؤثرة على الكائن الحي من حيث الصفات الفسلجية والمظهرية والسلوكية، إذ يعد العامل البيئي احد مكونات النمط الظاهري مشتركاً مع النمط الجيني في التحكم بالصفات المظهرية إذ ان

$$\text{Phenotype} = \frac{1}{2} \text{ Genotype} + \frac{1}{2} \text{ Environmental}$$

إذ يؤثر المتغير البيئي على المستوى الجزئي إذ يعمل على تغيير في تسلسلات القواعد النروجينية وحدوث الطفرات مما يؤدي الى تغيير في الشفرات الوراثية Codon والتي تتحكم في بناء الاحماض الامينية في سلسلة متعدد الببتيد والتي بدورها تكون

polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: a critical review. *Mutation Research.*, 613 (2-3): 76-102.

Cenkci, S.; Yildiz, M.; Cigerci, I.H.; Konuk, M. and Bozdog, A (2009) Toxic chemicals-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA (RAPD) in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Chemosphere.*, 76: 900-906.

Gjorgieva,D.; Panovska, T.K.; Ruskovska,T.; Baceva,K.and Stafilov,T(2013) Influence of Heavy Metal stress on Antioxidant Status and DNA damage in *Urtica dioica.*,*BioMed Research International*:6.

Gratao, P.L.; Polle, A.; Lea, P.J. and Azevedo, R.A (2005) Making the life of Heavy Metal-stressed plants a little easier. *Funct. Plant Biol.*, 32: 481-494.

Gurusubramanian, G (2011) Evaluation of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay for the detection of DNA damage in mosquito larvae treated with plant extracts., 11 (3):155-158.

Nelson, JR.; Lawrence, CW.and Hinkle, DC (1996) Thymine ethymine dimmer bypass by yeast DNA-polymerase-zeta. *Science.*, 272: 1646-1649.

Pandi, V.K.; Kamalakannan, A.; Nakkeeran, S.; Venkatesan, K.

يوسف، عزيزة ابراهيم وديب، جورج حنا وبيطار، غادة (2011). دراسة التباينات الوراثية من النعناع المائي *Mentha aquatica* المنتشرة في المنطقة الساحلية باستخدام تقنية الـPCR-RAPD. *مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية*، مجلد 33(4):183-198.

داؤد، وسام مالك والمشهداني، ابراهيم إسماعيل والعبيدي، غفران علي (2016). إستعمال التقانة الجزيئية في تشخيص التباين الوراثي في تراكيب وراثية من الحنطة المتحملة للملوحة. *مجلة ديالى للعلوم الزراعية*، مجلد 8(1):170-179.

ناجي، سندس عادل(2013). التغيرات الوراثية والحلوية في بعض السلالات غير المتوافقه خضريا من الفطر *Aspergillus amstelodami* رسالة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل: صفحہ 1-149.

Anastassopoulou, J (2003) Metal-DNA interactions. *Journal of Molecular Structure.*, 651-653: 19-26.

Batri, M.B.; Candan, F. and Buyuk, I (2016) Determination of the DNA changes in the artichoke seedlings (*Cynara scolymus* L.) subjected to lead and copper stresses. *Plant Soil Environ.*, 62 (3):143-149.

Atienzar, F.A. and Jha, A.N (2006) The random amplified

- (*Triticum aestivum* L.) genotypes. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences., 6 (3):239-246.
- Vassilev, A (2003) Physiological and agroecological aspects of Cadmium interactions with Barley plants: An overview. J Central European Agriculture., 4 (1):65-75..
- Yu, F.Z.; Cheng, S.J. and Jameson, P.E (2017) A rapid and cost effective protocol for plant Genomic DNA isolation using regenerated silica columns in combination with CTAB extraction. Journal of Integrative Agriculture., 16 (8):1682-1688.
- Xue-Meiid, Q.I.; Pei-jun, LI.; Wan', LIU.and Li-jingly, XIE (2006) Multiple biomarkers response in maize (*Zea mays* L.) during exposure to copper. Journal of Environmental Sciences., 18 (6) 1182-1188.
- and Uma, D (2018) Molecular detection and diversity analysis of colletotrichum sp from chilli using RAPD-PCR. Current Journal of Applied Science and Technology., 26 (5):1-8.
- Saleh, B (2016) Genomic DNA changes in *Ulva lactuca* (*Chlorophyta*) under heavy metal stress. International Journal of Environmental Sciences Volume., 7 (3):245-255.
- Sika, K.C.; Kefela, T.; Sagbadja, H.A.; Ahoton, L.; Saidou, A.; Moussa, L.B.; Baptiste, L.J.; Kotconi, S.O. and Gachomo, E.W (2015) A simple and efficient genomic DNA extraction protocol for large scale Genetic analyses of plant biological systems. journal Homepage: 43-45.
- Saggoo, M.I.S and Gupta, R (2013) Accumulation of Heavy Metals in soil and Wheat Plant (*Triticum vulgare* L.) irrigated with Tannery Industry effluents in Jalandhar District punjab. International Conference of Environmental Science and Technology., 5-7.
- Tahir, N.A (2008) Assessment of Genetic diversity among Wheat varieties in sulaimanyah using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. Jordan Journal of Biological Sciences., 1 (4):159-164.
- Tidke, S.D. and Ranawade, P.S (2017) Genetic analysis and RAPD polymorphism in Wheat

تأثير عدد من المواد في إنتاج إنزيمي البروتيز والايلاستيز لجرثومة *Pseudomonas aeruginosa*

محسن أيوب عيسى العكيدي

رسمية عمر سلطان الجبوري

ملخص البحث:

استخدمت في هذه الدراسة أربع مواد شملت مضادان حيويان هما Ciprofloxacin و Azithromycin وحامض السلسليك Salicylic Acid وزيت الورد Rose Oil وبتراكيز واطئة بلغت ٠,٠٥ و ٨ و ٥٠٠ مايكروغرام/مل للمواد الثلاث الأولى و ٠,٠٣% لزيت الورد .

تضمنت الدراسة التحري عن تأثير المواد الأربع في إنتاج عوامل الضراوة لعزلات *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من بيئات مختلفة (مرضى، ردهة، مياه، تربة)، وقد أدت معاملة العزلات المذكورة بهذه المواد إلى تثبيط إنتاج إنزيمي البروتيز و Protease والايلاستيز Elastase ولم تؤثر عموماً في إنتاج إنزيم البروتيز المحلل للمكورات العنقودية Las A Staphylolytic Protease .

الكلمات المفتاحية: عوامل الضراوة، البروتيز، الايلاستيز .

Abstract:

Ciprofloxacin, Azithromycin, Salicylic Acid and Rose Oil were used in very low concentrations (0.05, 8 , 500 µg/ml and 0.03% respectively) to inhibit virulence factors production in four different *Pseudomonas aeruginosa* isolates (patient, ward, water & soil).

These materials led to inhibition of Protease, Elastase and didn't affect Las A Staphylolytic Protease generally.

Biofilms وإنتاج عوامل الضراوة ومقاومة

المقدمة:

المضادات الحيوية (Chen *et al.*, 2019).

يعرف نظام استشعار النصاب Quorum

منذ اكتشاف الدور المفتاحي لعملية

Sensing بأنه نظام تنبيه واستجابة تبعاً للكثافة

استشعار النصاب في تنظيم إنتاج عوامل الضراوة

العديدة إذ يحدث التنبيه بفعل جزيئات تبادها

وإحداث الإصابة المزمنة لعدد من الجراثيم الإنتهازية

الخلايا الجرثومية مثل جزيئات اللاكتونات N-Acyl

المرضة (منها النوع *Pseudomonas*

Homoserine Lactone (AHL) في

aeruginosa) حظيت هذه الظاهرة باهتمام

الجراثيم السالبة لصبغة كرام، وتستخدم هذه الظاهرة

متزايد من الباحثين بوصفها هدفاً لتطوير نمط جديد

في تنظيم عدة سلوكيات كتشكيل الأغشية الحيوية

وقد انصب كثير من الاهتمام على دراسة أنظمة استشعار النصاب الجرثومة *P. aeruginosa* والعوامل المضادة لها خارج الجسم الحي وداخله باستخدام أنظمة الكشف المختلفة (Balaban, 2008)، فهذه الجرثومة تعد المسبب الثاني لذات الرئة والثالث لحمج الجهاز البولي والسابع لتجرثم الدم المكتسب من المستشفى وهي من اهم الجراثيم المسببة لأخماج الحروق، وتؤدي الى العديد من المضاعفات (Rossolini & Centers for Mantengoli, 2005; Disease Control and Prevention, 2004).

إذ تمتلك هذه الجرثومة العديد من عوامل الضراوة مثل البروتينيز والايلاستيز والفوسفولايبيز C وسيانيد الهيدروجين والسم الخارجي A والأنزيم الخارجي S فضلاً عن عوامل خلوية مثل طبقة عديد السكر الدهني والأسواط والأهداب (Demuth & Lamont, 2005)، وتسبب نسب وفيات عالية قد تصل الى 100% عندما تكون متعددة المقاومة للمضادات الحيوية ولم تعالج بمضاد حيوي فعال ضدها (Rossolini & Mantengoli, 2005).

مواد البحث وطرقه:

المواد المستخدمة في الاختبار:

من العقاقير ففي السنوات الأخيرة وثق الباحثون أن غلق مسار التواصل الذي توسط فيه الإشارة AHL يمثل طريقة كفوءة لتداخل مع استعمار السطوح وإضعاف ضراوة الجراثيم المرضية، إذ سجل الباحثون مركبات قادرة على فعل هذا أطلقوا عليها مصطلح العقاقير المضادة للإمراضية Antipathogenic Drugs (Rasmussen & Givskov, 2006).

لوحظت العوامل المضادة لظاهرة استشعار النصاب لأول مرة في الطحلب البحري الأحمر *Delisea pulchra* حين لاحظ الباحثون أن سطح الطحلب لا يُستعمر أبداً بالجراثيم (Manefield et al., 2002)، وتوالت عمليات التحري عن العوامل المثبطة لاستشعار النصاب في النباتات الطبية والفطريات والمواد الكيميائية والعقاقير (Balaban, 2008).

وتسهيل عملية الكشف عن مثل هذه المواد قام الباحثون بتصميم سلالات كاشفة تتحسس لوجود المركبات المثبطة لاستشعار النصاب وتبدي صفة مظهرية معينة استجابة لها، ومن أبسط هذه الأنظمة الكاشفة هي السلالة *Chromobacterium violaceum* 12472 التي تكشف عن وجود مثبتات استشعار النصاب بفقدانها لصبغة الفايولاسين (McLean et al., 2004).

الحروق تعود للنمط المصلي O:1 من مستشفى الزهراوي وعزلة من ردهة الحروق لنفس المستشفى وعزلة من المياه وعزلة من التربة، إذ زرعت جميعها على وسط أكار بايوسيانوسيل Pyocyanosel Agar وحضنت في درجة حرارة ٣٧°م لمدة 24 ساعة، ونقلت مستعمرة واحدة من كل عزلة الى 10 مل من وسط BHI broth وحضنت في درجة حرارة 37°م لمدة 16 ساعة واستخدمت بوصفها لقاحاً للمعاملات اللاحقة.

معاملة العزلات بالمواد المنتخبة:

١. لكل عزلة لفتح 150 مل من وسط BHI borth بنسبة ١% باللقاح المحضر في الفقرة السابقة وحضن في درجة حرارة 37°م لمدة ثماني ساعات.
٢. لغرض معاملة المزرعة السائلة بالمواد المحضرة آنفاً وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة قسمت المزرعة على 15 قسماً (10 مل لكل قسم) في دوارق معقمة. وأضيفت كل مادة بالتركيز المطلوب بثلاثة مكررات مع ترك ثلاث مزارع بدون إضافة للمقارنة (Control).
٣. أعيدت الدوارق الى الحاضنة لثماني ساعات أخرى.
٤. سحب 3 مل من كل معاملة لإجراء اختبائي إنتاج الرامنوليد وتحلل الدم وأعيدت الدوارق الى الحاضنة لثماني ساعات أخرى.

حضرت تخافيف عشرية للمضادين سبروفلوكساسين (CIP) الجهاز من شركة (Turkey) Atamic Pharmaceuticals وأزيثرومايسين (AZT) الجهاز من شركة (Egypt) Riva Pharma للحصول على التخفيفين 0.05 و ٨ مايكروغرام/مل على التوالي (Skindersoe et al.,2008)، أما حامض السلسليك (SA) الجهاز من شركة GPR (England) فقد استخدم بتركيز ٥٠٠ مايكروغرام/مل.

أما زيت الورد RO الجهاز من شركة Bloom Aromatics (England) فقد أذيب في الإيثانول المطلق بنسبة ١:١ وخفف بالماء المقطر المعقم للحصول على التركيز 0.03 % ورشح بالمرشح 0.2 مايكروميتر وحفظ في درجة ٤°م (Szabo et al., 2010).

وقد أجري اختبار أولي لمعرفة تأثير إضافة هذه التراكيز على نمو المزارع السائلة بعمر ٨ ساعات للعزلات المستخدمة وعلى ضوء نتيجة هذا الاختبار الأولي اعتمدت التراكيز المذكورة. العزلات المستخدمة في الاختبار:

خضعت أربع عزلات P. aeruginosa للاختبار شملت عزلة من خمج

٥. فصلت الخلايا من وسط النمو باستخدام جهاز النبذ المركزي بسرعة 10000 دورة /دقيقة لمدة 10 دقائق.
٦. رشح الراقق بالمرشح الغشائي 0.2 مايكروميتر وحفظ في درجة حرارة - 20 °م لإجراء اختبارات إنتاج البروتين والبروتينات وإنتاج البروتينات المحلل للمكورات العنقودية (Skindersoe *et al.*, 2008).
٧. قياس تأثير المعاملات على إنتاج إنزيم البروتين:
- حضر وسط اختبار انتاج انزيم البروتين بإضافة 12.5 مل من الحليب المعقم الخالي الدسم إلى 87.5 مل من وسط الأكار المغذي المعقم المذاب والمبرد لدرجة 50°م وتم صب الوسط في أطباق بتري معقمة (Collee *et al.*, 1996). وأجري الاختبار بحسب طريقة Skindersoe وجماعته (2008) وذلك بعمل حفر في الأكار بقطر 6 مل ووضع 300 مايكروليتر من كل راسح في الحفر، وحضنت الأطباق في درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة ثم قيست أقطار المناطق الرائقة حول الحفاس تأثير المعاملات على إنتاج إنزيم البروتين المحلل للمكورات العنقودية:
- حضر معلق لخلايا جرثومة *Staphylococcus aureus* وذلك بنقل عدة مستعمرات للجرثومة النامية على وسط الأكار المغذي بعمر 18 ساعة إلى داري الفوسفات ذي الدالة الضوئي، إذ وضع في كل أنبوبة 1 مل من الراقق المعقم بالترشيح مع 0.5 مل من داري الفوسفات المعقم بالموصدة ذي الدالة الحامضية 6.3 بتركيز 0.1 مولر المحضر بحسب طريقة Plummer (1978)، وقبل إضافة المادة الأساس قيست الامتصاصية عند الطول الموجي 495 نانوميتر ثم أضيف إلى كل انبوب 0.003 غم من المادة الأساس Elastin-Congo Red (ECR) ليصبح تركيزها 2 ملغم/مل. حضنت الانابيب في الحاضنة الهزازة بسرعة 200 دورة/دقيقة في درجة حرارة 37 °م لمدة أسبوع واحد.
- أجري نبذ مركزي للمعلق بسرعة 3000 دورة/دقيقة وأخذ الراقق ورشح بالمرشح الغشائي 0.45 مايكروميتر للتخلص من ECR غير الذائب ثم قيست الامتصاصية على الطول الموجي 495 نانوميتر وتم طرح القراءة الأولى من القراءة الأخيرة للحصول على قراءة مصححة (Pearson *et al.*, 1997).
- أجري الاختبار بحسب طريقة Skindersoe وجماعته (2008) باستخدام أنابيب معقمة ذات غطاء خاصة بجهاز المطياف

النتائج والمناقشة:

في هذه الدراسة استخدمت تراكيز المضادات الحيوية الموصى بها من Skindersoe وجماعته (٢٠٠٨) وهي ٨ مايكروغرام/مل AZT، و ٠,٠٥ مايكروغرام/مل للـ CIP وهي تراكيز اقل من MIC بـ ٣٠ إلى ٣٠٠ مرة (Skindersoe et al., 2008)، أما حامض السلسليك فقد استخدم بتركيز ٥٠٠ مايكروغرام/مل وهو أعلى من التركيز المستخدم من Yang وجماعته (٢٠٠٩)، إذ استخدموه بتركيز ٢٠٠ مايكروغرام/مل، أما زيت الورد فقد استخدم بتركيز ٠,٠٣%، وهو تركيز غير مشط لنمو جرثومة *P. aeruginosa* بحسب دراستنا الحالية.

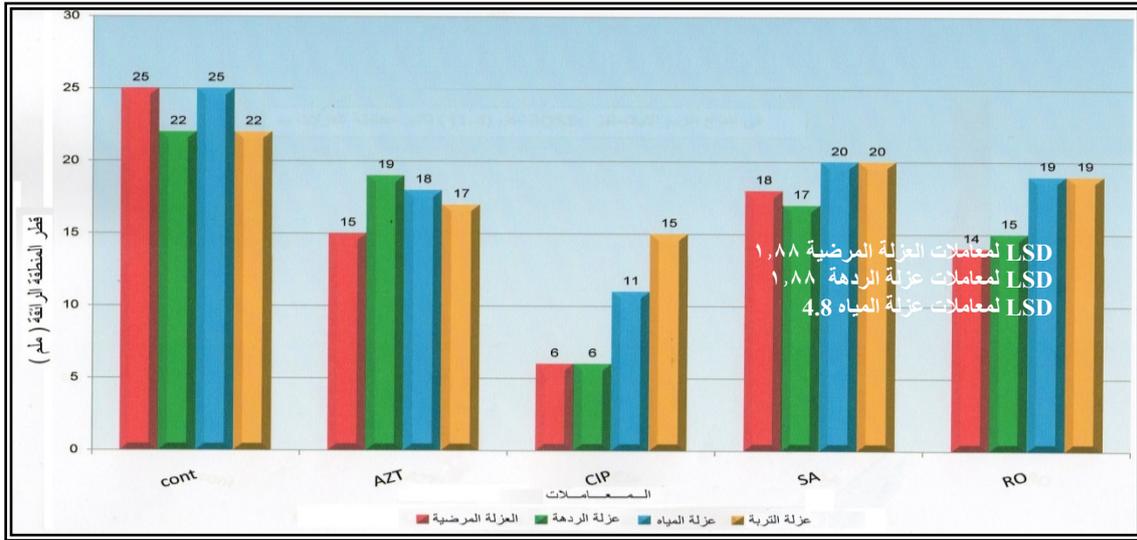
إنتاج البروتين:

بين الشكل (1) والشكل (2) أن المعاملات جميعها المستخدمة في هذه الدراسة أدت إلى تشييط إنتاج البروتين للعزلات جميعها، وكان أكثرها تشييطاً لإنتاج الإنزيم هو المضاد الحيوي CIP وكان تأثيره أشد على العزلة المرضية وعزلة الردهة من باقي العزلات.

الحامضية 8.5 وبتركيز 0.01 مولر المحضّر بحسب طريقة Plummer (1978). تم تسخين المعلق لدرجة الغليان وترك ليبرد ثم قيست الامتصاصية وضبطت كثافة المعلق للحصول على معلق ذي كثافة ضوئية 0.5 عند الطول الموجي 535 نانوميتر. أجري الاختبار بوضع 900 مايكروليتر من المعلق في أنابيب خاصة بجهاز المطياف الضوئي وإضافة 100 مايكروليتر من الراق، أما معاملة الكفاً Blank فقد أضيف إليها ماء مقطر معقم بدلاً من الراق، (أي: بدون إنزيم). وقيست الامتصاصية الضوئية لجميع الأنابيب عند الزمن 15 و 60 دقيقة وطرحت القراءة الأخيرة من الأولى ولوحظ مدى انخفاض تركيز المادة الأساس في المعاملات المختلفة (Karamanoli & Lindow, 2006).

التحليل الإحصائي:

نفذت التجارب المذكورة آنفاً باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Random Design (CRD) وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD Least Significant Difference (SAS, 2002).



الشكل (2) تأثير المعاملات على إنتاج إنزيم البروتياز

Zinc Metaloprotease هو Elastase

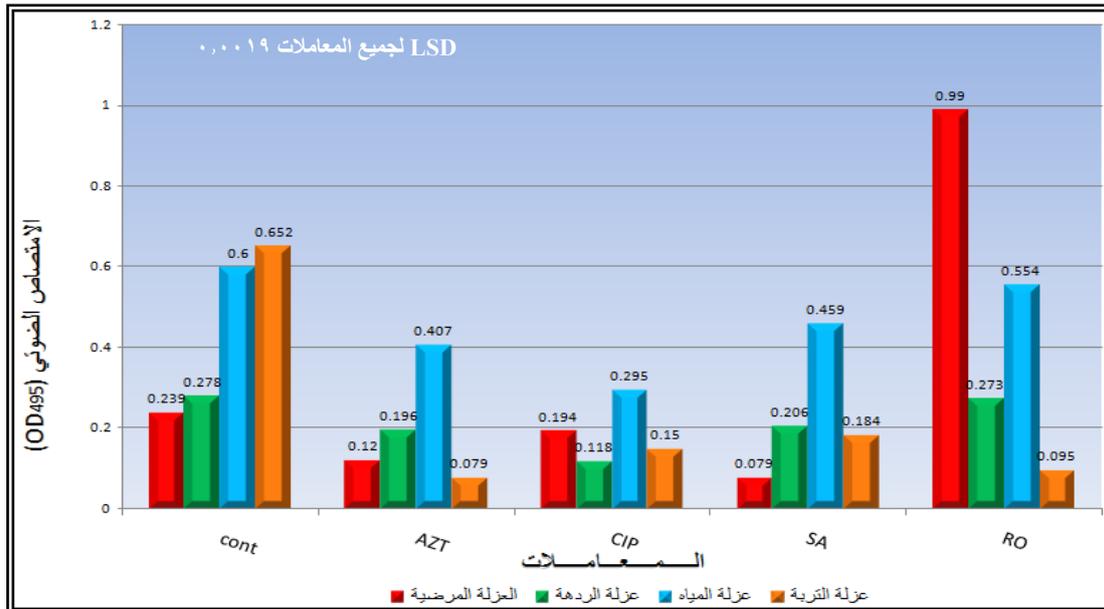
إنتاج الايلاستيز:

قادر على تحطيم مدى واسع من الأنسجة الحيوية والعوامل المناعية (Braun et al., 1996).

يوضح الشكل (3) أن المعاملات جميعها

أدت إلى تثبيط إنتاج إنزيم الايلاستيز باستثناء معاملة

العزلة المرضية بزيت الورد، ومن المعروف أن Las B



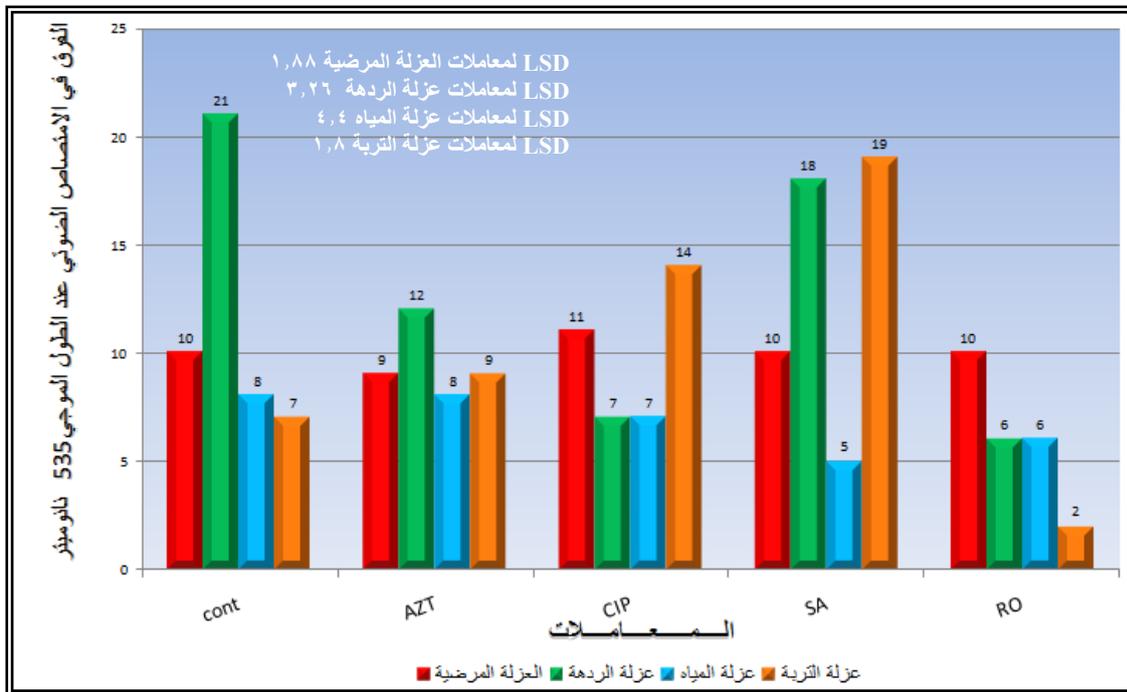
الشكل (3) تأثير المعاملات على إنتاج إنزيم الايلاستيز

أظهرت زيادة في فعالية هذا الإنزيم بوجود المركبين CIP و SA .

والإنزيم Las A هو Zinc Metaloendopeptidase ذو وزن جزيئي 20 كيلودالتون يعود إلى عائلة β -lytic Endopeptidase (Kessler, 1995).

إنتاج البروتييز المحلل للمكورات العنقودية Las A Staphylolytic Protease

يبين الشكل (4) أن المعاملات الأربعة لم تؤثر في إنتاج Las A في العزلة المرضية لكنها قللت فعاليته في عزلي الردهة والمياه إلا أن عزلة التربة



الشكل (4) تأثير المعاملات على إنتاج إنزيم البروتييز المحلل للمكورات العنقودية

بسبب كبر حجمها، لذلك يبدو أنها تظهر تأثيرها بآليات تختلف عن آليات عمل المثبتات الأخرى، مما يتيح إمكانيات جديدة ومهمة لدمج العلاج بالمثبتات ذات آليات العمل المختلفة (Skinersoe et al., 2008)، كما قد ثبتت فائدة استخدام المثبتات

عند مقارنة المواد المستخدمة في هذه الدراسة مع المثبتات المعروفة لظاهرة استشعار النصاب نجد أن المضادين AZT و CIP يختلفان تركيبياً عن جميع المثبتات الموصوفة لحد الآن، وهي جزيئات كبيرة لها الفعالة واطئة للاتحاد مع موقع الاستقبال للبروتين LasR

يعد الـ AZT مضاداً حيويًا من مجموعة الماكروليد وليس له فعالية قاتلة أو مثبطة لنمو جرثومة *P. aeruginosa* ويعمل عن طريق ارتباطه بالوحدة الثانوية 50S للرايبوسوم الجرثومي وبهذا يثبط ترجمة mRNA، أما الـ CIP فهو مضاد حيوي من مجموعة Fluoroquinolone يستخدم ضد *P. aeruginosa* وهو يستهدف إنزيم DNA gyrase (Topoisomerase II) وبهذا يثبط بناء الـ DNA (Hooper, 1999).

ويتوقع الباحثون Skindersoe وجماعته (٢٠٠٨) أن تكون الآلية التي يعمل بها المضادان AZT و CIP في تأثيرهما على نظام استشعار النصاب هي أنهما يؤديان إلى إحداث التنظيم السلبي للتعبير الجيني للمنظومة *pprB* أكثر من خمسة أضعاف وهذه المنظومة مسؤولة عن نفاذية الغشاء الخلوي الجرثومي والنواقل الموجودة فيه مما يقلل نفاذية الغشاء فيقل ضخ الإشارة الحاتمة 3-oxo-C₁₂-HSL وهذا يسبب اختزال مستوى التعبير عن الجينات المنظمة باستشعار النصاب.

ومما يدعم هذه الفرضية أن المضادين المذكورين متخصصان في التأثير على الجينات الخاضعة لسيطرة الجين المنظم *las* أكثر من الجينات الخاضعة للجين المنظم *rhl* لأن الإشارة

جنباً إلى جنب مع المركبات التقليدية القاتلة للجراثيم من خلال التجارب التي أجريت خارج الجسم الحي *In Vitro* (Rasmussen et al., 2005a) (Hentzer et al., 2003).

ان فهم الآلية المزوجة لعمل المضاد الحيوي له أهمية كبيرة في إمكانية توظيف عمل المضاد لأضعاف وليس قتل الجراثيم مباشرة مما يتيح للنظام المناعي للمضيف التخلص من الجراثيم المضعفة، وعند العودة إلى أصل المضادات الحيوية نجد أن لأغلبها مصادر طبيعية مثل أحياء التربة، ويبدو من نظرة عامة أن الهدف البيئي من وجود المضادات الحرة في البيئة هو محاربة المنافسين إلا أن الملاحظ أن تراكيز المضادات الحرة في التربة تكون أقل بكثير

من MICs، إذ وجد الباحثون Linares وجماعته (٢٠٠٦) و Yim وجماعته (٢٠٠٦) أن المضادات (بتراكيز sub-MICs) لها تأثيرات تختلف تماماً عن تأثير الجرعة العالية، فمثلاً قد تؤدي إلى تحفيز تكوين الغشاء الحيوي أو تغيير نمط الحركة أو

تزيد السمية للخلايا Cytotoxicity أو تغير التعبير عن عوامل الضراوة Hoffman et Linares et al., 2006) (al., 2005; Nalca et al., 2006).

أفاقاً جديدة لاستخدام أكثر من مشط واحد في العلاج وبتراكيز واطئة، إذ يبدو أننا لم نعد لحد الآن أهمية العقاقير المتوفرة حالياً .

أما زيت الورد فهذه أول دراسة تستهدف اختبار تأثيره على عوامل الضراوة الجرثومية *P. aeruginosa* ، إذ إن فكرة استخدام النباتات في العلاج ليست جديدة إذ أكد الباحثون أن النباتات تمتلك قابلية لا محدودة على تخليق المركبات الأروماتية، وتم عزل ما لا يقل عن ١٢٠٠٠ مركب منها ويُعتقد أن هذا العدد يمثل أقل من ١٠% من مجموع ما تنتجه النباتات من مركبات أروماتية (Demuth & Lamont, 2005)، ووجد عدد من الباحثين أن بعض النباتات البرية لا تنتج فقط مركبات مناظرة (محاكية) للحاث الذاتي لتخريب نظام استشعار النصاب للجراثيم بل إنها تستجيب للإشارات الجرثومية أيضاً (Adonizio et al., 2006; Bauer & Mathesius, 2004) أي أنها ستكون مستودعات واعدة للمركبات المضادة لاستشعار النصاب لذلك فإن التحري الكهوء عن هذه العوامل أصبح حتمياً .

وللبت في أهمية المثبطات المختبرة لأبد من الاعتماد على دراسات متقدمة باستخدام أحدث وسيلة لتحليل تخصص العقار هي Transcriptomics

الحاتة للمنظومة *rhl* وهي C_4 -HSL قادرة على الانتشار بحرية عبر الغشاء وهي بخلاف الإشارة 3-oxo-C_{12} HSL لا تعتمد على النقل الفعال (Pearson et al., Wang et al., 2003) (1999).

أما حامض السلسليك فهو حامض عضوي صغير الجزيئة تنتجه النباتات، وظيفته حث الاستجابة الدفاعية ضد هجوم الكائنات المرضية (Shah, 2003)، وهو ناتج أيضا للأسبرين ومسؤول عن خواص هذا العقار المضادة للالتهاب في الإنسان (Higgs et al., 1987)، ويعتقد الباحثون Yang وجماعته (٢٠٠٩) أنه مشط قوي للإشارة الحاتة المعتمدة على نظام PQS، وعلى الرغم من أنه ليس بقوة المثبطات المعروفة (مثل الفيورانون C-30 والباتيولين وحامض البنيسليك) إلا أن حقيقة كونه عقاراً معروفاً يستخدم لعلاج الإنسان أصلاً هو أمر ذو أهمية في التطبيقات الإضافية وتطوير العقاقير المضادة للأمراضية عموماً، إذ على الرغم من اكتشاف مثبطات كهوء تجريبياً إلا أنها ليست ذات قيمة دوائية بسبب سميتها العالية وعدم استقراريتها (Hentzer et al., 2003; Rasmussen et al., 2005a,b)، فمن المؤكد أن استخدام العقاقير المعروفة ضد استشعار النصاب أسهل من البحث عن مركبات أخرى، وإن معرفة تخصصها يفتح

Balaban, N.(2008).Control of biofilm infections by signal manipulation.Vol2., Springer, Berlin.

Bauer, W. D. and Mathesius, U. (2004). Plant responses to bacterial quorum sensing signals. Curr. Opin. Plant Biol., 7: 429-433.

Braun, P.; Tommassen, J. and Filloux, A. (1996). Role of the propeptide in folding and secretion of elastase of *Pseudomonas aeruginosa*. Mol. Microbiol., 19: 297-306.

Centers for Disease Control and Prevention, H. I. P. (2004). National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) report, data summary from January 1992-June 2004, issued October 2004: A report from the NNIS System. Am. J. Infect. Cont., 32: 470-485.

Chen, J.; Wang, B.; Lu, Y.; Guo, Y. and Wang , H. (2019). Quorum sensing inhibitors from marine microorganisms and their synthetic derivatives. Mar. Drugs, 17: 80.

Collee , J. G. ; Fraser , A. G.; Marmion , B. P. and Simmons , A. (1996) . Mackie and Maccartney , Practical Medical Microbiology, 14th ed. , The Churchill living Stone . Inc., U. S. A.

Demuth, D. R. and Lamont, R. J. (2005). Bacterial Cell-to-Cell Communication:Role in Virulence and Pathogenesis. 1st ed., Cambridge University Press.UK.

باستخدام تقنية DNA microarray وهي الوسيلة الجزيئية لدراسة التعبير الجيني العام التي من الممكن استخدامها لدراسة شبكات التنظيم الجيني المعقدة في الجراثيم والكائنات حقيقية النوى، إذ تسمح هذه التقنية بأخذ صور شمسية "Snapshots" لنمط التعبير الجيني خلال مراحل النمو والعلاج (Demuth & Lamont, 2005).

ورغم حقيقة أنه في الثلاثين سنة الماضية لم يدخل إلا مضادين حيويين إلى مجال التصنيع بسبب ظاهرة المقاومة للمضادات الحيوية إلا أن الصناعيين بخلاف الباحثين ما زالوا يأملون في مضادات حيوية ذات كفاءة عالية ولكن أخذ البعض منهم بوضع استراتيجيات لترشيد استهلاك هذه المضادات فمثلاً لمرضى الحروق والحاضنين لعلاج السرطان والإيدز المتوقع إصابتهم بجرثومة *P. aeruginosa* يُقترح أن يتم تمنيعهم أولاً بلقاح ضد هذه الجرثومة ومن ثم استخدام مشبطات استشعار النصاب ليكون الخيار الأخير في حالة فشل الخطين الأول والثاني هو استخدام المضادات الحيوية (Jagusztyn & Wyszynska, 2008).

المصادر:

Adonizio, A. L.; Downum K.; Bennett B. C.; and Mathee K. (2006). Anti-quorum sensing activity of medicinal plants in southern Florida. J. Ethnopharmacol., 105(3):427-35.

- Appl. Environ. Microbiol., 72(12):7678-7686.
- Kessler, E. (1995). Beta-lytic endopeptidases. Methods Enzymol., 248: 740-756.
- Linares, J. F.; Gustafsson, I.; Baquero, F. and Martinez. J. L. (2006). Antibiotics as intermicrobial signaling agents instead of weapons. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:19484–19489.
- Manefield, M.; Rasmussen, T. B.; Hentzer, M.; Andersen, J. B.; Steinberg, P.; Kjelleberg, S. and Givskov, M. (2002). Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. Microbiol., 148:1119–1127.
- McLean, R. J. C.; Pierson, L. S.; Fuqua, C. (2004). A simple screening protocol for the identification of quorum signal antagonists. J. Microbial. Methods, 58:351-360.
- Nalca, Y.; Jansch, L.; Bredenbruch, F.; Geffers, R.; Buer, J. and Haussler. S. (2006). Quorum-sensing antagonistic activities of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: a global approach. Antimicrob. Agents Chemother., 50:1680–1688.
- Pearson, J. P.; Pesci, E. C. and Iglewski, B. H. (1997). Roles of *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes. J. Bacteriol., 179:5756–5767.
- Hentzer, M.; Wu, H.; Andersen. J. B. (2003). Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. EMBO J., 22(15): 3803–15.
- Higgs, G. A.; Salmon, J. A.; Henderson, B. and Vane, J. R. (1987). Pharmacokinetics of aspirin and salicylate in reaction to inhibition of arachidonate cyclooxygenase and anti-inflammatory activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 84:1417-1420.
- Hoffman, L. R.; D'Argenio, D. A.; MacCoss, M. J.; Zhang, Z.; Jones, R. A. and Miller. S. I. (2005). Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. Nature, 436: 1171–1175.
- Hooper, D. C. (1999). Mode of action of fluoroquinolones. Drugs, 58: 6-10.
- Howe, R. A., and Spencer. R. C. (1997). Macrolides for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections? J. Antimicrob. Chemother., 40:153–155.
- Jaguztyn-Krynicka, E. K. and Wszyńska, A. (2008). The decline of antibiotic era-new approaches for antibacterial drug discovery. Polish J. Microbiol., 57(2):91-98.
- Karamanoli, K. and Lindow, S. E. (2006). Disruption of N-acyl homoserine lacton- mediated cell signaling and iron acquisition in epiphytic bacteria by leaf surface.

- SAS, (2002) . Statistics Users Guide for Personal Computer, SAS Institute Inc., Cary , N.C., U.S.A .
- Shah, J. (2003). The salicylic acid loop in plant defense. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, 6:365-371.
- Skindersoe, M. E.; Alhede, M.; Phipps, R.; Yang, L.; Jensen, P. O.; Rasmussen, T. B.; Bjarnsholt, T.; Tolker-Nielsen, T.; Høiby, N. and Givskov, M. (2008). Effect of antibiotics on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* . *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52 (10): 3648 – 3663 .
- Szabo, M. A. ; Varga, G. Z. ; Hohman, J. ; Schelz, Z. ; Szegedi E, Amara, L. and Molnar, J. (2010). Inhibition of quorum sensing signals by essential oils. *Phytother. Res.*, 24(5):782-786.
- Wang, Y.; Ha, U.; Zeng, L. and Jin, S. (2003). Regulation of membrane permeability by a two-component regulatory system in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47:95–101.
- Yang, L.; Rybtke, M. T.; Jakobsen, T. M.; Hentzer, M.; Bjarnsholt, T.; Givskov, M. and Tolker-Nielsen, T. (2009). Computer aided identification of recognized drugs as *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 53(6):2432-2443.
- Yim, G.; Wang, H. H. and Davies, J. (2006). The truth about antibiotics. *Int. J. Med. Microbiol.*, 296:163–170.
- Pearson, J. P.; Van Delden, C. and Iglewski. B. H. (1999). Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signals. *J. Bacteriol.*, 181:1203–1210.
- Plummer, D.T. (1978). An Introduction to Practical Biochemistry. 2nd. ed. McGraw-Hill Book Company (UK) Limited. England.
- Rasmussen, T. B. and Givskov, M. (2006). Quorum sensing inhibitors as anti-pathogenic Drugs. *Int. J. Med. Microbiol.*, 296:149-161.
- Rasmussen, T. B.; Bjarnsholt, T.; Skindersoe, M. E. Hentzer, M.; Kristoffersen, P.; Kote, M.; Nielsen, J.; Eberl, L. and Givskov, M. (2005a). Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI selector. *J. Bacteriol.*, 187:1799–1814.
- Rasmussen, T. B.; Skindersoe, M. E.; Bjarnshott, T.; Phipps, R. K.; Christensen, K. B.; Jensen, P. O.; Andersen, J. B.; Koch, B.; Larsen, T. O.; Hentzer, M.; Eberl, L.; Hoiby, N. and Givskov, M. (2005b). Identify and effects of quorum sensing inhibitors produced by *Penicillium* species. *Microbiol.*, 151:1325-1340.
- Rossolini, G. M. and Mantengoli, E. (2005). Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Microbiol. Infection.*, 11:17-32.

فصل وتشخيص عدد من الاحماض الدهنية وبعض المركبات الفينولية من بذور الكتان ودراسة تأثيرها الحيوي على نوعين من البكتريا الممرضة للنبات

علي أحمد جاسم

د . فاطمة إبراهيم سلطان الدليمي

ملخص البحث

اهتمت الدراسة الحالية بكيمياء النبات والفعالية المضادة لنوعين من البكتريا الممرضة لبذور الكتان إذ تم فصل وتشخيص بعض المركبات الفعالة من بذور نبات الكتان واختبرت فعاليتها ضد نوعين من البكتريا الممرضة للنبات والسالبة لصبغة كرام وهي: (*Agrobacterium tumefaciens, Pseudomonas savastanoi*) اذ فصل من الزيت الخام والمستخلص الايثانولي بجهاز الاستخلاص المستمر soxhlet كما استخدمت عملية الصبونة saponification لفصل بعض الاحماض الدهنية من الزيت الخام لبذور الكتان وأجريت عملية التحلل الحامضي لفصل بعض المركبات الفينولية الحرة من المستخلص الايثانولي وشخصت الاحماض الدهنية باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز-السائل Gas liquid chromatography (GLS) في حين شخصت المركبات الفينولية بجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) High Performance Liquid Chromatography حيث بينت نتائج التشخيص بتقانة الـ GLS ان بذور الكتان غنية بالأحماض الدهنية إذا تم فصل خمسة احماض دهنية من الزيت الخام المفصول وهي (البالميتك، الاوليك، اللينوليك، اللينولينك والستياريك) وبتراكيز مختلفة وكما تم تشخيص خمسة مركبات فينولية بجهاز الـ HPLC مفصولة من المستخلص الايثانولي لبذور نبات الكتان وهي (الكورستين، الكامفيرول، حامض الكالكيك، الكاتكين والبكينين) أظهرت المركبات الفعالة المفصولة (الاحماض الدهنية، الفينولات) تأثيراً تشبيطياً متبايناً ضد البكتريا الممرضة للنبات قيد الدراسة عند اختبار ذلك باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص Disc Diffusion method وقد أبدت الاحماض الدهنية المفصولة تأثيراً تشبيطياً أعلى من الفينولات المفصولة على الجرثومتين قيد الدراسة.

الكلمات الدالة: بذور الكتان، المركبات الفينولية، الفعالية البايولوجية، HPLC.

Separation and Identification of Many fatty acids and some phenolic compounds from flaxseed and study their biological effect on two types of pathogenic plant bacteria

Dr. Fatimah I. Sultan

Ali Ahmed Jasim

Abstract

The current study was concerned with plant viability and effectiveness against two pathogenic bacteria of flaxseed. Some active compounds of flaxseed were separated and tested against two types of Gram-negative bacteria: (*Pseudomonas savastanoi*, *Agrobacterium tumefaciens*). The soxhlet apparatus was used to separate the crude oil and the ethanol extract. Saponification was also used to separate some fatty acids from the crude oil of flaxseeds. The acid hydrolysis was performed to separate some free phenolic compounds from the ethanol extract. Fatty acids were identified by using gas chromatography (GLS), while phenolic compounds were identified by using high performance liquid chromatography (HPLC)

The results of the diagnosis of GLS technology showed that flaxseeds are rich in fatty acids. Five fatty acids were separated from the separated crude oil, these are Palmitic, Oleic, Lenolic, Linolenic and Setearic acid at different concentration.

In addition, several phenolic compounds with HPLC were diagnosed from the ethanolic extract of flaxseed seeds these are (Quercetin, Kaempferol, Gallic acid, Catechine, Epigene). The active compounds separated (fatty acids, phenols) Showed a differential inhibitory effect against the pathogenic bacteria of the studied plant when tested by using the Disc Diffusion method. The separated fatty acids showed a higher inhibitory effect than the separated phenols on the bacteria under study.

Keywords: Flaxseed, Phenolic compounds, Biological activity, HPLC-analysis.

ضد كائنات حيه اخرى وتسمى بالنواتج الطبيعية او

الثانوية او العرضية وغالبا ما يطلق عليها المواد الفعالة

Active ingredients (الدليمي، ٢٠١٤).

اظهرت العديد من مستخلصات النباتات

الطبية تأثيرات مضادة للعديد من الاحياء المجهرية القربل

المقدمة

تحتوي بعض النباتات والاعشاب البرية

والطبية على مركبات كيميائية ذات فائدة واهمية كبيرة

تكون نواتج ثانوية من عمليات الايض داخل النبات

تستخدم لأغراض ديمومة حياتها او الحماية والدفاع

حامض الفوليك، حامض البالميتيك، حامض الستريك، حامض الاوليك، بروتينات وألياف عالية الجودة، وكذلك الفينولات مثلحامض الكليك، الكاتكين، الكورتسسين و مركبات نشطة بيولوجيًا في الوقاية من بعض الأمراض المزمنة مثل العديد من الأنواع من السرطان والسكري وأمراض القلب والأوعية الدموية والسكته الدماغية (Bernacchia، ٢٠١٤).

تتيح النباتات الكثير من المركبات الأيضية الثانوية وتعد مصدر مهم لمبيدات الأحياء المجهرية والحشرات وتدخل في الكثير من المركبات العلاجية (Mahalingam وآخرون، ٢٠١١). واجريت العديد من الدراسات والبحوث حول التأثير المنشط لبعض النباتات الطبية وموادها الفعالة على نمو الكثير من الأحياء المجهرية الممرضة للإنسان كدراسة (Voavuthikunchai وآخرون، ٢٠٠٤).

المواد وطرائق العمل

تضمنت طرائق العمل المتبعة في الدراسة الحالية محورين أساسيين وهي محور كيمياء النبات ومحور الفعالية المضادة للأحياء المجهرية المستخدمة قيد الدراسة وكما يأتي.

محور كيمياء النبات (Phytochemistry aspect):

جمع وتصنيف النبات المستخدم في الدراسة:

clove والثوم garlic والقرفة cinnamon والميرمية sage الاقحوان marigold وبذور الكتان Flaxseed والزعتر thyme وركرت مجوث الفعالية الشببية جل اهتمامها على المركبات الفعالة المفصولة بشكل مجاميع مثل الاحماض الدهنية والمركبات الفينولية والقلويدية إذا استخدمت هذه المركبات بشكل مجاميع في المستخلصات الخامة كعقاقير الا ان تنقية وتشخيص العديد من هذه المواد الفعالة النقية ذات التأثير الاحيائي لا يزال يشغل علماء الصيدلة والكيمياء وعلوم الحياة ولا تزال الدراسات قليلة حول التنقية (Dalirsani وآخرون، ٢٠١١).

يُعرف نبات الكتان بالإنجليزية linseed أو flaxseed علمياً باسم *Linum usitatissimum*، وهو نبات حولي ينتمي لفصيلة الكنائيات، يصل ارتفاعه إلى ١٢٠ سم، له ساق نحيلة وأوراق مُبادلة رحمية الشكل خضراء اللون، وأزهار زرقاء اللون تتكون من خمس بتلات، وثمار مُستديرة جافة، وبذوره بنية أو صفراء زيتية تُصبح لزجة عندما تبتل (Jacobsz، ٢٠١٢).

تدعم الأدلة العلمية احتواء بذور الكتان لحتوى عالي من أوميغا ٣، أوميغا ٦، أوميغا ٩ وزيت غني، بحامض ألفا لينولينيك، ليغنان، حامض الاسكوربيك، رابوفلافين، نياسين، بايرودوكسين،

المذيبات المتعاقبة لذا استخدم في عملية

الاستخلاص مذيبان مختلفان القطبية وهي:

- الأثير البترولي °C (40-60).
- والإيثانول 95%.

اجريت عملية الاستخلاص في درجات

حرارية مختلفة بحسب درجة غليان كل المذيب على

الأتريد عن ٨٠ م إذا تم وضع ٧٠ غرام من مسحوق

بذور الكتان في الباج Bach في جهاز الاستخلاص

المستمر وباستخدام 250 سنتيمتر مكعب من

المذيب تم الاستخلاص بمعدل ١٦ ساعة للزيت الثابت

و٢١ ساعة للمستخلص الأيثانولي يوميا اذ تستمر

عملية الاستخلاص الى ان يصبح المذيب المستخدم في

السكسوليت عديم اللون ثم يوضع المذيب الثاني ويبدأ

الاستخلاص بنفس العملية وعلى النموذج نفسه . ويتم

تركيز المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار RVE

وفي درجة ٤٠ م ° ثم توضع المستخلصات الخام في

قناني معتمة محكمة الغلق وتحفظ في الثلاجة لحين

استخدامها لاحقا (Harbone، ١٩٨٤).

تم جمع بذور الكتان *Linum*

usitatissimum من الأسواق المحلية في مدينة

الموصل ومن مصدر موثوق وذات نقاوة عالية وجافة

وتم التحقق من تصنيفها في مديرية مشروع تطوير

النباتات الطبية في سد الموصل التابع لوزارة الزراعة

والإصلاح الزراعي العراقية وذلك بالاعتماد على

مصادر تصنيف النبات (Townsed وآخرون،

١٩٨٠ والكاتب، ٢٠٠٠).

تحضير المستخلصات النباتية الخامة

Preparation of plant extracts

تحضير بعض المستخلصات النباتية باستخدام جهاز

الاستخلاص المستمر

Preparation of Some plant extracts using Continuous Soxhlet Apparatus

• تم تحضير المستخلصات النباتية باتباع

الطريقة التي ذكرها (الدليمي، ٢٠١٤) التي

تعتمد هذه الطريقة على طبيعة المكونات

الفعالة المفصولة من النباتات وطبيعة المذيب

المستخدم في عملية الفصل وباستخدام نظام



الصورة (١): جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhlet)

حفظت النماذج التي تم الحصول عليها في

قناني زجاجية معتمة وحفظت في الثلاجة لحين

استعمالها في تجربة الفعالية الاحيائية ولإجراء عمليات

التشخيص ثم استرة (مثيلة) الأحماض الدهنية لجعلها

اقل قطبية وأكثر قابلية للتطاير عند تشخيصها بجهاز الـ

GLS وكما في الفقرة التالية (الدليمي، ٢٠١٤).

B. تحضير المثيل استر (الاسترة)**Esterification:**

أضيفت مجموعة المثيل الى الحامض الدهني

المفصول بعملية الصبونة للتحويل الى حالة اقل قطبية

وجعله أكثر قابلية للتطاير عند استعمال تقانة الـGLC

اذ حضر محلول مكون من ٠,١ مل من كلوريد الاستيل و

٢٥ مل من الميثانول ثم اضيف اليه ٠,٥ مل من الحامض

الدهني المفصول ثم وضع في حمام مائي عند درجة

الغليان لمدة ٢٠ دقيقة ثم برد في درجة حرارة الغرفة،

حفظت النماذج التي حصل عليها في قناني زجاجية

معتمة في الثلاجة لحين استعمالها وارسالها الى GLC

للتشخيص (Loury، ١٩٦٧).

فصل الاحماض الدهنية

A. عملية الصبونة: Saponification

للحصول على الاحماض الدهنية بشكلها

الحر أجريت عملية الصبونة في وسط قاعدي وفقا

(Arthur، ١٩٧٢) ولإستخلاص المواد المتصبونة

الموجودة في مستخلص الايثر البترولي الخام اذ اخذ

(١٠) غرام من المستخلص واضيف له (١٠٠) مل من

محلول (7.5, KOH) مولاري ثم اجري له تصعيد

حراري لمدة ٩٠ دقيقة وفي درجة ١٠٠°م ثم برد

المزيج الى درجة حرارة الغرفة واضيف له ١٠٠ مل من

الماء المقطر لكي يصبح بشكل مستحلب.

وضع المحلول في قمع الفصل واضيف اليه

الايثر ٢٥ x ٢ مل لإزالة الدهن غير المتصبون ثم اخذ

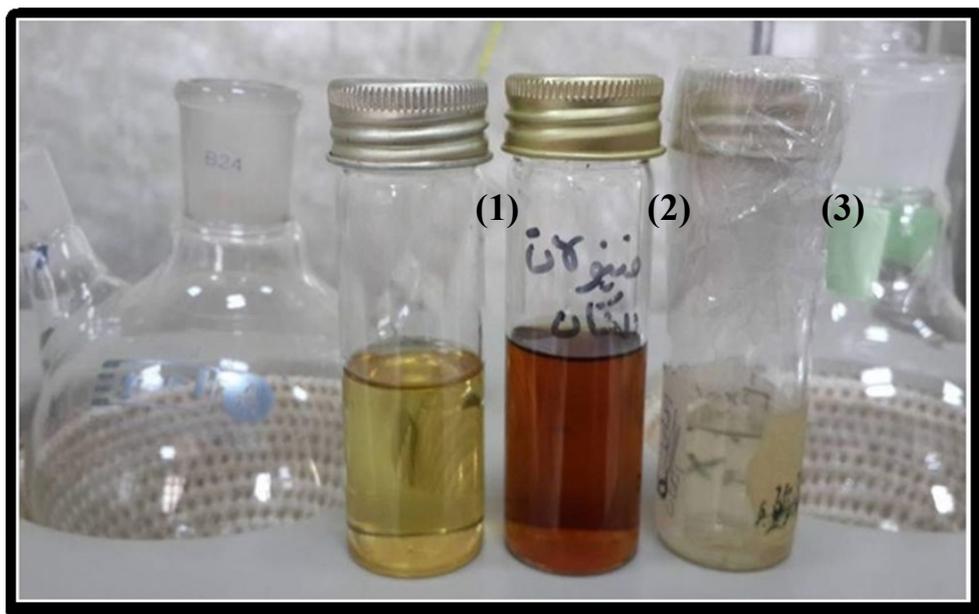
المحلول المائي (المتصبون) وحمض بـ ٢٠ % حامض

الكبريتك المركز H₂SO₄ لحين الوصول الى PH=2

واصبح المحلول رائق. استخلصت الاحماض الدهنية

بوساطة الايثر في قمع الفصل ٢٥ x ٢ مل للحصول على

الاحماض الدهنية المذابة بالايثر.



الصورة (٢): الفرق بين المركبات الفعالة المستخلصة من بذور الكتان (١) الزيت الثابت (٢) الفينولات (٣) الاحماض الدهنية.

واجري له تصعيد حراري في درجة ١٠٠ م ولمدة ساعة ثم وضع المحلول في قمع الفصل واضيف اليه ٢×١٥ مل من خلات الاثيل مع الرج جيدا بعد ذلك عزلت الطبقة العليا (العضوية) ثم جففت باستعمال كبريتات المغنيسيوم الالامائية واهملت الطبقة المائية ثم مجر خلات الاثيل بجهاز المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل ومن ثم حفظت الفينولات داخل قناني زجاجية معتمة في الثلاجة لحين استخدامها في تجربة الفعالية الاحيائية والتشخيص بجهاز الـHPLC (Harborne, ١٩٩٨).

فصل بعض المركبات الفينولية من بذور الكتان بعملية

التحلل الحامضي **Acid hydrolysis**:

أجريت عملية التحلل الحامضي لفصل الفينولات بشكلها الحر عن وحدات السكر المرتبطة بها اذ تتواجد الفينولات بداخل البذور على شكل كلايكوسيدات. اخذ ٥ مل من كل من المستخلص الالاسيتوني والايثانولي الخام المركز كل على حدا فضلا عن جز الايثانولي واضيف اليه ٢٥ مل من حامض الهيدروكلوريك (1N) HCL.



الصورة (٣): عملية التحلل الحامضي في مختبر الكيمياء للكلية التقنية الزراعية.

تشخيص المركبات الفعالة:

الفصل من نوع SP-2480 بطول 3 م وقطر

(١١/٨) انج وغاز الهيليوم He كغاز حامل

وباستخدام مدى حراري من 300-١٠٠م لمدة دقيقة

واحدة وتم رفع درجة الحرارة بمعدل 15 درجة/دقيقة

لحين الوصول الى درجة 300 م وبقيت العينة في هذه

الدرجة لمدة ٣ دقائق. وتمت القياسات في وزارة

العلوم والتكنولوجيا/ دائرة البيئة والمياه ببغداد.

تم تشخيص المركبات الفعالة المفصولة باستخدام الأجهزة الكروماتوغرافية الحديثة وكما يلي:

1. جهاز كروماتوغرافيا السائل الغازي

Gas Liquid (GLC):

Chromatography

استخدمت هذه التقنية لتشخيص الاحماض

الدهنية بالاعتماد على قيم زمن الاحتجاز

Retention time (Rt) للعينات المستخلصة

مقارنة مع زمن احتجاز المركبات القياسية.

استخدم جهاز الـ GLC من نوع

Shimadzu-14A ياباني المنشأ وباستخدام

كاشف التأين اللهبني (FID) Flame

Ionization detector واستخدم عمود

2. جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء: High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

شخصت المركبات الفينولية بجهاز الـ HPLC

من نوع LC-2010 AHTSHIMADZO

بعد تنقيتها بمرشحات غشائية قطر ٠,١ مايكروميتر.

وباستخدام الطول الموجي ٣٦٠ نانو ميتر وسرعة جريان

١,٠ ملم/دقيقة وطور متحرك

وضبط الدالة الحامضية وعقمت عند الظروف المثلى لكل وسط .

المضادات الحيوية المستخدمة قيد لدراسة
Antibiotic

استخدم في هذه الدراسة ثلاث مضادات

حيوية والمجهزة من شركة Biqan alyse

selted-TURKEY تركيبة المنشأ وهي

Amoxicillin (AX) ٢٥ مايكروغرام/قرص

Gentamicin(CN) ١٠ مايكروغرام/قرص

Ceftriaxon (CRO) ١٠

مايكروغرام/قرص .

اختبار الفعالية التثبيطية للمركبات الفعالة المفصولة:

تم الاعتماد على طريقة اختبار الحساسية

(الانتشار بالأقراص sensitivity test disk

suffusion method اتبعت طريقة (CLSI)،

(٢٠١١) في إجراء هذا الاختبار، إذ تم نقل ٣-٥

مستعمرات قنية من الجراثيم قيد الدراسة إلى وسط

المرق المغذي، وحضنت في درجة ٣٧°م ولدة ٢٤

ساعة، خفف المعلق الجرثومي بالحلول الملحي الفسلجي

وبالمقارنة مع أنبوب السيطرة القياسي لحلول مأكفرلاند

الذي يعادل 10^8 خلية/سم^٣، بعدها نقل ٠,١ سم^٣ من

المعلق الجرثومي المخفف إلى وسط أكار مولر هينتون

ونشر على سطح الوسط بشكل متجانس باستعمال

ماسحة قطنية معقمة، حضنت الاطباق في درجة

(CH3CN:D.W:orthophosphoricacid

60:35:5) وباستخدام العمود C18-ODS

وبأبعاد 25 سم * ٤,٦ ملم وفي درجة حرارة ٣٠° .

تمت القياسات في وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة البيئة

والمياه بغداد .

محور الفعالية المضادة للأحياء

Antimicrobial aspect: الدقيقة:

العزلات البكتيرية: تم الحصول على العزلات البكتيرية

المرضة من بنك الاحياء المجهرية لكلية العلوم/ قسم

علوم الحياة في جامعة الموصل اخذت العزلات الجرثومية

المرضة بمعدل ثلاث عزلات/ نوع واختيرت عزلات

سالبة لصبغة كرام وهي كالآتي:

١- *Agrobacterium*

tumefaciens

٢- *Pseudomonas savastanoi*

وتم التأكد من تشخيص العزلات بالاعتماد

على الفحص المجهرى والصفات الزراعية والاختبارات

الكيمياءحيوية .

الأوساط الزراعية: Culture media

حضرت الأوساط الزراعية الأكار المغذي

Nutrient Agar والجهاز شركة Oxoid

والمرق المغذي nutrient Broth والجهاز من

شركة Hi media حسب تعليمات الشركة المجهزة

تم تحليل البيانات إحصائياً باختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات على وفق برنامج التحليل الإحصائي SAS وباستخدام نظام التصميم العشوائي الكامل CRD. تمت المقارنة بين المتوسطات على وفق اختبار دنكن Duncun المتعدد المدى وعند مستوى معنوي $p \leq 0.01$.

النتائج والمناقشة

تضمنت النتائج والمناقشة للدراسة الحالية محورين وهي كيمياء النبات والفعالية المضادة للأحياء المجهرية وكما يلي:

محور كيمياء النبات: Phytochemistry aspect

ويتضمن هذا الجانب فصل وتشخيص عدد من المركبات الفعالة وبشكل مجاميع من النبات المستخدم قيد الدراسة وتم تحضير المستخلصات النباتية الحامة باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر وباستعمال نظام المذيبات المتعاقبة وأنظمة مذيبات مختلفة القطبية وكما هو موضح في المواد وطرق العمل.

تشخيص المركبات الفعالة المفصولة بشكل مجاميع Groups

تشخيص عدد من الاحماض الدهنية باستخدام تقنية كروماتوغرافيا السائل-الغازي-GLC

استخدمت تقنية الـGLC في تشخيص

الاحماض الدهنية لمستخلص الايثر البترولي لبذور

حرارة ٣٧°م لمدة ٣٠ دقيقة لكي يحصل التشرب، في هذه الأثناء تم اعداد الاقراص المشبعة بالمكونات الفعالة المستخلصة من بذور الكانان إذ يتم تحضير اقراص من ورق ترشيع نوع 1 Watmann No. ٦ وبقطر ٦ ملم وإضافة ١ سم^٣ من تركيز (٢٠٠، ١٠٠، ٥٠، ٢٥) ملغم/سم^٣ من المستخلصات والمكونات الفعالة إلى قنينة حاوية على ١٠ أقراص معقمة، (Shareef، ١٩٩٨ و Miladinovic، ٢٠٠٠).

ثبتت الاقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة بوساطة ملقط معقم في وسط الاكار المغذي وبمعدل ثلاث مكررات وحضنت في درجة حرارة ٣٧°م لمدة ١٤-١٦ ساعة، قدرت منطقة التثبيط أو حزام التثبيط باستخدام مسطرة مدرجة ودونت النتائج (Djipa وآخرون، ٢٠٠٠ و Nascimento وآخرون، ٢٠٠٠). بعدها تم تحديد التركيز المثبط الأدنى الذي هو أعلى تخفيف للمستخلص النباتي الذي يمنع نمو البكتريا (Forber وآخرون، ٢٠٠٧).

قورنت النتائج مع عدد من المضادات الحيوية المختارة قيد الدراسة كونها عينة سيطرة موجبة للجراثيم وذلك بالاعتماد على ما يستعمل في مختبرات الصحة العامة والمعتمدة على فحوصات منظمة الصحة العالمية (CLSI، ٢٠١١).

التحليل الاحصائي: Statistical Analysis

الكثان. ان التشخيص بقناة كروماتوغرافيا السائل-
 الغازي تعتمد على توزيع مكونات خليط المركبات بين
 طور متحرك Mobile phase وطور ساكن
 Stationary phase فالطور المتحرك غاز
 حامل Inert carrier gas اما الطور الساكن
 فيكون مادة مازة ماصة solid adsorbent
 (سعيد والغشبية، ١٩٨٥).

الاحتجاز Retention time للمستخلص
 والاجزاء مع زمن احتجاز المركبات القياسية.
 إذا استخدمت الاحماض الدهنية القياسية:
 حامض اللينوليك Lenolic acid، حامض الاوليك
 Oleic acid، حامض اللينولينك Linolenic
 acid، حامض البالميتك Palmitic acid، حامض
 الستياريك Setearic acid.

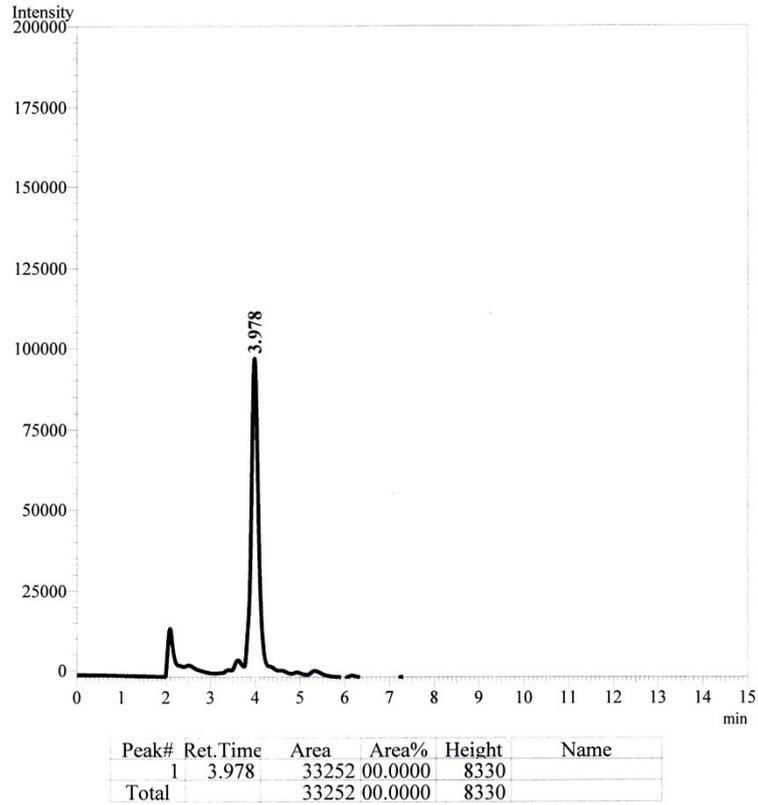
تم الحصول على منحظطات التحليل -GLC
 chromatograms وكذلك بيان التركيز لتواجد
 كل حامض من الاحماض الدهنية وقورنت نتائج زمن
 (سعيد والغشبية، ١٩٨٥).

وقد كان زمن احتجاز الاحماض الدهنية
 القياسية كما هو موضح في الجدول (١) والأشكال
 (١-٥).

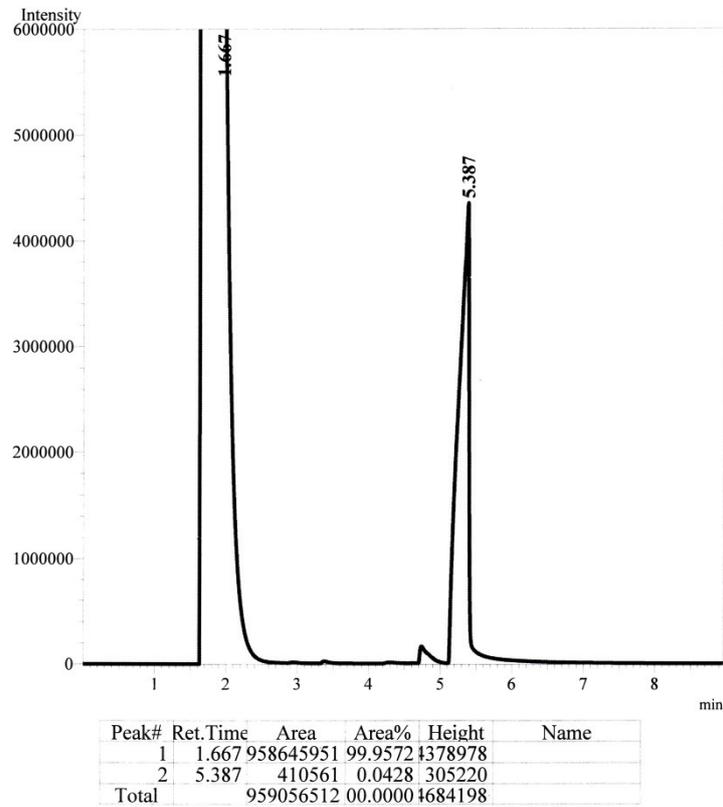
الجدول (١): قيم زمن الاحتجاز القياسي (دقيقة) للأحماض الدهنية القياسية وبموجب ظهورها باستخدام جهاز

Gas-liquid chromatography

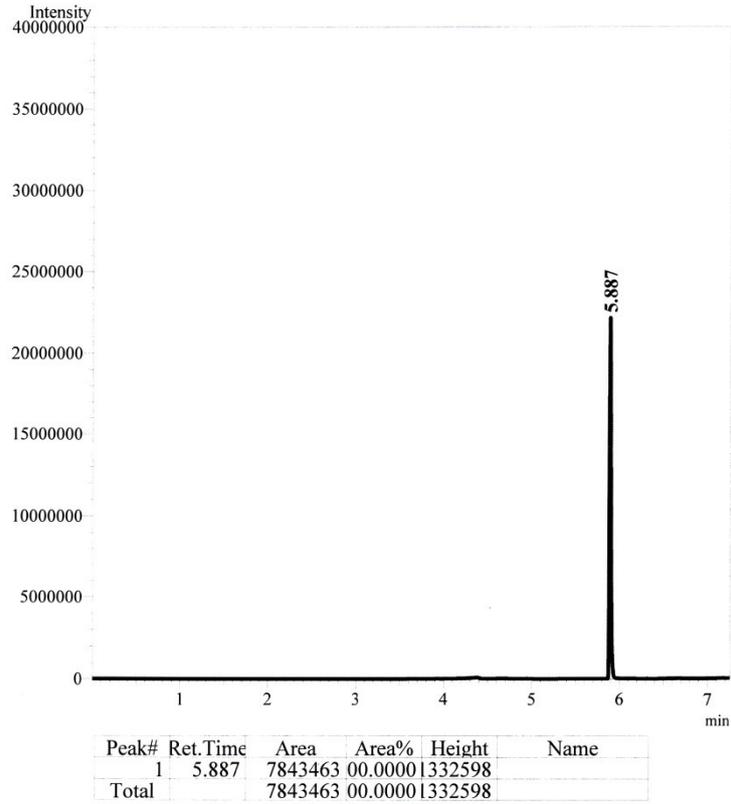
ت	المركبات	زمن الاحتجاز القياسي (دقيقة)
١	حامض البالميتك Palmitic acid	٣,٩٧
٢	حامض الاوليك Oleic acid	٥,٣٨
٣	حامض اللينوليك Lenolic acid	٥,٨٨
٤	حامض اللينولينك Linolenic acid	٧,٩٦
٥	حامض الستياريك Setearic acid	٨,٧٥



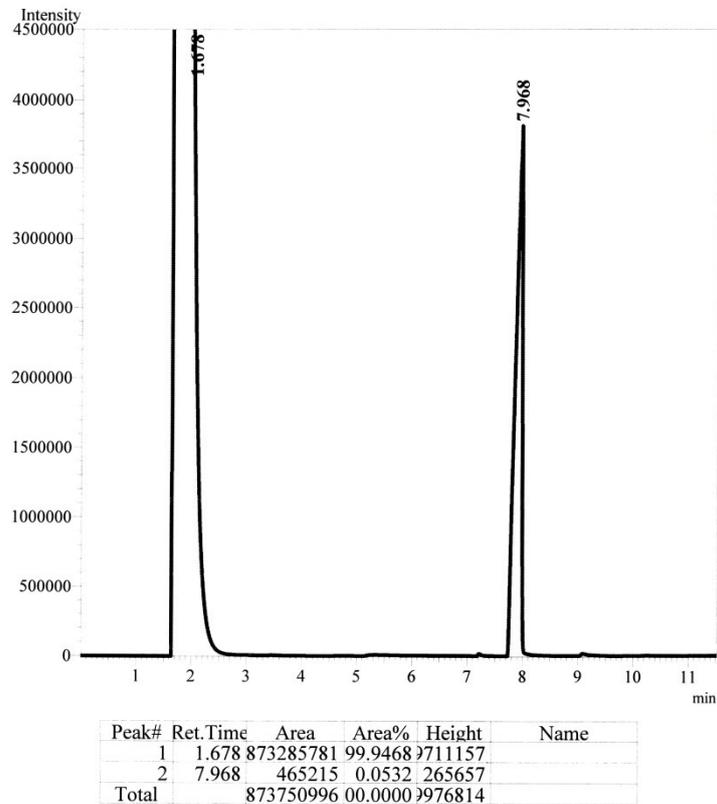
الشكل (١): المنحنى القياسي للحامض الدهني البالميتيك Palmatic acid باستخدام تقانة الـ GLC



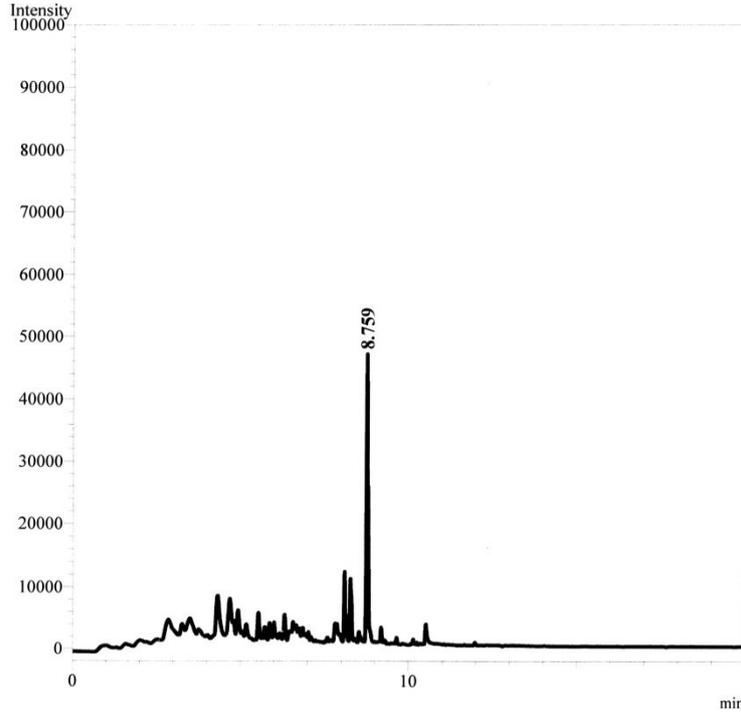
الشكل (٢): المنحنى القياسي للحامض الدهني الاوليك Oleic acid باستخدام تقانة الـGLC



الشكل (٣): المنحنى القياسي للحامض الدهني اللينولك Lenolic acid باستخدام تقانة الـGLC



الشكل (٤): المنحنى القياسي للحمض الدهني اللينولينيك Lenolenic acid باستخدام تقانة الـGLC



الشكل (٥): المنحنى القياسي للحمض الدهني الستياريك Setearic acid باستخدام تقانة الـGLC

وقد تبين ان نسبة تواجد حامض الاوليك في النبات هي الأعلى يليها بقية الاحماض المذكورة وان حامض اللينولينيك هي الأقل تواجد وهذا ما يتفق مع دراسة (Viorica وآخرون ٢٠١٢). كما تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج (Ms. Lilian وآخرون، ٢٠١٥) في احتواء بذور الكتان على الاحماض الدهنية.

وبذلك فقد احتوى مستخلص الايثر البترولي بعد صوبته على الاحماض التي تسمى بالـOmega-3 وحمض اللينولينيك هو Omega-3 وحمض اللينوليك هو Omega-6 والستياريك مع

يوضح الجدول (٢) التراكيز وزمن الاحتجاز للأحماض الدهنية المفصولة من مستخلص الايثر البترولي الزيت الثابت لبذور الكتان التي شخضت بجهاز الـGLC وكما موضح في الشكل (٦) فقد شخض في مستخلص الزيت الثابت بعد عملية صوبته حامض البالميتيك ونسبة ٠,٠٠٣١ وحمض الاوليك بنسبة ٠,٠٠٦٢ وحمض اللينولينيك بنسبة ٠,٠٠٦٣ وحمض اللينولينيك بنسبة ٠,٠٠٢٢ وحمض الستياريك بنسبة ٠,٠٠٤٥.

أما الحامض الدهني Linoleic acid فيستخدم لبناء أحماض Omega-6 الدهنية التي تعد مهمة لتشغيل جميع أنسجة الجسم بشكل طبيعي إذ توصي منظمة الصحة العالمية انه من المهم الحصول على النسب الصحيحة من هذه الأحماض الدهنية وتوصي بنسبة (٥:١) و(١٥:١) Omega-6 إلى Omega-3.

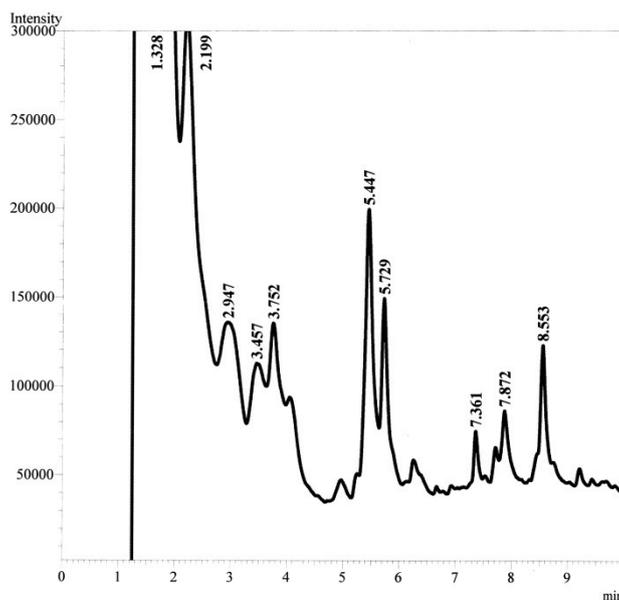
أما Omega-9 فهي عائلة من الأحماض الدهنية التي تظم اثنين من كبرى الأحماض الدهنية هما Stearic acid وOleic acid فالستياريك دهن مشبع يمكن تحويله إلى حامض الولايك الاحادي (Okuyama وآخرون، ٢٠٠٧ والدليمي، ٢٠١٤).

الاوليك هو Omega-9 والتي تمتلك فعالية عالية على صحة الانسان فمثلا Omega-3 هو حامض دهني غير مشبع يحتوي على ثلاثة أوأصر مزدوجة وله فاعلية في تخفيف الكوليسترول اذ يتكون من عنصرين مهمين هما (EPA) Epicosapentaenoic ، Docosahexaenoic (DHA) ومن فوائده انه يعزز من القدرات العقلية للرضع إذا تناولته الأم الحامل لانه يخفف من آلام المفاصل ويكبح الزهايمر ويرفع من مستوى التركيز والقدرات الذهنية للطفل ويقلل من مخاطر الإصابة بأمراض القلب ويساعد في صحة الرئة.

الجدول (٢): قيم زمن الاحتجاز (دقيقة) والتركيز (%) للأحماض الدهنية المفصولة من زيت بذور الكتان باستخدام جهاز

الـGLC

حامض الولايك		حامض الينوليك		حامض الينوليك		حامض الولايك		حامض البالمتيك		الاحماض الدهنية القياسية
8.75		7.96		5.88		5.38		3.97		Standards R _t (min)
زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركيز (%)	العينة								
٨,٥٥٣	0.0045	٧,٨٧٢	0.0022	٥,٧٢٩	0.0063	٥,٤٤٧	0.0062	٣,٧٥٢	0.0031	الاحماض الدهنية المستخلصة من زيت بذور الكتان



Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.328	739875026	99.9649	7670267	
2	2.199	166678	0.0061	31012	
3	2.947	57649	0.0021	6046	
4	3.457	60814	0.0022	9176	
5	3.752	83853	0.0031	18366	
6	5.447	170760	0.0062	46591	
7	5.729	173471	0.0063	47116	
8	7.361	64263	0.0023	20423	
9	7.872	61219	0.0022	16811	
10	8.553	122264	0.0045	35977	
Total		740835997	00.0000	7901785	

الشكل (٦): منحنيات الأحماض الدهنية التي شخصت من بذور نبات الكتان لمستخلص الزيت الحام بعد عملية

الصوبنة باستخدام تقانة الـGLC

الـHPLC من المستخلص الايثانولي بعد اجراء
عملية التحلل الحامضي والتي ذكرت بالتفصيل في المواد
وطرق العمل.

تشخيص عدد من المركبات الفينولية من النبات
المستخدم قيد الدراسة باستخدام كروماتوغرافيا
السائل عالي الاداء HPLC

تم اجراء عملية التحلل الحامضي Acid
hydrolysis للمستخلص الايثانولي لفصل الفينولات
بشكلها الحر عن وحدات السكر المرتبطة بها إذ
توجد الفينولات بداخل النبات على شكل
كلايكوسيدات. إذ تم اعداد المركبات الفينولية
القياسية وهي (الكورستين، الكامفيرول، حامض
الكالك، الكاتكين، ابيكينين).

نالت المركبات الفينولية اهتماما بالغا من قبل
العديد من الباحثين في مجال الادوية وصناعة الأغذية
وحتى مكافحة الحشرات لما لها من تأثيرات على
صحة الانسان إيجابا وسلبا ولما لها من قابلية على
تغير التفاعلات الانزيمية والكيميائية (Jelena
وآخرون، ٢٠٠٧).

إذا تم فصل وتشخيص عدد من المركبات
الفينولية في الدراسة الحالية باستخدام جهاز

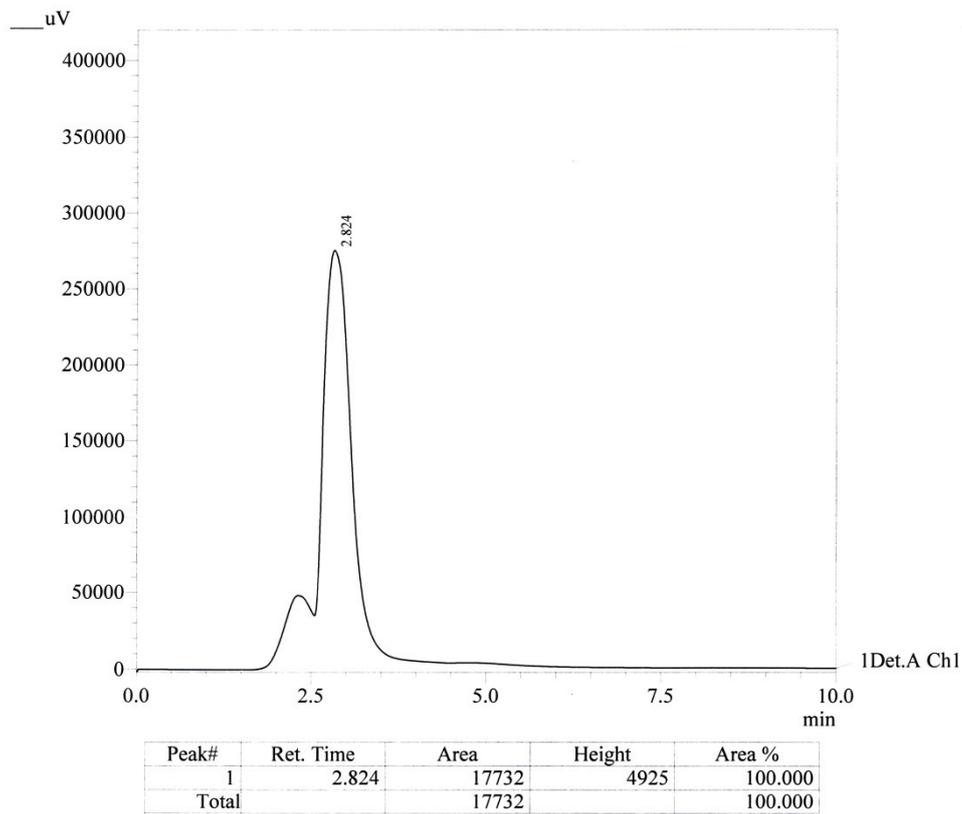
الايثانولي اختلاف في محتواه من المركبات الفينولية والتي ظهرت بتراكيز مختلفة وزمن احتجاز داخل الجهاز والمساحة تحت المنحني التي تمثل صورة لتركيز المركبات المفصولة وكما موضح في الجدول (٣) والشكل (١٢) .

جاءت نتائج الدراسة الحالية مقارنة مع (Wahid واخرون، ٢٠١٤) فضلا عن نتائج (Kastoe واخرون، ٢٠١٣) في احتواء بذور الكنان على الفينولات التي يعتقد ان لها اثرا في تداخلات مركباتها الفعالة مع بعض العقاقير الطبية (Rajwinder واخرون، ٢٠١٧) .

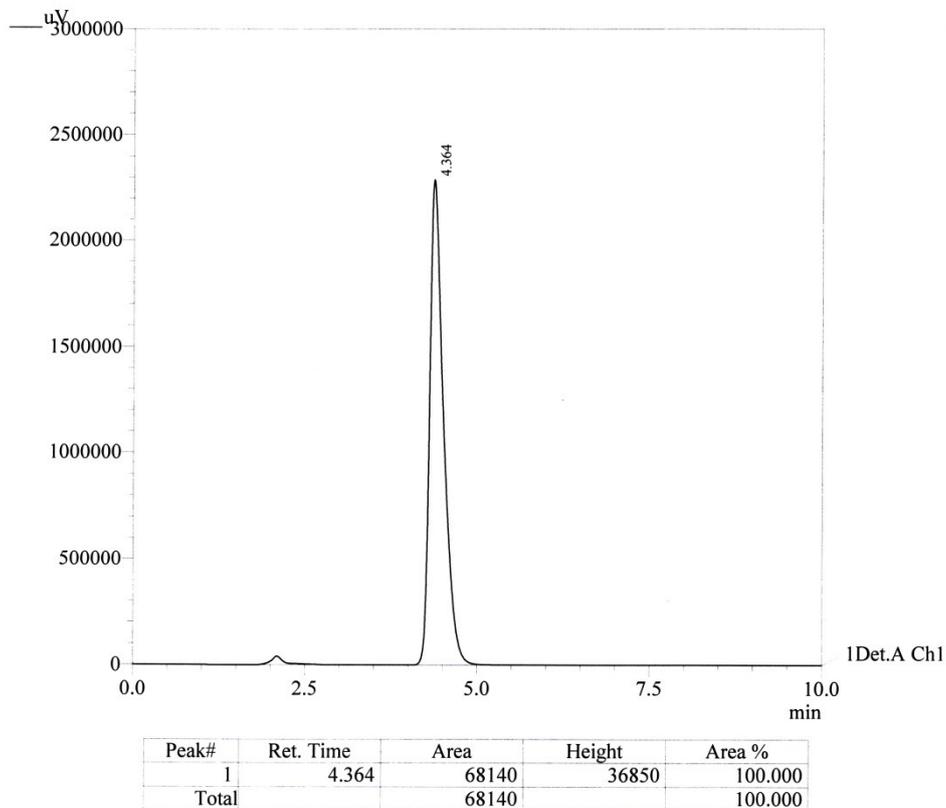
حققت المركبات الفينولية القياسية والمستخلصات النباتية الحاوية على الفينولات والمذكورة أعلاه بواقع ١ مايكروليتر في جهاز HPLC بعد إذابة ٠,١ غم من المركب القياسي أو المستخلص في ١٠ مل من الايثانول، ونتج عن عملية الفصل والتشخيص رسم منحني Peak لكل مركب فينولي قياسي كان أم خاصاً بالعينة مقروناً بزمن الاحتجاز الخاص به اذا كان زمن الاحتجاز للكورستين القياسي ٢,٨٢ دقيقة والكامفيرول ٤,٣٦٤ دقيقة وحامض الكالكين ٤,٦٩ دقيقة والكايتين ٥,٨٦ دقيقة والايبيكتين ٧,٣٣ دقيقة وكما هو موضح في الجدول (٣) والاشكال (٧-١١) . كما اظهر المستخلص

الجدول (٣): المركبات الفينولية التي شخصت باستخدام تقانة الـ HPLC بعد التحلل الحامضي للمستخلص الايثانولي والمفصول بجهاز السكسوليت لبذور الكنان .

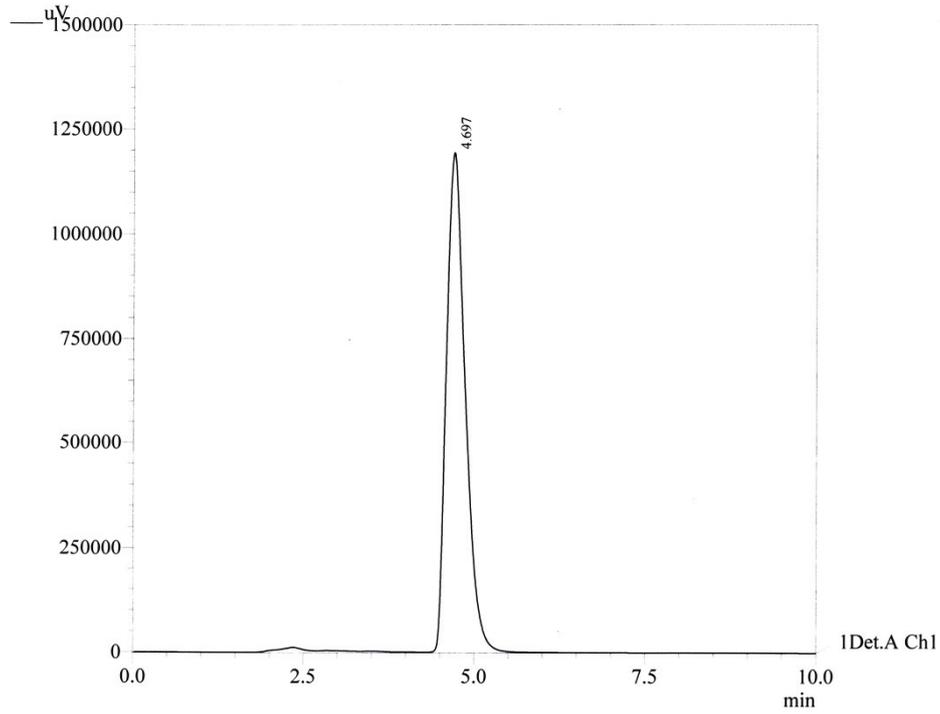
ايبيكتين		الكاتكين		حامض الكالكين		الكامفيرول		الكورستين		المركبات الفينولية
٧,٣٣		٥,٨٦		٤,٦٩		٤,٣٦٤		٢,٨٢		زمن احتجاز المركبات القياسية (دقيقة)
التركيز	زمن	التركيز	زمن	التركيز	زمن	التركيز	زمن	التركيز	زمن	العينات
(ملغم/غم)	الاحتجاز (دقيقة)	(ملغم/غم)	الاحتجاز (دقيقة)	(ملغم/غم)	الاحتجاز (دقيقة)	(ملغم/غم)	الاحتجاز (دقيقة)	(ملغم/غم)	الاحتجاز (دقيقة)	
١٠,٠٩	7.23	٣٩,٩٦	5.77	١٢,٦٢	4.82	٥,٨٤	4.26	٣١,٤٦	2.93	المركبات الفينولية المستخلصة من زيت بذور الكنان



الشكل (٧): المنحنى القياسي لمركب الكورسيتين Quercetin باستخدام تقانة الـ HPLC

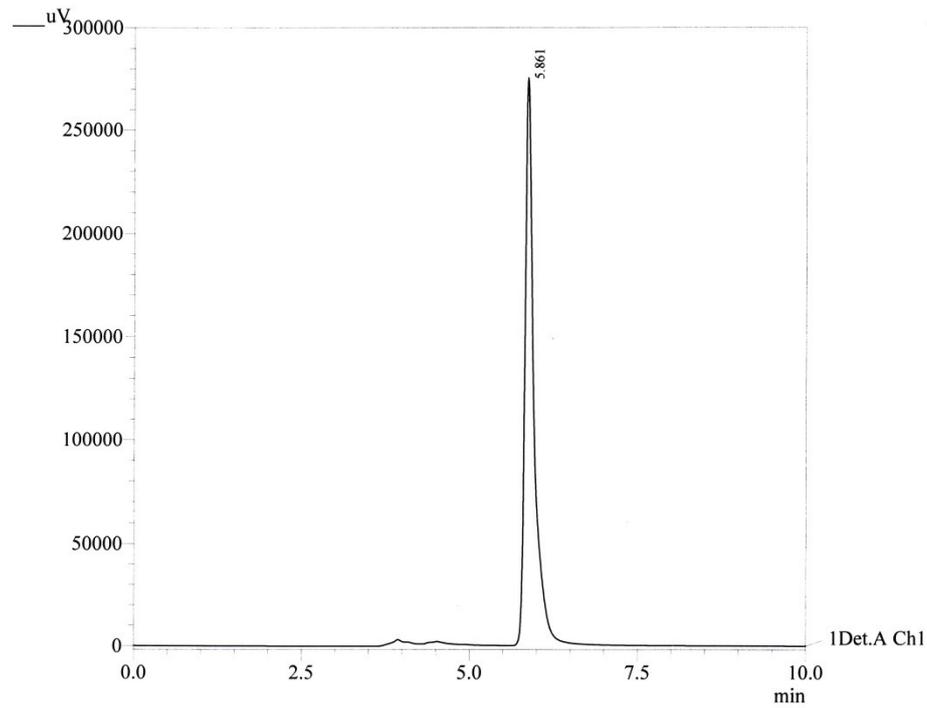


الشكل (٨): المنحنى القياسي لمركب الكامفيرول Kaemferol باستخدام تقانة الـ HPLC



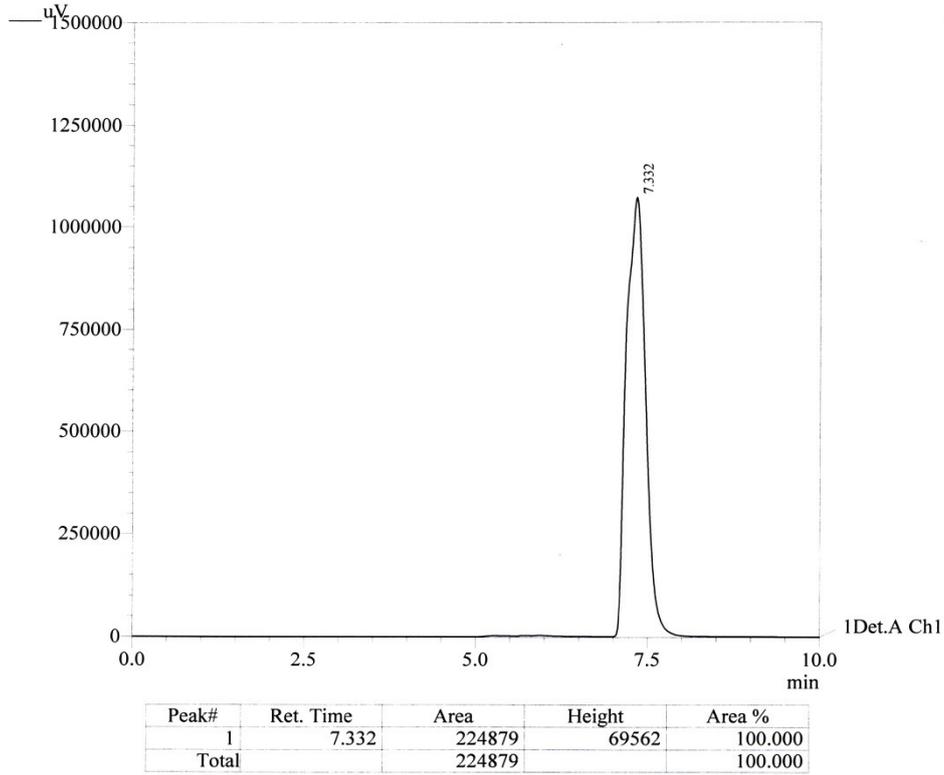
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %
1	4.697	89969	37685	100.000
Total		89969		100.000

الشكل (٩): المنحنى القياسي لمركب الكاليك Gallic acid باستخدام تقانة الـ HPLC

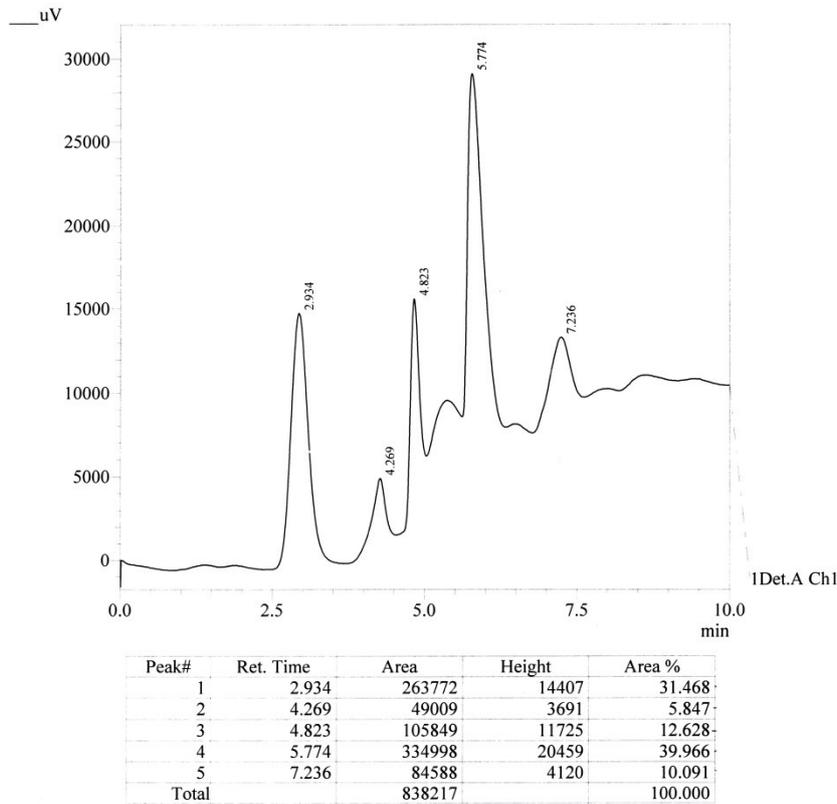


Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %
1	5.861	14108	5494	100.000
Total		14108		100.000

الشكل (١٠): المنحنى القياسي لمركب كاتيجين Catechine باستخدام تقانة الـ HPLC



الشكل (١١): المنحنى القياسي لمركب الإبيجينين Epigene باستخدام تقانة الـ HPLC



الشكل (١٢): منحنيات المركبات الفينولية المستخلصة من المستخلص الايثانولي بعد عملية التحلل الحامض باستخدام تقانة

HPLC

ضعيفة تجاه الاحماض الدهنية بالمقارنة مع المضاد الحيوي Ceftriaxon في حين أظهرت الاحماض الدهنية تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد جرثومة *Psedomonas savastanoi* مقارنة بالمضاد الحيوي Ceftriaxon. وربما يعود السبب في التأثير التثبيطي لمستخلصات الاحماض الدهنية إلى وجود حامض البالميتيك، الاوليك، اللينولينيك، اللينولييك والستياريك التي شخّصت في هذا المستخلص اذ ان الاحماض الدهنية تسبب تثبيطاً لعملية اخذ الاوكسجين ومن ثم تقليل انتاج مركبات الطاقة ATP ومن ثم موت الخلية فضلاً عن تثبيط تصنيع البروتين والاحماض النووية التي تحتاجها الخلية بصورة أساسية او تثبيط تصنيع الغشاء البلازمي وهذا ما فسره (Abd Emaged واخرون، ٢٠٠٩).

كما ان الفينولات المفصولة من المستخلص الايثانولي لبذور الكنان تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد الجرثومتين قيد الدراسة مقارنة مع المضاد الحيوي Amoxicillin وGentamicin وتأثيراً تثبيطياً جيداً ضد جرثومة *Agrobacterium tumefaciens* مقارنة بالمضاد الحيوي ceftriaxone في حين كان التأثير قليل ضد جرثومة *Psedomonas savastanoi* مقارنة

محور الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة Antimicrobial aspect جمع العزلات الجرثومية الممرضة Collection of samples

جمعت العزلات الجرثومية والمعزولة من أنواع مختلفة من النباتات المصابة ومعدل ٣ عزلات لكل نوع من الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة من بنك الأحياء الجهرية لكلية العلوم/ قسم علوم الحياة/ جامعة الموصل.

تأثير المركبات الفعالة المستخلصة من بذور الكنان في الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة مقارنة مع المضادات الحيوية القياسية وباستخدام طريقة اختبار الحساسية (الاستشار بالأقرص).

يوضح الجدول (٤) تأثير الاحماض الدهنية والمركبات الفينولية المستخلصة من بذور الكنان في الجراثيم قيد الدراسة مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية اذ أظهرت الاحماض الدهنية المستخلصة من زيت بذور الكنان تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد الجرثومتين قيد الدراسة مقارنة بالمضادات الحيوية Amoxicillin وGentamicin في حين كان التثبيط جيداً ضد جرثومة *Psedomonas savastanoi* مقارنة بالمضاد الحيوي Gentamicin وكانت حساسية جرثومة *Agrobacterium tumefaciens*

الأساسية بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات مما يؤدي مسخ البروتين ومن ثم عدم قدرة الجرثومة على الاستمرار (Wasserman و Mason ، ١٩٨٧ ، Lewis و Williams ، ٢٠١١) .

الجدول (٤): الفعالية التثبيطية للمركبات الفعالة المستخلصة من بذور الكنان ضد الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية (تركيز المستخلص ٢٠٠ ملغم/سم^٣) .

بالمضاد الحيوي ceftriaxone . اذا يعود التأثير الى المركبات الفينولية المفصولة وهي (الكورتسين، الكامفيرول، حامض الكالليك، الكاتكين والايكيتين) .
اذ ان الفينولات هي من اهم المركبات التي تثبط الجراثيم فمنها حامض الكالليك والذي يعرف على انه الأكثر تثبيطاً تجاه الجراثيم المختبرة (Shoko وآخرون، ١٩٩٩) .

كما تؤثر الفينولات في تثبيط نمو البكتريا من خلال تثبيط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الأيضية

الجراثيم		نوع المعاملة	ت
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>		
٢٠	١٩	الاحماض الدهنية المستخلصة من زيت بذور الكنان	١
١٥	٢١	المركبات الفينولية المستخلصة من المستخلص الايثانولي لبذور الكنان	٢
N	١٢	المقارنة	Amoxicillin (AX) ٢٥ مايكرو غرام /قرص
٢٠	١٥		Gentamicin (CN) ١٠ مايكرو غرام /قرص
١٥	٢٢		Ceftriaxone (CRO) ١٠ مايكرو غرام /قرص

قطر دائرة التثبيط للمستخلصات أكبر من دائرة التثبيط لمضاد المقارنة تثبيط عالي .

قطر دائرة التثبيط للمستخلصات مساويا لقطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة تثبيط جيد .

قطر دائرة التثبيط للمستخلصات اقل من دائرة التثبيط لمضاد المقارنة حساسية ضعيفة .

N: غير فعال. (Garrod وآخرون، ١٩٨١ و Vandepitte، ١٩٩١).

تأثير التراكيز المختلفة للمركبات الفعالة المفصولة ضد الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة:

يوضح الجدولين (٥) و(٦) والصور (٤) و(٥) تأثير المركبات الفعالة المفصولة وبتراكيز مختلفة ضد الجراثيم قيد الدراسة وكانت النتائج التي تم التوصل إليها كما يأتي:-

أظهرت الاحماض الدهنية المفصولة من الزيت الثابت تأثيراً تشبثياً واضحاً في الجرثومتين المستخدمتين قيد الدراسة إذ كان أعلى قطر تشبثي

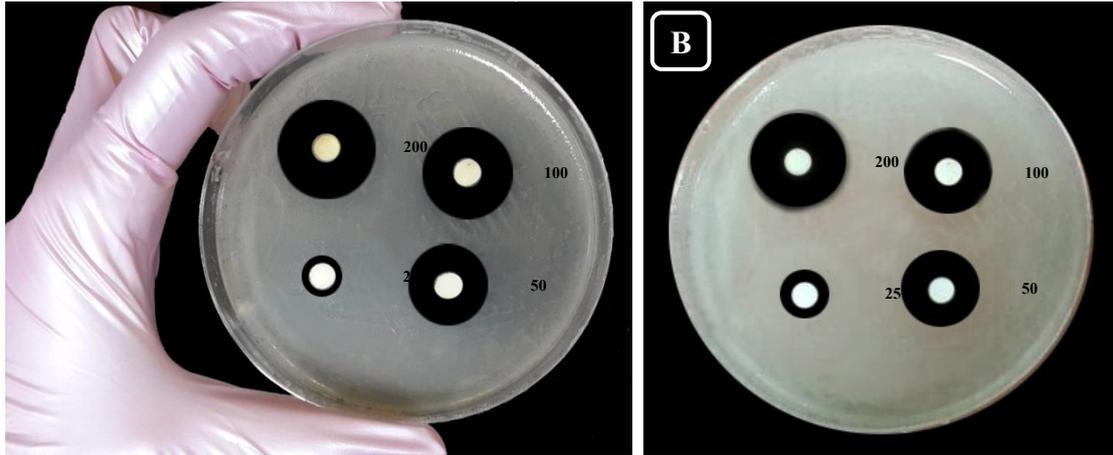
لمستخلص الاحماض الدهنية ٢٠,٣ ملم ضد جرثومة *P. savastanoi* و١٨,٣ ملم ضد جرثومة *A. tumefaciens* وبركيز ٢٠٠ ملغم/سم^٢. وقد تناسب تأثيره طردياً مع التراكيز مع وجود فروق معنوية عند مستوى فرق معنوي $p \leq 0.01$ بين معدلات اقطار التشبث لمجموعات التراكيز المختلفة اذ كانت مركبات الاحماض الدهنية مؤثرة في جميع التراكيز للجراثيم المستخدمة قيد الدراسة كما موضح في الجدول (٥) والصور (٤).

الجدول (٥): تأثير الاحماض الدهنية المفصولة من الزيت الثابت لبذور الكنان في الجرثومتين المستخدمتين قيد الدراسة

بتراكيز مختلفة

<i>Pseudomonas savastanoi</i>		<i>Agrobacterium tumefaciens</i>		التراكيز (ملغم/سم ^٢)
A	20.3	A	18.3	200
A	17.3	A	16.6	100
B	15	B	14	50
C	10.3	C	12	25

- معدل قطر دائرة التشبث حسب باستخدام ثلاث عزلات لكل جرثومة.
- الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى فرق معنوي ($p \leq 0.01$).
- قطر دائرة التشبث مقاس بالملم.
- (-) لا يوجد تأثير.



الصورة (٤): تأثير الأحماض الدهنية المفصولة من زيت بذور الكتان بتراكيز مختلفة في الجراثيم: A. A.

tumefaciens

و *P. savastanoi*

tumefaciens بمقدار ١٢,٣ ملم وأثرت بقية التراكيز باقطار تثبيط تناسب طردياً مع التراكيز وأظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى فرق معنوي في $p \leq 0.01$ بين معدلات اقطار التثبيط وتأثير كل تركيز في كل نوع من الأنواع الجرثومية وكما موضح في الجدول (٦) والصورة (٥).

أما المركبات الفينولية المفصولة من المستخلص الايثانولي لبذور الكتان فقد اظهرت تأثيراً تثبيطياً أقل مما هو عليه في الاحماض الدهنية ضد الجرثومتين المستخدمتين قيد الدراسة اذ كان أعلى تركيز ٢٠٠ ملغم/سم^٢ مثبط لجرثومة *P. savastanoi* بمقدار ١٤,٦ ملم و لجرثومة *A.*

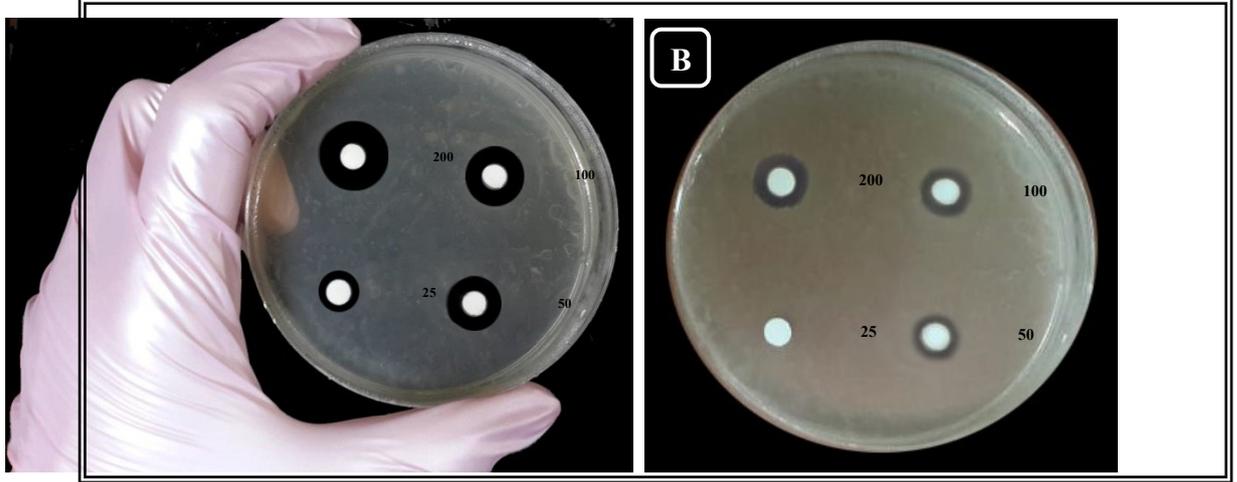
الجدول (٦): تأثير المركبات الفينولية المفصولة من المستخلص الايثانولي لبذور الكتان في الجرثومتين المستخدمتين قيد

الدراسة بتراكيز مختلفة

	<i>Pseudomonas savastanoi</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	التراكيز (ملغم/ سم ^٢)
A	14.6	A 12.3	200
A	13.6	A 11	100
B	12.3	B 10	50
C	10	C 7	25

• معدل قطر دائرة التثبيط حسب باستخدام ثلاث عزلات لكل جرثومة.

- الحروف المختلفة عموديا تعني وجود فروق معنوية عند مستوى فرق معنوي ($p \leq 0.01$).
- قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم.
- (-) لا يوجد تأثير.



الصورة (٥): تأثير الفينولات المفصولة من المستخلص الايثانولي لبذور نبات الكتان بتراكيز مختلفة في الجراثيم: *A. A. tumefaciens*

و *B. P. savastanoi*

سعيد، سمير عبد الرحيم والغبشة، ثابت سعيد

(١٩٨٥). "مدخل إلى تقنيات الفصل في

الكيمياء". مطابع جامعة الموصل، مديرية

مطبعة الجامعة، ص ٢٢٣.

الكاتب، يوسف منصور (٢٠٠٠). تصنيف النباتات

البذرية. دار الكتب للطباعة والنشر،

جامعة الموصل، العراق.

المصادر

الدليمي، فاطمة إبراهيم سلطان (٢٠١٤). "فصل

وتشخيص عدد من النواتج الطبيعية لأزهار

بعض النباتات الطبية وتأثيراتها الاحيائية

والتأزيرية مع الفينازين المعزول من جرثومة

Pseudomonas aeruginosa

ضد بعض أنواع الأحياء المجهرية الممرضة".

أطروحة دكتوراه فلسفة كلية التربية، جامعة

الموصل، العراق.

of red and brown Algae extracts.
Conference or recent
technologies in Agriculture.

Abd El-Mageid, M.M.; Salma,
N.A.; Saleh, M.A.M. and Abo
Taleb, H.M. (2009). Antioxidant
and Antimicrobial characteristics

- Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical Methods*. 3rd ed., Chapman & Hall.
- Jacobsz, M.J.; Van, W.J.C. and Merwe D.E.R (2012). *Production Guidelines for Flax, South Africa: Department of Agriculture, FORESTRY AND FISHERIES*, Page 1-6.
- Jelena, J.; Sevetlana, T. and Yatjana, (2007). "Flavonoids in plants" proceeding of the 9th symposium of flora of southeastern Serbia and Neighbouring Regions, proceeding, 3: 153-156.
- Kasote, D.M. (2013). Flaxseed phenolics as natural antioxidant, *International Food Research Journal*, 20(1): 27-34.
- Loury, M. (1967). A general method for rapid conversion of fats to methyl esters. *Rev. France. Corps. Gras.*, 14: 383-9.
- Mahalingam, R.; Ambikapathy, V. and Pauneerselvam, A. (2011). Studies on antifungal activities of some medicinal plants against *Ceratocystis paradoxa* causing pineapple disease work. *J. Sci. Tech.*, 1(7): 10-13.
- Mason, T.L.; and Wasserman, B.P. (1987). Inactivation of red beta Glucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry* 26: 2197-2202.
- Miladinovic, D. and Miladinovic, L. (2000). Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia. *Phys. Chem. and Technol.*, 2(2): 97-100.
- Arthur, I. Vogel (1972). "Practical organic chemistry including qualitative organic analysis, 3rd edition, 445.
- Bernacchia R*, Preti R and Vinci G (2014) *Chemical Composition and Health Benefits of Flaxseed*. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (2011). Performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing 21 Informational Supplement. Mo2 and Mo7, 31(1): 68-80.
- Dalirsani, Z.; Adibpour, M.; Aghazadeh, M.; Amirchaghmaghi, M.; Falaki, F.; Mozafari, P.M. and Hamzei, F.M. (2011). *In vitro* Comparism of inhibitory activity of 10 plant extracts against *Candida albicans*. *Aust. J. Basic. Appl. Sci.*, 5(5): 930-935.
- Djipa, C.D.; Delmee, M. and Quetinleclerca, J. (2000). Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). *J. Ethnopharmacology*, 71: 307-313.
- Forber, B.A.; Sahn, F.D. and Weissfeld, S.A. (2007). *Diagnostic Microbiology*. 12th ed. Mosby. P. 288-302.
- Garrod, L.P.; Lamber, H.P.; and Grady, F.O. (1981). *Antibiotic and Chemotherapy*, 5th .Ed. Churchill Livingstone, New York .
- Harborne, J.B. (1984). *Phytochemical Methods*. 2nd ed., Chapman & Hall.

- Voravuthikunchai, S.; Lortheevanuwat, A.; Jeeju, W.; Sririrak, T.; Phongpaichit, S. and Supawila, T. (2004). Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. J. Ethno. Pharmacol., 94(1): 49-54.
- Williams, D. and Lewis, M. (2011). Pathogenesis and treatment of oral Candidiasis. J. Oral Microbiol., 3: 5771-5782.
- Nascimento, C.F.; Locatelli, J.; Freitas, P.C. and Silva, G.L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistance bacteria. J. Microbiol., 31: 247-256.
- Shareef, A.Y. (1998). The molecular effect of some plant extract on the growth and metabolism of some gram positive and gram negative bacteria. Ph.D. Thesis, Coll. Sci., Univ. Mosul, Iraq.
- Shoko, T.; Soich, T., Megumi, M.M.; Eri, E.; Jun, K. and Michika, W. (1999). Isolation and identification of an antibacterial compound from grape and its application to foods. Noppon Nogeikagaku Kaishi, 73: 125-128.
- Townsend, C.C.; Geuest, E.; Omar, S.A. and Al-Khayat, A.H. (1980). Flora of Iraq, Vol. 8, Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad.
- Vandepitte, J.K.; Piot, P.; and Heuk, C. (1991). Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology .World Health Organisation Geneva.
- Viorica-Mirela Popa^{1*}, Alexandra Gruia², Diana-Icoleta (2012) Raba¹, Delia Dumbrava, Camelia Moldovan¹, Despina Bordean¹, Constantin Mateescu "Fatty acids composition and oil characteristics of linseed (*Linum Usitatissimum* L.) from Romania" Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 18 (2), 136-140.

تأثير المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان على جرثومتي
Staphylococcus aureus , *Staphylococcus epidermidis*

جمال محمد حسين

رنا إبراهيم خليل

م.م أسيل عصام

الملخص

استهدفت الدراسة بيان مدى التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لقشور الرمان Alcoholic Pomegranate Peel Extract على جرثومتي *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* واختيار اقل تركيز يعمل على تثبيط تلك الجراثيم بتركيز مختلفة ، اذ تم اجراء هذا الاختبار على وسط Mueller Hinton agar الملقح بجرثومتي الفحص بتركيز 10^{-7} وحدة تكوين المستمرة / مل باستخدام فحص حساسية الاقراص المشبعة بتركيز (12.5, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 750) ملغم / ملم للمستخلص ومن ثم قياس مدى التأثير التثبيطي للمستخلص اعلاه.

بينت الدراسة أن تركيز المستخلص ذو التركيز العالي له مدى تثبيط اعلى من الاخر تجاه الجرثومة وهكذا بالتعاقب أي أن التركيز 750 كان هو المدى الاعلى في التثبيط وبدوره تبين أن المستخلص العالي التركيز ذو تثبيط اعلى نحو *Staphylococcus epidermidis* من *Staphylococcus aureus* وبنفس الوقت تم المقارنة بين فعالية المستخلص المستخدم في الدراسة مع فعالية المضاد الحيوي (Gentamicin) تجاه الجراثيم قيد الدراسة.

Abstract

Our study aims to assess the inhibition effect of pomegranate peel extract towards *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and choose the less concentration works to inhibition of these bacteria, has been done this test upon the Mueller Hinton agar that inoculated of bacteria by concentration 10^{-7} cfu/ml by using test of discs sensitivity 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, , with concentration of extract (12.5 750) mg/ml . The inhibition effect of the extract was measured .

The study showed the highest concentration of extract is more to inhibition of bacteria was another , the concentration of 750 was more against of *Staphylococcus epidermidis* from *Staphylococcus aureus*. In the same time ,that extracts showed activity them compared with the (Gentamicin) against used bacteria. antibiotic

على نمو الأحياء المجهرية وبالتالي امكانية استخدامها في علاج بعض الأمراض الناتجة من الإصابات الميكروبية المختلفة، فعلى الصعيد المحلي اجريت عدة دراسات حول تأثير المستخلصات النباتية على المايكروبات.

أما نبات الرمان فتزرع أشجارها لإنتاج الفاكهة وليس لأغراض طبية ولكن وجد ان له فوائد طبية عديدة وكل جزء من اجزاء نبات الرمان له خواص علاجية مختلفة اذ تستعمل قشوره في علاج أمراض البطن والاسهال لاحتوائها على مواد دابغة للمعدة، وجسم الثمرة مقوي للقلب والمعدة والبذور مفيدة للمعدة أما عصير الثمرة فهو مرطب ومبرد والمواد الفعالة فيه تشمل القلويدات ومواد دباغية و *Punicin* ومادة مرة *Gallotannin*, ومواد فعالة اخرى. (Pradeep *et al.* 2008) اضافة الى ما ذكر فان لقشور الرمان استخدامات علاجية عديدة فهو يعتبر من أشد الادوية قتلاً للديدان الشريطية كما تستخدم في علاج الزحار وغيرها (Naz *et al.*, 2007).

المقدمة

النباتات بمختلف أنواعها وأشكالها مخلوقات سخرها الله عزوجل لتكون معيناً للإنسان والكائنات الحية الأخرى على الحياة، فمنها ما هو غذاء وكساء ومنها ما هو مفيد في القضاء على الأمراض المختلفة. يعد الرمان من الفواكه المنتشرة في منطقتنا العربية وينتمي للعائلة الرمانية *Punicaceae* ومن الجنس *Punica*. بعد النضج تعطي الثمار بذور غضة مشحمة مملوءة بعصارة سكرية. وهناك عدد من الدراسات التي تثبت أن نبات الرمان يحتوي على بعض المواد المثبطة لنمو بعض أنواع البكتيريا المسببة لأمراض الجهاز الهضمي والبولي وغيرها. (Braga *et al.*, 2005).

لقد ازداد الاهتمام في السنوات الاخيرة بالنباتات والاعشاب الطبية باستخدامها كمصادر رئيسية لإنتاج العقاقير الطبية أو كمصدر للمواد الفعالة التي تدخل في تركيب الدواء كما تستعمل كمادة خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية وفي إنتاج بعض المواد الدوائية، فقد تناولت كثير من الدراسات تأثير المستخلصات النباتية

والبيونيكالين (punicalin) ،
والبيدنيكولاجين (pedunculagin)، وحامض
الجاليك (gallic acid) ، وحامض
الإلاجيك (ellagic acid)، وتمثل حوالي 92
% من مضادات الأكسدة الموجودة في بذرة الفاكهة (Ismail et al. 2012)

تحتوي قشور الرمان التي يقوم أكثر الناس
بالتخلص منها على مضادات أكسدة أكثر بكثير من
اللبن، ولذلك يمكن أن يعتبر مكملًا غذائيًا من
مستخلص قشور الرمان والتي ستكون أكثر فائدة من
مستخلص لب الرمان نفسه (Li et al., 2006).
(. فقد تمت دراسات عديدة داخل العراق على
الرمّان في معالجة الفطريات كدراسة عبيد واخرون)
2013) ونظرًا لأنواع المركبات الكيميائية التي تحويها
قشور ثمار الرمان وفوائدها الكثيرة فيمكن معالجة
العديد من الأمراض ، لذا يهدف البحث الحالي إلى
تقييم فعالية المستخلص الكحولي لقشور ثمر الرمان على
الجراثيم الموجبة لصبغة كرام المرصّة للإنسان في مدينة
الموصل وامكانية استخدامها كمضادات حيوية فعالة
ضد البكتريا بدون اضرار جانبية .

المواد وطرائق العمل

ويعتبر مسحوق قشور الرمان ذو فعالية في تثبيط
الفطريات وبعض الاحياء المجهرية الأخرى وتأثير
مستخلصها لتثبيط بعض البكتريا الموجبة والسالبة
لصبغة كرام.

وتعد بكتريا الـ *Staphylococcus* بكتريا
كروية موجبة لصبغة كرام تحتاج O_2 في نموها وتكون
مخمرة لسكر اللاكوز وتنمو على وسط يحتوي على
(١٥-٤٥%) NaCl . وتعتبر المكورات العنقودية
الذهبية *Staphylococcus aureas* احد
الاسباب الرئيسية للخمج البكتيري وتسبب اصابات
عديدة في الجسم وتصنف المكورات العنقودية العائلة
Staphylococcaceae وتكون المكورات
الذهبية مستعمرات كبيرة صفراء على الاوساط الغنية
اما المكورات العنقودية الجلدية تكون بيضاء على
الايوساط الزرعية الغنية وتكون في الجسم وتكون ذات
امراضية عالية في بيئة المستشفيات (Utterback
, 2005).

يتميز قشر الرمان الذي يكون حوالي 26% إلى
30% من وزن الثمرة باحتوائها على كميات كبيرة من
مضادات الأكسدة كالمركبات الفينولية مثل مركبات
الفلافونويد (flavonoids) الأنثوسيانين
(anthocyanins) والكاتيكين (catechins)
، بالإضافة إلى مركبات التانين (tannins)

على ٢٠٠ ملغم /مل ومنها تم تحضير التراكيز
والتخافيف المختلفة وكالاتي :

12.5, 25, 50, 100, 200,)mg\ml
(300, 400, 500, 600, 750
(Nascimento et al.,2000)، الجنابي
(2004،

أستخدم فحص حساسية الاقراص على
وسط Mueller Hinton agar المزروع
بالجراثيم قيد الدراسة بتركيز 10 وحدة تكوين
المستمرة / مل وان تلك الاقراص معمولة من ورق
الترشيح بقطر 0.5 mm وبظروف تعقيمية وتم
غمر تلك الاقراص بالتركيز المذكورة أعلاه ومن ثم
وضع تلك الاقراص على الاوساط الزرعية السابقة
الذكر وقراءة النتائج وتسجيلها بعد الحضانة ٢٤ ساعة
ب ٣٧ درجة مئوية (Joseph et al. 2008) ،
وتم أيضا استخدام المضاد الحيوي Gentamicin
(500mg) كمقارنة موجبة (positive
control) والحلول الفسيولوجي N.S. كمقارنة
سالبة (Controlnegative) .

النتائج والمناقشة

تستخدم مجموعة من الاعشاب والنباتات في
الكثير من البلدان كعلاج بديل عن الادوية التقليدية في
محاولة بسيطة لوضع لبنة قد تكون نقطة انطلاق

العزلات الجرثومية :-

في هذه الدراسة تم اختيار نوعين من الجراثيم
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis، وتم
الحصول عليهما من مستشفى السلام بالموصل وتم
عندئذ إعادة تشخيصها للتأكد واخيرا تم
استخدام وسط الـ *Manitol salt agar*
لتفريق *Staphylococcus*
epidermidis عن *Staphylococcus*
aureus و استخدام فحص الـ *Coagulase*
وفحص الـ *API* للتشخيص الدقيق لنوعا الجراثيم
المستخدمة في الدراسة وفحص الـ *Catalase*
لتفريقها عن الـ *Strptococcus* . ()
(Finegold and Martin , 1986

تحضير المستخلصات والتخافيف:-

تم تحضير المستخلصات الكحولية لثمار قشور
الريمان بجمع قشور الريمان منزليا وتجفيفها يدويا في الظل
ووجود تيار هوائى مناسب ومن ثم طحنها ووزنها
واستعملت في تحضير المستخلص الكحولي حسب
طريقة Grand et al., 1988. اما التراكيز
والتخافيف المختلفة فتم تحضيرها باضافة ١ غرام من
المستخلص ال ٥ مل من الماء المقطر المعقم للحصول

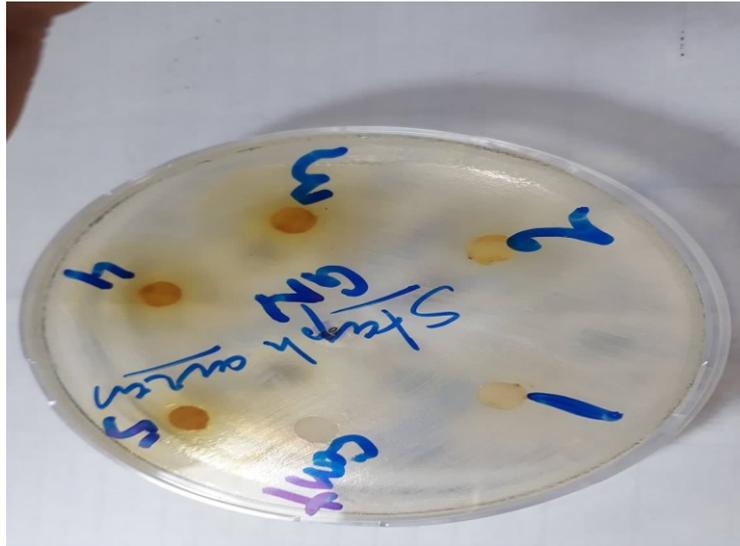
حيث يوضح الجدول (١) اقطار تثبيط نمو الجرثومة *Staphylococcus aureus* ،اذ ظهرت اقطار التثبيط عند التركيز (12.5، 25، 50، 100، 200، 300، 400، 500، 600، 750) ملغم/مل بمعدل (12.5، 14، 14، 15، 20، 20، 23، 23) ملغم لـ *Staphylococcus aureus* على التوالي حيث تلاحظ زيادة قطر التثبيط للبكتريا بزيادة تركيز المستخلص وهكذا للتجافيف كلها و لقد تم حساب المعدل للتثبيط حيث كانت معدلات التثبيط (11.7، 13.5، 15، 17، 18، 20، 2321.5، 21، 21.5) ملغم على التوالي مما يدل على فعالية هذا المستخلص ضد هذا النوع من الجرثومة وكما موضح في الجدول (١) والصور (٢١).

للدراغين في فهم طبيعة عمل هذه النباتات والاعشاب ومعرفة مكوناتها الفعالة وكيفية تداخلها في الجسم وذلك حتى يتم وضع أسس جيدة تسهم فعلا في الاستفادة من بعض هذه النباتات والابتعاد عما هو غير مفيد والذي قد يكون ضار أحيانا .
هنالك العديد من الأبحاث على قشور الرمان، اذ تعد دراستنا من الدراسات المهمة حول تأثير مستخلص قشور لرماني نمو وتكاثر بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* اذ تبين من الدراسة الحالية ان لمستخلصات قشور ثمرة الرمان الكحولي فعلا مثبطا ملحوظا على نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* بنوعها باستخدام فحص حساسية الاقراص على وسط Mueller Hinton agar وقد لوحظ تباين في حساسية الجرثومة المذكورة للمستخلص الكحولي والذي اختلف باختلاف تركيز المستخلص المستخدم في الدراسة.

جدول رقم (1) التأثير التثبيطي لمستخلص قشور الرمان الكحولي على *Staphylococcus aureus* مقارنة مع المضاد الحيوي الجنتاميسين.

المعدل ملغم	<i>Staphylococcus aureus</i>			البكتريا التركيز ملغم/مل
	المكرر الثالث ملغم	المكرر الثاني ملغم	المكرر الاول ملغم	

11.7	11	12	12.5	12.5
13.5	13	13	14	25
15	15	16	14	50
17	17	18	15	100
18	17	18	19	200
20	20	20	20	300
23	23	23	23	400
21.5	22	20	20	500
21	20	22	23	600
21.5	20	20	24	750
10.1	10	10.2	10.1	تركيز المضاد الجنتاماسين 500



التركيز ٣٠٠ ملغم /مل والرقم ٤ الى التركيز ٤٠٠ ملغم
/مل والرقم ٥ الى التركيز ٥٠٠ ملغم /مل من
المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان.

صورة رقم ١: توضح مناطق تثبيط بكتريا
Staphylococcus aureus مقارنة مع
المضاد الحيوي اذ يشير الرقم ١ الى التركيز ١٠٠ ملغم/
مل والرقم ٢ الى التركيز ٢٠٠ ملغم/مل والرقم ٣ الى



للمستخلص اقل وكما زاد تركيز المستخلص زادت قوة التثبيط وكما موضح في الجدول رقم (٢) وكانت النتائج (7.5 ، 12.5 ، 19 ، 23.5 ، 27.5 ، 30، 30، 30، 35 ، 30) ملغم على التوالي وعند حساب المعدل للمكررات الثلاثة كانت النتائج كالتالي (7.5، 12.5، 19، 23.5، 27.5، 30، 30، 31.5، 34.5، 35) ملغم حيث نلاحظ ان كلما زاد تركيز المستخلص زادت منطقة التثبيط للبكتريا وكما موضح في الجدول رقم (٢) والصور (٣ و٤).

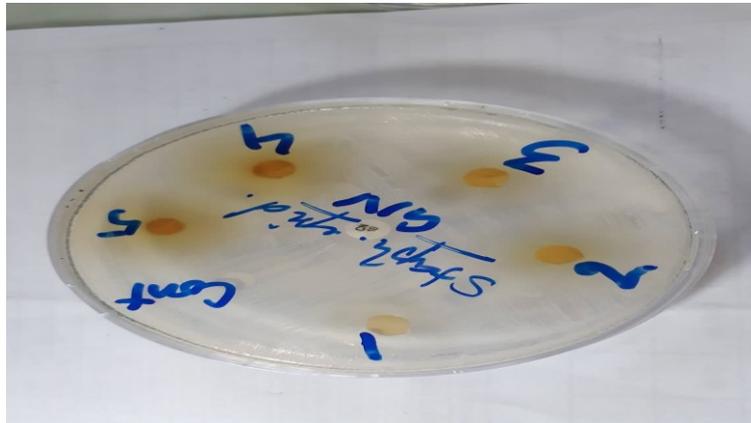
صورة رقم ٢: توضح مناطق تثبيط بكتريا *Staphylococcus aureus* مقارنة مع المضاد الحيوي اذ يشير الرقم ٣ الى تركيز ٣٠٠ ملغم/مل والرقم ٤ الى التركيز ٤٠٠ ملغم/مل والرقم ٥ الى التركيز ٥٠٠ ملغم/مل والرقم ٦ الى التركيز ٦٠٠ ملغم/مل والرقم ٧ الى التركيز ٧٥٠ ملغم/مل من المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان.

أما فيما يخص الـ *Staphylococcus epidermidis* فنلاحظ تأثيرا أكبر للمستخلص على البكتريا، ففي التركيز القليلة كان التأثير التثبيطي

جدول رقم (2) التأثير التثبيطي مستخلص قشور الرمان الكحولي على بكتريا *Staphylococcus*

epidermidis مقارنة مع المضاد الحيوي الجنتاميسين

المعدل ملغم	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			البكتريا التركيز ملغم/مل
	المكرر الثالث ملغم	المكرر الثاني ملغم	المكرر الاول ملغم	
7.5	9	6	7.5	12.5
12.5	12	15	12.5	25
19	15	20	19	50
23.5	21	23	23.5	100
27.5	27	28	27.5	200
30	30	30	30	300
30	30	30	30	400
31.5	32	32	33	500
34.5	34	33	35	600
35	35	40	30	750
26	26	27	25	تركيز المضاد الحيوي الجنتاميسين 500



والرقم ٣ الى التركيز ٣٠٠ ملغم /مل والرقم ٤ الى
التركيز ٤٠٠ ملغم /مل والرقم ٥ الى التركيز ٥٠٠ ملغم
/مل من المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان .

صورة رقم ٣: توضح مناطق تثبيط بكتريا
Staphylococcus epidermidis
مقارنة مع المضاد الحيوي اذ يشير الرقم ١ الى التركيز
١٠٠ ملغم/ مل والرقم ٢ الى التركيز ٢٠٠ ملغم/مل



الرمان تأثير ضد الجراثيم الممرضة وكما اثبتته عبد الرحمن (1995) ،باقر (1997) والهمامي وآخرون (2016)، والجنابي (2018) و Nozohour et al., 2018 والسبب يعود الى أن المستخلص الكحولي يعد مديا ممتازا لأغلب الاعشاب الطبية وتفقو فعاليته المستخلصات المائية والكلورفورمية لكون المادة الفعالة التي تؤثر على الجرثومة تذوب في المذيبات العضوية أكثر من ذوبانها في الماء (Buwa & Staden, 2006) وأن المستخلص الكحولي أبدى فعالية تثبيطية ضد الجرثومة وتلك الفعالية مشابهة لبعض أنواع المضادات الحيوية وهذا ما اثبتته المحنة (2002) الذي أثبت أن المستخلصات الطبية النباتية تفوق كفاءتها المضادات الحيوية اذا ما استخدمت بشكل صحي ودقيق .

صورة رقم ٤: توضح مناطق تثبيط بكتريا *Staphylococcus epidermidis* مقارنة مع المضاد الحيوي اذ يشير الرقم ٣ الى تركيز ٣٠٠ ملغم/مل والرقم ٤ الى التركيز ٤٠٠ ملغم/مل والرقم ٥ الى التركيز ٥٠٠ ملغم/مل والرقم ٦ الى التركيز ٦٠٠ ملغم/مل والرقم ٧ الى التركيز ٧٥٠ ملغم/مل من المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان.

بينت دراستنا ان زيادة تركيز المستخلص تناسب بصورة طردية مع قطر التثبيط للنمو البكتيري . وكان قطر التثبيط ذو نطاق واسع على *Staphylococcus epidermidis* من *Staphylococcus aureus* كما موضح في الجداول (١) و(٢) .

وهذه النتائج تؤكد ما توصلت اليه بعض الدراسات التي أكدت على أن لمستخلصات قشور

الجرام .مجلة جامعة أربا (العلوم البحثية والتطبيقية) المجلد الخامس عشر.

المصادر

٤- باقر،معد غالب (1997) تأثير قشور الرمان وبعض النباتات الطبي المضادة للجراثيم والفطريات المرضية .رسالة ماجستير ،كلية التربية ، جامعة البصرة.

٥- عبد الرحمن ،غادة يونس .(1995). تأثير بعض النباتات الطبية والمواد الكيميائية على نمو الجراثيم المرضية . المجلة العراقية للعلوم البيطرية . المجلد الثامن . 108 ص.

٦- عبيد، زينة هادي. محمود، نور. مزهر، أمير (2013) تأثير المستخلص المائي للرمان والنعناع على فعالية ونمو فطر *Alternaria alternaria* . مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية. العدد ٣ المجلد ٢١ .

١- الجنابي، محمد سامي فرحان. (٢٠١٨) الفعالية التثبيطية لقشور نبات الرمان *Punica granatum* على بعض الجراثيم المرضية. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة تكريت.

٢- الحنه، إيناس كريم هادي .(2002) تأثير مستخلصات بعض النباتات العراقية على الأحياء المجهرية المعزولة من مناطق جسمية مختلفة. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

٣- الهماي، سعاد علي. علي، أمال قودان* وأبو خريص، عمر محمد. هواد، علي فرج. لسنوسي، إبراهيم المختار.(2016) تأثير مستخلصات قشور الرمان المجففة على نمو بعض أصناف البكتيريا السالبة والموجبة

E,Nascimento AM. (2005) Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth

7- Braga LC, Shupp JW, Cummings C, Jett M,Takahashi JA, Carmo LS, Chartone-Souza

- Infective Effects", Journal of Ethnopharmacology, Issue 143, Page 397-405.
- 13- Joseph, Nicolao Otieno, Kennedy Macha Matengo Hosea, Herbert Valantine Lyaruu, and Rogasian Lemmy Anselm Mahunnah (2008). Multi- plant or single plant extracts. Which is the most effective for local healing in Tanzania. African Journal of Traditional Complementary and Alternative medicines . Vol 5.
- 14- Nascimento, G F., Juliana Locatelli, Paulo C, Freitas, Giuliana L Silva (2000) Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibioticresistant bacteria. Barzilian journal of microbiology 31 (4), 247-256.
- 15- Naz, R. Siddiqi, S. Ahmad, S. A. Rasool, and S. A. Sayeed, (2007) "Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punicagranatum*," Journal of Food Science, vol. 72, no. 9, pp. 341–345.
- 16- Nozohour, Y. Golmohammadi, R. Mirnejad, R. and Fartashvand, M. (2018) Antibacterial activity of Pomeranate (*Punica granatum* L.) seed and Peel Alcoholic extract on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from heath centers. Journal of Applied and subsequent enterotoxin production. J Ethnopharmacol ; 96(1-2):335-9.
- 8-Buwa LV, Staden JV: (2006), Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa. Journal of Ethnopharmacology 103:139-142
- 9-Fawole OA, Makunga NP, Opara UL. (2012) Antibacterial, antioxidant and tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. BMC Complement Altern Med. Oct 30;12:200. doi:10.1186/1472-6882-12-200.
- 10- Finegold, S.M. and F.J. Martin (1986). Baily and Scotts' diagnostics microbiology, seventh edition, the C.V. Mosey company, St- Louis, Toronto, Princeton.
- 11- Grand, A. ; Woudergem, P.A. ; Verportes , R. and Pousset, J.L. (1988). Anti infection phytotherapies of tree - savannahsengl (West - Africa) II- Antimicrobial activity of 33 species. Journal of Ethnopharmacol., 22: 25-31 .
- 12- Ismail, T. , Sistili, P. and Akhtar, S. (2012) . "Pomegranate Peel and Fruit Extracts: A Review of Potential Anti-Inflammatory and Anti-

Biotechnology Reports. Vol.5 ,
32-36.

17- Pradeep B.V, Manojbabu
M.K, Palaniswam M . (2008)
Antibacterial Activity of
Punicagranatum L. against
Gastro Intestinal Tract Infection
Causing Organisms.
Ethnobotanical Leaflets 12:
1085-89.

18- UtterbackT ., Lee
C.,DimitrovG.TingL.,Qin H.,
Weidman J., Tran
K., Kang K., Hance
.R.,NelsoI.,nsights (2005).
Evolution of
Virulance and resistance from
thecomplete genome analysis of
an
early Methicillin Apr; 187
(7):2426 -3.

دراسة تشخيصية ووراثية للبكتريا من جنس المتقلبات المعزولة من نماذج مرضية للإنسان

أ.د. خالد دحام احمد

م.م. سجي ضياء الدين مصطفى

ABSTRACT

The present study includes collection of 30 bacterial isolates of genus *Proteus* during two months (July and August) of 2010 from different human infections in Mosul Hospitals. These bacteria were identified depending on morphological, cultural characters and biochemical tests, The results revealed that these bacteria belong to the genus *Proteus* with of two species *P.mirabilis* and *P.vulgaris* and prevalence of *P.vulgaris* species (21 isolates) over *P.mirabilis* (9 isolates). The resistance of bacterial isolates were tested to 10 different antibiotics, 4 heavy metals salts (CoCl_2 , CdCl_2 , HgCl_2 & NiCl_2) and swarming phenomenon. The results showed that there are variation in their antibiotic resistance with range ratio (60-70)%, to heavy metals (70-80)% and all isolates display swarming phenomenon.

Characterization of plasmid DNA content for five bacterial isolates belonging to *P.mirabilis* and *P.vulgaris* were carried out by using Agarose Gel Electrophoresis and the results showed the presence of a clear band in each species with similar size present in agarose gel, which indicate that one species of plasmid may exist in these isolates.

Two bacterial isolates of *P.mirabilis* and *P.vulgaris* were chosen for local determination of genes encoding antibiotics and heavy metals resistance, swarming phenomenon, production of urease, phenylalanine deaminase and hydrogen sulfate gas, by Curing of their plasmid DNA content of the bacterial isolates using the curing agents SDS and Tris at

different concentrations ranging from 0.25-1.0% at logarithmic and stationary phase of bacterial growth. Reasonable values of curing were obtained, which indicate that some of genes conferring resistance of antibiotics and heavy metals are located on plasmid DNA but those for Phenylalanine deaminase, urease and hydrogen sulfide gas production are on Chromosomal DNA.

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة جمع ٣٠ عزلة بكتيرية تابعة للجنس *Proteus* خلال شهري تموز وآب لعام ٢٠١٠ من مستشفيات مدينة الموصل ومن حالات مرضية مختلفة في الإنسان، تم تشخيص البكتريا المعزولة بالإعتماد على الإختبارات المظهرية والمزرعية، والكيموحيوية وأظهرت النتائج أنها تعود للجنس *Proteus* وللتوعين *P.vulgaris* و *P.mirabilis* حيث كانت بكتريا *P.vulgaris* هي السائدة ٢١ عزلة فيما كان عدد عزلات *P.mirabilis* ٩ عزلات، أُخبرت قابلية العزلات البكتيرية لمقاومتها تجاه عشرة مضادات حيوية وأربعة من أملاح المعادن الثقيلة حيث كانت جميع العزلات متباينة في مقاومتها للمضادات الحيوية ومدى ٦٠-٧٠% وللمعادن الثقيلة ٧٨-٨٠%.

تم توصيف محتوى الـ DNA البلازميدي لخمس من العزلات بكتيرية وللتوعين *P.mirabilis* و *P.vulgaris* والتي أظهرت مقاومة عالية للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز Agarose Gel Electrophoresis وأظهرت النتائج ظهور حزم الـ DNA البلازميدي التابعة للعزلات قيد الدراسة واضحة ومميزة ومنفصلة وبجسم واحد والتي تشير الى وجود نوعاً واحداً من البلازميدات أُخبرت عزلتين بكتيريتين من جنس الـ *Proteus* وللتوعين *P. mirabilis* و *P.vulgaris* من اجل تعيين مواقع الجينات المشفرة (لمقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة ولظاهرة العج وإنتاج إنزيمي اليوريزوالفينايال النين دي امينيزولإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين فيها بواسطة التحديد باستخدام المواد الكيميائية المحيدة (SDS, Tris,) وبالتراكيز (٠,٢٥ - ١,٠) % وفي الطورين اللوغارتمي والثابت من أطوار نمو البكتريا من جنس الـ *Proteus*. أشارت النتائج إلى فقدان مقاومة معظم المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة المدروسة فضلاً عن ذلك فهناك أيضاً فقداناً لظاهرة العج ولكن بنسب قليلة. ولم يحصل أي تحييد لإنتاج إنزيمي اليوريزوالفينايال النين دي

أمنيزوغاز كبريتيد الهيدروجين، مما يشير الى ان الجينات المشفرة لهذه الصفات واقعة على ال DNA الكروموسومي لهذه البكتريا

المقدمة Introduction

تميز أفراد جنس المتقلبات بأنها عصيات يتراوح أطوالها بين ١-٢ مايكروميتر وعرضها ٠,٦ مايكروميتر تقريباً، لا هوائية اختيارية متحركة بأسواط محيطية تنتشر هذه العصيات بشكل واسع في الطبيعة وتستوطن أمعاء الإنسان كجزء من النبيت الطبيعية مع مجاميع عصيات القولون Coliform bacilli التي تضم كلاً من *Salmonella* و *Shigella* و *Echerichia* و *Klebsiell*، *Serratia*، *Citrobacter* دورها غير معروف ولكن يعتقد أنها تسهم في أكسدة الأمينات من الأحماض الأمينية لإنتاج حامض الكيتو والأمونيا [1] من الصفات المميزة لأفراد هذا الجنس صعوبة الحصول على مستعمرات منفصلة عند زرعها على الوسط المغذي أو أطباق أكار الدم بسبب حركتها التي توصف بظاهرة الانتشار الزاحف أو ما يسمى بظاهرة العج Swarming اذ تظهر حلقات دائرية ذات مركز واحد ولاسيما تحت الظروف الهوائية [٢]. تعد ظاهرة العج ورائحة السمك المنطلقة من أطباق أكار الدم وتكوين مستعمرات شاحبة Pale colonies في وسط أكار الماكونكي من

الصفات المميزة فضلاً عن الانتاج العالي لإنزيم اليوريز تمتاز هذه البكتريا بقدرتها على نزع مجموعة الأمين NH2 من الحامض الأميني الفينيل النين Phenylalanine وتحلل اليوريا بشكل سريع وتنتج كبريتيد الهيدروجين وتُسيل الجيلاتين [٣].

تسبب البكتريا التابعة لهذا الجنس *Proteus* أمراضاً مختلفة للإنسان إذ تعد من البكتريا الانتهازية وتسبب العديد من حالات عدوى المستشفيات المكتسب Hospital-acquired infection أو مايسمى بـ Nosocomial infection ولكن بصورة عامة تعزل من النماذج المرضية لقد وجد أن هذه البكتريا تسبب العديد من الأمراض منها التهاب البروستات Prostatitis، والتهاب المثانة Cystitis، والتهاب حويص الكلية Pyelonephritis. كما أشارت الدراسات المختلفة أن بكتريا المتقلبات قد تكون سبباً أو عاملاً ثانوياً في التهابات الجروح والحروق Wound and Burne Infection؛ وقرحة الفراش Bedsore [٤]. فضلاً عن ذلك فإنها تسبب تسمم الدم Septicemia، تعتبر بكتريا

r-determinant عنصر أساسي مكون لل NR1 ويعد أكثر نشاطاً من مكون RTF إذ يحصل زيادة في نشاط البلازميد وبالتالي زيادة كثافته وبذلك يحصل مصاحبة لزيادة مقاومة المضادات الحيوية [٦].

تهدف هذه الدراسة إلى: عزل البكتريا من جنس ال *Proteus* وتشخيصها ومن ثم تحديد الأنواع الأكثر شيوعاً من النماذج المرضية لمرضى بعض مستشفيات مدينة الموصل واختبار مقاومة هذه العزلات البكتيرية لعشرة مضادات شائعة الاستعمال وأربعة من المعادن الثقيلة ثم توصيف محتوى ال DNA البلازميدي لها .

المواد وطرائق العمل

عزل البكتريا Bacterial Isolation:

تم عزل البكتريا من جنس ال *Proteus* من ٣٠ عينة مرضية من المرضى المصابين بأخماج مختلفة (التهابات القدم السكري (١٢)، التهاب المجاري البولية (٨)، والتهابات الأذن الوسطى (٢)، قرحة الفراش (٢)، وعينة واحدة لكل من إصابات الاسهال والتهاب الحروق والإصابة بطلق ناري والإصابة بورم والتهاب الجروح والمياه الملوثة.) من كل من مختبرات مستشفى الجمهوري وابن سينا التعليمي في الموصل والفترة المحددة ما بين شهري تموز وآب لعام ٢٠١٠. شخصت هذه العزلات البكتيرية من خلال إجراء الفحوصات

P.mirabilis أحد الممرضات الانتهازية فهي تسبب ٩٠% من حالات الإصابة بالتهاب المجاري البولية (UTI) Urinary Tract Infection [٥]. يحتوي جنس بكتريا ال *Proteus* (المقلبات) على أربعة أنواع ولكن النوعين المعروفين في هذا الجنس *P.mirabilis* و *P.vulgaris* كلا الجنسين وضحا من قبل العالم Hauser (1885) .

يتكون جينوم الخلية البكتيرية من كروموسوم منفرد من جزيئات ال DNA وقد تحوي بعضها على البلازميدات إذ باستطاعة هذه الجزيئات أن تتضاعف بمعزل عن الكروموسوم حيث أن قسماً من هذه البلازميدات تدعى بـ R-plasmid وتحمل صفات المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة . البلازميدات الموجودة في بكتريا ال *Proteus* هي من نوع NR1 أو ما يسمى بلازميد (R 100) ويقدر حجمه بـ 89 kb إذ يحوي على جينات مانحة النمط المظهري لبعض الصفات منها المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وغيرها. ويعتبر NR1 بلازميد مركب Composite plasmid يتكون من r-determinant (محددات r) محدثات المقاومة وعامل انتقال المقاومة (RTF) إذ أن

المورفولوجية والزرعية والبايوكيميائية إذ اختبرت الخصائص الشكلية للعزلات وذلك بعمل مسحات منها وصبغت بصبغة كرام Gram Stain ثم فحصت بالمجهر الضوئي وباستخدام العدسة الزيتية بقوة تكبير 100x. أما الفحوصات الزرعية فتضمنت زراعتها على وسطي أكار الماكونكي والدم لملاحظة ظاهرة العيج Swarming phenomenon وأخيراً الفحوصات الكيموحيوية تضمنت إختبارات ال IMVIC التي شملت إنتاج الاندول وإستهلاك

السترات كمصدر للكربون وإختبار إنتاج أنزيم اليوريز والفينايال النين دي أمينيز وإختبار إسالة الجيلاتين [٧].

أختبرت مقاومة العزلات البكتيرية لعشرة مضادات حيوية شائعة الاستعمال وأملاح أربعة معادن ثقيلة بعد تحضير المحاليل الخزينة لها ، ثم تعقيمها بالترشيح وأضيفت بالتراكيز النهائية بال $\mu\text{g/ml}$ إلى وسط الأكار المغذي المعقم والمبرد إلى درجة (٤٥- $^{\circ}\text{C}$) [٨] الجدول الاتي يوضح أنواع المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وتراكيزها النهائية.

جدول (١): المضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة وتراكيزها النهائية

المضاد	المختصر	التركيز النهائي $\mu\text{g/ml}$
١-	Amp	100
٢-	Cef	10
٣-	Chl	20
٤-	Cip	10
٥-	Gen	20
٦-	N.A	60
٧-	Nit	100
٨-	Nb	60
٩-	Tc	10
١٠-	Tri	100

المعدن الثقيل	المختصر	التركيز النهائي $\mu\text{g/ml}$
١- كلوريد النيكل	NiCl_2	(7)
٢- كلوريد الزئبق	HgCl_2	(400)
٣- كلوريد الكوبلت	CoCl_2	(5)
٤- كلوريد الكادميوم	CdCl_2	(400)

عزل وتوصيف محتوى الـ DNA البلازميدي
للعزلات البكتيرية

اختيرت عزلتين بكتيريتين للنوع
و *p. vulgaris* (p5,p10) وثلاثة عزلات للنوع
و *p. mirabilis* (P19,P22,P26) وتم عزل
الـ DNA البلازميدي بإستخدام طريقة التحلل
بالقاعدة Alkaline lysis method [٩] ثم
توصيف الـ DNA البلازميدي لها بأستخدام تقنية
الهجرة الكهربائية في هلام الأكاروز [٨] قدر محتوى
الـ DNA البلازميدي طيفياً
Spectrophotometric Estimation of
[١٠] Plasmid DNA

تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي للعزلات البكتيرية

استخدمت المحيدات الكيميائية Tris

(Trihydroxymethylglycine)

(SDS) Sodium dodecyl Sulphate

وبالتراكيز (٠.٢٥.١) % لكل منهما بتلقيح مزرعتين

تحتوي على ٥ مل من المرق المغذي الاولي اضيف لها
مادة الـ SDS بتركيز ٠,٢٥ % مرة والثانية اضيف لها
مادة الـ SDS بتركيز ١ % مرة أخرى والثانية اضيف
لها مادة الـ SDS بتركيز ٠,٢٥ % مرة وبتركيز ١ %
مرة أخرى ولكن بعد ٤ ساعات من التحضين بدرجة
 37 ± 1 م أي في مرحلة الطور اللوغارتمي Log
phase (O.D=0.5) ثم حضنت هذه المزارع
بدرجة 37 ± 1 م لمدة ٢٤ ساعة كررت التجربة
باستخدام المادة المحيدة Tris لتحديد محتوى الـ
DNA البلازميدي للعزلات البكتيرية قيد الدراسة
من اجل تعيين مواقع الجينات مانحة المقاومة لبعض
المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وظاهرة العج وإنتاج
أنزيمي البوريز والفينايل ألنين دي أمينيز وغاز كبريتيد
الهيدروجين

Result and Discussion المناقشة والناتج

بعد أن تم جمع ٣٠ عزلة بكتيرية وتشخيصها من خلال الفحص المجهرى وبعد صبغها بصبغة كرام Gram stain اذ ظهرت على شكل عصيات Bacilli سالبة لصبغة كرام وهذا يتوافق مع ما ذكره [١١] اما عند زراعتها على وسط أكار الماكونكي MaCconkey agar ظهرت بشكل مستعمرات شاحبة اللون Pale colonies مما يدل على عدم قدرتها على تخمير سكر اللاكوز وهذا متوافق مع ما ذكره [٧]. عند زراعة العزلات البكتيرية على وسط S.S agar (Salmonella Shigella agar) ظهرت بشكل مستعمرات دائرية ذات مركز أسود دلالة على قابلية البكتريا من جنس الـ *Proteus* على إنتاج كبريتيد الهيدروجين H₂S. كما أظهرت جميع العزلات البكتيرية التي تم جمعها عند زراعتها على وسط أكار الدم Blood agar ظاهرة العج Swarming phenomenon وهذا يدل على أن جميع العزلات البكتيرية من جنس الـ *Proteus* إذ أن هذا الجنس ينفرد بهذه الصفة عن باقي أجناس العائلة المعوية وهذا متوافق مع عمل الباحث [١٢]

وبعد إجراء فحوصات الـ IMVIC للعزلات البكتيرية يتبين أنه عند زراعة هذه العزلات البكتيرية على وسط اختبار الاندول لوحظ تباين في

النتائج إذ وجد أن (٢١) عزلة ٧٠% كانت موجبة لفحص الاندول مما يدل على أنها من النوع *P.vulgaris* طبقاً لما ذكره [١٣] أما بقية العزلات الـ ٩ (٣٠%) كانت سالبة لفحص الاندول مما يدل على أنها من النوع *P.mirabilis* وبالاعتماد على ما ذكره [١٤]. إن عدد العزلات التي قمنا بجمعها ونسبها فإنها لا تتوافق مع عدد العزلات التي جمعها الباحثة (قوة ني ٢٠٠٦) ومن المصادر المختلفة كالتهابات الجروح وإصابات القدم السكري والتهاب المجاري البولية على الأكثر إذ كانت جميع العزلات من النوع *P.mirabilis* وبذلك لا تتطابق مع نتائجنا إلا في جزء بسيط من دراستنا (٣٠%) من العزلات فقط. كانت الفحوصات التشخيصية التي تم إجراؤها على العزلات قيد الدراسة بما يخص البكتريا من النوع *P.mirabilis* مطابقة لما قامت به الباحثة المذكورة آنفاً فقد قامت بجمع العينات من مستشفى أربيل التعليمي في مدينة أربيل- العراق، أما بالنسبة لعيناتنا فقد تم جمعها من مستشفيات مدينة الموصل وإن أكثر العينات كانت *P.vulgaris* تم جمعها من حالات الإصابة بالقدم السكري وقليل من إصابات التهاب المجاري البولية.

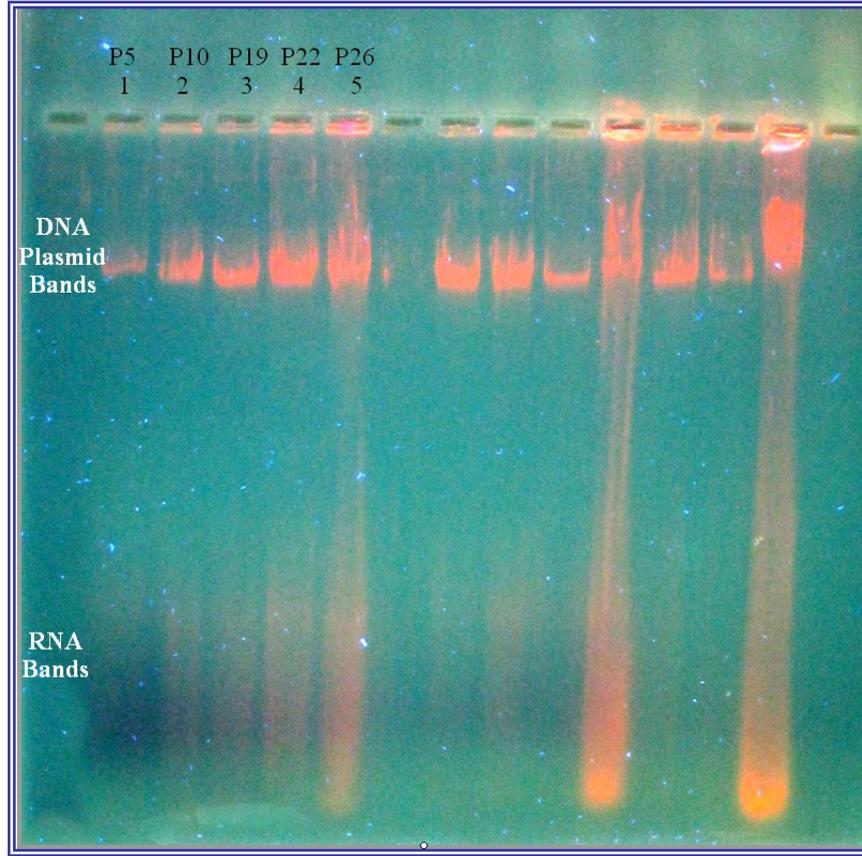
جميع العزلات البكتيرية لجنس الـ *Proteus* أجري لها اختبار المقاومة والحساسية

للمضادات الحيوية بزراع العزلات بطريقة التخطيط على الوسط الخاص بها وأن نسبة المقاومة كانت متباينة باختلاف العزلات وباختلاف أنواع المضادات إذ قدرت نسبة المقاومة ككل ما بين ٦٠-٧٠%، إذ وجدت أعلى مقاومة في العزلة البكتيرية المعزولة من حالات الإصابة بالقدم السكري حيث كانت نسبة المقاومة ١٠٠% لجميع المضادات الحيوية العشرة المستخدمة، وبنفس الوقت وجدت عزلة واحدة نسبة مقاومتها كانت ٢٠% وهي أقل نسبة إذ أنها كانت من حالات التهاب المجاري البولية (UTI) ومن النوع *P.mirabilis* كما ظهرت لدينا عزلات كانت نسبة المقاومة ٩٠% وكانت هذه العزلات متفرقة ومن مصادر مختلفة من إصابات القدم السكري ومن الإصابة بطلق ناري والإصابة بقرحة الفراش. وهم من النوع *P.vulgaris*. كما وجد أن نسبة المقاومة لمضاد الـ Chloramphenicol (Chl) بلغ أعلى نسبة من ٨٣% وصلت بينما بلغت نسبة المقاومة لمضادي Ampicillin (Amp) و Gentamycin (G) أقل نسبة (٤٣%) أما نسبة مقاومة لبقية المضادات الحيوية المذكورة فقد تراوحت ما بين ٣٥-٧٣%. وإن معظم العزلات كانت حساسة لمضادي Ampicillin (Ap) و (G)

Gentamycin. وكذلك الحال فقد اظهرت معظم العزلات مقاومة عالية للمعادن الثقيلة كلوريد النيكل $NiCl_2$ والكاديوم $CdCl_2$ و الزئبق $HgCl_2$ الكوبلت $CoCl_2$ إذ بلغت نسبة المقاومة إلى ٨٠% من العزلات قيد الدراسة وقد وجدت ٨ عزلات من هذا النوع من البكتيريا كانت نسبة المقاومة ١٠٠% للمعادن الثقيلة الأربعة، ومن مصادر مختلفة.

توصيف محتوى الـ DNA البلازميدي من العزلات قيد الدراسة:

تم توصيف الـ DNA البلازميدي لبعض العزلات من بكتيريا الـ *Proteus* التابعة للتوعين *P.mirabilis* و *P.vulgaris* والتي أظهرت مقاومة عالية للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وباستخدام طريقة التحلل بالقاعدة تم توصيف محتوى الـ DNA البلازميدي بواسطة الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز ١% Agarose gel electrophoresis لحمسة من العزلات البكتيرية والشكل (١) يبين حزم الـ DNA البلازميدي التابعة للعزلات قيد الدراسة.



شكل (١) مرسم الـ DNA البلازميدي لعزلات بكتيريا الـ *Proteus* التابعة للنوعين *P.mirabilis* و *P.vulgaris*

حيث يمثل العمودين الاول والثاني (٢و١) العزلتين البكتيريتين (p5,p10) والتي تعود للنوع *P.vulgaris* وتمثل الاعمدة الثلاثة الاخرى (٣ و٤ و٥) العزلات البكتيرية (p19,p22,p26) والتي تعود للنوع *P.mirabilis* إذ يتضح من الشكل (١) وجود حزمًا متميزة ومنفصلة في جميع محتوى الاحماض النووية للعزلات وإن هذه الحزم التي ظهرت يبدو أنها ذات حجم واحد اعتمادا على المسافات التي قطعها الحزم على الهلام في عملية الترحيل الكهربائي ويبدو أن حجم هذه البلازميدات لهذه العزلات من النوع كبيرة

الحجم لقصر المسافة التي قطعتها على الهلام بعد عملية ترحيل كهربائي لمدة ٣ ساعات وبفولتية قيمتها ٨٠ فولت، فضلاً عن ذلك فإن الشكل (١) للهلام تظهر بأن هناك ربما نوعا واحدا من البلازميدات في جميع العزلات البكتيرية ومن المصادر المختلفة وربما تمثل البلازميدات من النوع NR1 أو R(100) إذ أنه وكما هو معلوم بأن بكتريا الـ *Proteus* تحوي على هذا النوع من البلازميدات استناداً إلى ما ذكره الباحث [٦]

اما بالنسبة لتقدير تركيز ال DNA البلازميدي فقد وجد من خلال قياس الكثافة الضوئية Optical density (O.D) وعند الطول الموجي ٢٦٠ nm وباستخدام جهاز، اما بالنسبة لتقدير تركيز ال DNA البلازميدي فقد وجد من خلال قياس الكثافة الضوئية Optical density (O.D) وعند الطول الموجي ٢٦٠ nm وباستخدام جهاز

absorbance spectrophotometry Ultra violet اذ تم إيجاد تركيز ال DNA البلازميدي على وفق المعادلة:

Optical Density of (1) at 260 nm= 50 µg/ml وكما موضح في الجدول رقم (٢).

جدول (٢): التراكيز والكثافة الضوئية لمحتوى الاحماض النووية من العزلات البكتيرية من جنس ال *Proteus*

وللنوعين *P.vulgaris* و *P.mirabilis* قيد الدراسة

العزلات	المصدر	النوع	O.D (260)nm	التركيز µg/ml
P5	إصابات القدم السكري	<i>P.vulgaris</i>	0.14	1.4
P10	إصابات القدم السكري	<i>P.vulgaris</i>	0.16	1.6
P19	التهاب المجاري البولية	<i>P.mirabilis</i>	0.07	0.7
P22	قرحة الفراش	<i>P.mirabilis</i>	0.09	0.9
P26	التهاب الحروق	<i>P.mirabilis</i>	0.10	1.0

من الجدول يتبين أن العزلات P10, P5) ١.٤ و ١.٦) مايكروغرام/مل على التوالي اللتين تعودان إلى النوع *P.vulgaris* كان محتوى الاحماض النووية لها أعلى تركيزاً وفي نفس الوقت كانتا من حالة الإصابة بالقدم السكري أما العزلات الثلاثة الباقيات

كانت من النوع *P.mirabilis* فقد أظهرت تراكيز متقاربة من تركيز محتوى الاحماض النووية فيما بينها وبالتدرج (P26, P22, P19) (٠.٧ و ٠.٩ و ١.٠) بالتدرج وهي من مصادر مختلفة.

تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي في بكتريا *Proteus* ويضم:

أ- التحييد التلقائي

العزلات البكتيرية P5 و P22 وللنوعين *P.vuglaris* و *P.mirabilis* على التوالي أظهرت تحميذاً تلقائياً واطناً تراوح بين مدى ٢٠-٠% للعزلة البكتيرية من النوع *P.vulgaris* ولجميع المضادات الحيوية ونسبة مدى ١٦-٠% للمعادن الثقيلة إذ كان أعلاها كلوريد الزئبق ١٦% وكذلك الحال بالنسبة للعزلة البكتيرية من النوع *P.mirabilis* فإن النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمضادات الحيوية تراوحت ما بين مدى ٤٦-٠% فقد كانت أعلى نسبة لمضاد Tc (Tetracyclin) و Cm(Chloramphenicol) ٤٦% وكانت النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمعادن الثقيلة ما بين ٠- ٣٠% وكان كلوريد الكوبلت $CoCl_2$ أعلى نسبة للتحديد ٣٠% مقارنة مع المعادن الثقيلة الأربعة المستخدمة قيد الدراسة.

ب-التحييد باستخدام المواد الكيميائية (Tris,SDS)

بإستخدام المواد الكيميائية (Tris,SDS) وبالتراكيز (٠.٢٥.١)% تم تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي للعزلات البكتيرية من جنس *Proteus* وللنوعين *P.vulgaris* و *P.mirabilis* لغرض تعيين مواقع الجينات المسؤولة عن المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وظاهرة العج وإنتاج أنزيمي البوريز والفينايل النين دي أمينوزغاز كبريتيد الهيدروجين إن النسب المئوية لتحديد مقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة للعزتين البكتيريتين المستخدمتين للنوعين *P.mirabilis* و *P.vulgaris* وعند الطورين اللوغارتمي والثابت بإستخدام العوامل المحيدة (Tris,SDS) كانت أعلى بكثير من النسب المئوية لفقدان تلك الصفات في التحييد التلقائي كما أظهرت جميع المستعمرات البكتيرية المحيدة تباين في نسب التحييد لمقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وظاهرة العج. فقد لوحظ أن هناك نسبة تحييد عالية لبعض العلائم الوراثية الخاصة بالمقاومة للمعادن الثقيلة والمضادات الحيوية عند المعاملة بالـ SDS وTris وباختلاف طور النمو سواء أكان في الطور الثابت أم الطور اللوغارتمي والجدولين (٣ و٤) توضح النتائج.

جدول (٣): النسب المئوية لعدد المستعمرات المحيدة باستخدام العامل المحيد SDS

إصابات القدم السكري Diabetic foot	<i>P.vulgaris</i>	Log Phase		Ap (100)	NA (60)	Nor (60)	Nit (200)	Tc (15)	Tri (100)	Cef (15)	Cip (10)	Cm (20)	G (20)	CoCl ₂ (5)	CdCl ₂ (400)	HgCl ₂ (400)	NiCl ₂ (7)
		Log Phase	0.25	6	0	35	10	30	22	10	20	0	40	9	12	15	22
			0.50	30	0	45	20	20	25	12	20	0	52	10	10	20	25
			1.0	20	0	48	22	42	30	14	26	0	55	12	16	28	24
		Stat. Phase	0.25	20	0	0	0	6	10	0	48	0	22	0	0	10	0
			0.50	4	0	20	20	10	10	5	50	0	30	15	0	12	11
			1.0	20	0	32	20	14	16	16	54	0	34	20	16	16	20
قرحة الفرش Bed sore	<i>P.mirabilis</i>	Log Phase	0.25	6	32	10	17	24	42	35	35	0	0	17	38	50	45
			0.50	4	24	18	20	30	45	40	40	0	40	40	40	55	50
			1.0	0	0	20	25	42	48	44	42	0	56	42	44	62	55
		Stat. Phase	0.25	10	14	0	0	24	0	20	10	0	48	25	40	55	22
			0.50	20	24	13	0	40	40	30	50	0	50	20	50	57	30
			1.0	0	20	15	0	30	44	38	52	0	54	34	54	60	40

Stat. Phase= Stationary Phase الطور الثابت

Log. Phase= Logarithmic Phase الطور اللوغارتمي

من الجدول (٣) يتبين بأن مدى النسب المئوية لفقدان المقاومة للعزلة البكتيرية P5 من النوع *P.vulgaris* وفي الطورين اللوغارتمي والثابت باستخدام المحيدات الكيميائية (Tris,SDS) وللتركيز من 0.25-1.0% تراوحت ما بين 6-55% فقد كانت أعلى نسبة هي 55% للمضاد Gentamycin (G) وعند التركيز 1.0% وأوطأ نسبة تقييد كانت 6% لمضاد (Ap) Ampicillin وعند التركيز 0.25% أما مضادي الـ (N.A)Nalidixic acid و (Chl) Chloramphenicol فلم يحدث عندهما أي

تقييد باستخدام مادة الـ SDS بالتركيز الثلاثة المذكورة وكما موضح في الجدول. أما بقية المضادات فقد تم فقدان ظاهرة المقاومة للمضادات الحيوية وقد تبانت النسبة المئوية من 10-52%. النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمعادن الثقيلة عند الطورين اللوغارتمي والثابت اذ بلغت من 9-28% وكانت أعلى نسبة 28% لكلوريد الزئبق HgCl₂ وعند التركيز 1.0% وأوطأ نسبة 9% عند التركيز 0.25%. أما العزلة البكتيرية P22 للنوع *P.mirabilis* فكانت النسبة المئوية لفقدان المقاومة في الطورين اللوغارتمي والثابت 56-4% علماً

العشاء الخارجي للبكتريا [١٥] وان النسب المئوية لفقدان ظاهرة العج للعدلة البكتيرية من النوع *P.vulgaris* خلال الطورين اللوغارتمي والثابت ٤٢-٠% فقد كانت أعلى نسبة للتحديد عند التركيز ١,٠% أما عند التركيز ٠,٢٥% فكانت النسبة معدومة ٠% أي أنه لم يحدث أي تحييد. أما بالنسبة لاختبار فقدان ظاهرة العج للعدلة البكتيرية *P22P.mirabilis* عند الطورين اللوغارتمي والثابت فتراوحت النسبة بين ١٥-٣٦% فقد بلغت أعلى نسبة لفقدان العج ٣٦% عند التركيز ١,٠ وأقل نسبة ١٥% عند التركيز ٠,٢٥% والباحث [١٦] درس تأثير SDS على ظاهرة العج في بكتريا *Proteus* وبين أن هذه البكتريا تحمل من ١-٤ بلازميدات تحوي على جينات تشفر حركة العج وبعد المعاملة بـ SDS فقدت هذه البكتريا إظهار ظاهرة العج وأصبحت بدون بلازميدات.

بأن أعلى نسبة هي ٥٦% لمضاد G عند التركيز ١,٠% وأوطأ نسبة كانت ٤% لمضاد الـ Amp عند التركيز ٠,٥% أما النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمعادن الثقيلة فتراوحت ما بين ١٧-٦٢% فقد كانت أعلى نسبة ٦٢% لكلوريد الزئبق وعند التركيز ١,٠% وأقل نسبة ١٧% لكلوريد الكوبلت عند التركيز ٠,٢٥% أما النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمضادات الحيوية عند الطور الثابت للنوع *P.mirabilis* فكانت ما بين ١٠-٥٤% إذ بلغت أعلى نسبة ٥٤% لمضاد الـ G وعند التركيز ١,٠% أما أقل نسبة فكانت ١٠% لكل من مضادي Ampicillin (Amp) وCip(Ciprofloxacin) وعند التركيز ٠,٢٥%. إن النتائج التي حصلنا عليها ربما تعود إلى وجود علاقة ما بين الجينات الواقعة على بلازميدات R (بلازميدات المقاومة) للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة حيث ان مادة الـ SDS تأثير على نفاذية

جدول (٤): النسب المئوية لعدد المستعمرات المحيطة باستخدام العامل المحيد Tris

--	--	--	--	--	--	--	--

P	5	إصابة القدم سكري Dia- beti- c foot	<i>P.vul- garis</i>	Log Ph- ase		Ap (100)	NA (60)	Tc (15)	Cef (15)	Tri (100)	Cip (10)	Nor (60)	Nit (200)	Cm (20)	G (20)	CoCl ₂	CdCl ₂	HgCl ₂	NiCl ₂		
					0.25	48	42	80	30	12	70	30	7	0	47	0	0	0	0	0	8
					0.50	50	66	90	40	20	80	32	10	0	60	0	22	2	12	72	
					1.0	92	78	100	56	24	100	36	24	0	62	0	80	12	14	80	
				Stat. Ph- ase	0.25	60	50	30	40	10	82	30	5	0	46	0	5	3	8	6	
					0.50	78	50	75	44	12	90	32	20	0	50	0	10	5	9	42	
					1.0	90	72	80	50	20	100	34	32	0	60	0	12	10	10	50	
P	2	قرحة الفراش Bed sore	<i>P.mir- abilis</i>	Log Ph- ase	0.25	60	40	50	32	8	80	20	10	0	40	0	6	2	5	15	
					0.50	72	55	60	40	10	86	28	18	0	44	0	8	4	7	20	
					1.0	82	64	74	42	14	98	30	26	0	54	0	65	6	8	28	
					Stat. Ph- ase	0.25	66	30	50	10	70	10	4	0	25	0	0	0	0	0	2
						0.50	70	50	66	20	7	90	20	5	0	30	0	2	2	2	10
						1.0	80	60	72	30	10	96	28	8	0	50	0	4	2	4	18

الطور اللوغارتمي Log. Phase= Logarithmic Phase

الطور الثابت Stat. Phase= Stationary Phase

تحييد كامل) لمضاد الـ Tc وCip وعند التركيز
١,٠% أما أقل نسبة لفقدان المقاومة لمضاد الـ
Nit فكانت ١٠% عند التركيز
٥٠% - ٠. أما بقية المضادات الحيوية فقد كانت
النسبة المئوية لفقدان المقاومة لها عند الطورين
اللوغارتمي والثابت ١٢-٩٢%. كذلك الحال فإن
النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمعادن الثقيلة وعند
الطورين اللوغارتمي والثابت وللغزلة البكتيرية
من الجدول ٤ يتضح أن جميع المستعمرات
البكتيرية المعاملة بالـ Tris أظهرت تبايناً في النسب
المئوية لفقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن
الثقيلة وظاهرة العج إذ تراوحت النسبة المئوية لفقدان
المقاومة للمضادات الحيوية للغزلة البكتيرية (P5)
P.vulgaris وفي الطورين اللوغارتمي والثابت
وللتراكيز ١,٠ - ٠,٢٥% بين ١٠-١٠٠% فقد كانت
أعلى نسبة لفقدان المقاومة ١٠٠% (أي يعني حصول

P5P.vulgaris فقد بلغت ٢-٨٠% فقد كانت أعلى نسبة ٨٠% لفقدان مقاومة أملاح المعادن كلوريد الكادميوم وكلوريد النيكل وعند التركيز ١,٠% كما بلغت أوطاً نسبة لفقدان المقاومة لكلوريد الزئبق ٢% عند التركيز ٠,٥٠%.

بالنسبة للنسبة المئوية لفقدان صفة المقاومة للمضادات الحيوية للعزلة البكتيرية *P22 P. mirabilis* فكانت في الطورين اللوغارتمي والثابت هي ٤-٩٨% فقد بلغت أعلى نسبة لفقدان لمقاومة مضاد الـ *Cip* وعند التركيز ١,٠% أما أوطاً نسبة لفقدان مقاومة مضاد الـ *Nit* ٤% وعند التركيز ٠,٢٥%. كذلك الحال بالنسبة للنسبة المئوية لفقدان صفة المقاومة للمعادن الثقيلة للعزلة البكتيرية (*P22*) *P.mirabilis* عند الطورين اللوغارتمي والثابت فتراوحت بين ٢-٦٥% فقد بلغت أعلى نسبة ٦٥% لفقدان مقاومة كلوريد الكادميوم وعند التركيز ١,٠% وأوطاً نسبة ٢% لفقد مقاومة كلوريد الزئبق وعند التركيز ٠,٢٥%.

فنتائجنا تشير إلى أن النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة عند الطور اللوغارتمي وعند التركيز ١,٠% أعلى من النسبة المئوية لفقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة عند الطور الثابت وعند بقية التراكيز ٠,٥٠ - ٠,٢٥% للنوع

P. mirabilis كما وجد أن النسب المئوية لفقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة للعزلة البكتيرية (*P5*) *P.vulgaris* وعند الطورين اللوغارتمي والثابت وبكافة التراكيز أعلى من النسب المئوية لفقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة للعزلة البكتيرية (*P22*) *P. mirabilis* وعند الطورين اللوغارتمي والثابت وبكافة التراكيز مما يدل على أن لهذا النوع من البكتريا *P. vulgaris* قابلية أكثر من النوع الآخر *P. mirabilis* على الاستجابة للتحديد.

آلية عمل مادة الـ *Tris* على الخلية البكتيرية غامضة إلى درجة ما ولكن يعتقد أن لها تأثيراً يشابه تأثير الـ *SDS* فقد تؤثر هذه المادة على نفاذية الغشاء الخارجي للبكتريا أو يحدث تحلل للخلية البكتيرية وبذلك يؤثر على البلازميدات الحاملة لجينات المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وظاهرة العج التي تكون مرتبطة بالقرب من سطح الخلية البكتيرية. وبالتالي يحدث تحطيم لهذه البلازميدات مما يؤدي إلى فقدان الجينات المسؤولة عن المقاومة [١٥].

من الجدول ٤ يتضح أن هناك تبايناً في النسبة المئوية لفقدان ظاهرة العج باستخدام مادة الـ *Tris* وبالتراكيز المذكورة ١,٠ - ٠,٢٥% وللطورين اللوغارتمي

والثابت من عمر العزلات البكتيرية المستخدمة قيد الدراسة *P. vulgaris* P5 و *P22P*.
mirabilis فقد تراوحت النسبة المئوية لفقدان ظاهرة العج للعزلة البكتيرية *P. vulgaris* خلال الطورين اللوغارتمي والثابت ٨-٨٠% فقد كانت أعلى نسبة للتحديد لظاهرة العج ٨٠% عند التركيز ١,٠% أما في الطور الثابت فتراوحت النسبة المئوية لفقدان ظاهرة العج بين ٥٠-٦٠% فقد بلغت أعلى نسبة لفقدان صفة العج ٥٠% عند التركيز ١,٠% وأقل نسبة لفقدان العج ٦% عند التركيز ٢,٥%.

ومن الجدولين (٣ و٤) يتبين ان العامل الحيد ال *Tris* هو الأكثراً في إزالة المقاومة للمضادات الحيوية و المعادن الثقيلة للبكتريا الحيدة تلاه ال *SDS* وان الطور اللوغارتمي هو افضل الاطوار من نمو البكتريا المعاملة بالمواد الحيدة وان فقدان المقاومة للمضاد

المصادر

- 1- Bailey and Scott's, Diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby Elsever, Houston, Texas.U.S.A (2007).
- 2- Liaw, S.; Lai, H.; Ho, S.;Luh, K. and Wang, W., Role of *RsmA* in the regulation of swarming motility and virulence factor expression in *proteusmirabilis*. J. Med. Microbiol. (2003) 5(1):19-28.
- 3- Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenberger, P.C. and Winn, W.C., Color

الحويوي *Cipro* حدث بمستوى عال بعد المعاملة بال *Tris*.
أما بالنسبة لدراستنا على فحوصات تشفير إنزيمي اليوريز والفينايل النين وإنتاج H_2S لوحظ أن العزلات البكتيرية (*P5*) *P. vulgaris* و *P22P.mirabilis* الحيدة باستخدام العاملان الحيدان *Tris* و *SDS* لن تظهر أي مستعمرات بكتيرية محيدة فاقدة لفعالية الإنزيمين اليوريا والفينايل النين وإنتاج كبريتيد الهيدروجين وتبعاً لهذه النتيجة يمكن ان نستنتج ان الجينات المسؤولة عن تشفير هذه الصفات قد تكون محمولة على ال *DNA* الكروموسومي لبكتريا ال *Proteus*. وإن هذا الاستنتاج يحتاج لتوضيح علمي أكثر ضمن بحوث مستقبلية.

- atlas of textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, U.S.A. (1997).
- 4- O'Hara, C. M.; Brenner, F. and Miller, M., Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. J. Clinical Microbiology Reviews.(2000)13: 534-546.
- 5- Gonzalez,M.,*Proteus*infection s.Website: <http://lemedecine.com> (2003).

- 6- Hashimoto, H. and Rownd , Transition of the R factor NR-1 in *Proteus mirabilis*: level of drug resistance in non transitioned and transitioned cell. J. Bacteriol. (1975) 123:56.
- 7- Alexander, S. and Dennis., Microbiology Aphtographic Atlas for the Laboratory, an imprint of addision Wesley Longman, Inc. San Fransisco, Boston, New York.U.S.A (2001).
- 8- Ahmed, K.D., The positive control of *iIVC* expression in *E. coli* K-12. PhD. Thesis, Univ. Durham. England (1989).
- 9- Birnbiom, H.C. and Doly, J., A rapid alkaline extraction procedure for screening recombination plasmid DNA. J. Nucleic acids. Res., (1979) 7:1513-1524.
- 10- Brown, T.A., Gene Cloning an introduction. 3rd ed., Chapman & Hall, London. U.K (1997).
- 11- Holt, J.C.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.T. and Williams, S.T., Bergey Manual of Determinant bacteriology. 9th ed. Lippincott Williams and Wilkins Company, Baltimore, U.S.A(1994).
- 12- Smith, D.G. and Alwen, J., A medium to suppress the swarming of *Proteus* species. J. Appl. Bacteriol. (2003) 30: 389-394.
- 13-Guentzel M., *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serrtia*, *Citrobacter* and *Proteus*. In: Barron's Medical Microbiology (Barrons et al., eds) (4th ed.) Univ. of Texas Medical Branch. (via NCBJ Bookshelf) (1996) 0-9631174-1-1. U.S.A
- 14 -Frenod, E., "Existence result for a model of *Proteus mirabilis* swarm colony development", J. of Math. Biol. (2006) 36: 249. doi: 10.1007.
- 15-Trevors, J.T., Plasmid curing in bacteria. FEMS Microbiol. rev. (1986) 32:149-157.
- 16-Olay, J.A.; Iwalkum, B.A.; Oluski, Y.A.; Adejoro, A. and Fashade, O., Comparative biochemical and molecular evaluation of swarming of proteus and effect of anti swarm agents J.Africal.of Biotechnol., (2009) 3:99-104.

الترددات الراديوية وتأثيرها على بعض النواحي الفسلجية للفئران المهق

أ.م.د سعيد حسن سعيد النعيمي

أ.م.د بثينة حاتم السبعواوي

م. روعة ناجي نايف

ملخص البحث

يهدف البحث الى دراسة التأثيرات الحيوية المحتملة التي يحدثها المجال الكهرومغناطيسي الراديوي في بعض النواحي الفسلجية للفئران المهق *Mus musculus* البالغة من سلالة (Balb/c). لقد قسمت الفئران بعمر (2.5-3) اشهر بشكل عشوائي إلى ثلاث مجاميع متماثلة. عُرِضَت المجموعة الأولى للمجال الكهربائي وعرضت المجموعة الثانية للمجال المغناطيسي للمجال الراديوي لمدة ٢٠ يوماً بواقع أربع ساعات متواصلة يومياً لفترة أربعة أسابيع في حين تركت المجموعة الثالثة بدون تعريض للمجال لتمثل المجموعة الضابطة. وزنت الفئران في المجموعة التجريبية أسبوعياً قبل وبعد التعريض ، ولقد اشار التحليل الاحصائي الى عدم وجود فروقات معنوية في اوزان الفئران قبل وبعد التعريض . وبعد كل أسبوع أخذت عينات الدم من المجموعة التجريبية لغرض التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض . لقد بينت النتائج ان هناك زيادة في كل من الخلايا اللمفية وخلايا وحيدة النواة وخلايا العدلات لكريات الدم لبيض مقارنة مع المجموعة الضابطة.

Abstract:

This study deals with the possible biotic effect of the Radio electromagnetic field in some physiological aspects of *Mus musculus* belonging to Balb/c adult offspring. adult mice aged (2.5-3)months are divided randomly into three groups each contains 10 mice. The first group are exposed to an electric field, the second to magnetic field for 20 days, 4 continuous hours per day for 4 weeks; whereas the third group was left unexposed so as to represent the controlling group.

We measure the weights of mice at the beginning and end of each week of exposure. The statistical analysis shows no noticeable differences in the mice weights as compared with the controlling group; while it shows changes in their behavior from normal to aggressive, rapid and random movements, quietness and itching during and after the exposure. Differential leukocytes count (WBC) were measured during each week of

exposure. As compared with the controlling group, noticeable differences were found in the lymphocytes, monocytes cells as well as in the neutrophil cells.

Keywords: radiofrequency radiation, electromagnetic field, differential leukocytes count.

المقدمة:

يخص مدة التعرض وتكراره، ظهور حالات من التوتر العصبي وتقلب المزاج والوهن والإغماء والتعب والأرق والهلوسة وفقدان الشهية في الأشخاص الذين يعملون في محطات الرادار ولم يعرف السبب في حينها ولكن بعد إجراء الفحوصات الطبية والتحليلات السريرية اكتشفوا أن طاقة الموجات المنبعثة للرادار هي السبب في ظهور تلك الحالات السلوكية والنفسية غير الطبيعية [Challis, 2005].

لدراسة التغيرات في سلوك الفئران من سلالة Balb/c المعرضة لفترة طويلة الأمد للمجال الكهرومغناطيسي للهواتف النقالة، فقد عمل [Dindic et al., 2004] على تعريض الفئران لمدة شهرين متتاليين إلى مجال كهرومغناطيسي بتردد 900 MHz، إذ تمت مراقبة الأفراد وملاحظة السلوك الجماعي وقياس أوزان أجسامها. أظهرت الفئران في المجموعة التجريبية بعد مرور شهرين من التعرض اكتساب وزن اقل مقارنة مع مجموعة السيطرة على الرغم من تشابهه وتساوي كمية الطعام المستهلك خلال هذه الفترة من جانب المجموعتين. وفي دراسة أجراها [Abdel Aziz et al., 2010]

ينقسم الطيف الكهرومغناطيسي لقسمين أساسيين طبقاً للطاقة: 1. الإشعاعات غير المؤينة: وهي إشعاعات ذات طاقة ضعيفة نسبياً بحيث لا تستطيع تحطيم الروابط الذرية بين مكونات المادة، منها الضوء المرئي، والأشعة فوق البنفسجية، والأشعة تحت الحمراء، والترددات الراديوية أو الاسلكية والموجات القصيرة (الميكروويف). 2. الإشعاعات المؤينة: وهي إشعاعات ذات طاقة كبيرة بحيث تستطيع تأيين المادة، أي تحويلها إلى جسيمات مشحونة (أيونات)، ومن أمثلتها الأشعة السينية، وأشعة جاما [خليل، ١٩٩٠].

لقد وجد ان الترددات الراديوية على الرغم من طاقتها الضعيفة ($10^{10}-10^6$ Hz) لها تأثير كبير على صحة الانسان وخللاياه الحية وإن تأثير هذه الإشعاعات يرجع إلى ثلاثة عوامل وهي التردد والطاقة وزمن التعرض، فتأثير الطاقة الصغيرة في زمن تعرض طويل يعادل تأثير طاقة عالية في زمن تعرض قصير بشرط ثبات تردد مصدر الإشعاع. فقد لوحظ فيما

والذي يمكن عده حالة من حالات فقر الدم (Anemic). وفي دراسة مشابهة لـ [Basset, 1989] على الفئران المعرضة للموجات الكهرومغناطيسية بتردد 26 MHz، وجد أن عدد الخلايا اللمفية قد انخفضت انخفاضاً واضحاً في الترددات العالية.

كما وجد إن تعرض الجرذان للمجالات الكهرومغناطيسية الراديوية لمحطات الهواتف النقالة بتردد 900 MHz يظهر زيادة فعلية في كريات الدم البيض (Leukocytosis)، وعدد الصفائح الدموية في الجرذان المعرضة للمجال [Abdel Aziz et al., 2010].

لمعرفة تأثير المجال الكهرومغناطيسي المنبعث من المحطات الرئيسية للهواتف النقالة بتردد 900 MHz على أوزان أجسام الجرذان المعرضة لمدة أسبوعين، فقد وجدوا أن وزن الجسم يقل بعد التعرض للمجال وهذا يتفق مع النتائج التي حصل عليها [Wilson et al., 1999].

من المعروف ان الحديد من المركبات الاساسية في دم الانسان، حيث ان مادة الهيموكلوبين تحتوي على صبغة الهيم التي تتكون اساسا من مركب الحديد الذي يتصل بالبروتين. ويعد الحديد أحد العناصر الانتقالية، ومركباته لها خواص مركبات العناصر الانتقالية نفسها، ومن أهم صفات وخواص تلك المركبات أن غالبيتها تمتلك خواص بارامغناطيسية، بمعنى انها تتأثر بصورة كبيرة إذا وجدت في مجال مغناطيسي، حيث تشكل حسب طبيعة خطوط المجال وفقاً لقوانين المغناطيسية مما يحدث تغيراً جوهرياً في طبيعتها، ويغير من خصائصها وصفاتها وبالتالي تؤثر في الوظائف الحيوية للجسم. وعليه اجريت العديد من الدراسات لدراسة تأثير الترددات الراديوية على خلايا الدم، فقد أثبت [Pessina et al., 2001] في دراسة أجريت على ذكور الجرذان المعرضة للمجالات الكهربائية لمدة 30 يوماً أظهرت انخفاضاً ملحوظاً في عدد خلايا الدم الحمر

المواد وطريقة العمل:

1. المذبذب الراديوي:

أُستعمل في عملية تعريض الحيوانات للترددات الراديوية منظومة الكترونية صممها [Al-Nia'emi,1998]. تتكون المنظومة من جزء أساسي وهو المذبذب الراديوي وهو الجزء الرئيسي المصمم في المنظومة، يتميز المذبذب الراديوي بفولتية خرج قصوى تصل إلى حدود 1.4 kV قمة إلى قمة (peak to peak) وبمعدل 1.2 kV قمة إلى قمة ضمن مدى التردد -1kHz 1MHz والذي يشكل جزءاً أساسياً من وحدة متكاملة تتضمن مجهزات قدرة وأجهزة قياس متوافرة في المختبر .

استبدل ملف الرنين الراديوي في المنظومة بملف حلزوني صمم بشكل يلائم وضع الفئران في داخله. استعمل سلك نحاسي نصف قطر مقطعه 0.02 mm لف على حجرة اسطوانية بلاستيكية نصف قطرها 3.5cm طولها 40 cm، إذ بلغت مقاومة الملف بمجودود 10Ω وعدد لفاته 86 لفة. يولد الملف الحلزوني مجالاً مغناطيسياً باتجاه محور الاسطوانة مما يؤدي إلى توليد قوة دافعة كهربائية مستحثة ينشأ عنها تيار كهربائي مستحث يتخلل جسم الحيوان المعرض له. وللحصول على مجال

كهربائي للمنظومة نفسها، فقد تم إضافة جزء ثانٍ يتكون من متسعة كبيرة نصف قطر لوحها 12.5 cm حيث وضعت الفئران داخل حجرة بلاستيكية اسطوانية مثقبة (لغرض التهوية) نصف قطر قاعدتها 9 cm وارتفاعها 5 cm ثبتت بين لوح المتسعة بشكل ملاس لقاعدتي الحجرة وبذلك أصبحت المسافة بين لوح المتسعة مساوية إلى 5 cm .

2. الحيوانات التجريبية:

استعملت الفئران المهق البيض السويسرية نوع Musculus سلالة Balb/c من كلا الجنسين بأعمار تراوحت ما بين (2.5-3) أشهر والتي حصلنا عليها من وحدة البحوث التجريبية في كلية الطب في جامعة الموصل. قُسمت الحيوانات إلى ثلاث مجاميع كل منها يتكون من ثمانية أفراد، حيث عُرضت المجموعة الأولى الى مجال مغناطيسي في الملف الاسطواني وعُرضت المجموعة الثانية إلى مجال كهربائي في المتسعة للمجال الراديوي المستعمل في حين تركت المجموعة الثالثة من دون تعريض إلى المجال وأُعدمت كمجموعة سيطرة. وقد تم تعريض المجموعتين الأولى والثانية للمجال الراديوي ضمن تردد (400-600) kHz ثلاث شدات وهي (950,1400,1800)V على التوالي لمدة 20

حُلِّتِ النَّاتِجِ إِحْصَائِيًّا بِاسْتِعْمَالِ تَحْلِيلِ
أَنْوَفَا (ANOVA) وَبِاسْتِعْمَالِ اخْتِبَارِ دَنْكِن
الْمُتَعَدِّدِ الْمَدِيَّاتِ (Duncan's Multiple
Range Test) عِنْدَ مَسْتَوَى مَعْنَوِيٍّ 0.01 وَ
0.05 .

النَّاتِجِ:

وَزْنَ الْجِسْمِ:

تَمَّ إِيجَادُ مَعْدَلِ أَوْزَانِ الْفَرَّانِ قَبْلَ التَّعْرُضِ
لِلْمَجَالِ الرَّادِيَوِيِّ وَبَعْدَهُ لِكُلِّ أُسْبُوعٍ مِنْ
الْأَسَابِيعِ الْأَرْبَعَةِ لِلتَّعْرِيضِ إِلَى الْمَجَالَيْنِ الْكَهْرِبَائِيِّ
وَالْمَغْنَطِيسِيِّ بِتَرَدِّدٍ 400kHz
وَشِدَاتٍ V (950,1300,1800)، وَتَرَدِّدِ
600 kHz بِشِدَّةٍ 950V فَقَطْ لِمُدَّةٍ أَرْبَعِ سَاعَاتٍ
مُتَوَاصِلَةٍ يَوْمِيًّا . أُجْرِيَتْ مَقَارَنَةٌ لِمَعْدَلِ وَزْنِ الذَّكَورِ
وَالْإِنَاثِ الْمَعْرُضَةِ لِلْمَجَالِ الْكَهْرِبَائِيِّ وَالْمَغْنَطِيسِيِّ
ضَمْنَ الْفَتْرَةِ الْوَاحِدَةِ لِلتَّرَدِّدِ 400 kHz بِشِدَّةٍ
1800 kHz، وَكَذَلِكَ أُجْرِينَا مَقَارَنَةً لِلتَّرَدِّدِ نَفْسِهِ
وَلَكِنْ لِّلشِدَّةِ 950 V . أَظْهَرَتْ النَّاتِجُ عَدَمَ وَجُودِ
فُرُوقَاتٍ مَعْنَوِيَّةٍ فِي أَوْزَانِ أَجْسَامِ الْفَرَّانِ التَّجْرِبِيَّةِ
مَقَارَنَةً مَعَ مَجْمُوعَةِ السَّيْطَرَةِ وَكَمَا مَبِينٌ فِي الْجَدْوَلِ (1)،
(2) .

يَوْمًا لِفَتْرَةٍ أَرْبَعَةِ أُسَابِيعٍ بِوَقْعِ أَرْبَعِ سَاعَاتٍ مُتَوَاصِلَةٍ
يَوْمِيًّا .

3. ظُرُوفُ التَّجْرِبَةِ:

أُجْرِيَتْ هَذِهِ الدِّرَاسَةُ فِي مَخْتَبَرِ الْبَحْثِ
النَّوَوِيَّةِ بِكَلِيَّةِ التَّرْبِيَةِ لِلْعُلُومِ الصَّرْفَةِ فِي جَامِعَةِ الْمَوْصَلِ .
وَضَعْتَ الْفَرَّانِ فِي مَرَاكِلِ التَّجْرِبَةِ جَمِيعَهَا تَحْتَ
ظُرُوفٍ مُتَشَابِهَةٍ مِنْ نَاحِيَةِ الْإِضَاءَةِ (١٢ سَاعَةً
إِضَاءَةً - ١٢ سَاعَةً ظَلَامًا)، وَدَرَجَةِ حَرَارَةِ (18-
°C 28) فِي أَقْفَاصٍ مَعْدَّةٍ لِهَذَا الْغَرَضِ وَزُوِدَتْ بِالْمَاءِ
وَالطَّعَامِ عَلَى شَكْلِ مُتَوَاصِلٍ وَبِكَمِّيَّاتٍ وَافِرَةٍ .

4. حِسَابُ التَّعْدَادِ التَّقَاضِلِيِّ لِكُرَيَّاتِ الدَّمِ الْبَيْضِ:

تَمَّ سَحْبُ الدَّمِ مِنَ الْفَرَّانِ الْمَعْرُضَةِ
لِلْمَوْجَاتِ مِنْ زَاوِيَةِ الْعَيْنِ بِاتِّجَاهِ الضَّفِيرَةِ الْوَرِيدِيَّةِ خَلْفَ
مَقْلَةِ الْعَيْنِ قَبْلَ التَّعْرُضِ وَبَعْدَ كُلِّ أُسْبُوعٍ مِنْ انْتِهَاءِ
عَمَلِيَّةِ التَّعْرُضِ لِلْمَوْجَاتِ الرَّادِيَوِيَّةِ . حُضِرَتْ مَسَحَاتُ
رَقِيقَةٍ مِنَ الدَّمِ وَصُبِّغَتْ بِصَبْغَةِ لَيْشْمَانِ لِحِسَابِ
التَّعْدَادِ التَّقَاضِلِيِّ لِكُرَيَّاتِ الدَّمِ الْبَيْضِ، كَذَلِكَ قِيَسَتْ
كُلُّهَا بَعْدَ نِهَائِهِ كُلِّ أُسْبُوعٍ مِنْ فِتْرَةِ التَّعْرِيضِ وَقَبْلَ عَمَلِيَّةِ
التَّعْرِيضِ لَغَرَضِ مَعْرِفَةِ قَابِلِيَّةِ الْحَيَوَانَاتِ عَلَى اسْتِعَادَةِ
حَالَتِهَا الطَّبِيعِيَّةِ .

5. التَّحْلِيلُ الْإِحْصَائِيُّ:

أما عند الشدة 1300 V للتردد 400 kHz ولكون هناك شدة واحدة هي 950 kHz نفسه فقد عُرضت الفُرنان للمجال الكهربائي فقط وذلك لاختبار التأثير كجربة أولية في بداية عملنا، وقد دلت النتائج أيضاً على عدم وجود فروقات معنوية في معدلات أوزان أجسام الفُرنان التجريبية مقارنة مع مجموعة السيطرة. وفي حالة التردد

600 kHz ولكون هناك شدة واحدة هي 950 فقط فقد تمت مقارنة معدل وزن الذكور وكذلك معدل وزن مع الإناث للمجالين الكهربائي والمغناطيسي ضمن فترة التعريض نفسها حيث لم يظهر أي اختلاف معنوي ملحوظ وكما مبين في الجدول (3).

الجدول (1): معدل أوزان الفُرنان المعرضة للمجالين الكهربائي والمغناطيسي

عند التردد 400 kHz وشدة 1800 V

400 kHz = التردد ، 1800 V = الشدة				
معدل وزن الإناث (غم)		معدل وزن الذكور (غم)		فترة التعرض أسبوع
مغناطيسي	كهربائي	مغناطيسي	كهربائي	
27.793 ^A	26.495 ^A	29.080 ^A	26.995 ^A	0
25.980 ^A	25.900 ^A	29.565 ^A	20.443 ^A	1
25.040 ^A	25.268 ^A	28.925 ^A	24.955 ^A	2
25.865 ^A	23.928 ^A	28.815 ^A	20.283 ^A	3
24.163 ^A	19.043 ^A	28.813 ^A	20.025 ^A	4

الجدول (2): معدل أوزان الفُرنان المعرضة للمجالين الكهربائي والمغناطيسي

عند التردد 400 kHz وشدة 950 V

التردد =400 kHz ، الشدة =950 V				
معدل وزن الإناث (غم)		معدل وزن الذكور (غم)		فترة التعرض أسبوع
مغناطيسي	كهربائي	مغناطيسي	كهربائي	
18.130 ^A	18.646 ^A	22.933 ^A	22.673 ^A	0
18.286 ^A	19.110 ^A	23.343 ^A	22.983 ^A	1
17.950 ^A	19.023 ^A	22.593 ^A	23.883 ^A	2
18.343 ^A	19.280 ^A	24.083 ^A	23.770 ^A	3
19.033 ^A	19.136 ^A	24.54 ^A	24.383 ^A	4

الجدول (3): معدل أوزان الفئران المعرضة للمجالين الكهربائي والمغناطيسي

عدد التردد 600 kHz وشدة 950 V

التردد =600 kHz ، الشدة =950 V				
معدل وزن الإناث (غم)		معدل وزن الذكور (غم)		فترة التعرض أسبوع
مغناطيسي	كهربائي	مغناطيسي	كهربائي	
22.850 ^A	23.590 ^A	25.655 ^A	23.690 ^A	0
25.468 ^A	24.083 ^A	24.458 ^A	23.718 ^A	1
21.653 ^A	24.580 ^A	23.632 ^A	22.697 ^A	2
22.603 ^A	24.640 ^A	23.880 ^A	23.355 ^A	3
25.325 ^A	27.368 ^A	24.217 ^A	23.895 ^A	4

لمعرفة تأثير الترددات الراديوية في سلوك

سلوك الحيوانات:

الحيوانات فقد تمت مراقبة مجاميع الحيوانات طوال فترة

يدل على إن تعرضها للترددات الراديوية أدى إلى نقصان شهيتها للطعام فقد امتنعت عن الأكل والشرب لأكثر من ٣ ساعات بعد التعريض .

قياس العد التفاضلي لكريات الدم البيض:

يظهر من نتائج مقارنة تأثير المجالين الكهربائي والمغناطيسي بتردد 400 kHz للشدتين (950, 1800) V في ذكور الفئران وإناثها والموضحة في الجداول (4-7) وكذلك النتائج من تعريض ذكور الفئران وإناثها للمجال الكهربائي فقط بشدة 1300 V للتردد نفسه ، إن هناك فروقات معنوية في خلايا الدم البيض مقارنة مع مجموعة السيطرة. وعند زيادة تردد المجال إلى 600 kHz وبقاء الشدة 950 V نجد إن هناك فروقات معنوية أيضاً في كل من الذكور والإناث لدى تعرضهما للمجالين الكهربائي والمغناطيسي .

التعرض. ومن خلال المشاهدة فإن أهم ما لوحظ هو التغيير الكلي في سلوك الفئران وذلك من خلال التصرف العدواني لها بعد عملية التعرض والذي لم يكن موجوداً قبل التعرض. فعند إخراج الحيوانات من المنظومة الخاصة بالتعرض ووضعها في أقفاصها بعد كل عملية تعرض، شوهدت حركات سريعة وغير منتظمة وعدوانية للفئران أو ما يسمى بـ "فرط النشاط" (Hyperactivity) وتستمر هذه الحالة لنصف ساعة تقريباً بعد انتهاء عملية التعرض، بعدها تبدأ الفئران المعرضة بالتككل على شكل مجاميع وتنكفي على نفسها .

ومن المشاهدات الأخرى فقد لوحظ إن الفئران تقوم بحك أجسامها باستمرار أثناء عملية التعريض وكذلك بعدها لمدة لا تقل عن نصف ساعة فضلاً عن حدوث زيادة في الإدراج في حين لم تشهد مثل هذه الحالة في فئران السيطرة. وما يتعلق بعادات الأكل، فقد شوهدت للمجاميع المعرضة للمجال تستهلك كميات أقل من الغذاء مقارنة بمجموعة السيطرة، وهذا

الجدول (4): التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض في ذكور الفئران المعرضة

للمجالين الكهربائي والمغناطيسي عند التردد 400 kHz وشدة 1800 V

ذكور			
400 kHz = التردد ، 1800 V = الشدة			
العدلات	وحيدة النواة	اللمفيات	فترة التعرض

مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	(أسبوع)
21.60 ^A	21.80 ^A	4.6 ^A	5.80 ^A	73.80 ^A	64.20 ^A	0
15.20 ^A	17.80 ^A	8.60 ^A	13.80 ^A	74.00 ^A	78.40 ^A	1
14.40 ^A	12.40 ^A	9.00 ^A	7.60 ^A	75.20 ^A	73.20 ^A	2
10.60 ^A	14.20 ^A	4.80 ^B	8.40 ^A	81.00 ^A	71.00 ^A	3
9.20 ^A	14.80 ^A	9.40 ^A	5.20 ^A	77.00 ^A	80.80 ^A	4

الجدول (5): التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض في إناث الفئران المعرضة

للمجالين الكهرائي والمغناطيسي عند التردد 400 kHz وشدة 1800 V

إناث						فترة التعرض
الشدّة = 1800 V ، التردد = 400 kHz						(أسبوع)
العدلات		وحيدة النواة		اللمفيات		
مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	
18.60 ^A	13.40 ^A	10.20 ^A	9.80 ^A	73.80 ^A	74.80 ^A	0
16.60 ^A	14.80 ^A	6.80 ^A	7.20 ^A	74.20 ^A	76.40 ^A	1
20.60 ^A	11.00 ^B	7.60 ^A	5.80 ^A	79.80 ^A	79.60 ^A	2
13.00 ^A	16.40 ^A	15.00 ^A	5.00 ^A	78.40 ^A	78.60 ^A	3
13.4 ^A	11.00 ^A	9.00 ^A	10.00 ^A	73.80 ^A	74.00 ^A	4

الجدول (6): التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض في ذكور الفئران المعرضة للمجالين الكهربائي والمغناطيسي عند التردد 400 kHz وشدة 950 V

ذكور						950V = الشدة ، 400 kHz = التردد
العدلات		وحيدة النواة		اللمفيات		فترة التعرض (أسبوع)
مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	
17.40 ^A	14.40 ^A	4.20 ^A	6.60 ^A	75.8 ^A	82.40 ^A	0
10.00 ^A	12.40 ^A	13.40 ^A	11.00 ^A	76.80 ^A	75.80 ^A	1
13.20 ^A	13.40 ^A	5.80 ^A	6.20 ^A	82.60 ^A	81.60 ^A	2
13.80 ^A	8.60 ^B	4.80 ^A	5.00 ^A	81.40 ^A	84.40 ^A	3
10.80 ^A	8.60 ^A	4.20 ^A	6.40 ^A	83.40 ^A	84.60 ^A	4

الجدول (7): التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض في إناث الفئران المعرضة للمجالين الكهربائي والمغناطيسي عند التردد 400 kHz وشدة 950 V

إناث						950V = الشدة ، 400 kHz = التردد
العدلات		وحيدة النواة		اللمفيات		فترة التعرض (أسبوع)
مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	مغناطيسي	كهرائي	
8.60 ^A	8.60 ^A	6.20 ^A	6.40 ^A	83.20	82.60	0

				A	A	
16.20 ^A	18.20 ^A	9.80 ^A	12.8 ^A	72.20 ^A	68.60 ^A	1
15.40 ^A	10.20 ^B	3.00 ^B	6.80 ^A	76.40 ^A	80.80 ^A	2
14.40 ^A	14.00 ^A	5.00 ^A	8.40 ^A	80.00 ^A	76.40 ^A	3
16.60 ^A	11.20 ^B	4.80 ^A	4.40 ^A	74.00 ^A	78.00 ^A	4

الاستنتاجات:

إلى ظهور تغيير ملحوظ في وزن الجسم، وكذلك جاءت مطابقة لنتائج دراسة أخرى لـ [Bellossi, 1992] ودراسة لـ [Wilson et al., 1999] حيث لاحظوا النتيجة نفسها إذ أشاروا كذلك إلى عدم وجود فروقات معنوية في أوزان الفئران المعرضة إلى الكهرومغناطيسي بتردد 60 Hz .

إن هذا التباين في النتائج بين الدراسات المختلفة لتعرض الحيوانات للمجال الكهرومغناطيسي قد يعزى إلى تأثيرات تلك المجالات في الجهاز العصبي المركزي من خلال تحفيزه للأيونات الداخلة في الدماغ [Lai et al., 1984]، وقد يعزى السبب أيضاً إلى التأثيرات المحدثة بالمجال على تغيير النسق اليومي لإنتاج الميلاتونين من الغدة الصنوبرية والذي يؤدي غالباً إلى تشييط النشاط وإحداث الكآبة [Wilson, 1988] وقد يكون هذا سبباً في

1. الوزن: أظهرت الفئران المعرضة إلى الترددات الراديوية المستعملة في هذه الدراسة عدم وجود اختلافٍ معنوي في أوزانها عند تغيير شدة (فولتية) المجال وبقاء التردد ثابتاً للفترة الزمنية نفسها، وكذلك عدم وجود اختلافات معنوية في أوزانها عند مقارنة التعرض للمجال الكهربائي مع التعرض للمجال المغناطيسي وبقاء كل من الشدة (الفولتية) والتردد دون تغيير ضمن الفترة الواحدة. وهذا يعني إن تغيير العوامل المختلفة مثل شدة المجال وكذلك التردد لم تُظهر تغييراً ملحوظاً في معدل أوزان الفئران ضمن الفترة الواحدة للتعرض مقارنة مع مجموعة السيطرة.

إن النتيجة التي حصلنا عليها في أعلاه جاءت مطابقة ومتفقة مع نتائج الدراسة التي أجراها [Bellossi et al., 1984] من تعريض الفئران لمجال مغناطيسي مستمر لفترة ثلاثة أسابيع إذ لم يؤدي

تعود إلى الاضطرابات الحاصلة في تراكيب المنطقة تحت القشرة من الدماغ [Krstic et al., 2005]. أما عن علاقة الكالسيوم بوظائف الدماغ، فإن الكالسيوم يؤدي دوراً أساسياً في ذلك لان كمية قليلة من الكالسيوم يجب أن تدخل إلى الخلايا العصبية (neurone) في كل مرة قبل أن يتم إطلاقه من الناقلات العصبية (neurotransmitters) ومن دون ذلك فإن الدماغ يكون قد قتل على نحو فعال. لكن عندما تحدث الجلالات الكهرومغناطيسية تسرباً في الغشاء فإنها تؤدي إلى تحرر كمية كثيرة من الكالسيوم وهذا يؤدي إلى زيادة مستوى الكالسيوم في الخلايا العصبية وبالتالي يتم تحرر الناقلات العصبية بأسرع وقت ممكن. وقدم ذكر [Matthews, 1986] بان تعرض الأعصاب وخلايا العضلات إلى تركيز للكالسيوم بحدود (10-20)% اقل من المعدل الطبيعي تصيبهم بالهيجان والانفعال الشديد [Goldsworthy, 2006].

كريات الدم البيض: يلاحظ من نتائج التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض والتي شملت الخلايا اللمفية، خلايا وحيدة النواة وخلايا العدلات لكل من

عزوف الفئران عن الطعام مما يسبب في انخفاض الوزن، فضلاً عن الاختلاف في ترددات وشدات الجلالات الكهرومغناطيسية وفترات التعرض والتي قد تؤدي بدورها إلى تأثيرات مختلفة ومتباينة لأن طريقة تأثير الموجات الكهرومغناطيسية تختلف باختلاف ترددها.

السلوك: أظهرت الفئران المعرضة للمجال الراديوي حركات غير منتظمة وسلوك عدواني مع ميل للخمول والسكون في أثناء عملية التعرض، وكانت تستمر هذه الحالة لساعات عديدة بعد

التعرض مباشرة قبل أن تعود إلى وضعها الطبيعي وهذا ما أشار إليه [Dindic et

al., 2004] من إن الفئران المعرضة إلى مجال

كهرومغناطيسي بالتردد الراديوي 900 MHz لفترة

طويلة أظهرت ردود فعل دفاعية وتجمعها في مكان

واحد مع سلوك عدواني، فضلاً عن اضطراب في

الحركة. كذلك وجد [Krstic et al., 2005]

بان الجلالات الكهرومغناطيسية للترددات العالية تؤثر

فعالاً على الوظيفة المعرفية (Cognitive

Function) ونشاط الدماغ الكهربائي.

إن التغير في سلوك الحيوانات التجريبية

عن طريق فقدان رد فعل الدفاع الجماعي وظهور

حالة من الذعر الفردية لا يمكن تفسيرها إلا من

خلال الاضطراب في الوظائف المعرفية والتي

اما ما يخص التردد 600 kHz والشدة 950 V للمجالين الكهربائي والمغناطيسي، فقد ظهرت فروقات معنوية واضحة في الخلايا اللمفية وخلايا وحيدة النواة في ذكور الفئران وفي الخلايا اللمفية في الإناث. وهذا ما أكدته تحليل التباين الإحصائي ANOVA من وجود اختلاف معنوي عند مستوى احتمال ($P \leq 0.01$) و ($P \leq 0.05$). هذه النتائج تتفق مع النتائج التي توصل إليها [Abdel Aziz, 2010] حيث لاحظ وجود زيادة معنوية في كريات الدم البيض وانخفاضاً معنوياً في كريات الدم الحمر وهيموكلوبين الدم للجرذان المعرضة للمجال الكهرومغناطيسي بتردد 900 MHz مقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد أشارت هذه الدراسة إلى أن الزيادة في الخلايا اللمفية تعزى إلى الفعل الضار للتعرض للمجال الكهرومغناطيسي والذي يؤدي إلى إطلاق المزيد من الخلايا اللمفاوية مما يسبب زيادة في عددها في مجرى الدم.

وقد يعزى هذا التغيير الذي ينجم عنه زيادة في عدد خلايا الدم البيض للفئران التجريبية المعرضة للمجال الكهرومغناطيسي بشدة (0.1, 0.05) mT إلى انخفاض أعداد خلايا الدم الحمر نتيجة لانخفاض إنتاجها في نقي العظم [Jandova et al, 2005]، وربما يكون السبب في حصول

الذكور والإناث المعرضة للمجال إن هناك اختلافاً معنوياً عند بعض الفترات من التعريض. فقد لوحظ عند مقارنة تأثير المجالين الكهربائي والمغناطيسي في الذكور عند التردد 400 kHz وشدة 1800 V إن هناك تغيراً ملحوظاً لخلايا وحيدة النواة في الأسبوع الثالث من التعرض. وعند تغيير شدة المجال إلى 950 V مع بقاء التردد ثابتاً فقد كان هناك أيضاً اختلافاً معنوياً لفترة التعريض لكن هذه المرة في خلايا العدلات وهذا يدل على أن تغير شدة (فولتية) المجال مع بقاء التردد ثابتاً قد أدى إلى وجود فروقات معنوية في خلايا الدم البيض.

وتمت ملاحظة نفس النتائج أعلاه عند إناث الفئران المعرضة لنفس المجال حيث إن هناك تغيراً في خلايا العدلات للأسبوع الثاني من التعرض عند تردد 400 kHz وشدة 1800 V، وقد وجد التغيير نفسه أيضاً في كل من خلايا وحيدة النواة وخلايا العدلات عند التعرض للشدة 950 V للمجالين الكهربائي والمغناطيسي مقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد أظهر إجراء تحليل التباين الإحصائي ANOVA للتعداد التفاضلي لكريات الدم البيض وجود اختلاف معنوي عند مستوى احتمال ($P \leq 0.01$).

مقارنة مع مجموعة السيطرة بعد (2-3) ساعة من التعرض الأول، وتستمر لمدة يوم بعد التعرض ثم تعود إلى مسـتواها الطبيعي بعد 3 أيام. وأعزى هذه إلى الزيادة في الخلايا اللمفية، وكذلك إلى النظام الأيضي لحامض الاركدونك (Arachidonic) وتحفيز نشاط الاديئاليت سايكليز (Adenylate cyclase) مع زيادة في مستوى الاديئوسين أحادي الفوسفيت الحلبي.

ارتشاح لخلايا الدم البيض ولاسيما منها اللمفية للأنسجة المتضررة مثل نسيج الكبد والكلى والرئة والقلب [Ushiyama and Ohkubo, 2003].

ومن النتائج التي تتفق مع نتائجنا في هذه الدراسة فيما يخص كريات الدم البيض فقد وجد [Ashraf et al., 2011] ان تعرض الفئران إلى 42 GHz لمدة 20 دقيقة يومياً يؤدي إلى انخفاض الفعالية البلعمية للعدلات بنسبة 50%

University of Mosul,
IRAQ.

المصادر:

- Ashraf Aly A., Safaai D. B. and Nazar Z. (2011), "The Effects on Cells Mobility Due to Exposure to EMF Radiation". Advanced Computing: An International Journal (ACIJ), 2(4): Pp.1-7. airccse.org/journal/acij/acij.html
- Basset C. A. (1989), "Fundamental and Practical Aspects of Therapeutic Uses of Pulsative Electromagnetic Fields", Critical Review in Biomedical Engineering, 17: Pp. 451-529.
- Abdel Aziz, Hala J.E., Shabat M., Khitam E. and Osman A.M. (2010). "Effect of EMF on Body Weight and Blood Indices in Albino Rats and the Therapeutic Action of Vitamin C oe E ", Romanian J.Biophys., 20: Pp.235-244.
- Al-Nia'emi S.H.S.(1998), "Effect of Electromagnetic Radiation on the Properties of Nuclear Track Detector CR-39 and Buibling of the Electrochemical Etching System". Ph.D. Thesis, College of Science,

- Topics". In: Volkov A.G. (ed.) "Plant Electrophysiology Theory and Methods", Springer - Verlag Berlin Heidelberg: Pp. 247 - 267
- Jandova, A., Mhamdi M., Nedbalova M., Cocek A., Trojan S., Dohnalova A. and Pokorny J. (2005), "Effects of Magnetic Field 0.1 and 0.05mT on Leukocyte Adherence Inhibition", Electromagnetic Biology and Medicine, 24: pp. 283–292.
 - Krstić D. D , Boris J. Đ., Dušan T. S., Vera V. M., Dejan M. P. and Stojan B. R.(2005), "The Results of Experimental Exposition of Mice by Mobile Telephones", Mikrotalasna revija: Pp. 34-37.
 - Lai H., Horita A., Chou C.K. and Guy A.W. (1984), "Micro Wave-Induced Postexposure Hyperthermia : Involvement of Endogenous Opioids and Serotonin", IEEE Tran. Microwave Theory Tech. , 32: Pp. 882–887.
 - Matthews E.K. (1986). "Calcium and Membrane Permeability", British Medical Bulletin 42: Pp. 391-397.
 - Bellossi A. (1992), "Effect of a 12 Hz and of a 460 Hz Pulsed Magnetic Field on The Weight of AKR Mice". Biotherapy, 4: Pp. 277–283.
 - Bellossi A., Sutter-Dub M.T. and Sutter B.C. (1984), "Effects of Constant Magnetic Fields on Rats and Mice: A study of Weight". Aviat. Space Environ. Med., 55: Pp. 725–730.
 - Challis L.J. (2005), "Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue", Bioelectromagnetics Supplement, 7: Pp. S98-S106.
 - Đinđić B., Stojan R., Dejan K., Dušan S., Dejan P., Tomislav P. and Jasmina R. (2004), "Exposure to Electromagnetic Fields by Using Mobile Telephones and its Influence on the Brain Functions". Working and Living Environmental Protection, 2(4): Pp. 311–316.
 - Goldsworthy A. (2006), "Effects of Electrical and Electromagnetic Fields on Plants and Related

- Miller D.L. and Larry E.A. (1999), "*Effect of 60 Hz Magnetic Field Exposure on the Pineal and Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in the Siberian Hamster*". Bioelectromagnetics, **20**: Pp. 224–232.
- Wilson B.W. (1988), "*Chronic Exposure to ELF Fields May Induce Depression*". Bioelectromagnetics , **9**: Pp. 195–205.
 - خليل، احمد محمد (1990)، "الإشعاع المؤين"، منشورات جامعة اليرموك، عمادة البحث العلمي والدراسات العليا، جامعة اليرموك، الأردن.
 - Pessina G.P., Aidinucci C. and Palmi M. (2001), "*Pulsed Electromagnetic Fields Effect the Intercellular Calcium Concentration in Human Astrocytoma Cells*", Bioelectromagnetics., **22**(7): Pp. 503-10.
 - Ushiyama A. and Ohkubo C. (2003), "*Effects of Whole Body Exposure to 50Hz Electromagnetic Fields on the Intramicrovascular Leukocyte Adhesion in Mice*", Proceedings of the International Conference on Non-Ionizing Radiation at UNITEN (ICNIR) Electromagnetic Fields and Our Health 20th–22nd. www.uniten.edu.my/go/icnir2003/main06.htm.
 - Wilson B. W., Matt K.S., Morris J.E., Sasser L.B., Miller D.L. and Larry E.A. (1999), "*Effect of 60 Hz Magnetic Field Exposure on the Pineal and Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in the Siberian Hamster*". Bioelectromagnetics, **20**: Pp. 224–232.
 - Wilson B. W., Matt K.S., Morris J.E., Sasser L.B.,

Study of Magnetic Field on some Pathogenic Bacteria Isolated from different sources

May A.H. AL-Allaf

Abstract

This study included the investigation of the effect of magnetic field on the growth and viability of some pathogenic bacteria included *Escherichia. coli*, *Pseudomonas auroginosa*, *Staphylococcus aureus* by using different densities (300, 800) gauss of magnetic fields which were subjected for (2 hours, 24 hrs, 5 days) , then the growth were monitored by using spectrophotometer and measured the optical density (OD) .

The results shows that the effect of 800 gauss were more effect than 300 gauss for all microorganisms especially after 5 days comparing with control samples. The OD of bacteria *E. coli* was 0.3 with 800 gauss and 0.8 with 300 gauss respectively comparing with the control sample 175.4, and OD of bacteria *Pseudomonas auroginosa* were (0.4,0.9,170) respectively, while OD of *Staph. aureus* were (0.4,1,174).

Key words: Magnetic Field, Pathogenic Bacteria, Treatment

دراسة حول تأثير المجال المغناطيسي على بعض أنواع الجراثيم المعزولة من بيئات مختلفة

مي عبد الحافظ عبد القادر العلاف

الخلاصة

تضمنت الدراسة تأثير المجال المغناطيسي على نمو ثلاثة أنواع من البكتيريا المرضية (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas auroginosa*, *Escherichia coli*) باستخدام شدتين مختلفتين (800,300) كاوس ، وقد تم قياس النمو باستخدام جهاز المطياف الضوئي لقياس الكثافة الضوئية وعلى ثلاث فترات مختلفة (5 days, 24 hrs, 2 hrs) .

أظهرت النتائج ان تأثير شدة المجال المغناطيسي 800 كاوس كان أكبر من تأثير الشدة 300 كاوس لجميع أنواع البكتيريا قيد الدراسة مقارنة بنموذج السيطرة . وقد سجلت الكثافة الضوئية لبكتيريا *E. coli* بعد 5 أيام 0.3 عند الشدة 800 فيما بلغت 0.8 عند الشدة 300 كاوس مقارنة بنموذج السيطرة 175.4 بعد نفس المدة . وبالنسبة لبكتيريا *Pseudomonas auroginosa* فقد بلغت (170,0.9,0.4) ، فيما كانت الكثافة الضوئية لبكتيريا *Staph. aureus* (174,,1,0.4) على التوالي .

Introduction

Magnetic field is regarded as one of the occupational hazards . It becomes a part of our biosystem, spread on the whole earth prepared to serve man and his benefit as one of the elementary field of nature which are caused by the movement of electric charges (Al-Sharefi & Ali,2006). Living organisms have to adapt themselves to this new factor , which can influence some of their biological functions (Scaiono *et al.*,1994).

Recent years have seen a growing interest in studying the impact of magnetic field on living organisms biology and health science in relation to possible health risks associated with environmental exposure to magnetic field related to the production , distribution and utilization of electrical energy (Hileman,2002). These effects are studied in different areas such as drug delivery , cancer therapy , sterilization , water treatment and many fields of biotechnology (Khalaf *et al.*,2012). Most studies of magnetic field have interesting with human and animals , but they were still few with plants or microorganisms (Gao *et al.*,2005).

The impact technique of magnetic field depends on the fact that energy lies in the stimulus to the events of significant changes in characteristics of metabolic organisms , these are changes in

the exchange of ions through the cell membrane in the movement of cells (Dobson *et al.*,2000).

Effect of magnetic field was variable depending on the type of the bacteria and field (Al-Barzenji,2010). Many of these effects appear to be the consequence of interaction with cell wall components and improving of enzymatic activity (Ceon & Martin,2005). Bacteria have two main types of cell walls , Gram positive and Gram negative (Rauch & Rittweger,2005).

(Fojt *et al.*,2004) found that the decrease of the colony forming units (CFU) starts immediately after the magnetic field was switched on , (Mei *et al.*,2004) studied the inactivation of bacteria by a pulsed magnetic field .It was reported that the application of electromagnetic pulses evidently causes a lethal effect on *E. coli* cells suspended in buffer solution . (Ye *et al.*,2003) studied the non-thermal sterilization by using the self-designed generator of magnetic field . The results showed that the magnetic flux density , which had the greatest effect on *E. coli* , was 1 T. The greatest destruction rate of *E. coli* was 78% under 8 hours of magnetic field (1T) treatment . Also (Mohammad *et al.*,2008) reported that exposure of the *S. typhi* to magnetic field (10 , 20 G for a period of 2 hours) caused pronounced changes in the growth

characteristics and the number of cells at the stationary phase increased .

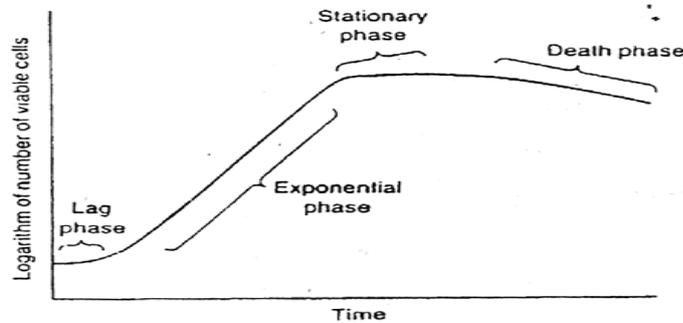


Figure 1: Generalized growth curve of a bacterial culture

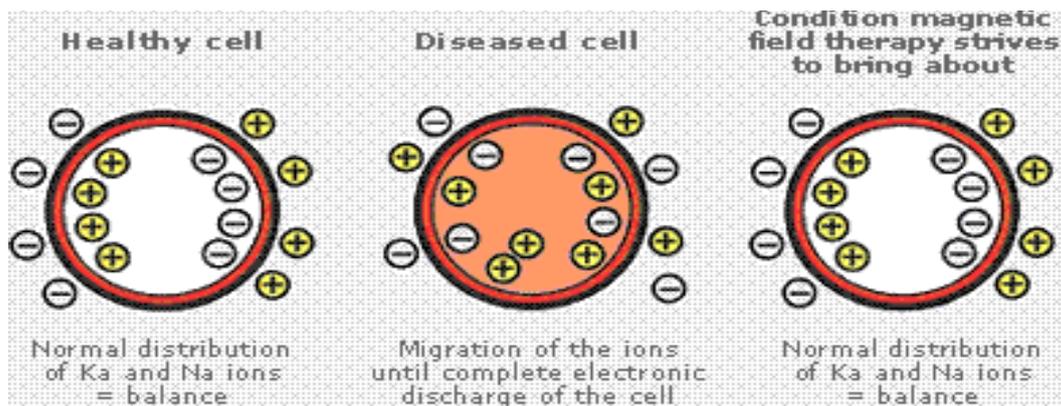


Figure 2: shows ionic distribution in healthy cell, diseased cell, and magnetic influenced cells

Material And Methods :

1- Bacterial cell preparation

Three bacterial strains were used in this study which were obtained from Bacterial Strains Bank Unit in Biology Department/ College of Science /Mosul University as slants on nutrient agar . They are (*E. coli*, *pseudomonas auroginosa* and *Staphylococcus aureus*) .

Aim of the work :

The purpose of this study is investigate the effect of magnetic field on the growth rate of three bacterial strain (*E. coli*, *pseudomonas auroginosa* are gram negative strains and *Staphylococcus aureus* is gram positive) , our choice of these strains was supported by the facts that these bacteria are within easy reach and they can be bred at a temperature of 37 C .

Technology LLC ,Dubai UAE) . One sample from each type did not subjected to the magnetic field which act as control . Spectrometer were used to measured the growth of bacteria by turbidity at 600 nm wavelength for all samples .

The tubes were subjected to magnetic field at 37 c for different times exposure and one sample did not subjected to magnetic field as control . To evaluate the concentration of bacteria , OD values were taken at 600 nm (El-Sayed *et al.*,2006).

Biochemical tests were made to ensure purification and identification . Inoculums of each bacterial strains were suspended in Nutrient Broth (NB) and incubated overnight at 37 c , the suspension prepared and adjusted by comparison against 0.5 McFarland turbidity slanted tubes . Three samples were prepared from each bacteria (Nasher and Hussein,2008).

2- Magnetic Field Treatment

Magnetic field apparatus which were flux densities (300,800 Gauss) (magnetic field produced by Magnetic

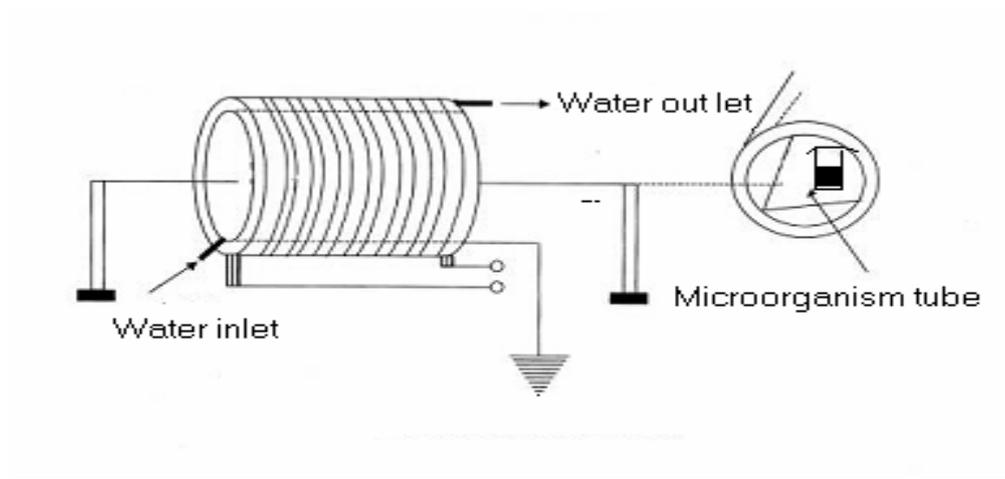


Figure 3: Magnetic field exposure facility.

field of 800 gauss is more effect as the optical density for bacterial strains under study (see table 1) .

Results and discussion :

Results obtained in this study illustrates that magnetic

Table 1: Changes of OD after period times at different magnetic conditions

Samples	Magnetic field	O.D (600 nm)		
		2 hrs	24 hrs	5 days
<i>E. coli</i>	control	1.7	28.3	175.4
	300 Gauss	1.6	1	0.8
	800 Gauss	1.2	0.5	0.3

<i>Pseudomonas</i>	control	1.6	18	170
	300 Gauss	1.6	1.2	0.9
	800 Gauss	1.1	0.6	0.4
<i>Staph. aureus</i>	control	1.9	22	174
	300 Gauss	1.7	1.4	1
	800 Gauss	1.6	0.5	0.4

bacteria for *S. mutans*, *S. aureus* when cultured under anaerobic conditions and however no growth effects were detected in *E. coli* culture. Samir & Amal in 2001 concluded that magnetic field effect on bacteria could be considered as bactericidal , (Stan *et al.*,2011) reported that exposure of *E. coli* to static magnetic field increased its antibiotic resistance .

Magnetic field have biological effect on living things. As relatively simple living organisms, bacteria are important research subject in this field. Kohono *et al.*, (2000) studied the effect of static magnetic field on bacteria, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* and *E. coli*. According to their study, ferrite magnet caused strength-dependent decrease in the growth rate and maximum number of

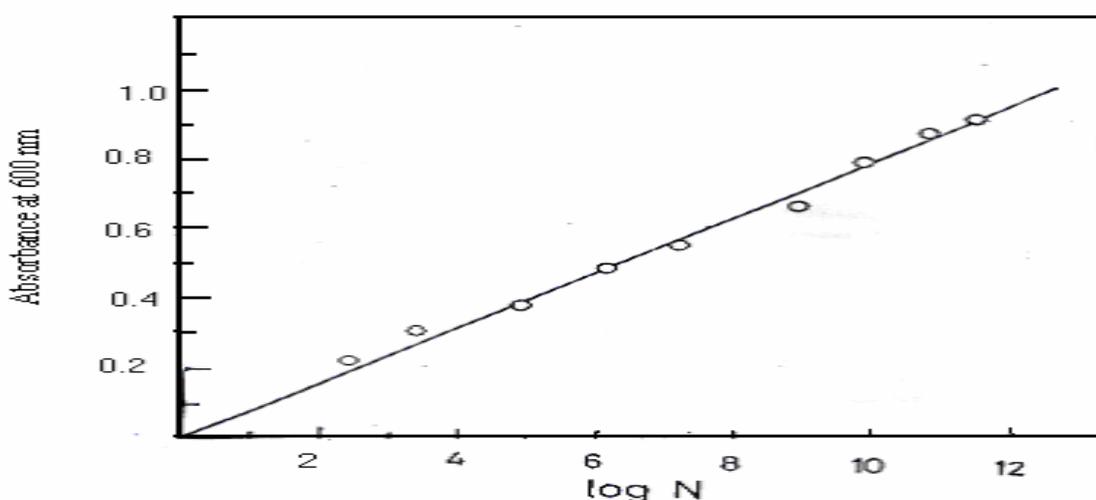


Figure 4: Survival curve between log number of bacteria cells/ml and the absorbance at 600 nm.

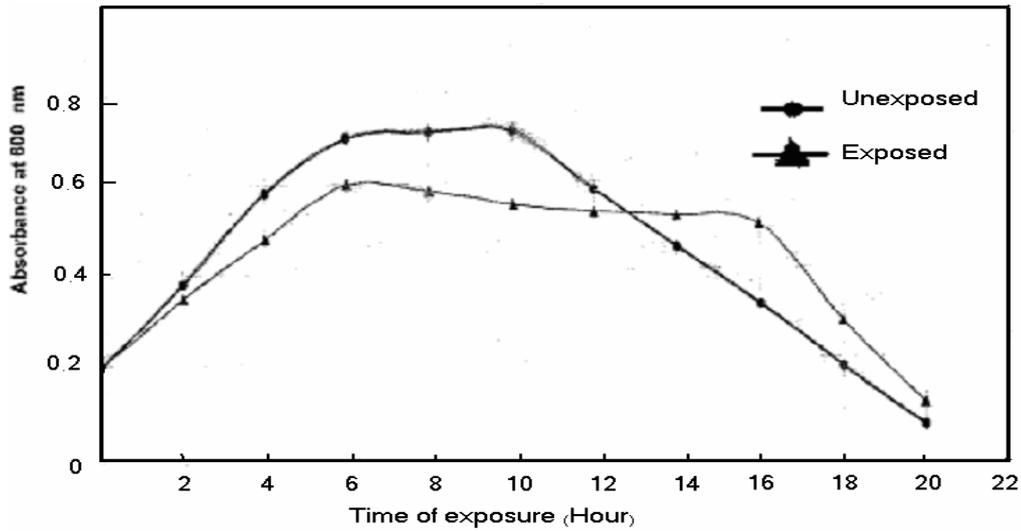


Figure 5: Absorbance at 600 nm of *E. coli* cells at a different exposure periods.

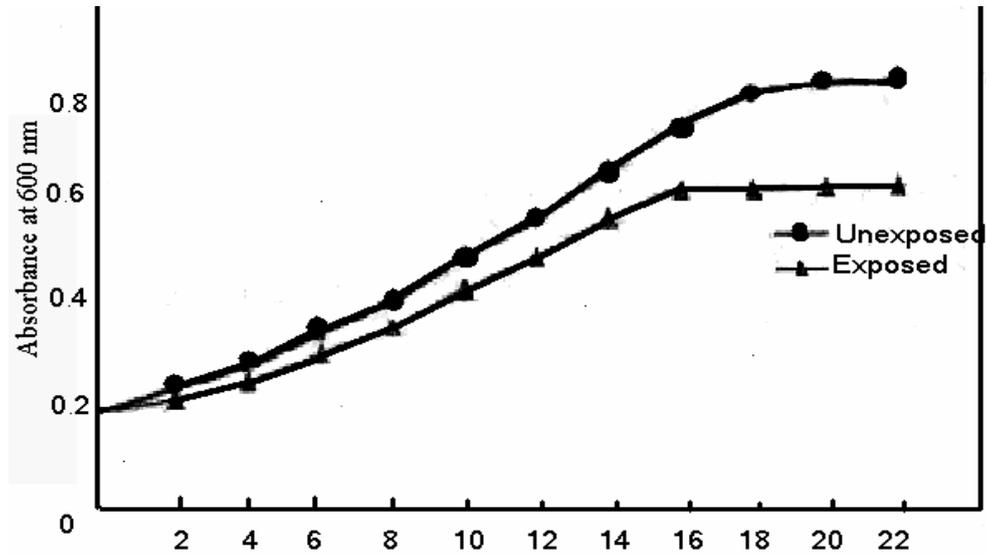


Figure 6: Growth rate of *E. coli* before (unexposed) and after exposure period of 2 h.

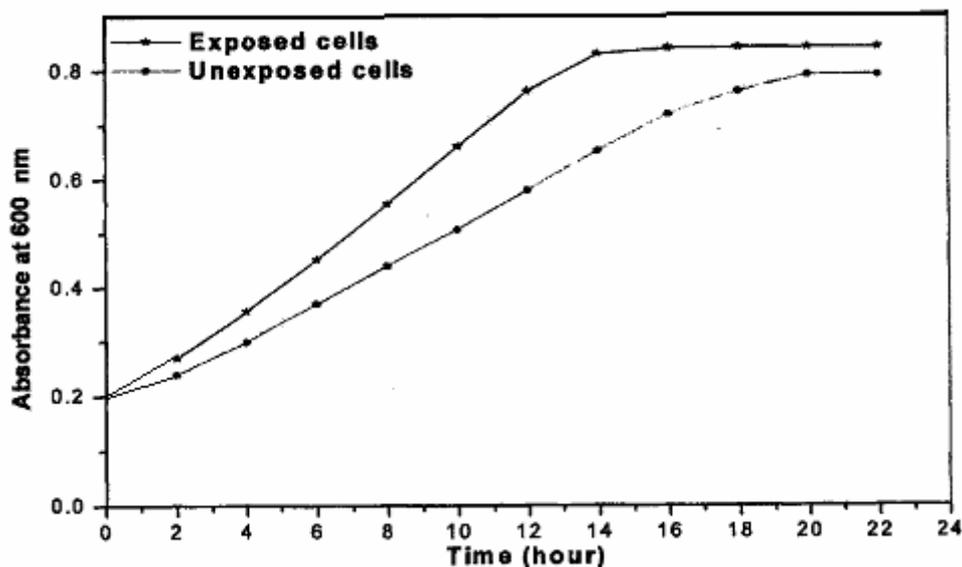


Figure 7: Growth rate of *E. coli* before (unexposed) and after (exposed) exposure period of 24 h.

The flow of protons through ion channels in bacterial cell membranes is used to control the pH of the intracellular solution. The regulation of cellular pH is crucial for the survival of biological cells. This is true because if the pH is too high or too low, the structural integrity of intracellular proteins is compromised. This in turn makes the protein incapable of performing its normal duties, most of which involve catalyzing cellular reactions that are needed to keep the cell alive.

pH 7 is neutral, and most cells cannot tolerate having an intracellular pH that is very far from this value. Therefore, bacteria (and other microorganisms) have developed ways of controlling their pH. The direction of flow of ions through protein channels is affected by

It seems very clearly that magnetic field has significant effect on bacteria's cell as well as on its life⁹. The effect of magnetic field enclosed in cell membrane. The purpose of the membrane is two-fold. First, it contains a cell's organelles and other cellular machinery (proteins) that are needed for survival second, it maintains a separation between the intracellular and extra cellular salt solutions in which the cell exists.

The separation of ions across the bacterial cell wall is essential, and is maintained by the impermeable phospholipid membrane. Different channel proteins transport different ions across biological membranes. One such ion is the proton, or positively charged hydrogen atom (H^+).

processes Bacterial cells become very 'sick' when they lose the ability to regulate the ionic currents through protein channels.

One of the deadliest scenarios is when the flow of protons is disturbed. In this case, the destruction of the protons electrochemical gradient equals the destruction of the ability to expel them from the cell. When the hydrogen ion concentration rises, then, the cell cannot release the ions to the environment, and the pH is lowered to a level that is not tolerable.

both the electrical and chemical potential that exists across the cell membrane.

The presence of a strong magnetic field is a good example of such an environment. The polarized regions of a large magnet will create highly unphysiological electrical potentials in the bacteria's environment. This potential will overcome any existing potentials in these very small cells, and they will no longer have control over the movement of ions across their membranes. The flow of ions across cell membranes is coupled to many important cellular



Figure 8: Growth of E. coli at zero time on N. agar

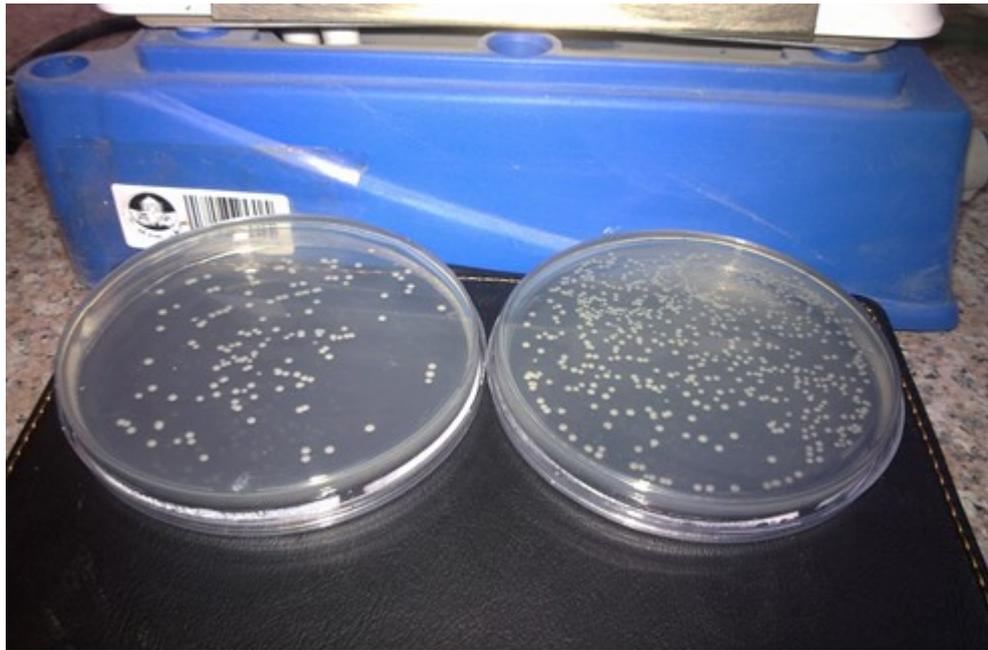


Figure 9: Growth of E. coli before & after exposure to magnetic field

systems. Photochem. Photobiol. J. 59(2):585-592.

3. Hileman B. (2002). Health effects of electromagnetic fields remain unresolved. C&F news. 11(3):15-29. <http://www.radicalsandmagnetism>

4. Khalaf S., Al-Rashid I., Naeem R. and Emshary C. (2012). The study of effect of static magnetic field on the liver function pre and post partial in rabbits. J. Basrah Research (Sciences). 38(11):89-94.

www.basra-science-journal.org

5. Geo W., Liu Y., Zhou J. and Pan H. (2005). Effects of the strong static magnetic field on bacteria. An assessment by using whole Genome Microarray. Bioelectromagnetics J. 26(8):111-117.

www.interscience.wiley.com

6. Dobson S., Pierre T., Weiser H. and Fuller M. (2000). Changes

Conclusion :

This technique is very simple to eliminating bacteria by physical method . Using magnetic field for each gram positive and gram negative in great response which were increased when the field intensity increased . This method can be used as sterilization method for its simplicity and effectiveness.

References :

1. Al-Sharefi G. and Ali N. (2006). The effect of magnetic field strength as a free radical on diabetic subjects. JBMS. Al-Mustansiriyah University. 6(12):1-9. www.jbmsonline.com
2. Scaiono C., Cozens J. and Mclean J. (1994). Model for the magnetic field effects in vivo. Application of the radical-pair mechanism to biological

- Preliminary study on technology of magnetic field non-thermal sterilization. J. Transaction of Chinese Society of Agricultural Engineering. 19(5):156-160.
13. Mohammed A., Ali F., Gaafar E. and Magda H. (1997). Effects of magnetic field on the biophysical, biochemical properties and biological activity of *Salmonella typhi.*, Master thesis submitted for Biophysics Department, Faculty of science, Cairo University , Egypt, 1997.
14. Nasher S. and Hussien A. (2008). Effect of magnetic field on the growth of *E. coli* and *Staph. aureus*. Eng. & Tech. J. 26(4):458-462.
15. El-Sayed A., Magda S., Hanafy H. and Mona H. (2006). Stimulation and control of *E. coli* by using an low frequency magnetic field. Romanian J. Biophys. 16(4):283-296.
16. Stansell M, Winters W, Doe R, Dart B. 2001. Increased antibiotic resistance of *E. coli* exposed to static magnetic fields. Bioelectromagnetics 22:129–137.
- in paroxysmal brain wave patterns of epileptics by weak field magnetic stimulation Bioelectromagnetics J. 21(5):423-430.
7. Al-Barzenji H. (2010). The effect of static magnetic field on some oral microorganisms (as in vitro study). Tikrit Medical Journal. 16(2):34-38.
8. Ceon R. and Martin J. (2005). Low level magnetic field induced growth modification of *Bacillus subtilis*. Bioelectromagnetic J. 8(3):275-282.
9. Rauch F. and Rittweger J. (2005). Why is new neuron-musculoskeletal interaction? J. Musculoskeletal NeuronIntract. 5(1):91-94.
10. Foj L., Strasak L., Vetterl V. and smarda J. (2004). Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *E. coli* and *Staph. aureus*. J. Bioelectrochemistry. 63(11):337-341.
11. Mei L., Jiu-Hui Q. and Zheri Y. (2004). Sterilization of *E. coli* by the application of pulsed magnetic field. J. Environmental Sciences. 16(4):349-352.
12. Ye S., Ituang W., He M., Yang L. and Huang W. (2003).

Effect of oxygen ratio on the Electrical and optical properties of TiO₂ films deposited by DC reactive sputtering technique

Laith Rabih^{1,2,a}, Ghazwan Gh, Ali^{2,b}, Marwan H. Younus^{2,c},
Sudjtmoko^{3,d}, Kuwat Triyana^{1,e}, Pekik Nurwantoro^{1,f}

a

Abstract.

TiO₂ thin films have been prepared using a homemade DC reactive sputtering technique under various ratio of O₂ reactive gas. The ratio of O₂ reactive gas has been applied with (5, 10, 15, 20 and 25) % of total gas (O₂ /Ar+O₂). TiO₂ thin films have been deposited on microscope glass slides (7101) substrates. The substrate temperature, target-substrate distance, and deposition time have been set at 250 °C, 25 mm and 3:30 h, respectively. The structural, optical and electrical characteristics of the films have been investigated. The structure of all samples were crystal except the sample of 25% of O₂ reactive gas, it was non-crystalline probably because of it may be bombarded by negative ions originated from the sputtering and reactive gases. The thickness of TiO₂ thin films of all reactive O₂ gas ratios has been reduced from 1013 nm at the ratio 5 % of O₂ reactive gas to 633 nm at the ratio 25 % of O₂ reactive gas.

Keywords: oxygen ratio, structure, Optical properties, resistant, TiO₂ films, DC reactive sputtering.

نبذة مختصرة.

تم تحضير الأغشية الرقيقة TiO₂ باستخدام تقنية محلية الصنع للتخثر المتفاعل DC تحت نسبة مختلفة من غاز التفاعل O₂. تم تطبيق نسبة غاز O₂ التفاعلي بنسبة (5، 10، 15، 20، و 25) % من إجمالي الغاز (O₂ / Ar + O₂). تم إيداع الأغشية الرقيقة TiO₂ على شرائح زجاجية مجهرية (7101). تم ضبط درجة حرارة الركيزة ومسافة الركيزة المستهدفة ووقت الترسيب على 250 درجة مئوية و 25 ملم و 3:30 ساعة على التوالي. وقد تم التحقيق في الخصائص

الهيكلية والبصرية والكهربائية للأفلام. كانت بنية جميع العينات بلورية باستثناء عينة ٢٥ ٪ من غاز التفاعل O₂ ، وكان غير بلوري ربما لأنه قد قصفت من قبل الأيونات السالبة الناشئة عن الغازات المتأينة والمتفاعلة. تم تقليل سمك الأغشية الرقيقة TiO₂ لجميع نسب غاز O₂ التفاعلي من ١٠١٣ نانومتر بنسبة ٥ ٪ من غاز O₂ التفاعلي إلى ٦٣٣ نانومتر بنسبة ٢٥ ٪ من غاز التفاعل O₂.

الكلمات المفتاحية: نسبة الأكسجين ، الهيكل ، الخواص البصرية ، المقاومة ، أفلام TiO₂ ، التمرق التفاعلي DC.

Introduction

In recent years, crystalline titanium dioxide (TiO₂) thin films have attracted considerable attention. Depending on the phase structure, transparency and conductivity, the TiO₂ films can be used in different applications due to their potential applications in a wide range of fields such as solar cells, gas sensors and self-cleaning windows [1,2]. TiO₂ thin films have a high refractive index, dielectric constant [3], excellent optical transmittance [4] and high oxidative power [5]. In addition, the TiO₂ films are used in smart windows application to control the solar energy passing through the window and increase the energy efficiency in buildings [3][6]. The growth mechanism of the TiO₂ thin films has been given a little attention to investigate the structure as a function of the oxygen ratio [7] (by change the pressure or content of O₂ inside the chamber). Sputtering technique is

used to fabricate TiO₂ thin films by using Metal Ti or sintered TiO₂ as a deposition source in sputtering deposition technique[8].

In general, if oxygen ratio was low, the molecules of the reactive oxygen gas are less than that of the sputtered Ti atoms and there is a high probability to deposition Ti atoms surrounding the substrate and chamber wall. There are high deposition rate and low target coverage. This sputtering regime is known as the “metallic mode” [9].

With the significant oxygen ratio there are high getter rate of the reactive gas molecules and low target coverage. More oxygen molecules become available for chemical reaction at the target surface that means start poison the target. This regime is known as the “transition mode”. With increasing the oxygen ratio, the target becomes “complete poisoning” and the deposition rate drop because of the increase of the target coverage which decreases

the sputtering yield [10], this stage known as “oxide mode”.

Bombardment of the growing film during the sputtering process by energetic species such as O^- , O_2^- is one of the most important parameters governing the thin film phase and the growing film depends on their energy and flux. [11, 12]

A variety of deposition methods have been used to produce TiO_2 films, such as electron-beam evaporation, sol-gel methods, chemical vapor deposition, and DC or RF magnetron sputtering etc.[12]. DC reactive sputtering was chosen as deposition technique because of the reactive sputter process can be change many behavior of the process parameters under the influence of the reactive gas (O_2 gas) in the system [13] and it allows for the deposition of various types of materials from metals through semiconductors to oxides[14]. Thereby, this technique can be readily controlled on structure and characteristics of deposited thin films such as adhesion, uniformity [4] and transparency [12].

In this paper, we report a study of effect of the ratio of O_2 reactive gas on the structure and some optical properties of TiO_2 thin films especially on transparency and conductivity of TiO_2 films. We have been used homemade DC reactive sputtering technique.

1. Experimental

TiO_2 thin films were deposited on microscope glass slides (7101) substrates by using a DC reactive sputtering technique. (Ti) metal was used as a target with purity reached to 99.99% and 50 mm diameter. The sputtering system consisting of a stainless-steel vacuum chamber (diameter = 10 cm) evacuated with a diffusion pump (Type: Du05M/Pfeiffer/Vacuum) backed by a Rotary pump (Type: H8L2B/Edward). The target cooling system was water cooled to around 5 °C. Ar and O_2 gases were used as sputtering and reactive gases respectively. The sputtering power was carried out at 60W. The ratio of (Ar: O_2) varied as the following sequence rate (95:5, 90:10, 85:15, 80:20 and 75:25). The temperatures of substrate(T_s), target–substrate distance(D_{ts}) and deposition time(D_t) have been set at 250°C, 25 mm and 3:30 hours respectively. Prior to all the depositions, the substrates were ultrasonically cleaned with water and acetone by an ultrasonic bath for 10 minutes and dried in air. After deposition the films stayed inside the sputtering chamber to cool down slowly under vacuum until 100 °C and then the cover of vacuum opened. The calibrated electrometer has been used to measure the resistant (R) of TiO_2

thin films at room temperature. The crystalline structure phases of TiO₂ thin films have been analyzed by an X-ray diffractometer (Type: Shimada) using Cu K α radiation ($\lambda = 0.15406$ nm) and operating at an accelerating voltage of 40 kV and current of 30 mA and the scan speed was 5.0000 deg/min. Thickness and components of TiO₂ have been estimated by using SEM (EDX) (Type: ISPEX S50-FEI). The deposition rate (D_R) of samples has been calculated by divided the thickness by deposition time Dt. The optical transmission spectra of TiO₂ thin films has been recorded at room temperature by uv-vis spectrophotometer (Type: Perkin Elmer /Lambada 25 series) which in the range from 300 to 1000 nm wavelength.

2. Results and Discussion

2.1. Structure and Electrical characteristics

As shown in Fig. 1, the results of crystalline structure have been referred to the deposited TiO₂ films with the ratio (5, 10, 15, 20 and 25) % of O₂ reactive gas. The crystalline structure of TiO₂ in the rate 25% of O₂ reactive gas was close to non-crystalline. It may be

attributed to bombard by negative ions originated from the sputtering and reactive gases, such as O⁻, O₂⁻, and Ar⁻. This agreement with Azza[7], G.S. Chen [9], and Mráz [11] [15][16]. There are two directories refer to increase the oxygen gas, the first was appearance peak of Ti₂O₃ with the ratio (15 and 20) % of O₂ reactive gas, the second was decrease the weight percentage of the rutile structure phase from 71.7% to 49%. Reduce the weight percentage of the rutile structure phase at lower oxygen partial pressure is attributed to the high activation energy to formation the rutile than the anatase phase, it means that the deposited atoms (ions) have lost most of their energy by collisions with other ions and atoms species in the vacuum and their low energy have been used only to growth the film on substrate, not to format the structure file and appearance rutile phase. This result agreement with [7][17][18]. As the oxygen content in the plasma increases, the target surface becomes more oxidized (poisoning) and more negative ions will be produced

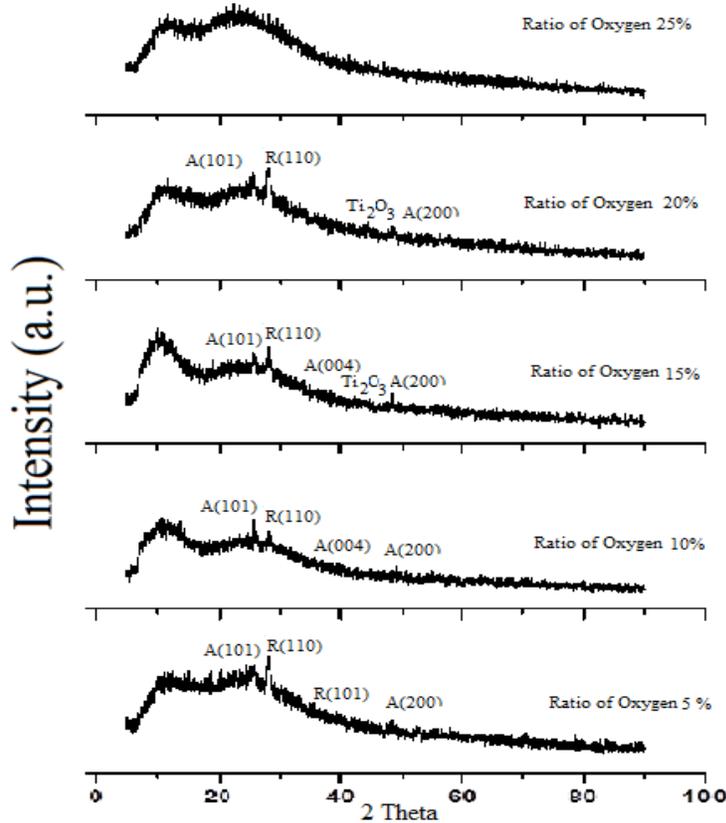


Fig.1: XRD pattern of TiO_2 thin films deposited at different rate of oxygen.

As increasing the reactive O_2 gas and decreasing Ar sputtering gas, the Ti target becomes more poisoning and the contents of O_2 gas molecules become higher than that of the sputtered Ti atoms which means reduced the sputtering yield and thus decrease the deposition rate (D_R). The thickness of TiO_2 of all reactive O_2

$$W_R = \frac{1.265(I_R/I_A)}{1 + 1.265(I_R/I_A)} \quad (1)$$

where I_A and I_R are the intensities of anatase peak and of rutile peak, respectively.

gas ratio has been affected by deposition rate decreasing reduced from 1013 nm with the ratio 5 % of O_2 reactive gas to 633 nm with the ratio 25 % of O_2 reactive gas (see table 1). The weight percentage of the rutile phase, W_R , listed in Table 1, was calculated according to Ref [19].

Table.1: Summary of the Different Parameters for TiO₂ Films at

R_{av} is resistant of thin films, σ is conductivity, W_R weight

Ar/O ₂	d (nm)	D _R (nm/h)	R _{av} (Ω)	σ ($\Omega.cm$) ⁻¹	(W _R) % $\pm 3\%$	E _g (eV)	Type of peaks
95/5	1013	289	2.00E+09	2.60417E-06	71.7	3.34	A(101),R(110),R(101),A(200)
90/10	960	274	2.68E+09	2.32955E-06	48.8%	3.39	A(101),R(110),A(004),A(200)
85/15	818	233	3.14E+09	1.6572E-06	50.5%	3.45	A(101),R(110),A(004),A(200),Ti ₂ O ₃
80/20	781	223	7.89E+09	6.59722E-07	49.3%	3.53	A(101),R(110),A(200), Ti ₂ O ₃
75/25	633	180	1.03E+10	5.05952E-07	-	3.57	amorphous

Different O₂ reactive gas ratio. d is thickness, D_R is deposition rate,

percentage of the rutile phase and E_g is band gap.

Fig.(2-a) shows the relation between values of resistant (R) of the samples as a function of ratio of O₂ reactive gas, the figure appears that the resistant R increases remarkably with increasing oxygen ratio. At low oxygen ratio, there are many vacancies and presence of titanium suboxides which caused low resistance (improve the electrical conductivity). With reducing

titanium suboxides as a result of presence excess amounts of oxygen in the film as well as decrease the crystallite size, both of them led to increase the TiO₂ resistant (see Fig. 2-b). The decreasing of crystallite size decreases the mobility (μ) of charge carriers and/or decreases the mean free path of the charge carriers or their concentration. This result agreed with Akl 2006[20].

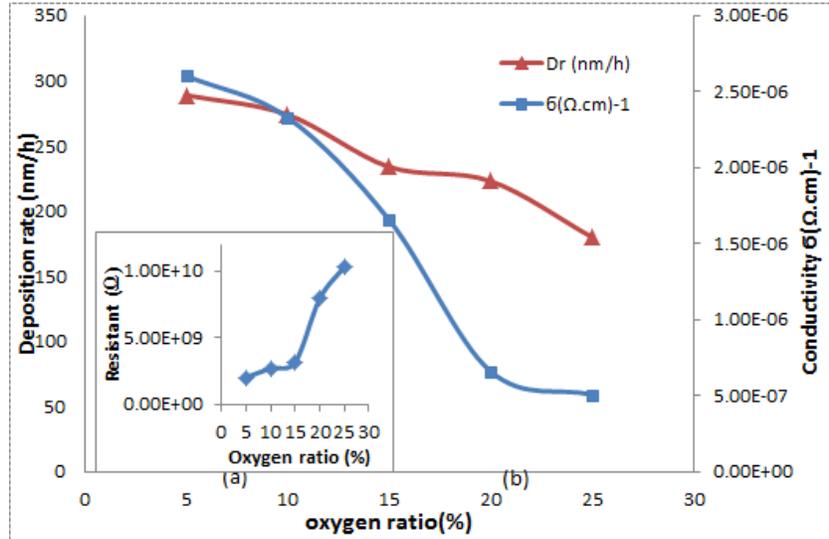
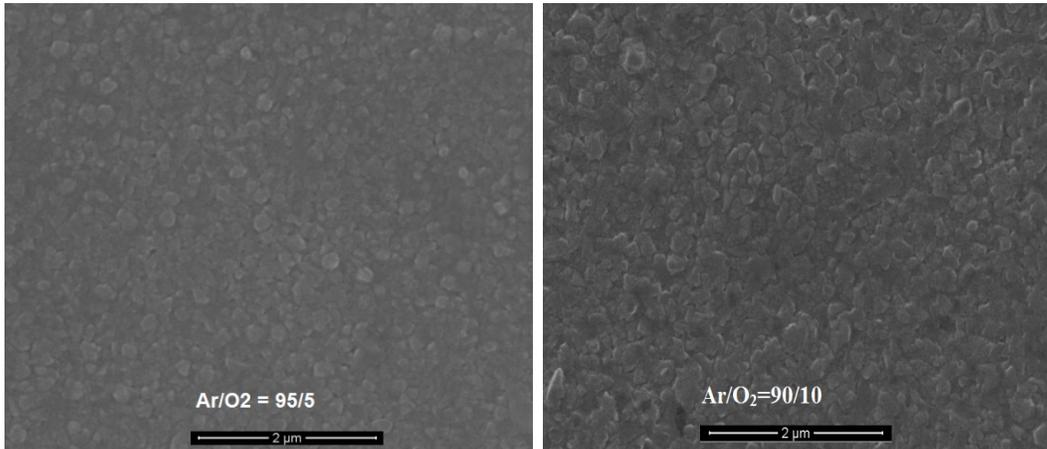


Fig. 2: (a) The values of resistant (R) of the samples as a function of ratio of O₂ reactive gas.

(b) Effect the conductivity and deposition rate by the ratio of O₂ reactive gas.

Fig 3 shows the SEM images of the morphology of ratio (5, 10, 15, 20 and 25) % of O₂ reactive gas. The grains size of TiO₂ thin film decreased with increase of the ratio of O₂ reactive gas.



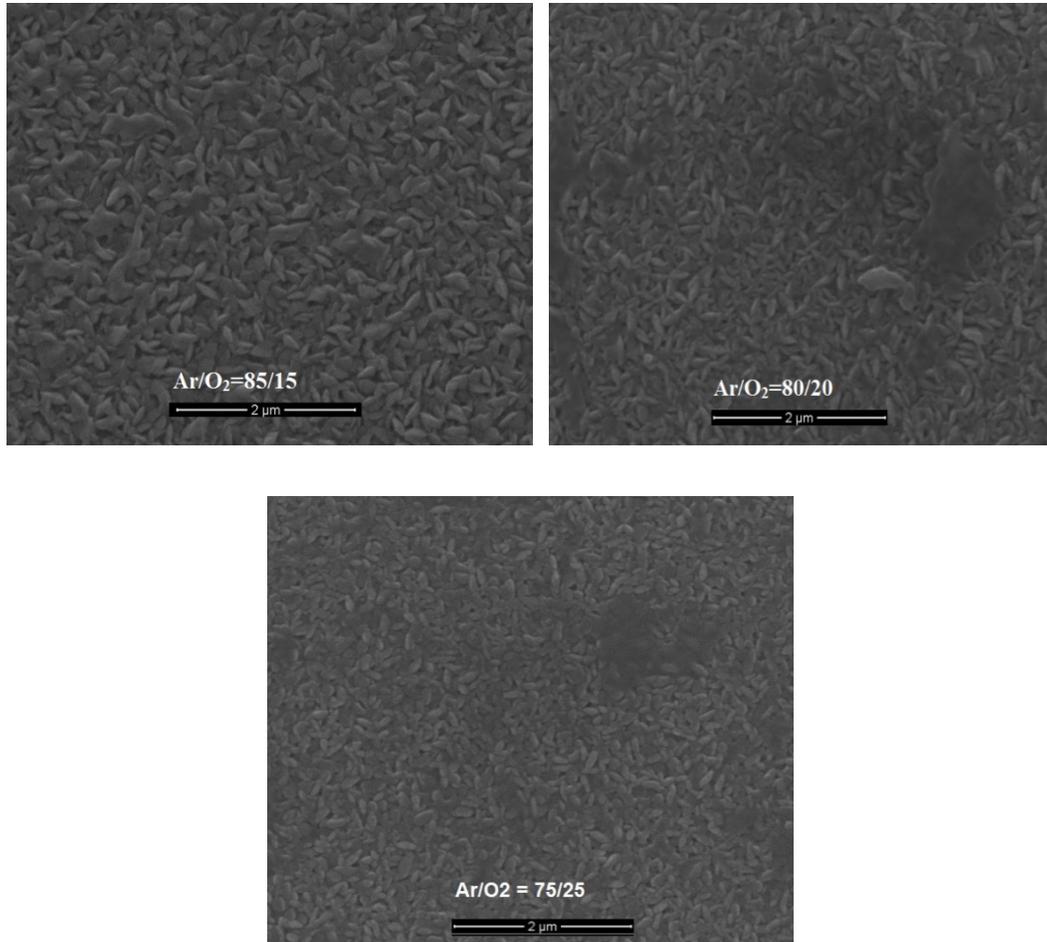


Fig. 3: The morphology of ratio (5, 10, 15, 20 and 25) % of O₂ reactive gas.

2.2. Optical Properties

Fig. 4 shows the transmittance of TiO₂ thin films at different oxygen ratio. The undulation in the spectra is due to optical interference caused by thin films of TiO₂. The TiO₂ thin films deposited at different oxygen ratio are transparent with transmittances reaching to 90 % in the visible

region. The transmittance of the TiO₂ thin film deposited at ratio 5 % of O₂ reactive gas was lower than other films at $\lambda = 550$ nm (human eye response), it maybe indicates that the film deposited at ratio 5 % of O₂ reactive gas was leave the stage of (metallic mode) and go on to (oxide deposition mode) stage, or may be the transmittance affected by thickness parameter.

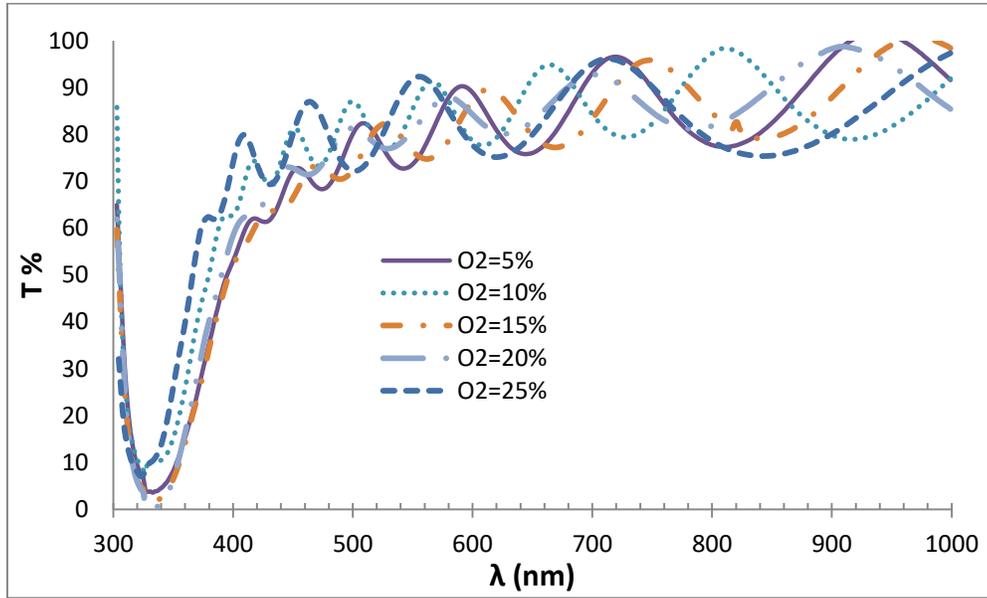


Fig. 4: the transmittance of TiO_2 thin films at different oxygen ratio

Fig.5 shows the Tauc plot method which is used to find optical direct band gap of all samples. The intercept of the extrapolated linear fit to the experimental data of a plot of $(\alpha h\nu)^2 (\text{cm}^{-1} \cdot \text{eV})^2$ versus photon energy $E(\text{eV})$ is determining the optical direct band gap. As the oxygen ratio increase, the value of the band gap energy has increase. Indeed, there is no direct relation between the value of

band gap and oxygen ratio but the effective factor on the band gap value was the structure of films. Increase the ratio of oxygen has worked to reduce the crystalline defects (vacancy) and thus decrease the number of charge carriers which led to reduced sub-levels number between conduction and valence bands increased optical energy gap.

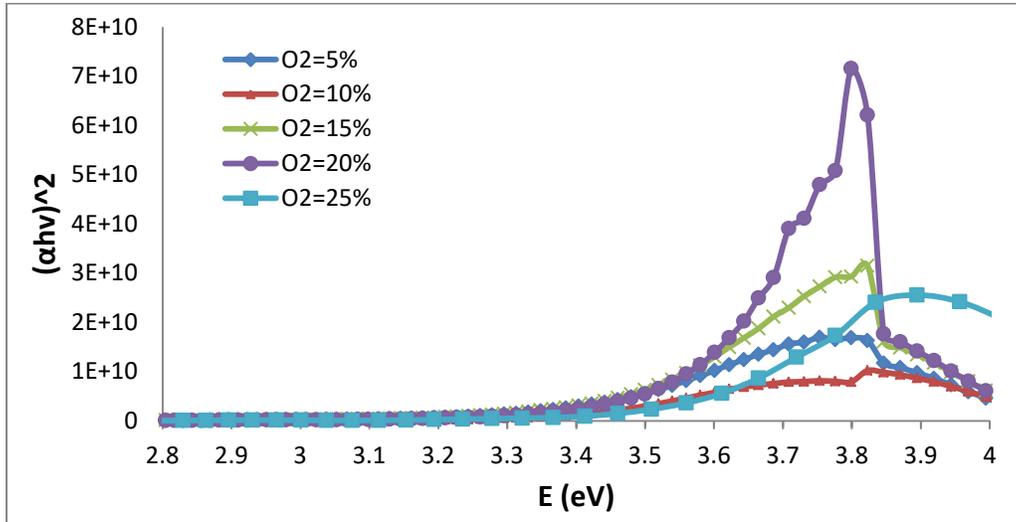


Fig. 5: $(\alpha h\nu)^2$ ($\text{cm}^{-1}\cdot\text{eV}$)² versus Photon Energy E(eV) to found band gap energy

3. Conclusions

In this work, TiO₂ thin films have been prepared using a homemade DC reactive sputtering technique under various ratio of O₂ reactive gas. The structural, optical and electrical characteristics of the films have been investigated. The deposited TiO₂ films with the ratio (5, 10, 15 and 20) % of O₂ reactive gas were crystalline structure while the deposited TiO₂ films with the ratio 25% of O₂ was non-crystalline because of it may be bombard by negative ions originated from the sputtering and reactive gases, such as O⁻, O₂⁻, and Ar⁻. The thickness of TiO₂ thin films of all reactive O₂ gas ratio has been reduced from 1013 nm at the ratio 5 % of O₂ reactive gas to 633 nm at the ratio 25 % of O₂ as a result of decrease the deposition time. The resistivity and deposition

rate have been increased with increasing oxygen ratio. The average transmittance was reaching to 90 % in the visible region. The transmittance with low reactive O₂ gas was lower than other films at $\lambda = 550$ nm.

Acknowledgments

The authors wish to thank Dr. Harini from (LPPT-UGM) to facilitate the process of obtaining the SIM results. Thanks to Dr. Tjipto Sujitno, Mr. Bambang Siswanto, Mr. Wirjoadi, Ihwanul Aziz and Mr. Sumarmo from BATAN Yogyakarta, Indonesia, For their cooperation to operate the DC- sputtering machine.

References

- [1] Yongjian Zhang, et al., "Effect of oxygen partial pressure on the structure and properties of Cu-Al-O", thin films Applied Surface Science, vol.

- 258(2012),pp. 5354– 5359.
- [2] Karuppasamy and A. Subrahmanyam, “Studies on the room temperature growth of nanoanatase phase TiO₂ thin films by pulsed dc magnetron with oxygen as sputter gas”, A. JOURNAL OF APPLIED PHYSICS vol.101(2007), 064318.
- [3] Kil Dong Lee, “Optical and Electrochromic Properties of TiO₂ Films Prepared by Using RF-Magnetron Sputter Deposition”, Journal of the Korean Physical Society, voll. 52(2008), No. 4, pp. 1070_1076.
- [4] Laith Rabih, et al. , “Structural evolution and optical properties of TiO₂ thin films prepared by DC-reactive sputtering technique”, Advanced Materials Research Vol. 699(2013), pp.789-794.
- [5] Diana Mardare and G.I. Rusu, “Electrical conduction mechanism in polycrystalline titanium oxide thin films”, Journal of Non-Crystalline Solids vol. 356(2010), pp.1395–1399.
- [6] Intel. (March 31 2013). Kevin Bonsorhttp, “How Smart Windows Work”, Available: <http://home.howstuffworks.com/home-improvement/construction/green/smart-window1.htm>.
- [7] Azza Amin El-Hamshary, “Influence of reactive sputtering process parameters on the structure and properties of TiO₂ thin films”, Ph.D. dissertation, University of Aachen, 11.Juli 2011.
- [8] S. Goto et al. , "Crystal Structure and Optical Properties of TiO₂ Thin Films Prepared by Reactive RF Magnetron Sputtering Archives of Metallurgy and Materials", Volume 60(2015),Issue2,pp.965-967.
- [9] G.S. Chen, et al., “Sputter deposition of titanium monoxide and dioxide thin films with controlled properties using optical emission spectroscopy”, Thin Solid Films, vol. 516(2008), pp. 8473–8478.
- [10]S. Berg, “Review Fundamental understanding and modeling of reactive sputtering processes Nyberg”, Thin Solid Films vol. 476(2005), pp. 215–230.
- [11] S. Mráz, and J.M. Schneider, “Influence of the negative oxygen ions on the structure evolution of transition metal oxide thin films”, Journal of Applied Physics vol. 100 (2)(2006), pp. 023503-1.
- [12]Q.M. Wang, et al., “Synthesis and properties of crystalline TiO₂ films

- deposited by a HIPIMS technique”, Vacuum, vol. 1-6(2012).
- [13]M. H. Suhail, et al., “dc reactive magnetron sputtering of titanium-structural and optical characterization of TQ films”, J. Appl. Phys. Vol. 71 (3)(1992), pp.1421-1427.
- [14]J. Domaradzki et al., “Study of Structure Densification in TiO₂ Coatings Prepared by Magnetron Sputtering under Low Pressure of Oxygen Plasma Discharge”, ACTA PHYSICA POLONICA A, Vol. 120(2011). Issue 1, pp. 49.
- [15]Henryk Tomaszewski, et al., “TiO₂ films prepared by DC magnetron sputtering from ceramic targets”. Vacuum vol. 68(2002), pp31–38.
- [16]Amin, et al., “The role of energetic ion bombardment during growth of TiO₂ thin films by reactive sputtering”, Journal of Physics D: Applied Physics, vol. 43(2010), Number. 40.
- [17]H. Toku, et al., “Influence of Process Parameters on the Growth of Pure-Phase Anatase and Rutile TiO₂ Thin Films Deposited by Low Temperature Reactive Magnetron Sputtering”, Brazilian Journal of Physics, vol. 40(2010), no. 3, pp.(340-343).
- [18]J. S`icha, et al., “High-rate low-temperature dc pulsed magnetron sputtering of photocatalytic TiO₂ films”, Nanoscale Res Lett. (2007),pp. 123–129.
- [19]D. Mardare, et al., “ TiO₂ thin films as sensing gas materials”, Journal of Non-Crystalline Solids, vol. 354(2008), pp. 4396–4400.
- [20]A.A. Akl, et al., “Fabrication and characterization of sputtered titanium dioxide films”, Applied Surface Science vol. 252(2006), pp.8651–8656.

دراسة تأثيرات الحجم الحبيبي لمادة التدعيم على كفاءة مقاومة البلى لمادة متراكبة بوليمرية المادة الأساس

أسماء عماد عبد* د. أحمد نوري محمود** د . إدريس عيدان غدیر***

الملخص

يتناول هذا البحث دراسة تأثير الحجم الحبيبي لمادة التدعيم على كفاءة مقاومة البلى الأنزلاقي لراتنج الدايا اثلين بز أبوكسي - A (Dia Ethylene Bisphenol Epoxy-A) المقوى بالنسب الحجمية (33.3%) من مسحوق (SiO₂) و (27.7 %) من مسحوق (Al₂O₃) وبأحجام حبيبي مختلفة {10,20,30,40,50,60} μm وبنقاوة مقدارها (95%) ولكلا النوعين. أجريت فحوصات البلى الأنزلاقي على العينات غير المدعمة و المدعمة بكلى المسحوقين وبتأثير أحمال وسرع وأسطح احتكاك مختلفة، بينت النتائج أن هناك حجم حبيبي امثل لمادة التدعيم تحسن فيه قدرة المادة على مقاومة البلى وأن هذا الحجم الحبيبي يعتمد على نوع مادة التدعيم كما ان هناك إجماع حبيبية تنهار عندها قدرة المادة على مقاومة البلى وتصبح قدرة المادة غير المدعمة أعلى من المدعمة بهذه الأحجام، كما بينت النتائج ان النموذج المدعم بالحجم الامثل تكون قدرته على مقاومة البلى أكثر ثباتا مع تغير قيم الأحمال و السرعة وأسطح الاحتكاك مختلفة ، كما بينت النتائج ان معدل البلى للمادة المدعمة بالأحجام الحبيبية الكبيرة يأخذ صيغة تذبذبية مع تغير قيمة السرعة ، ونقل هذه الصيغة كلما اقتربنا من الحجم الامثل. كما انه كلما كان حجم التدعيم للمادة الأساس اقرب للحجم الامثل كلما قل تأثير تغير طبيعة السطح الاحتكاك على معدلات مقاومة البلى .

الكلمات المفتاحية: دايا اثلين بز أبوكسي ، البلى الأنزلاقي ، الحجم الحبيبي .

Abstract:

The objective of this research is study the effect of the grain size factor on behavior of wear resistance of resin (Dia Ethylene Bisphenol Epoxy-A) which reinforcement by adding volume percentage (33.3%) of (SiO₂) powder and (27.7%) of (Al₂O₃) powder, With different grain size {10,20,30,40,50,60} μm } with impurity (95%) for both type, wear test were conducted with the effect of different load, speed and surfaces. The results have shown that there is optimal grain size lead to improves wear resistance and its depend on the nature of reinforcement material, and there are anther grin size lead to falls in wear resistance , Also the results shown that the samples which reinforcement by optimal grain size have more ability and high stability to resist the wear with changing in

load , speed and surface . Also the average in wear for samples with large grain size take oscillatory behavior and this behavior is disappears in optimal size , the effect of surface also disappears in this size .

Key words: (DEBE-A) composite ,sliding wear resist , grain size

يكون أساسها العلمي الدقيق هو المشاركة الفيزياء بين

المقدمة:

المواد الداخلة في عملية الخلط بخاصية أو مجموعة من

Introduction:

الخواص التي تكون أساسية في صفاتها عندما تكون

تعد المواد البوليمرية بشكل عام ومتراكباتها

في الحالة المفردة بينما تصنف على أنها ثانوية عندما

بشكل خاص من أكثر المواد قدرة على تلبية متطلبات

تكون في حالة المزج، هذه الصفة أو مجموعة الصفات

الحياة اليومية فضلا عن تلبية متطلبات التقدم العلمي،

تعزز من حالة استحداث خاصية لم تكن موجودة

ذلك لما لهذه المواد من قدرة على تطوير خواصها من

ضمن خواص المواد الداخلة في عملية المزج لكنها

خلال الاقتران بمواد أخرى ضمن شروط معينة في

مستحدثة بتأثيرها. (Ramini & Joshi

الغالب تكون سهلة التحقيق ، حيث ان عملية خلط

2011). هذه العملية تصبح أكثر فعالية عندما

نوعين أو أكثر من مواد بوليمرية مختلفة تأتي في الغالب

تكون مواد الخلط هي مادة بوليمرية مع مساحيق المواد

بنتيجة ايجابية من ناحية تحسن الخواص فيما إذ تم

المختلفة أو أكاسيدها، حيث ان الأخيرة توفر فرصة

مراعاة نوعية البوليمرات المستخدمة في الخلط ونسب

أكبر لاستحداث الصفات المهجنة أكثر وذات مدى

الخلط فضلا عن آليات الخلط واستخدام المؤثرات

فعالية أوسع مع ثبات هذه الصفات خلال ظروف عمل

الخارجية المختلفة واستغلال التحولات الداخلية

المادة المختلفة .

وتوظيفها بشكل يعزز الخواص الايجابية لكل نوع من

في السنوات العشر الأخيرة ظهر الاهتمام بدراسة

أنواع البوليمرات المستخدمة في هذه العملية ، تعرف

الاحتكاك والبللى في المواد المترابطة بوليمرية المادة

الخلطات البوليمرية بأنها ناتج من مزج نوعين أو أكثر من

الاساس و دراسة تأثير عملية التزيت على هذه

البوليمرات مزجا فيزيائيا حيث يمتلك الناتج خواص

المواد، كون ان المواد البوليمرية ومواد التزيت تصنف

مشتركة بين المركبات الأساسية أو استحداث خاصية

من الناحية الكيميائية ضمن نفس التصنيف تقريبا، من

لم تكن موجودة في المواد المشتركة في الخلط تسمى

خلال رفع قدرة هذه المواد على مقاومة البللى ودراسة

بالخاصية المهجنة (Hybrid Property) والتي

على انه تلك العملية التي تحدث نتيجة حصول تفاعل بين سطح المادة الصلب مع الظروف المحيطة مثل درجة الحرارة ، السوائل ، الغازات ، الخ . ولا يشترط في هذا النوع من البلى ان يكون هناك سطحين ثابتين ، حيث تكون إحدى المواد ذات سطح ثابت الهيئة وهي المادة المحتكة بينما لا يكون مادة الاحتكاك هيئة سطح ثابتة .

ويقسم البلى الحاصل في المواد المتراكبة بوليمرية المادة الاساس الى الأنواع الآتية . (Shao , et al.2008) .

- ١- البلى الحكي (Abrasive Wear) .
- ٢- بلى التعرية (Erosive Wear) .
- ٣- بلى كلال السطح (Surface Fatigue Wear) .
- ٤- البلى الالتصاقي (Adhesive Wear) .

الجانب العملي :

Experimental Work:

يتضمن هذا الجزء من البحث وصف للمادة المستخدمة بوصفها مادة أساس لتصنيع المادة المتراكبة بوليمرية المادة الأساس (PMCs) ، كما يتضمن وصف للمواد المستخدمة لتدعيم المادة

العوامل المؤثرة الداخلية والخارجية على تطوير أداء هذه المواد عندما تكون ضمن ظروف مسببه للبلى ، هذا الاهتمام جاء بعد التطور الكبير في الخواص الميكانيكية لهذه المواد والذي رشحها لأن تكون مواد أساسية تدخل في صناعة الأنظمة الميكانيكية المتعدد والتي تتضمن في عملها الاحتكاك والبلى بعد ما كان دورها لا يتجاوز المواد الثانوية المساعدة، حيث ان أنواع معينة من هذه المواد تستخدم اليوم في قلب صناعة محركات الاحتراق الداخلي وذلك بعد التطور الكبير في قدرها على مقاومة الاحتكاك والبلى فضلا عن التطور الكبير في خصائصها الحرارية .

(Nadeem,2018 & Kaushik) .

استنادا الى طبيعة المادة المحدثة للبلى والمادة البالية يعرف البلى على أنه عملية تعرية لسطح المادة الصلبة نتيجة تأثيرها بسطح جسم صلب آخر حيث يسمى احد السطحين المتلامسين بسطح الحك بينما يسمى السطح الأخر بالسطح المحتك وان السطح الذي يحصل فيه البلى هو السطح المحتك بينما السطح المسبب للبلى يسمى سطح الحك ، إلا ان هذا النوع من البلى ليس النوع الوحيد للبلى ، حيث ان هناك حالات من البلى تحصل بين المادة الصلبة ومادة أخرى تكون فيها المادة بجالة فيزيائية أخرى أو ضمن ظروف فيزيائية أو كيميائية أخرى ، لذلك يمكن ان يعرف البلى أيضا

مع { Epoxy-A(DEBE-A) }
 مادة المُصلَّب دايا تتراوين
 Hardener: Dia Tetrawen
 { (DT) } وبالنسب الحجمية 3
 .R./ 1 H.}

الجدول (1) أدناه يوضح بعض الخواص
 الفيزيائية للمادة الأساس هي:

الأساس بالإضافة إلى الاختبارات الميكانيكية التي
 أجريت على النماذج المصنعة.
 المواد المستخدمة في البحث .

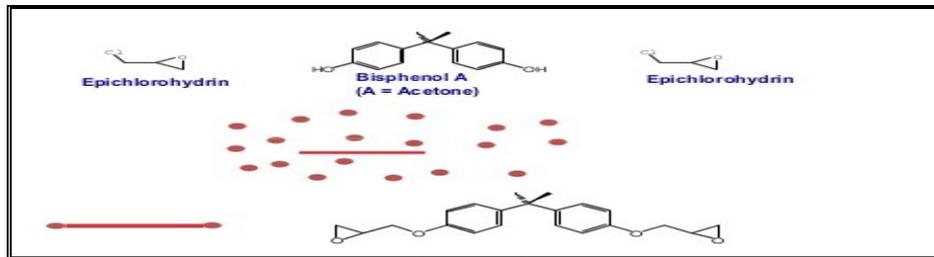
1- المادة الأساس:
 Matrix
 Material

يحضر الأساس المستخدم في البحث
 الحالي من مزج لراتنج دايا أثلين بز أيبوكس
 Resin A -
 :Dia Ethylene Bisphenol

Flash Point	81 C°
Viscosity	1200 – 1800 Cp
Specific Density	1.05

الجدول (1) بعض الخواص الفيزيائية لمادة -Epoxy Dia Ethylene Bisphenol
 A(DEBE-A)

الشكل أدناه يوضح الترتيب الهندسي الجزيئي للمادة الأساس .



الشكل (1) الترتيب الهندسي الجزيئي للمادة الأساس (Composit-Expo, 2014)

وبنقاوة مقدارها (95%) ولكلا النوعين . (الوطني ،

٢- مواد التقوية :

Reinforcement Materials

(٢٠١٠)

٣- تصنيع النماذج : Samples

استخدمت مساحيق من مادة

Preparation

السليكا (SiO₂) والألومينا (Al₂O₃) كل على

لأجل تحضير النماذج تم الاستعانة

حدي كمائثات (Fillers) لتدعيم المادة الأساس

بقوالب صنعت خصيصا من اجل الحصول على مادة

وبنسب حجميه مقدارها (33.3 %

متراكبة بأبعاد تلائم جهاز فحص ألبلى الميكانيكي ،

و (SiO₂ →) و (Al₂O₃ → 27.7 %) والتي

حيث أن النماذج المصنعة كانت بالأبعاد {

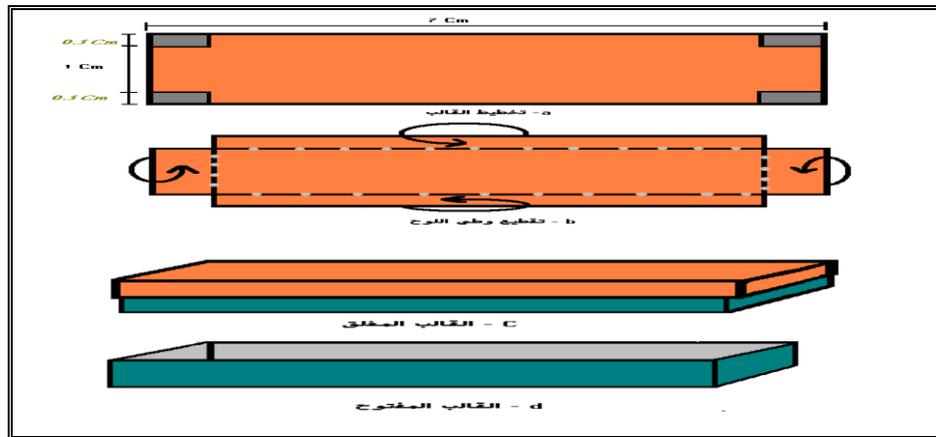
تمثل النسب الحجمية المثلى، و بأحجام حبيبي

(60×10×10)mm بعد إجراء المعاملات

مختلفة {10,20,30,40,50,60} μm

السطحية المتمثلة بعمليات الصقل والتنعيم ،

الشكل (2) يمثل مخطط للقوالب المستخدمة في تصنيع النماذج.



الشكل (2) مخطط لمراحل تصنيع القوالب المستخدمة في صناعة النماذج المستخدمة في الفحوصات

باستخدام الطريقة الوزنية تم تحديد

٤- فحص البلى الميكانيكي :

معدلات البلى الميكانيكي للنماذج المصنعة من

Mechanical Wear Test

خلال استعمال جهاز البلى الأنزلاقي، يتكون هذا

على قيم معدلات البلى الميكانيكي المتمثلة بتغير الحمل المسلط $\{N(5,10,15,20,25)\}$ ، وتغير سرعة الدوران (60,90,120,150) دورة / دقيقة ، والتي سوف تحول الى السرعة الخطية المناظرة لها، واستخدام أسطح ذوات خشونة مختلفة (320,400,1000,1200,2000) (#) ، وكل من هذه الحالات تم دراستها بعد أن تثبت العوامل الأخرى.

الجهاز من ذراع حديدية يتصل طرفه ببدن الجهاز أما الطرف الآخر فيحتوي على قاعدة لتثبيت النموذج ، ويمتاز ذراع التثبيت بقابليته على الحركة ببعدين ، يحتوي القرص الدوار على ستة مواقع لتثبيت سطوح احتكاك مختلفة ويتصل القرص الدوار مع محرك كهربائي ذي سرعة متغيرة كما يحتوي الجهاز على منظومة تبريد النموذج أثناء إجراء الفحوصات بواسطة الماء. تم حساب معدلات البلى للنماذج المصنعة والمدعمة بأحجام حبيبية مختلفة ودراسة تأثيرات العوامل الأخرى



شكل (3) جهاز فحص البلى الميكانيكي

الفحص باستخدام ميزان الكتروني حساس جدا ، تصل حساسيته إلى (0.0001gm) .

وباستخدام فرق الكتل تم تحديد معدل قيمة البلى الميكانيكي الحاصل في النماذج المصنعة حيث تم قياس أوزان النماذج قبل وبعد إجراء



شكل (4) الميزان الالكتروني المستخدم في تحديد فروقات الكتل قبل وبعد الاختبارات.

لأكسيد العناصر من العناصر نفسها . (Cho
, et al.2006)

دعمت المادة الاساس بالنسب الحجمية المذكورة أعلاه والتي تعد النسب الحجمية المثلى للتدعيم بهذا النوع من المائتات وذلك لان التدعيم بأكسيد العناصر وبنسب تدعيم عالية تؤدي في الغالب الى تناقص في مقاومة البلى للمادة المتراكبة ، لذلك فان نسب التدعيم المثلى لعدد كبير من الأساسات البوليمرية والمدعمة بأكسيد العناصر تكون اقل من (35%) وتعتمد أيضا على نوع الاوكسيد المستخدم وحجمه الحبيبي وطبيعة المادة الاساس، كما أن النسبة الحجمية المضافة الى المادة الاساس كمادة تدعيم تكون بحاجة الى ان تحقق شرط التجانس في التوزيع لتكون ضمن تصنيف المائتات الفعالة والتي سوف تؤدي الى حصول أعلى قوة ترابط بين الاساس ومادة التدعيم فضلا عن

النتائج والمناقشة:

Results and Discussion:

باستعمال الطريقة الوزنية تم احتساب معدل البلى الميكانيكي للنماذج المصنعة للمواد الاساس غير المدعمة والأساس المدعمة بمسحوق (SiO₂) وبنسبة تدعيم حجميه مقدارها (33.3%) ومسحوق (Al₂O₃) وبنسبة حجميه مقدارها (27.7%) وبأحجام حبيبية مختلفة {10,20,30,40,50,60} μm، ولقد تم اختيار مادة التدعيم من نوع أكسيد العناصر كون ان آلية مقاومة البلى في المواد المتراكبة بوليمرية المادة الاساس تختلف حسب نوع العنصر أو الاوكسيد وفي الغالب تكون في الاكسيد أكثر استقرار ووضوح من العناصر ذلك لان هذه المواد تكون أكثر تقبل

٢: نصف القطر من مركز العينة الى مركز القرص
(Cm)

t: زمن الاختبار (mint) .

النماذج المصنعة خضعت لاختبار مقاومة البلى
الأنزلاقي ولقيم أحمال مختلفة وسرع مختلفة عندما
تكون خشونة سطح الاحتكاك (# 1000) ، فضلا
عن تأثير تغير طبيعة السطح الاحتكاك على معدل
البلى الحاصل في العينة .

أولاً: دراسة تأثير الحمل المسلط على

$$\text{SD} = 2\pi r n t \text{ -----(3)}$$

مقاومة البلى الأنزلاقي للنماذج المصنعة .
يوضح الشكلين (5) و (6) معدل البلى الحاصل في
المادة الأساس غير المدعمة و المدعمة بمسحوق
(SiO₂) و (Al₂O₃) وبأحجام حبيبة مختلفة .

توفير أفضل فرصة لحصول ارتباط تشابكي والذي
بدوره سيؤدي إلى زيادة قدرة المادة
على أظهرار مقاومة بلى
أعلى. (Nelson , et al.,2008)
(Teodorescu , et al.,2008) .

تم حساب معدل البلى الميكانيكي الحاصل في النماذج
الخاضعة لاختبار البلى الأنزلاقي وفقا للمعادلات
الرياضية الآتية:

$$\text{Wear Rate} = \Delta W / \text{SD}$$

$$\text{(gm/Cm)} \text{ ----- (1)}$$

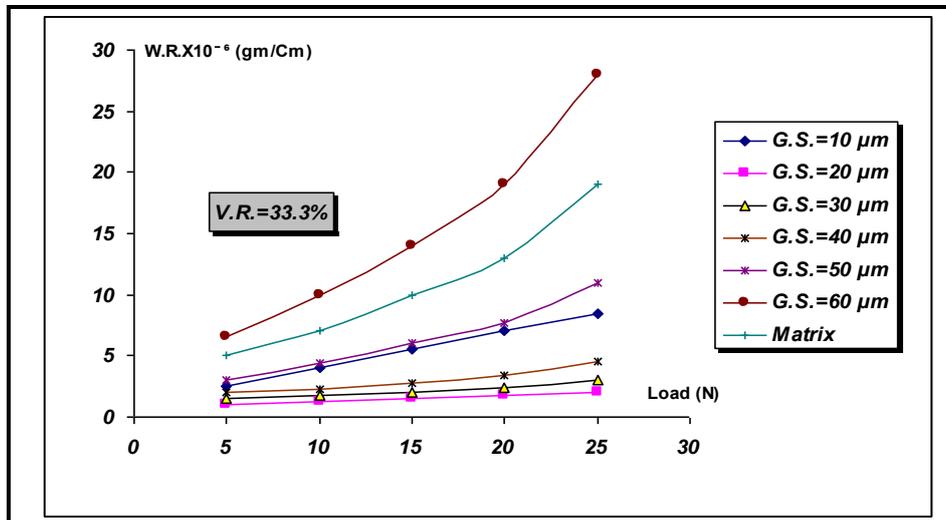
$$\Delta W = W_2 - W_1 \text{ ----- (2)}$$

حيث ان :

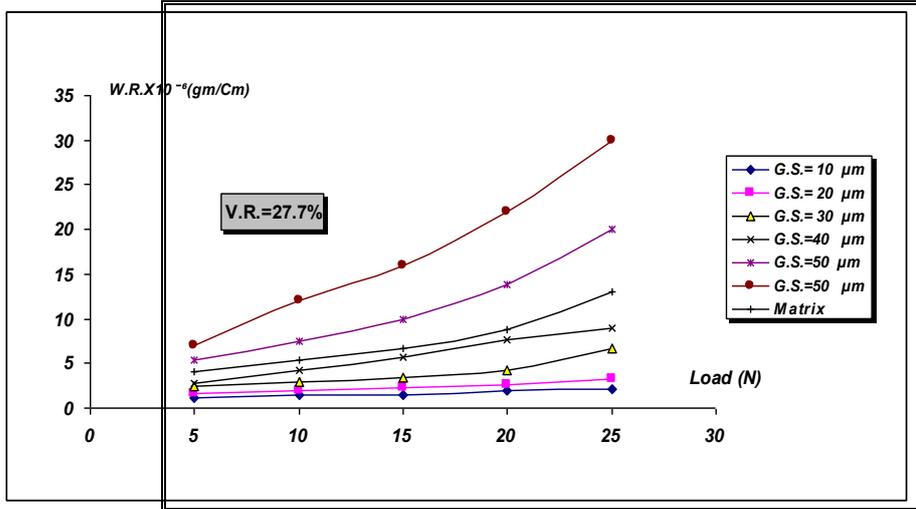
ΔW : الفرق في كتلة العينة قبل وبعد الاختبار
(gm)

SD : مسافة الانزلاق (Cm)

n: عدد دورات القرص (Cy./min)



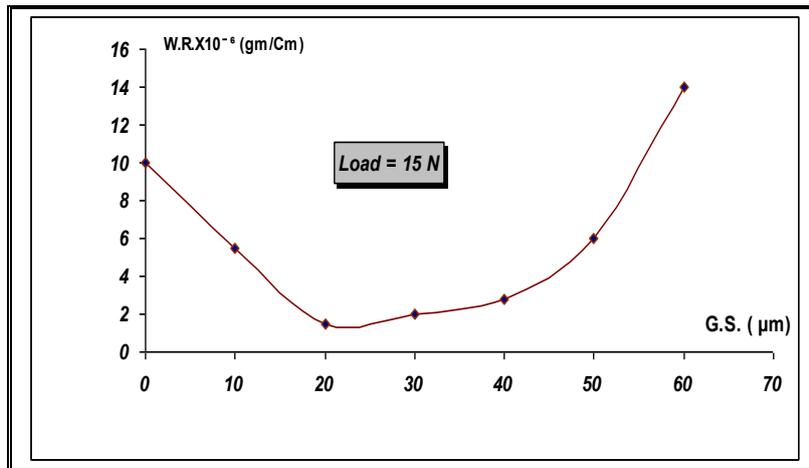
الشكل (5) البلى الميكانيكي للمادة الاساس غير المدعمة والمدعمة بأحجام حبيبية مختلفة من مادة (SiO₂)



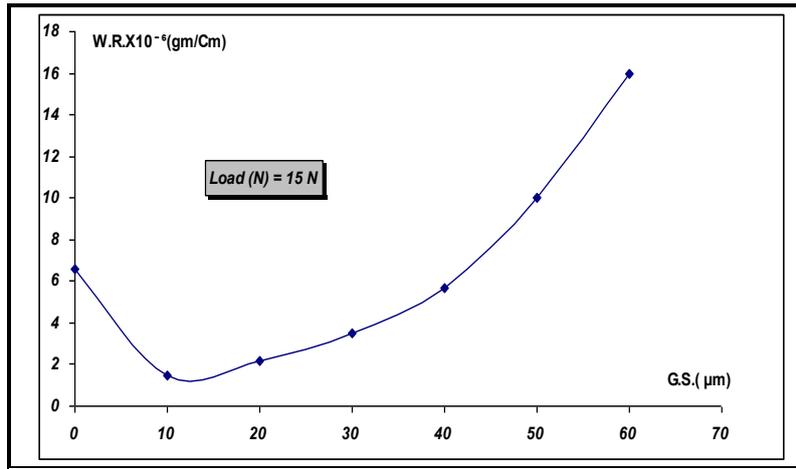
الشكل (6) البلى الميكانيكي للمادة الاساس غير المدعمة والمدعمة بأحجام حبيبية مختلفة من مادة (Al₂O₃)

على أفضل مقاومة بلى تم رسم معدل البلى الحاصل في المادة بوصفه دالة للحجم الحبيبي لمادتي التدعيم عند قيمة حمل ثابت مقداره (Load=15N).

وكما هو واضح من الشكلين، وجد أن قدرة المادة على مقاومة الكلال تتأثر بتغير الحجم الحبيبي لمادة التدعيم مع ثبوت النسبة الحجمية للتدعيم . ولغرض معرفة الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم الاساس للحصول



الشكل (7) الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الأساس بمسحوق (SiO₂)



الشكل (8) الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الأساس بمسحوق (Al₂O₃)

إلا عند حالات خاصة جدا تحقق فيها مجموعة من الشروط تؤدي بالنتيجة الى درجة تبلور ملحوظة ، وكلما كانت المادة ذات درجة تبلور اكبر كانت المادة ذات درجة متانة أعلى وبالنتيجة ذات قدرة أعلى لمقاومة البلى . (Patnaik , et al. , 2008). ومن جانب آخر فإن معظم الخواص الميكانيكية للمواد المترابطة تتأثر وبشكل كبير بدرجة ارتباط المائات مع الأساس ، حيث كلما ازداد هذا الارتباط ازداد تحسن قدرة المادة على مقاومة البلى ، وللحجم الحبيبي دور كبير في تحقيق درجة ارتباط أعلى وذلك لان هذه الحالة تعتمد على عاملين أساسيين ، الأول هو قدرة مادة التدعيم على الاحتواء في حيز يكون قريب جدا من المواقع الفعالة بحيث اقل طاقة تنشيط يمكن ان تؤدي الى ارتباط بين الأساس ومادة التدعيم ، وهذا يعني ان هناك حجم حرج يمكنه ان

ان قدرة المادة على مقاومة البلى تتغير بتغير الحجم الحبيبي لمادة التدعيم وان هذا التغير في القدرة هو في الحقيقة انعكاس مباشر لتغير درجة التبلور في المادة الأساس مع العلم ان تأثير استخدام المائات كمواد تدعيم يؤدي الى تغير نسبي ومحدود في درجة التبلور بحيث ان هذا التغير يحصل في قيمة محددة حرجية للحجم الحبيبي يتحقق فيها شرط حصول أقصى درجة تبلور ممكنة وهذا يحصل بسبب ان عملية تصنيع مادة مترابطة بوليمرية المادة الأساس مدعمة بالمائات تحصل في الغالب من دون الاستعانة بمؤثرات فيزيائية خارجية قوية مثل درجات الحرارة العالية (كما يحصل في المواد المترابطة المعدنية و السيراميكية) والتي تؤدي الى تغير ملحوظ وشامل في درجة تبلور المادة الأساس ، ولذلك فان المادة الأساس غير المدعمة تكون ذات درجة تبلور مقاربة للمادة الأساس المدعمة

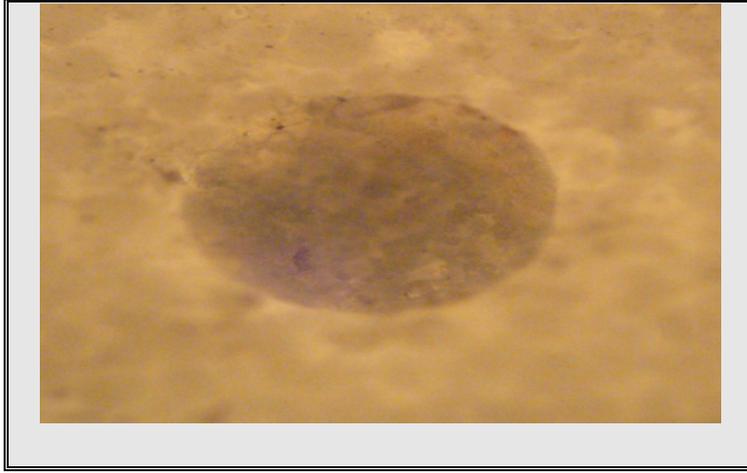
يحقق هذه الحالة، اما العامل الثاني فيتمثل بوجود مناطق فعالة في السلسلة البوليمرية لمادة الاساس تكون ذات قدرة على احدث نوع من الارتباط مع مواد التدعيم ، وان هذه المواقع تكون أما أصرة غير مشبعة أو موقع أصرة غير مرتبطة أصلا وبذلك فان وجود مثل هذه المواقع الفعالة يحقق شرط الاحتواء والذي يتطور ليصبح ارتباط أكبر. (Pontin , et al.,2007) ،

(Krishnan , et al. ,2012). وبذلك نجد ان التدعيم بمئات بأحجام حبيبية كبيرة يؤدي الى تناقص في قدرة المادة على مقاومة البلى ، وان الفحص المجهرى للبلى الحاصل في المادة عند التدعيم بأحجام حبيبية الكبيرة يبين ان الاقطاعات والاجزاءات الحاصلة في المادة تكون بحجم ومساحة سطحية كبيرة بينما عند الأحجام المثلى يكون منتظم على طول السطح.



الشكل (9) الفحص المجهرى للمادة الاساس المدعمة بمسحوق (SiO₂) وبحجم حبيبي (50µm) توضح حجم الاقطاعات الحاصلة في المادة نتيجة البلى الحاصل فيها (150x)





الشكل (10) الفحص المجهرى للمادة الاساس المدعمة بمسحوق (SiO₂) وبحجم حبيبي (20µm) توضح انتظام البلى الحاصل فيها (150x)

الأحجام الحبيبية الأكبر حيث يلاحظ ان تدعيم المادة الاساس بهذه الأحجام يؤدي الى انهيار خواص المادة بحيث ان المادة الاساس غير المدعمة تكون ذات قدرة على مقاومة البلى أعلى من قدرة المادة المدعمة بهذه الأحجام من المساحيق وبذلك يمكن تصنيف هذه المائات بالمائات غير الفعالة .

Prashan)

(and,Bhanuprakash,2017 .

وأخيرا نلاحظ من الشكلين (7) و (8) ان الحجم الأمثل لتدعيم المادة الاساس بمسحوق (SiO₂) هو (20µm) بينما الحجم الأمثل للتدعيم بمسحوق (Al₂O₃) هو (10µm)، هذا الفرق في الحجم المثالي سببه الرئيسي هو الحجم الجزيئي لمادة السليكا ومادة الالومينا حيث ان من المعروف ان الحجم

أما عند الأحجام الحبيبية الصغيرة لمواد التدعيم فان معدل البلى الحاصل في المادة يسلك السلوك الخطي مع زيادة الحمل المسلط فضلا عن ان معدل البلى الحاصل في المادة يكون منخفضا ، بينما نجد ان خطية السلوك عند الأحجام الحبيبية الكبيرة تتلاشى تدريجيا مع حصول ارتفاع في معدل البلى الحاصل ، ولعلا تفسير هذه الحالة يكمن في قوة الارتباط ودرجة التشابك والتوزيع المتجانس لمادة التدعيم حيث ان هذه المؤثرات تكون فعالة عند الأحجام الحبيبية الصغيرة (وبضمنها الحجم الأمثل) مما يكسب المادة أفضل قدرة مقاومة على البلى ، بينما نجد العكس في حالة الأحجام الحبيبية الكبيرة فأنها تكون في وضع يقود الى الانهيار. (Pal ,et al. , 2005)

، هذه النتيجة يمكن ملاحظتها بشكل واضح عند

النماذج المصنعة لخصعت لاختبار البلى الأنزلاقي عند قيمة حمل ثابتة (Load=15N) ولسرع خطية مختلفة ، حيث تحويل السرعة الدورانية للقرص والمتمثلة بالقيم

{(60,90,120,150)Cy./min} الى سرعة

خطية باستخدام المعادلة الآتية .

$$V = (\pi D n) / 60 -$$

----- (4)

حيث أن

:

$$V = \text{السرعة الخطية (Cm/sec)}$$

$$D = \text{قطر الانزلاق الدائري (10 Cm)}$$

$$n = \text{سرعة دوران القرص (Cy./min)}$$

$$\{ (60,90,120,150) \}$$

وبذلك تكون السرعة الخطية المناظرة للسرعة الدورانية

هي :

$$= V$$

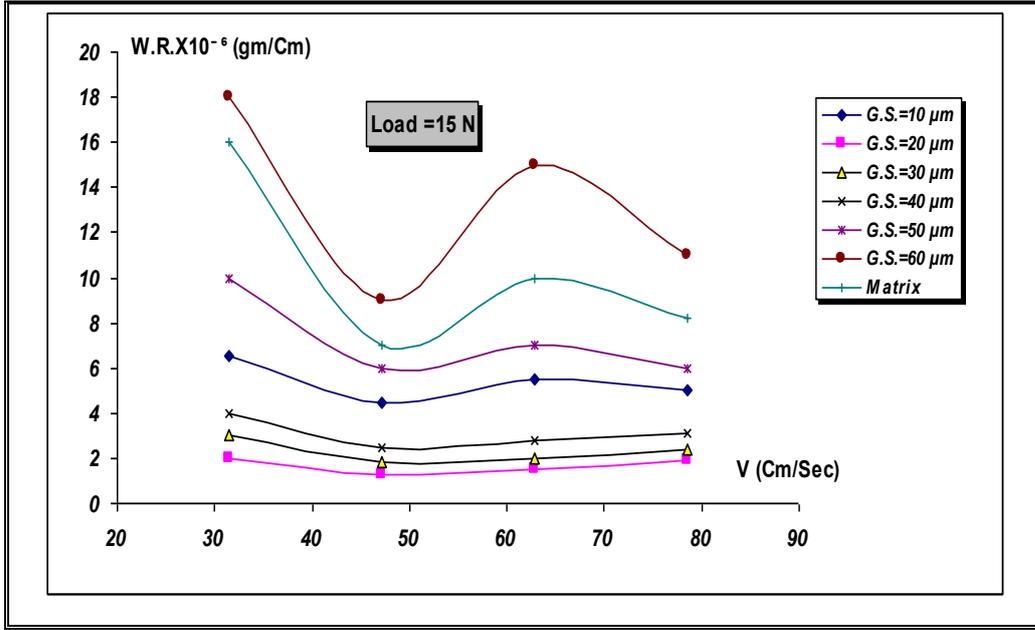
$$\{ 31.4 , 47.1 , 62.8 , \text{Cm./Sec} \}$$

$$\{ 78.5 \} .$$

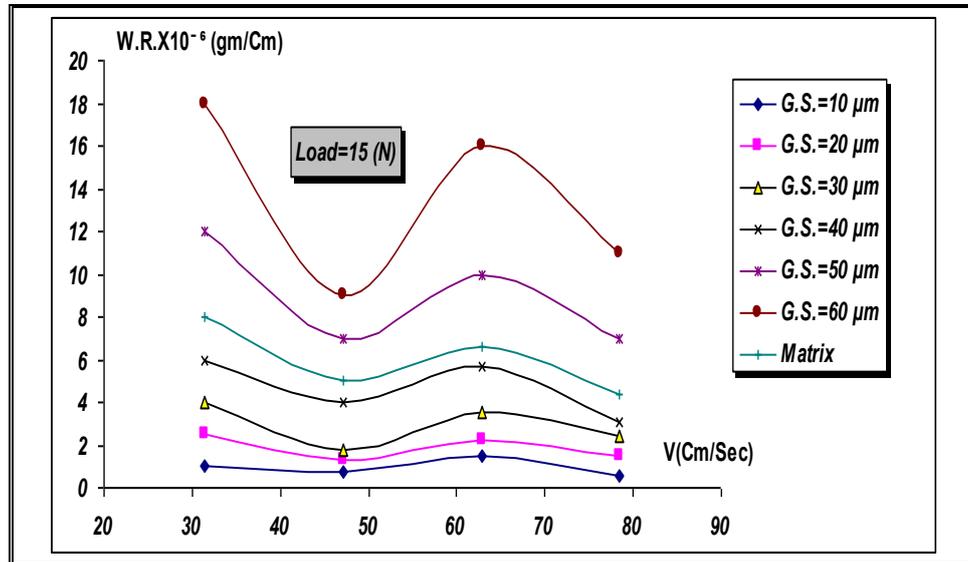
الجزيئي لمادة السليكا هو اصغر من الحجم الجزيئي لمادة الالومينا . وبذلك نجد ان للحجم الجزيئي علاقة مع الحجم الامثل لتدعيم الاساس . (, Tayfun et al.2015) .

ان هذه الأسباب قد اشتركت بصورة مفردة أو مجتمعة لتؤدي بالنتيجة الى اختلاف قدرة المادة على مقاومة البلى مع اختلاف الحجم الحبيبي للتدعيم وهنا نجد من الضروري التنويه إلا انه لا توجد آلية محددة يمكن من خلالها إعطاء تفسير دقيق لسلوكية المواد المترابطة بوليميرية المادة الاساس المدعمة بالمئات وتأثيراتها على مقاومة البلى الميكانيكي بشكل شامل لجميع الحالات التي ذكرت يمكن ان تخضع لها المادة خلال فترات عملها المختلفة، ولعل السبب الرئيسي في ذلك هو تعقيد البنية البوليميرية وان هذا التعقيد يزداد عندما يتسبب المؤثر الخارجي بحصول تغير في البنية وان هذا التغير يكون سريعاً ومفاجئاً . (Klaus , et al.2015) .

ثانياً: دراسة تأثير السرعة المختلفة عند قيمة حمل ثابت على مقاومة البلى الأنزلاقي للنماذج المصنعة .



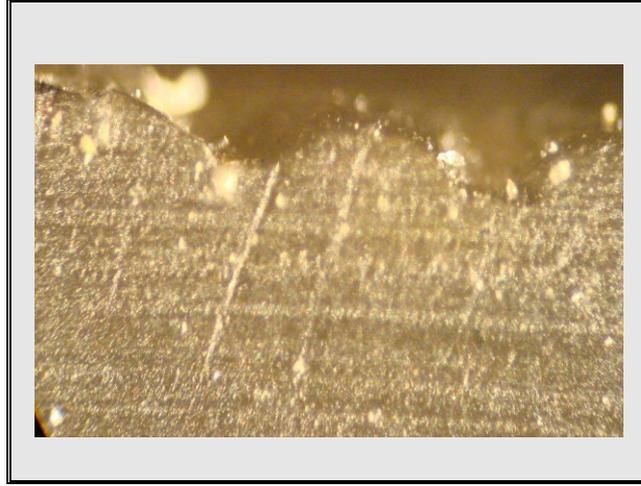
الشكل (11) البلى الميكانيكي للمادة الأساس غير المدعمة والمدعمة بـ (SiO₂) بأحجام حبيبية مختلفة ولقيم سرعة خطية مختلفة.



الشكل (12) البلى الميكانيكي للمادة الأساس غير المدعمة والمدعمة بـ (Al₂O₃) بأحجام حبيبية مختلفة ولقيم سرعة خطية مختلفة.

الاصغيرة لمادة التدعيم تكون أكبر من الأحجام الحبيبية الكبيرة .
 Raghavendra and (Ramamurthy,2014) . فضلا عن ذلك يجد
 ان الاساس المدعم بالحجم الامثل والاحجام القريبة منه يكون أكثر تماسكا من الاساس المدعم بالأحجام الكبيرة ، هذا التماسك العالي يجعل من السطح المحتك يأخذ الشكل المتعرض اثناء الخضوع للفحص بينما سطح النموذج المدعم بالاحجام الكبيرة يكون مستوي تقريبا ، هذا الفرق في هيئة السطح ناتج عن عدم التوزيع المتجانس لتماسك السطح وان المنطقة الأقل تماسكا هي الأسرع في الإزالة ، وبذلك نجد ان مساحة السطح المحتك للعينة المدعمة بالحجم الامثل تكون أقل من النموذج المدعم بالاحجام الكبيرة .
 الفحص المجهرى للاساس المدعم بمسحوق (SiO₂) وبالاحجام الحبيبية (20µm) و (50 µm) على التوالي ، حيث يلاحظ التعرج الحاصل في سطح النموذج المدعمة بالحجم الحبيبي (20µm) واستواء السطح في النموذج المدعم بالحجم الحبيبي (50 µm) .

من الأشكال (11) ، (12) ، يلاحظ ان قدرة النماذج المصنعة على مقاومة البلى تتغير مع تغير الحجم الحبيبي لمادة التدعيم لقيم السرعة المختلفة ، حيث يلاحظ ان المادة الاساس المدعمة بالحجم الحبيبي الامثل تكون ذات قدرة على مقاومة البلى ولسرع مختلفة أعلى من باقي قيم الأحجام الحبيبية الأخرى لمادة التدعيم، وانه كلما ازداد الحجم الحبيبي لمادة التدعيم كلما قلت قدرة المادة على مقاومة البلى لتصل الى حالة تكون فيها قدرة المادة الأساس غير المدعمة على مقاومة للبلى أفضل من قدرة المواد المدعمة بالأحجام الحبيبية الكبيرة ، (60µm) للأساس المدعم بمسحوق (SiO₂) و {50,60} µm) وللأساس المدعم بمسحوق (Al₂O₃) ، ولأجل فهم هذه النتيجة فإن علينا استذكار ان البلى الناتج من عملية الاحتكاك تسبب في تكون طبقة بنية ثالثة ، هذه الطبقة هي الحطام البالي من المادة المتراكبة والتي سوف تسبب بعد حين في أضعاف التماس بين سطحي الاحتكاك ما يقود الى نشوء وسادة هوائية على بعض مساحة السطحين المحتكين ، ان نشوء هذه الوسادة يؤدي الى تقليل من معدل البلى الحاصل وأن فرصة نشوء هذه الوسادة عند الأحجام الحبيبية



الشكل (13) الفحص المجهرى للأساس المدعم بمسحوق (SiO2) وبال حجم الحبيبي (20µm) (150 x) .



الشكل (14) الفحص المجهرى للأساس المدعم بمسحوق (SiO2) وبال حجم الحبيبي (50µm) يوضح استواء

السطح أثناء خضوعه لاختبار البلى الميكانيكي (150 x) .

لا نلاحظ هذا التغير الكبير عند الاساسات المدعمة بالحجم الامثل والحجوم القريبة منه . ولفهم هذا السلوك علينا العودة الى انواع البلى ممكنة الحصول في هكذا نماذج ، حيث ان هناك نوعين من البلى الأول يدعى البلى اللدن (Ductile Wear) أما الثاني فيسمى

كما يلاحظ من الشكلين (11) و (12) أن مقاومة البلى للمواد الاساس غير المدعمة والمدعمة بكلى المسحوقين تتغير مع تغير السرعة وعند الحجم الحبيبي الواحد لمادة التدعيم ، هذا التغير يكون ملحوظ عند المادة الاساس والأساس المدعم بالحجم الكبير بينما

مادتي التدعيم . التفسير الدقيق لهذه الحالة يكمن في الفرق في استجابات هذه المواد مع تغير السرعة وان هذا الفرق في الاستجابة من الممكن ان يتسبب في تغير في نوعية البلى الحاصل في المادة وبالتالي تغير في قدرة المادة على مقاومته . (Patnaik , 2008) . يتغير نوع البلى الحاصل في المادة بتغير الزاوية التي يصنعها محور النموذج مع مماس سطح الاحتكاك ، حيث يكون من النوع اللدن وفي قيمته العظمى عندما تكون الزاوية المذكور محصورة بين $(15^\circ - 20^\circ)$ بينما يكون من النوع الهش عندما يكون النموذج عمودي على سطح الاحتكاك (90°) . في النماذج المدعمة بالاحجام الكبيرة يبقى سطح النموذج مستوي تقريبا اثناء فترة الاختبار ما يجعل احتمالية كون البلى الحاصل هو من النوع الهش ، بينما في النماذج المدعمة بالحجم الأمثل والقريب منه نجد ان سطح النموذج يأخذ شكل التعرج ما يؤدي الى نقصان زاوية التماس وقد يستمر هذا النقصان في قيمة الزاوية الى ان تصل الى القيمة التي تجعل البلى الحاصل من النوع اللدن وان هذه الحالة تحصل بشكل تذبذبي مع تغير قيم السرعة ، هذه الاحتمالية في تغير نوع البلى تؤدي الى الاختلاف في قدرة المادة على مقاومته وبالنتيجة حصول هذه الصيغة التذبذبية في معدلات البلى الحاصل في النماذج . فضلا عن ذلك فان عند

بالبلى الهش (Brittle Wear) . (Patnaik , et al., 2008) . كل نوع من هذه الأنواع يحصل ضمن شروط وحالات معينة ، كلما اقترب حجم التدعيم من الحالة المثلى كلما كانت معدلات البلى الحاصلة قليلة مع تغير السرعة فضلا عن ثبات في نوع البلى الحاصل في حين كلما ابتعدت الحجم عن الحالة المثلى كلما كان معدل البلى أكبر ولا استقرار في نوعية البلى الحاصل في المادة . أما في الحالات المثلى وقرباتها يكون الانتقال من نوع بلى الى الأخر تدريجي ، لدن - شبه هش أو شبه لدن - الهش (Ductile, Semi-Ductile Or Semi-Brittle) . أما عند الاحجام الكبيرة مادة التدعيم فيكون الانتقال مباشر وفجائي ، لدن - هش (Ductile- Brittle) ، هذا التدرج في الانتقال بين انواع البلى عند الاحجام المثلى وقرباتها زاد من قدرة المادة على مقاومة البلى بينما الفجائية في الانتقال عند الاحجام الكبير اضعف قدرة المادة على مقاومة البلى . (Roy , et al., 1994) .

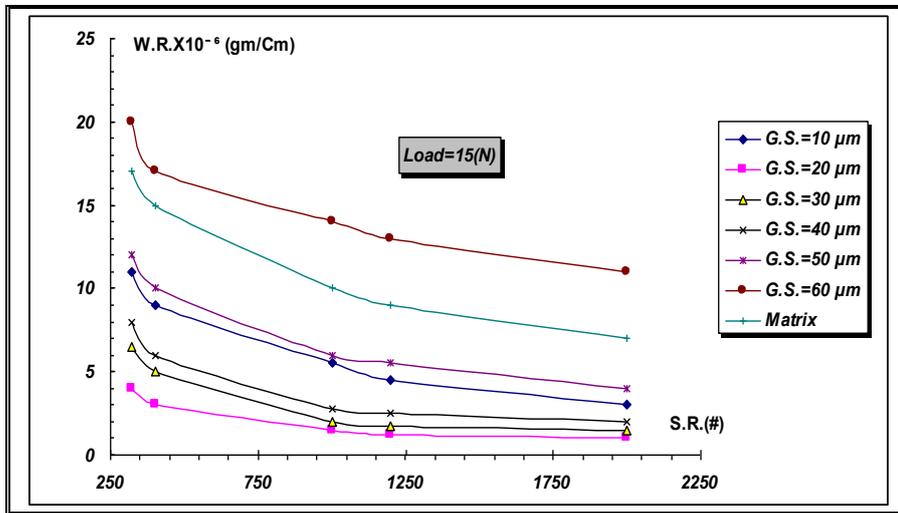
وأخير بينت الأشكال (11) و (12) ان مقاومة البلى للمادة الاساس والمادة المدعمة باحجام كبيرة تسلك سلوك تذبذبي ، وان هذا السلوك التذبذبي يقل كلما اقتربت من الحجم المثل للتدعيم لتصل الى الحالة المستقرة تقريبا عند الحجم المثل ولكلا

خضعت النماذج المصنعة لاختبار حساب معدلات البلى عند معاملتها بأسطح مختلفة الخشونة وبثبات قيمة الحمل المسلطة (Load=15N) ، حيث تم معاملة هذه النماذج بأسطح احتكاك مختلفة { # (320,400,1000,1200,2000) } .

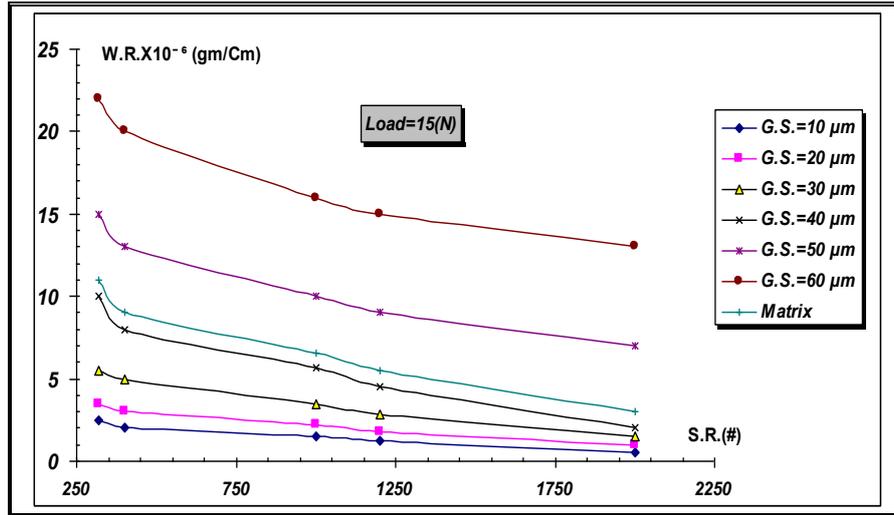
الحجم الامثل والاحجام القريبة منه نجد ان احتمالية التعير في قيمة الزاوية يكون قليل لذا نجد نوع من الثبات في نوع البلى الحاصل بالإضافة الى ثبات في معدلات البلى الحاصل في المادة .

ثالثاً: دراسة تأثير تغير طبيعة السطح

على مقاومة البلى الانزلاقي بثبوت الحمل المسلط على النماذج المصنعة .



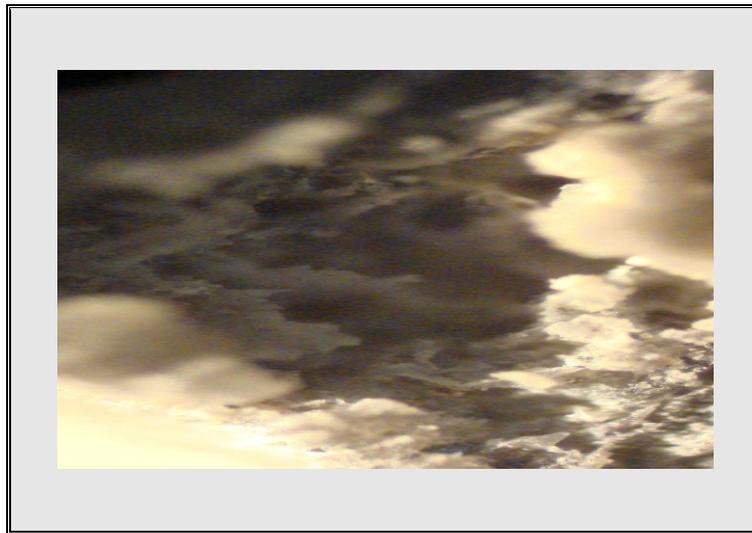
الشكل (15) البلى الميكانيكي للمادة الاساس غير المدعمة والمدعمة بأحجام مختلفة من مسحوق (SiO₂) عند استخدام أسطح مختلفة الخشونة .



الشكل (16) البلى الميكانيكي للمادة الاساس غير المدعمة والمدعمة بأحجام مختلفة من مسحوق (Al_2O_3) عن استخدام أسطح مختلفة الخشونة.

وان قوة الاحتكاك تزداد كلما ازدادت خشونة السطح وبالتالي حصول معدلات أكبر في قيمة البلى ، ويمكن مشاهدة هذه الحالة من خلال الفحص المجهرى حيث نلاحظ ان لاقطاعات والاجزاءات تكون كبيرة وفي عمق المادة عندما يكون الحجم الحبيبي لمادة التدعيم ($50\mu m$) و خشونة السطح (# 320) مادة أساس مدعمة بمسحوق (Al_2O_3) .

وكما هو ملاحظ من الشكلين ان التغيير في طبيعة السطح الاحتكاك يكون ذو تأثير واضح على مقاومة البلى عندما تكون الاساس غير مدعم أو بدعم بأحجام حبيبية كبيرة؛ بينما عند التدعيم بأحجام صغيرة لا يلاحظ هذا الوضع في لا تأثير. وهذه النتيجة متوقعة ذلك ان البلى الحاصل في المادة يكون نتيجة الاحتكاك بين سطح النموذج و سطح الاحتكاك



الشكل (17) الفحص المجهرى للأساس المدعم بمسحوق (Al_2O_3) ذات الحجم الحبيبي ($50\mu m$) (x 150) .

داخل المادة وعلى سطحها ومن ثم حصول تحطم أو تهشم في بعض أجزاء المادة . وكلما كانت عملية امتصاص الطاقة وتوزيعها داخل المادة أكبر كلما زادت قدرة المادة على مقاومة التهشم أي مقاومة البلى . (Myaiski and Slezione , 2008)

تظهر على سطح النموذج الاحتك فضلا على مواقع أخرى على سطح النموذج .

أما في حالة التدعيم بالأحجام الحبيبية المثلى أو القريبة منها ، فأننا نجد نوع من الثبات في مقاومة البلى مع تغير طبيعة سطح الاحتكاك وقد يعود السبب في ذلك الى ان آلية حدوث البلى الميكانيكي هي من الناحية الفيزيائية الدقيقة تمثل عملية انتقال طاقة وان هذه الطاقة ربما تؤدي الى حصول تشققات أو تكسرات . ولقد بين الفحص المجهرى للمادة الاساس المدعمة بمسحوق (SiO_2) ($20\ \mu m$) عند استخدام سطح خشن (# 320) فان التشققات والتكسرات



الشكل (18) الفحص المجهرى للمادة الاساس المدعمة بمسحوق (SiO_2) ذات الحجم الحبيبي ($20\ \mu m$) (x 150) .

(X)

القيمة من الحجم الحبيبي تحقق شرط أفضل ارتباط
وتجانس مع المادة الاساس .

الاستنتاجات :

Conclusions:

٤- مع تغير السرعة الخطية للاحتكاك فان المادة
الاساس المدعمة بالحجم الأمثل تكون أعلى ثبات و
أكثر استقرار من المواد المدعمة بالاحجام الحبيبية
الكبيرة .

١- قدرة المادة المتراكبة المدعمة بأكسيد

العناصر على مقاومة البلى الميكانيكي تعتمد على
الحجم الحبيبي لمادة التدعيم .

٢- هناك حجم حبيبي أمثل يعطي المادة أفضل

قدرة على مقاومة البلى بينما هناك أحجام حبيبيه

تؤدي الى انهيار مقاومة المادة للبلى بحيث تصبح المادة

قبل التدعيم ذات قدرة على مقاومة البلى أفضل من

بعد التدعيم بهذه الاحجام الحبيبية .

٣- سبب تطور قدرة المادة على مقاومة البلى

عند التدعيم بالحجم الأمثل ربما يعود الى ان هذه

٥- معدل مقاومة البلى للمادة المدعمة بالاحجام

الحبيبية الكبيرة يأخذ صيغة تذبذبية مع تغير قيم السرعة

، وتقل هذه الصيغة كلما اقتربنا من الحجم الأمثل .

٦- كلما كان حجم التدعيم للمادة الاساس

اقرب للحجم الأمثل كلما قل تأثير تغير طبيعة السطح

الاحتكاك على معدلات مقاومة البلى .

tribological behaviour of nano
scaled silicon carbide reinforced
aluminium composites", Journal
of experimental nano sciences,
Vol. 13.

*

KlausFriedrich;ZhongZhangAlois;
K.Schlarb , (2015) , " Effects
of various fillers on the sliding
wear of polymer composites ",
Composites Science and
Technology, Vol. 65, Issues 15–
16, Pages (2329-2343).

* Krishnan Ravi Kumar/
Kothavady Mylsamy
Mohanasundaram/ Ganesan
Arumaikkannu/ Ramanathan

References

*Compsite Expo – (2014), 7th
international specialized of
exhibitions on composites
materiel and technologies ,
M o s c o w , R u s s i a .

* J.Cho ; M.S.Joshi ; C.T.Sun ,
(2006) , " Effect of inclusion size
on mechanical properties of
polymeric composites with micro
and nano particles",Composites
Science and Technology,Vol. 66,
Issue 13, October 2006, Pages
(1941-1952).

* Kaushik Kumar & Nadeem
Faisal , (2018), "Mechanical and

- *Patnaik, Amar, A.Satatpathy & S.S.Mahapatra,(2008),"Parametric optimization erosion wear of polyester- GF- Alumina hybrid composites using the Taguchi method.", Journal of reinforced plastic and composites .E-mail: amar-mecha@yahoo.co.uk..
- * Pontin, M.G., Moses, D.N. , Waite, J.H. and Zok, F.W. , (2007)" A nonmineralized approach to abrasion resistant biomaterials.", PANS, **Vol.** 104, No. 34: p.p. (13559-13564), www.pans.org/cgi/doi/10.1073/pans.
- * Pal, S., Roy, S. & Bag, S. ,(2005), " Hydroxyapatite coating over alumina – ultra high molecular weight polyethylene composites biomaterials. ", Trends Biomater. Artif. Organs, **Vol.**18, P.P. : (106-109).
- * Raghavendra N,V S Ramamurthy, (2014) ," Effect of Particle Size and Weight Fraction of Alumina Reinforcement on Wear Behavior of Aluminum Metal Matrix Composites", International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, **Vol.** 3, Issue 4.
- * RaminAghababaei Shailendra & P.Joshi , (2011), Grain size–inclusion size interaction in metal matrix composites using Subramanian , (2012)," Effect of particle size on mechanical properties and tribological behaviour of aluminium/fly ash composites", Science and Engineering of Composite Materials , **Vol.** 19, Issue 3.
- * Myalski, J. & Selziona, J. (2008), "Characteristic of polymer sliding materials using to work at elevated temperature.", Archives of materials science and Engineering, **Vol.** 31, Issue 2: p.p.(91-94), E-mail: jerzy.myalski@polst.pl
- * Nelson G.D.,. Powell, G.L.F ; Lanton, V.M. , (2008), "Investigation of the wear resistance of high chromium white irons.", E-mail :grant.nelson@mecheng.adelaide.edu.au.com.
- * PetrHraběMiroslavMüller , (2016), "Three-body Abrasive Wear of Polymer Matrix Composites Filled with Jatropa Curcas L.", Procedia Engineering, **Vol.** 136, Pages (169-174).
- * Prashan thakuamr H ; Bhanuprakash , (2017), "Friction And Wear Behaviour Of Polymer Matrix Composites–Areview ", International Research Journal of Engineering and echnology (IRJET), **Vol.** 04 Issue:23950072©2017, IRJET Impact Factor value:5.181 , Page 988.

composites", Composites Part B: Engineering, Vol. 39, Issue 6, , Pages(933-961).

* Tayfun Uygunoglu^a ;
Ibrahim Gunes^b ;
Witold Brostow^c , (2015), " Physical and Mechanical Res., Vol.18, No.6.

* Teodorescu F. , Condurache D., Teodorescu H. & Grejdenescu R.,(2008), " Some aspect regarding the recycling of advance fiber reinforcement of polymer matrix composites", 6th International DAAAM Baltic Conference , Industry Engineering , Tallinn, Estoni

mechanism-based gradient crystal plasticity", International Journal of Solids and Structures , Vol. 48, Issue 18, Pages(2585-2594) .

* Roy, M. , Vishwanathan, B. & Sundararagan G.,(1994), "The solid particle erosion of polymer matrix composites.", wear, 171: p.p. (149-161).

* Shao-YunFu^a ; Xi-QiaoFeng^b ; BerndLauke^c ; Yiu-WingMai^d ,(2008)," Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate-polymer

الوطني ، أحمد نوري ، (٢٠١٠) ، " الخواص الميكانيكية للمواد المترابطة ذات أساس أيبوكسي " ، أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل ، كلية العلوم .

دراسة تأثيرات الحجم الحبيبي وهيئة الاحتواء على السلوكية الميكانيكية لمادة متراكبة بوليمرية المادة الأساس

*أسماء عماد عبد

أحمد نوري محمود*

الملخص

دعم الراتنج (Dia Ethylene Bisphenol Epoxy-A) المستخدم في هذا البحث بوصفه مادة اساس لتصنع مادة متراكبة بوليمرية المادة الاساس بمساحيق مواد (Al) و (Si) وبالنسب الحجمية (44.4 %)، (50 %) على التوالي وبالأحجم الحبيبي (10,20,30,40,50,60 μm) ، خضعت النماذج المصنعة لفحوصات الكلال الأنحائي ولقد بينت النتائج ان هناك حجم حبيبي امثل تتحسن في قدرة المادة على مقاومة الكلال وان هذا الحجم يختلف مع اختلاف مادة التدعيم للمادة الاساس نفسها وان سبب هذا الاختلاف يمكن ان يعزى الى قدرة هذه المواد على التراص واشغال المساحات البينية بين السلاسل البوليمرية بشكل امثل ، ومن اجل تعزيز النتيجة السابقة تم اخضاع النماذج المصنعة لفحوصات الصلادة وعلى مرحلتين ، الاولى تحديد تغير صلادة المادة مع تغير الحجم الحبيبي لمادة التدعيم ولقد جاءت النتائج لتبين ان الصلادة تصل الى اعلى قيمة لها عندما تدعم المادة بالحجم الحبيبي الامثل وانها تتغير مع تغير الحجم الحبيبي لمادة التدعيم و بمعدل يعتمد على قدرة مادة التدعيم على التشكل بهيئة متراصة بين السلاسل البوليمرية لمادة الاساس . أما المرحلة الثانية فقد تضمنت دراسة قدرة المادة على المحافظة الاحتواء الامثل لمادة التدعيم داخل المادة الاساس عند تعريض هذه المادة لإجهاد دوري دون حد الكلال، ولقد جاءت النتائج لتؤكد ان كلما كانت مادة التدعيم ذات قدرة على التراص كلما اصبح الحجم الحبيبي الأمثل اقرب الى القيمة الأحادية مع تناقص قدرة المادة الاساس على المحافظة على احتواء مادة التدعيم.

الكلمات المفتاحية: المواد المتراكبة بوليمرية المادة الأساس ، الأحجام الحبيبية ، الكلال الأنحائي ، الصلادة السطحية

Study The Effect Of Grain Size And Containment Configuration On Mechanical Behavior For Polymer Matrix Composite

Ahmed N. Mahmmod

Asmaa E. Abed

Abstract

Dia Ethylene Bisphenol Epoxy-A(DEBE-A) was reinforced and used in this research as a matrix to manufacture (PMCs) by material powder (Al) and (Si) with volume ratio (44.4%) and (50 %) respectively and with grain size (10,20,30,40,50,60 μm), the fabricated samples were distributed to bending fatigue test and the results show that there is an optimum grain size due to improves the materials ability to resist the varies the reinforcement bending fatigue and this size varies with material for the same matrix , the reason for this difference is due to the ability of the reinforcement material to package between polymer chains of matrix and the occupancy of spaces in an optimal manner .In order to consolidation the previous result samples were subjected to hardness and in two stages , the first is to determine the change in hardness with grain size change , the result have been shown that the hardness reaches to the higher value when the material is supported by optimum grain size and they change with change reinforcement material with rate dependent on the ability of the material to support in package formation . The Second stage included study the ability of the matrix on the containment of the reinforcement materials when exposed to periodic stress less than the fatigue limit, the results shown that when the reinforcement materials have more ability to package the grain size become more closer to unci value and the matrix ability to containments become less.

Key words : DEBE-A , PMCS , Grain Size , Bending Fatigue , Hardness

المقدمة :

ومقاومتها للإجهادات الداخلية والخارجية المؤثرة عليها

اضافة الى مقاومتها للظروف المحيطة ، كما ان من اهم

المواصفات المطلوبة في هذه المواد والتي سوف تحدد

استعمالاتها في التطبيقات تكنولوجية متقدمة هي قدرة

هذه المواد على ان تكون قوية جدا وذات جساءة

عالية والتي تكون في الغالب واطئة في مثل هذه المواد ،

الا ان هذه المواد استطاعة ان تحقق مرحلة متقدمة

جدا من نسبة (المائة الى الوزن) حيث استطاعة

بعض المواد المتراكبة بوليمرية المادة الاساس ان تصل الى

نسبة هي اعلى بعشرات المرات من الفولاذ والالمنيوم ،

ما جعلها تدخل كمادة اساسية في صناعات الفضاء

والطيران . (Tiba et al., 2004;)

Bond et al. , 2016 ; Ahmed et

al.,2017 ; Sathishkumar et

. (al.2017

تمركزت البحوث التي اجريت على هذه المواد

بمحورين رئيسيين ، الاول اهتم بتطوير المادة الاساس

من ناحية ايجاد مواد بوليمرية بخصائص مميزة تصلح ان

تؤدي وظيفة المادة الاساس ، او من خلال مزج

مادتين بوليمريتين (اكثر) ، حيث ان عملية خلط نوعين

أو أكثر من مواد بوليمرية مختلفة تأتي في الغالب بنتيجة

أن من أهم أسباب التطور الصناعي

والتكنولوجي الذي نشهده اليوم في حقل المواد هو تطور

علم البدائل ، حيث ان الكثير من المواد التي كانت

تستعمل كمواد اساسية في التطبيقات الصناعية

والتكنولوجية المتقدمة تم الاستعانة بدائلها و ذلك لعدة

اسباب أهمها ندرة هذه المواد وصعوبة تحضيرها ما

قاد الى كلفتها العالية فضلا عن عدم توفر جميع

الخصائص المطلوبة في مادة واحدة ،ألا في حالات نادرة

. ولذلك تم انتاج ما يعرف بالمواد المتراكبة ، وهي

المواد التي تكون ناتج عن دمج مادتين او اكثر مختلفتين

لإعطاء موزع من الخواص لا يمكن الحصول عليه من

المواد الاصلية. ولعل من أكثر المواد نجاحا في هذا

المجال هي المواد المتراكبة بوليمرية المادة الاساس

(Polymer Matrix Composites)

(PMCs) . (Aghababaei et

. (al. , 2011

ان من اهم الخواص التي استطاعة المواد

المتراكبة بوليمرية المادة الأساس تحقيقها ولم تكن

موجودة في هذه المواد هي المائة الجيدة والاداء العالي

إيجابية من ناحية تحسن الخواص فيما إذ تم مراعاة نوعية البوليمرات المستخدمة في الخلط ونسب الخلط فضلا عن آليات الخلط واستخدام المؤثرات الخارجية المختلفة واستغلال التحولات الداخلية وتوظيفها بشكل يعزز الخواص الإيجابية لكل نوع من أنواع البوليمرات المستخدمة في هذه العملية ، تعرف الخلطات البوليمرية بأنها ناتج من مزج نوعين أو أكثر من البوليمرات مزجا فيزيائيا حيث يمتلك الناتج خواص مشتركة بين المركبات الأساسية أو استحداث خاصية لم تكن موجودة في المواد المشتركة في الخلط تسمى بالخاصية المهجنة (Hybrid Property). وتسمى هذه البوليمرات بالبوليمرات المهجنة (Hybrid Polymer) وتسمى المواد الاساس المصنعة من هذه البوليمرات المهجنة بالأساسات المشتركة او الاساسات المساهمة (Co-Matrix). (Hornak ; Zubko,2017 ; Petr ; Muller ,2016). أما المحور الثاني فقد تركز حول دراسة مواد التدعيم، حيث ان هذه المواد اخذت اشكال وهيئات مختلفة فمنها ما اعتمد على طبيعة هيئة التدعيم واشكالها الهندسية والتي توفر فرصة تحسين الخواص ضمن محاور معينة من محاور

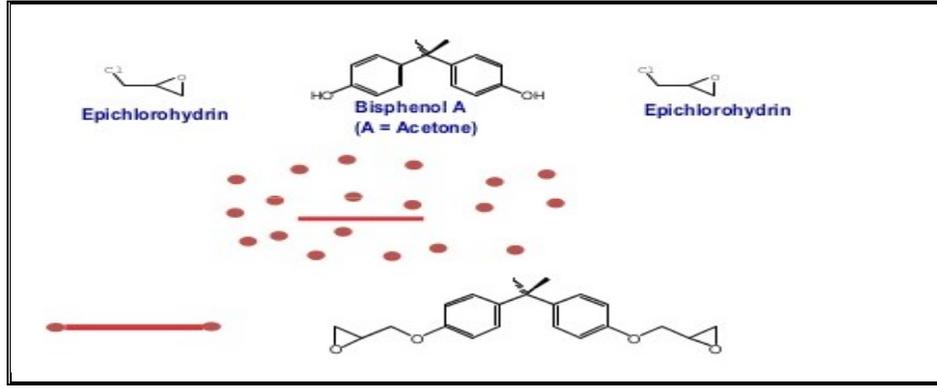
بدن المادة المتراكبة ، ومنها ما اعتمد على تحسين مواصفات المادة الاساس من خلال استخدام مواد تعمل على تطوير خواص المادة الاساس من خلال تقليل نقاط الخلل في هذه المواد ، ومنها ما اعتمد على استخدام خواص هذه المواد لتكون مساهمة في تعزيز خواص المادة المتراكبة الناتجة ، (Wang ; Sain , 2019 ; Anhalt et al , 2018). ولعل من اهم مواد التدعيم هي المواد التي استخدمت بهيئة مساحيق ، حيث وفرت هذه المواد جملة من التحسينات لم تستطع الهيئات الأخرى توفيرها ومن اهمها تجانس خواص المادة المتراكبة بجميع الاتجاهات والتحسين الشمولي لخواص المادة المتراكبة المدعمة بمواد بهيئة مساحيق فضلا عن النسب الكبيرة باستحداث خصائص جديدة بالمقارنة مع الهيئات الأخرى للتدعيم (Jain et al. 2018).

ان من أهم العوامل المؤثرة على خصائص المادة المتراكبة المدعمة بالمساحيق هي الحجم الحبيبي لمادة التدعيم ، حيث يلعب هذا المؤثر الدور الكبير في تحديد درجة تحسن الصفة الموجودة في المادة المتراكبة او الصفة المستحدثة فيه ، كما يؤثر وبشكل

مباشر على صفات المادة الأساس المستخدمة . كما
وان لكل نوع من المساحيق درجة تأثير على خاصية
معينة تختلف عن المساحيق الأخرى لا بل ان
للمسحوق الواحد درجة تأثير تختلف مع اختلاف
حجمه الحبيبي ومع اختلاف المادة الأساس
المستخدمة. (Rudyak *et al.* , 2019) .

<p>Matrix</p> <p>1- المادة الأساس:</p> <p>Material</p> <p>تحضر الأساس من مزج المادة لراتنج Resin :Dia Ethylene Bisphenol Epoxy-A(DEBE-A)</p> <p>مع مادة المصلب Hardener: Dia Tetrawen (DT) وبنسبة مزج حجمية {3 R./ 1 H.} . بعض الخواص الفيزيائية للمادة الأساس هي:</p> <p>Flash Point > 81 C ° Specific Viscosity:1200–1800Cp</p> <p>Density</p>	<p>الجانب العملي</p> <p>يتضمن هذا الجزء من البحث وصف للمادة المستخدمة بوصفها مادة أساس لتصنيع المادة المترابطة بوليمرية المادة الأساس (PMCS)، كما يتضمن وصف للمواد المستخدمة لتدعيم المادة الأساس بالإضافة إلى الاختبارات الميكانيكية التي أجريت على النماذج المصنعة.</p> <p>المواد المستخدمة في البحث:</p> <p>المواد المستخدمة في تصنيع النماذج هي:</p>
---	--

الشكل أدناه يوضح الترتيب الهندسي الجزئي للمادة الأساس .



الشكل 1 : الترتيب الهندسي الجزيئي للمادة الأساس (Composit-Expo, 2014)

3- تصنيع النماذج: Samples

Preparation

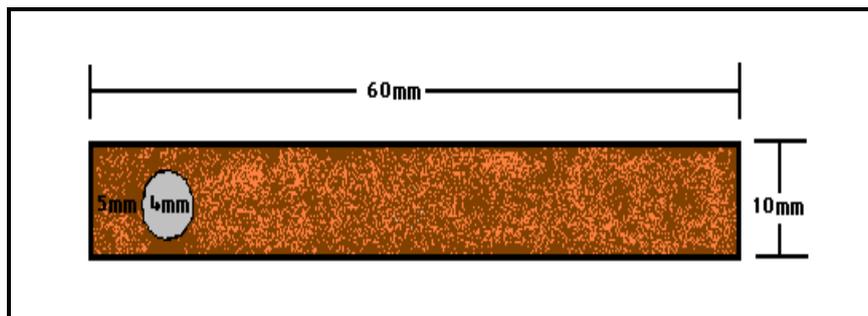
لأجل تحضير النماذج تم الاستعانة بقوالب صنعت خصيصا من اجل الحصول على مادة متراكبة بأبعاد ثلاثم جهاز فحص الكلال الانحنائي وأن هذه النماذج هي أيضا ثلاثم فحوصات الصلادة ، إذ أن النماذج المصنعة كانت بالأبعاد $(60 \times 10 \times 3) \text{mm}$ بعد إجراء المعاملات السطحية المتمثلة بعمليات الصقل والتنعيم، الشكل (2) يمثل مخطط للنماذج المصنعة.

2- مادة التقوية:

Reinforcement Material

استخدمت مساحيق من مادة السليكون (Si) والألمنيوم (Al) لتدعيم المادة الأساس وبالنسب والحجمية (50%) ، (44.4%) على التوالي والتي تمثل النسب الحجمية المثلى للتدعيم يمثل هذه المساحيق وبنقاوة مقدارها (95%) وبالأحجم الحبيبي $(10, 20, 30, 40, 50, 60 \mu\text{m})$ كل على حدى كمئات (Filler) لتدعيم المادة الاساس .

الوطني ، ٢٠١٠ (٢)



الشكل 2 : مخطط للنماذج المصنعة والمستخدمه لفحوصات الكلال

4- فحص الكلال الانحنائي: والدوراني ، من نوع (Hsm20)، هذا الجهاز من
 Bending Fatigue Test
 أجريت فحوصات الكلال الأنحنائي للنماذج
 المصنعة باستخدام جهاز فحوصات الكلال هو
 جهاز فحص الكلال الميكانيكي ، الأنحنائي
 (Machine Hsm19) .
 Rotating Fatigue)
 وهو عبارة عن
 أنتاج شركة (HI-Tech) الانكليزية



الشكل 3 : جهاز فحص الكلال الأنحنائي

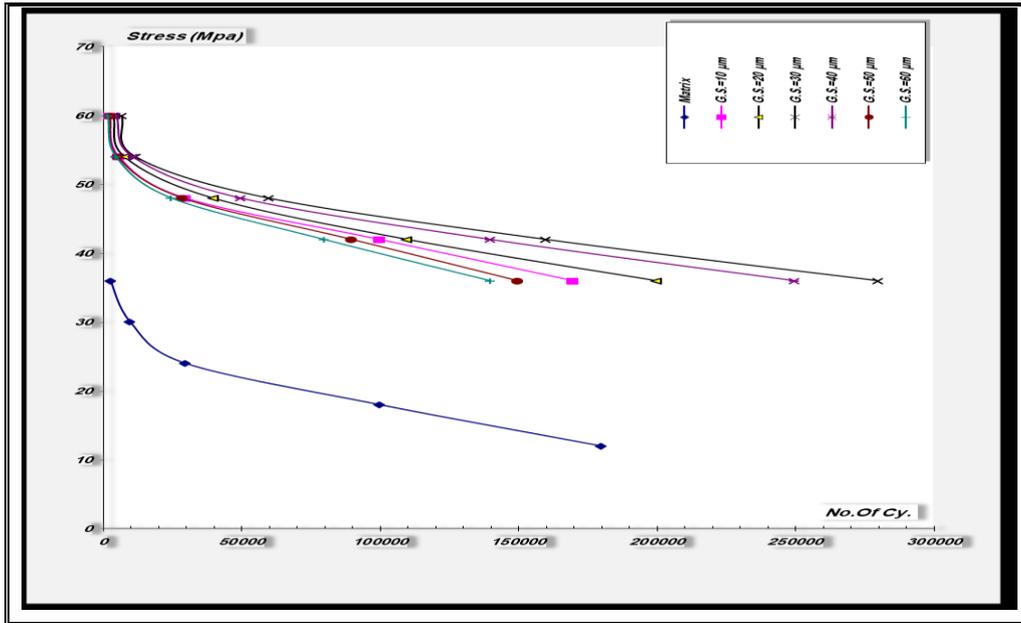
5- فحص الصلادة السطحية Surface
 Hardness Test
 تم تحديد الصلادة السطحية للنماذج
 المصنعة باستخدام جهاز قياس الصلادة بواسطة
 الصدمة ، والجهاز المستخدم من نوع (N.S.S.)

ياباني المنشأ . حيث يقوم هذا الجهاز بقياس الصلادة
السطحية عن طريق إحداث صدمة على سطح
النموذج ، من خلال هذه الصدمة يمكن للجهاز تحديد
قيمة الصلادة السطحية وهي مقاسه بنظام شور
(SH) .



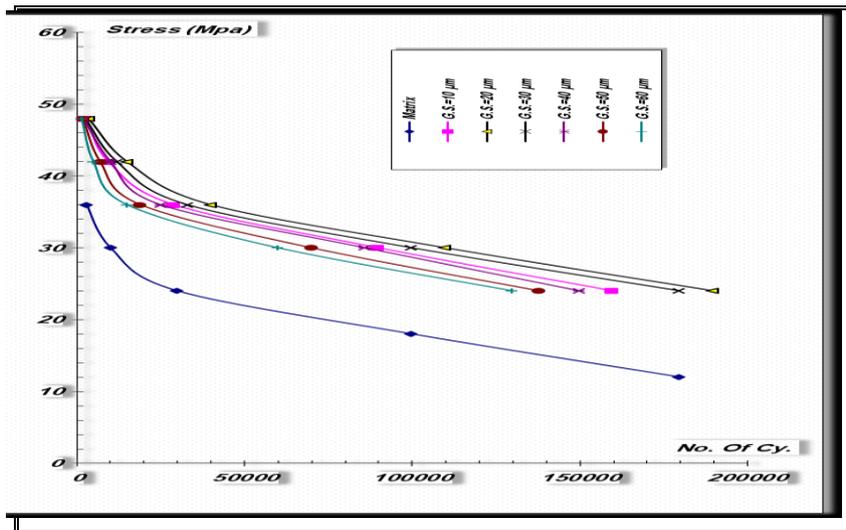
شكل 4 : جهاز فحص الصلادة السطحية

الناتج والمناقشة
النتائج والمناقشة
يوضح الشكلان (5) و (6) منحنيات الكلال
(S-N Curve) للمادة الاساس غير المدعمة
والمدعمة بمساحيق (Al) و (Si) وبالنسب الحجمية
الحبيبية (10,20,30,40,50,60 μm)
ولكلا النوعين من مساحيق التدعيم.
(44.4 % و (50%) على التوالي وبالاحجام



الشكل 5 : منحنيات الكلال للمادة الأساس غير المدعمة والمدعمة بمسحوق (Al) وبالنسبة الحجمية (44.4%)

ولأحجام حبيبية مختلفة .



الشكل 6 : منحنيات الكلال للمادة الأساس غير المدعمة والمدعمة بمسحوق (Si) وبالنسبة الحجمية (50 %)

ولأحجام حبيبية مختلفة .

يلاحظ من الشكلين السابقين ان منحنيات الكلال للمادة الاساس غير المدعمة والمدعمة بالإحجام الحبيبية المختلفة ولكلا مادتي الدعيم تكون من المراحل الثلاثة الأساسية في منحنيات (S-N)

توزيع الأجهادات الخارجية والداخلية ضمن حجم المادة الأساس ومنع تركيزها عند مساحات صغيرة ما ينعكس على رفع كفاءة أداء الكلال للمادة الأساس المدعمة .

(Yunsheng *et al.*, 2001; World Industrial Reporter, 2014 ; Andrzej, *et al.*, 2018 . بالإضافة

الى ذلك فأن وجود مواد التدعيم داخل بنية المادة الاساس يساعد وبشكل مباشر على زيادة كثافة الارتباطات التشابكية (Cross Linking) بين السلاسل البوليمرية من خلال تقليل المسافات الفاصلة بين السلاسل وبتحفيز من الحرارة الناتجة اثناء عملية التصلب لمادة الأيوكسي ، هذا بدوره سوف يقود الى زيادة في مطيلة المادة مع ارتفاع في قدرتها الذاتية على مقاومة الاجهاد (Haleem , *et al.*, 2014).

كما يلاحظ من الشكلين السابقين ان مستوى تحسن كفاءة اداء الكلال للمادة الاساس المدعمة بمسحوق (Al) تكون اعلى من مستوى تحسنه في المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Si) ، ربما يعود السبب في ذلك الى ان مسحوق الألمنيوم قد

(Curve ، المرحلة الأولى هي المرحلة المعتمدة على قيمة الحمل المسلط ، أما المرحلة الثانية فهي مرحلة توزيع الاجهادات ، والمرحلة الثالثة وهي مرحلة حدود الكلال (Fatigue Limit) او مرحلة عمر الكلال الا النهائي (Fatigue Life , Nf). (Popescu , Yingjie *et al.*, 2015 ; 2007 .

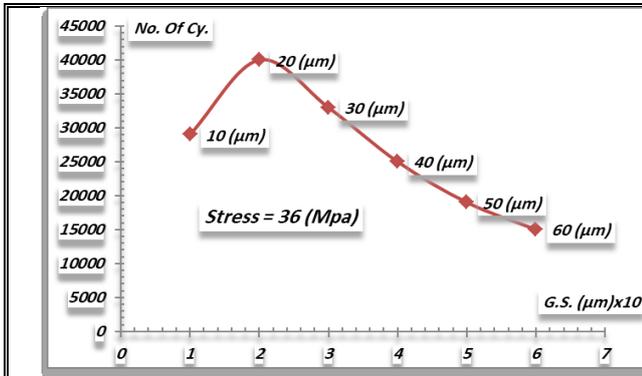
كما يلاحظ من الشكلين السابقين ان هناك تحسن في عمر الكلال للمادة الاساس المدعمة بكالا مسحوقي التدعيم ولكافة الاحجام الحبيبية لمادة التدعيم . ان هذه التحسن يمكن ان يكون ان يعود السبب فيه الى تعزيز خاصية الاستمرارية في بنية المادة الاساس، حيث أن وجود مواد التدعيم داخل بنية المادة الاساس سوف يؤدي الى تناقص في كثافة الفراغات البينية ، والتي هي أساسا موجودة في تركيبة البنية ما فوق الجزيئية للمادة الاساس ، هذا التعزيز في خاصية الاستمرارية سوف يؤدي الى رفع قدرة المادة على

يكون أكثر فعالية في تحسين خواص الكلال للمادة الاساس من مسحوق ال (Si). هذا الفرق في الفعالية لمواد التدعيم يمكن ان يكون ناتج عن طبيعة الصفات الفيزيائية لهذه المواد ومن هذه الصفات كثافة هذه المواد بالمقارنة مع كثافة المادة الاساس والتي تؤثر وبشكل مباشرة على قابلية المادة على التوزيع بشكل متجانس داخل المادة الأساس ، كما ان للصفات الكهربائية اثر في تحديد الفعالية لهذه المواد حيث كلما كانت مواد متعادلة كهربائيا كلما ازدادت فعليتها كمادة تدعيم ، وللخواص الحرارية دور في تحديد فعالية مادة التدعيم حيث ان في الكثير من الحالات تكون مادة التدعيم فعالة عندما يكون هناك نوع من التجانس في الخواص الحرارية بين مادة التدعيم والمادة الاساس ، فضلا عن ذلك فان للصفات الميكانيكية لمواد التدعيم انعكاس على خصائص المادة المترابطة المشاركة فيها ، فالمادة المترابطة تكون ذات مرونة ولدونة أكبر كلما كانت مادة التدعيم مرنة ولدنة ، ولذلك نجد ان فعالية مادة ال (Al) في تطوير خواص الكلال للمادة الاساس تكون أكبر من فعالية مادة (Si) في تطوير هذه الخواص ، حيث أن من المعروف ان مادة ال (Al) هي من المواد المطاوعة والمرنة وذات عمر كلال طويل نسبيا بينما مادة ال (Si) هي من المواد الصلدة والهشة والتي يكون عمر كلالها قصير نسبيا ، ان هذا الفرق في الخواص الميكانيكية للكلال مادتي التدعيم وقدرتهما على مقاومة الكلال انعكس على خواص المادة الاساس بحيث اصبحت المادة الاساس المدعمة بمسحوق (Al) أكثر قدرة على مقاومة الكلال من المادة الاساس المدعمة بمسحوق (Si). (Yun et al., 2001) ; (Eswar et al., 2009). فضلا عن ذلك فإن خاصية الاستمرارية في المادة الاساس تعزز كلما كان هناك نوع من التجانس في الصفات الميكانيكية بين المادة الاساس ومواد التدعيم او على الأقل لا يكون هناك تناقض في هذه الصفات بين المادتين ، على هذا الاساس نجد ان الخواص الميكانيكية لمادة الألمنيوم تكون هي الأقرب للخواص الميكانيكية للمادة الاساس من مادة السيلكون وبذلك تكون استمرارية المادة الاساس المدعمة بمسحوق (Al) افضل من استمرارية المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Si) وبالتالي فعالية مادة الألمنيوم كمادة تدعيم لتحسين كفاءة اداء الكلال

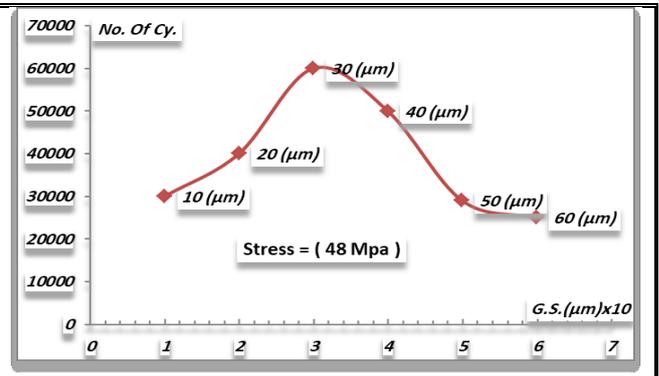
والذي يؤدي الى افضل حالة تحسن في قدرة المادة على مقاومة الكلال ، تم اختيار قيمة حمل يقع ضمن المرحلة الثانية من مراحل منحني الكلال ، مرحلة توزيع الاجهاد ، ولكلا مادتي التدعيم ومن ثم حساب عدد الدورات المؤدية للفشل ولكل حجم حبيبي .

تكون افضل من فعالية مادة السليكون لتحسين هذه الصفة. (Andrzej et al., 2018 ; Daniel et al, 2014)

ولغرض تحديد الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الأساس بمساحيق التدعيم (Al) & (Si)



b: الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الأساس بمسحوق (Si)



a : الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الأساس بمسحوق (Al)

الشكل 7 : الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الأساس بمسحوق -- a : (Al) , b : (Si)

الأساس نفسها وتفسيره توجب علينا تقسيم هذه الحالة الى مرحلتين ، المرحلة الأولى هي مرحلة مادة التدعيم بينما تكون المرحلة الثانية هي مرحلة المادة الأساس، في ما يخص المرحلة الأولى نجد ان المواد المستخدمة في تدعيم المادة الأساس تمتلك صفات ميكانيكية متناقضة تقريبا حيث ان من المعروف ان مادة الألمنيوم هي من المواد المطاوعة والتي تمتلك قدرا

يلاحظ من الشكل أعلاه ان الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الأساس والذي يؤدي الى زيادة في قدرة المادة على مقاومة الكلال يكون مقداره (30 μm) عند التدعيم بمسحوق (Al) ، بينما يكون الحجم الحبيبي الأمثل هو (20 μm) في حالة التدعيم بمسحوق (Si) . ولغرض فهم سبب الاختلاف في قيمة الحجم الحبيبي الأمثل بين مادتي التدعيم وللمادة

من المرونة بينما تكون مادة السليكون من المواد الصلدة والتي تمتاز بالهشاشة ، وأن تسليط جهد دوري على مادة لدنة مطاوعة يمكن ان يكون قابل للتوزيع ضمن مساحة أكبر من المساحة التي سوف يتوزع بها فيما أذ سلط على مادة صلدة وهشة ، وان هذا الحالة سوف تنعكس على قيمة الحجم الحبيبي الأمثل والذي يوفر افضل فرصة لمقاومة الكلال داخل المادة وبذلك يمكن أن يكون الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الاساس بمادة صلدة هشة هو اقل من الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم نفس المادة الأساس بمادة لدنة مطاوعة . (Kalaus et al,2015) . بينما نجد ان في حالة المرحلة الثانية ، مرحلة المادة الأساس ، فكما هو معروف ان معظم المواد البوليمرية ، ومن ضمنها المادة الأساس المستخدمة في هذا البحث ، تكون ذات محتوى فراغي بيني كبير وان المسافات البينية بين السلاسل البوليمرية في الغالب تكون متقاربة ترتقي في بعض الاحيان الى التساوي وأن وجود مادة تدعيم ضمن حجم حبيبي مقارب الى حجم الحيز الفراغي بين السلاسل البوليمرية سوف يؤدي الى أفضل حالة احتواء لمادة التدعيم ضمن المادة الأساس ما يقود الى

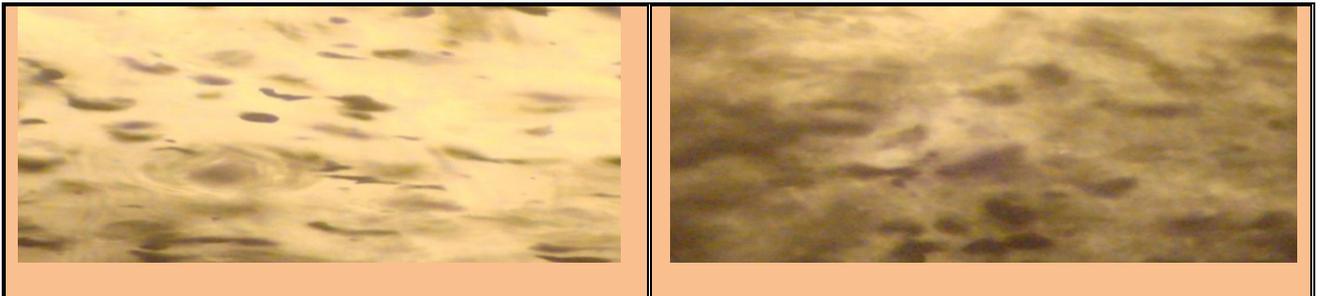
أفضل تحسن في الصفات الميكانيكية بشكل عام . ألا أن في المادة الأساس الواحدة يختلف الحجم الحبيبي الأمثل مع اختلاف طبيعة مسحوق التدعيم ، ان هذا الاختلاف هو في الحقيقة ناتج عن جملة من الاسباب أهمها قدرة هذه المواد على تشكيل تراكيب مترابطة (Package Configuration) داخل المادة الاساس وبالتحديد ضمن المسافات البينية للسلاسل البوليمرية ، حيث ان بعض مواد التدعيم تمتلك هذه القدرة عندما تشكل بهيئات معينة بحيث أن هذه الهيئة توفر افضل فرصة للتراص وان هذه الهيئة تعتمد وبشكل كبير على طبيعة المادة الأساس ودرجة امتزاج مادة التدعيم مع المادة الأساس ، وان النتيجة المباشرة لزيادة ترابص مواد التدعيم هي زيادة في كثافة الارتباطات التشابكية بين السلاسل البوليمرية والتي تحدث اثناء عملية التصلب ما يقود الى تقليل المسافة البينية بين السلاسل البوليمرية واكتساب المادة المترابطة درجة صلابة اعلى وتناقص نسبي في مرونة السلاسل البوليمرية . بينما عندما تكون مادة التدعيم ذات قدرة على التراص أقل نجد ان معدل تكون الارتباطات التشابكية تكون اقل وبذلك يكون مقدار التناقص في

تكون اقرب الى كثافة المادة الاساس من مادة (Si) وبناء على ما تقدم نجد ان الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الاساس بمسحوق (Si) يكون اقل من الحجم الحبيبي لتدعيمه بمادة (Al) .

الشكل (8) يوضح الفحص المجهرية للمادة الاساس المدعمة بمسحوق (Al) وبالحجم الحبيبي (30 µm) والمادة الاساس المدعمة بمسحوق (Si) وبالحجم الحبيبي (20 µm)، حيث يلاحظ بعض اثار التراص في حالة التدعيم بمادة (Si) وان توزيع مادة التدعيم لا يكون منتظم داخل المادة الاساس بل يكون على هيئة حزم تسلك خطا مستقيما تقريبا مع وجود مناطق فاصلة بين هذه الحزم تفقر تماما لوجود مادة التدعيم ، بينما في حالة المادة الاساس المدعمة بمسحوق (Al) فإن توزيع مادة التدعيم يكون منتشر على طول مساحة المادة الاساس مع وجود بعض التجانس في التوزيع .

المسافات البينية بين السلاسل البوليمرية اقل ما يبقي مرونة ولدنة السلسلة البوليمرية ضمن القيمة الأعلى . (Yang et al ,2017 ; Chen et al,) (2018).

فضلا عن ذلك فإنه كلما ازدادت درجة امتزاج مادة التدعيم مع المادة الأساس قل التراص وذلك بسبب ازدياد ان احتمالية التوزيع المتجانس لمادة التدعيم داخل المادة الاساس . ان من أهم العوامل المؤثرة على امتزاج مواد التدعيم مع المادة الأساس هي الكثافات حيث كلما كان هناك نوع من التقارب في الكثافات بين المادة الاساس ومواد التدعيم كلما كانت درجة الامتزاج اكبر (Sabry and Alrobeigy , 2015) لذلك نجد ان قابلية امتزاج مسحوق (Al) داخل بنية المادة الاساس والتوزيع بشكل متجانس يكون اكبر من قابلية امتزاج مسحوق (Si) والذي لا يتوزع بشكل متجانس داخل المادة الاساس وذلك بسبب ان كثافة مادة (Al)



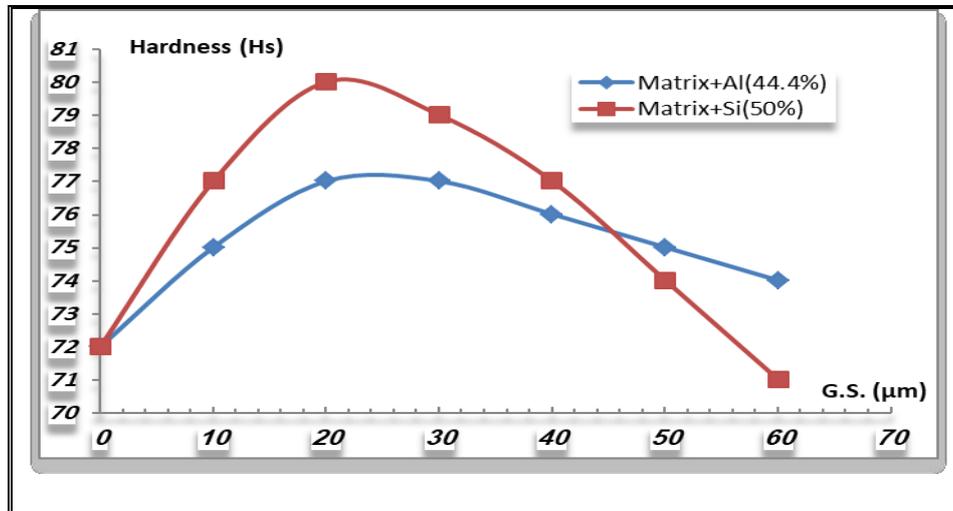
b : المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Si) وباللحجم الحبيبي (20 μm) (300 X)	a : المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) وباللحجم الحبيبي (30 μm) (300 X)
---	---

الشكل 8 : الفحص المجهرية للمادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) و (Si) يوضح حالتي التراص والانتشار لمواد

التدعيم داخل المادة الأساس .

كل من صلابة المادة الأساس وصلادتها وان وجود مسحوق تدعيم ذات قلبيه على التراص بين السلاسل البوليمرية سوف يساعد وبشكل ملحوظ على زيادة كثافة الارتباطات التشابكية بين السلاسل البوليمرية للمادة الأساس وبالتالي ارتفاع في صلابة المادة مع صعوبة احداث اثر على سطحها وبالتالي تصبح المادة أكثر صلابة .

ومن أجل تعزيز التفسير السابق للنتائج وبغيت الوصول الى الحالة التي نكون فيها أكثر ثقة بهذا التفسير ، تطلب البحث دراسة خاصة ميكانيكية اخرى تكون ذات ارتباط مباشر بتأثير ترانس مواد التدعيم داخل بنية المادة الأساس ، هذه الخاصية هي الصلابة ، حيث أن من المعروف انه كلما ازداد الارتباط التشابكي بين السلاسل البوليمرية للمادة الأساس ازداد



الشكل 9 : صلادة المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) و (Si) كدالة للحجم الحبيبي لمساحيق التدعيم

الشكل (9) يوضح تغير صلادة المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) و (Si) مع تغير الحجم الحبيبي لمادة التدعيم . حيث يلاحظ من الشكل ان صلادة المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Si) تزداد مع زيادة الحجم الحبيبي لمادة التدعيم لتصل الى اعلى قيمة لها عندما يكون الحجم الحبيبي (20 μm) ومن ثما تتناقص مع زيادة الحجم الحبيبي لمادة التدعيم لتصل الى قيمة عند حجم حبيبي معين (60 μm) تصبح فيها صلادة المادة الأساس غير المدعمة اعلى صلادة المادة الأساس المدعمة بهذا الحجم الحبيبي . بينما في حالة التدعيم بمسحوق (Al) فان صلادة المادة الأساس تصل الى اعلى قيمة لها عند الحجم الحبيبي (20 & 30 μm) ، أي ان الحجم الحبيبي الأمثل يكون محصور بين هاتين القيمتين ، بعدها تبدء قيمة الصلادة بالتناقص مع زيادة الحجم الحبيبي ، إلا أن هذا التناقص يحصل بمعدل اقل من معدله في حالة التدعيم بمسحوق (Si) .

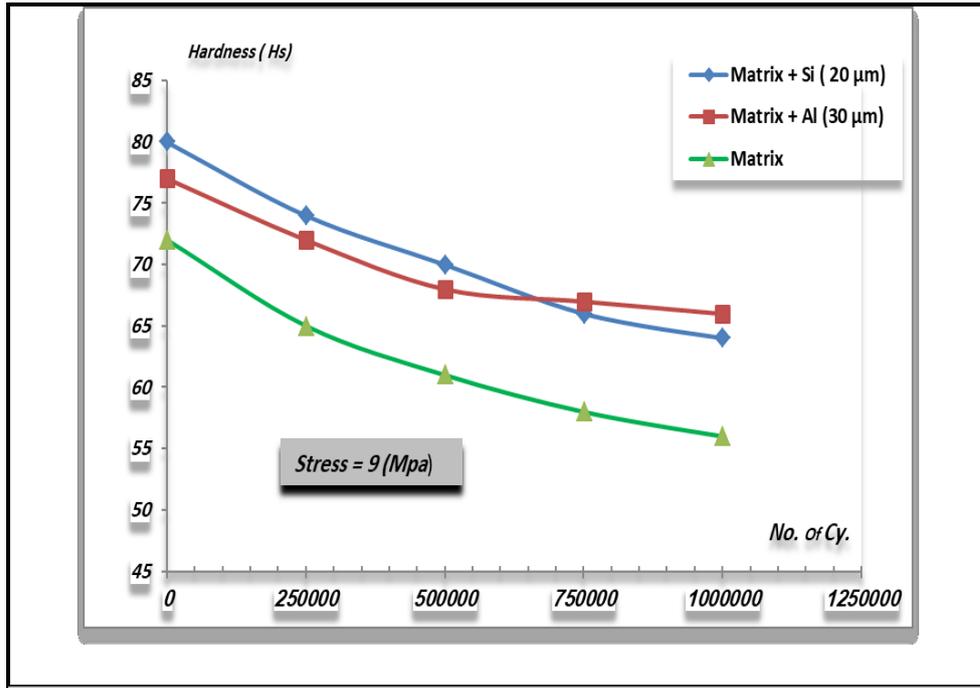
أن وصول المادة الأساس الى أعلى قيمة صلادة عندما يكون الحجم الحبيبي لمادة التدعيم (20 μm) في حالة التدعيم بمسحوق (Si) يمكن ان يكون ناتج عن حالة الاحتواء الأمثل لمادة التدعيم داخل بنية المادة الأساس ، هذا النوع من الاحتواء سوف يكون له الأثر الملحوظ على تحسن خاصية الصلادة للمادة الأساس بسبب ان عند هذا الحجم الحبيبي تكون المادة الأساس في افضل حالتها من ناحية ترابط السلاسل البوليمرية وملئ الفراغات البينية داخل بدن المادة الأساس ، وبالتالي الحصول على مادة ذات ترابط أكبر مع كثافات فراغات بنية منخفض وبالنسبة لمادة صلدة مقاومة لأحداث اثر فيها . أما عند زيادة الحجم الحبيبي لمادة التدعيم ، فإن المادة الأساس سوف تواجه مشكلة عدم تطابق الحجم الحبيبي لمادة التدعيم مع أحجام الفراغات البينية للمادة الأساس التي يمكن ان تحتوي مادة التدعيم فيها وبالتالي فان مادة التدعيم سوف تكون ذات ارتباط ضعيف مع المادة الأساس ما يقود الى تناقص في قيمة الصلادة

يكون في الغالب خالي من الفراغات البينة ما يقود الى ان الحيز المشغول من قبل هذه المواد يكون ذا حجم بيني اقل من الحجم البينية للمواد ذات التراص الاقل وان احتمالية الترتيب للمواد ذات التراص القليل يضم نسبة عالية من قابلية التغير في الحجم بين منطقة ومنطقة اخرى حتى انها في بعض الاحيان يكون هناك فرق ملحوظ في حجم الفراغ البيني بين منطقتين متقاربتين جدا في السلسلة البوليمرية الواحدة في حالة كون مادة التدعيم من المواد قليلة التراص (, Ramamurthy ; Raghavendea)
 قيمة الحجم الحبيبي الأمثل لتدعيم المادة الاساس بمسحوق (Si) يكون ذا مدى اضيق من مدى الحجم الحبيبي الأمثل للتدعيم بمادة (Al) .

ومن اجل معرفة مدى قدرة محافظة المادة الاساس على احتواء مواد التدعيم ، تم تعريض النماذج المصنعة الى اجهاد دوري دون حد الكلال ودراسة تغير صلابتها اثناء تعرضها لهذا الاجهاد .

المادة . مع زيادة الأحجام الحبيبية لمادة التدعيم تزداد قيمة التناقص في الصلادة ، أي تقل فعالية مواد التدعيم على تحسين هذه الخاصية ، لتصل بعد ذلك مواد التدعيم وعند حجم حبيبي معين الى مرحلة تكون فيها فعاليتها لتحسين هذه الصفة سالبة ، أي ان وجود مواد التدعيم بهذا الحجم الحبيبي سوف يؤدي الى اضعاف هذه الصفة داخل المادة وذلك لان مادة التدعيم عند هذا الحجم الحبيبي تعمل كمادة معيقة لأحداث الارتباط التشابكي بين السلاسل البوليمرية ما يجعل من صلادة المادة غير المدعمة أكبر من صلادة المادة المدعمة (Longauerova et al,2017 ; Lau et al,2013) .

أما في حالة المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) نجد ان افضل حالة احتواء تحصل عند الحجم الحبيبي المحصور بين القيمتين (20 & 30 μm) . هذه الحالة يمكن ان تفسر على أساس ان كلما كانت مادة التدعيم ذات قدرة على التراص كلما كان مدى التغير في قيمة الحجم الحبيبي الأمثل اضيق وقد يصل في بعض الأحيان الى القيمة الأحادية، وذلك لان المواد المتراسة تكون هندسيا ذات قدرة على شغل حيزا



الشكل 11 : تغير صلادة المادة الأساس غير المدعمة والمدعمة بمسحوق (Al) و (Si) نتيجة تعرضها الى الاجهاد دوري دون حد الكلال .

طولا وكثافة كلما زادت الفترة الزمنية للتعرض للإجهاد والذي بدوره سوف يقود الى أضعاف قدرة المادة على مقاومة أحداث الاثر وبالنتيجة تناقص في قيمة الصلادة .

أما في حالة المادة الأساس المدعمة ، فإن مقدار التناقص في الصلادة للمادة الأساس المدعمة بمسحوق (Si) يستمر بمعدل أكبر من معدل التناقص في صلادة المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) ، حيث أن بعد فترة زمنية معينة من تعرض النموذجين الى الاجهاد

يلاحظ من الشكل (11) تغير صلادة المادة الأساس غير المدعمة والمدعمة بمسحوق (Al - 30μm) و (Si - 20μm) ، حيث يلاحظ ان صلادة المادة الأساس غير المدعمة تقل مع زيادة الفترة الزمنية لتعرضها للإجهاد دوري ، هذا التناقص هو نتيجة فقدان السلاسل البوليمرية للارتباطات فيما بينها بتأثير الجهد الدوري المسلط والذي بدوره سوف يسهل نشوء الشقوق الدقيقة (Micro Ckres) داخل بدن وعلى سطح المادة الأساس ، هذه الشقوق تزداد

في حالة التدعيم بمسحوق (Al) ما يجعل عملية خلع مادة التدعيم في حالة التدعيم ب (Si) أسهل من حالة التدعيم ب (Al) ، فضلا عن ذلك فان في حالة التدعيم بمسحوق (Al) نجد ان هناك بعض الحجم الفراغي غير المشغول بمادة التدعيم ، هذا الحجم المتبقي بين مادة التدعيم والسلسلة البوليمرية سوف تعيق وبشكل ملحوظ تتركز الاجهادات اضافة الى اعاققتها لانتشار الشقوق داخل بدن المادة الاساس . ([Kaushik](#) ; [Nadeem](#), 2018; [Krishnan et al](#) , 2018) .

الشكل (12) يمثل الفحص المجهرى للمادة الاساس المدعمة بمسحوق (Si - 20µm) ومسحوق (Al - 30µm) بعد تعرضهم الى اجهاد دوري دون حد الكلال مقداره (1000000) دورة ، حيث يلاحظ الانخلاعات الحاصلة في حالة التدعيم بمادة (Si) بينما لا وجود لهذه الانخلاعات في حالة التدعيم بمسحوق (Al) .

الدوري نجد ان صلادة المادة الاساس المدعمة بمسحوق (Al) تصبح اعلى من قيمة صلادة المادة الاساس المدعمة بمسحوق (Si) ، وهنا أيضا يلعب التراص الدور الكبير في هذه النتيجة فكما ذكرنا سابقا فان مسحوق (Si) يكون ذات قدرة تراص أكبر من مسحوق (Al) ما يجعل المسافات البينية المتبقية اثناء اشغال الفراغات بين السلاسل البوليمرية في حالة التدعيم بمسحوق (Si) اقل منها من حالة التدعيم بمسحوق (Al) . هذا بدوره سوف يجعل قدرة المادة الاساس على احتواء مادة (Si) اقل من قدرتها على احتواء مادة (Al) عند تعرضها للاجهاد دوري ، حيث ان هذا الجهد سوف يكون تأثيره الأكبر عند السطوح الفاصلة بين مادة التدعيم والسلاسل البوليمرية للمادة الاساس وبسبب كون الحجم الحبيبي الأمثل لمسحوق (Si) هو اقل من الحجم الحبيبي الأمثل لمسحوق (Al) لذلك فان تتركز الاجهاد في حالة التدعيم بمسحوق (Si) سوف يكون أكبر من تتركزه

	
<p>b : المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Si) وبالبحجم الحبيبي (300 X) (30 μm)</p>	<p>a : المادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) وبالبحجم الحبيبي (300 X) (30 μm)</p>

الشكل 12 : الفحص المجهرى للمادة الأساس المدعمة بمسحوق (Al) و (Si) يوضح الانخلاعات الحاصلة نتيجة تعرضها الى اجهاد دوري.

وأخيرا قد يمكننا القول الآن ان تراص مسحوق السليكون داخل السلاسل البوليمرية قد كان السبب في قيمة الصلادة العالية للمادة الأساس المدعمة بهذا المسحوق وان عدم قدرة المادة على المحافظة على هذه الصلادة قد جاءت نتيجة التراص ايضا وان الاستنتاجات

١- هناك حجم حبيبي امثل يؤدي الى افضل حالة تحسن في مقاومة الكلال للمادة الأساس

٢- لنفس المادة البوليمرية الواحدة ، يختلف الحجم الحبيبي الامثل مع اختلاف مادة التدعيم.

احادية الحجم الحبيبي الامثل قد كان للتراص دور فيه فضلا عن ذلك فان اختلاف قيمة الحجم الحبيبي الامثل لمواد التدعيم لنفس المادة البوليمرية هو في الحقيقة ناتج عن قدرة مواد التدعيم على تكوين تراكيب مترابطة داخل المادة الأساس حيث ان كلما كانت المادة ذات قدرة على التراص كلما كان الحجم الحبيبي الامثل للتدعيم اقرب الى القيمة الاقل .

- ٣- كلما كان مسحوق التدعيم أكثر تراصا كلما ضاق مدى اختلاف قيم الحجم الحبيبي .
- ٤- تقل قدرة المادة الأساس على الاحتفاظ بمادة التدعيم كلما زاد تراص هذه المواد .
- ٥- كلما كان هناك مساحة بينية فاصلة ما بين مادة التدعيم والسلاسل البوليمرية ، كلما ازدادت قدرة المادة المتراكبة على المحافظة على صلابته

Mechanical Properties of Polymer Matrix Composite , J. of Materials Science and Engineering, (454)1 , pp: 239-255.

المصادر العربية

الوطني، أحمد نوري (٢٠١٠). الخواص الميكانيكية للمواد المتراكبة ذات أساس أيبوكسي. أطروحة دكتوراه، جامعة الموصل، كلية العلوم.

Andrzej K. ; Dominik W. ; Adwerad K. (2018). Determination of fatigue limit of polymeric composites in fully reversed bending loading mode using self-heating effect. *J.Of Composite Mate.*, (12)2 , pp: 442-458.

المصادر الأجنبية

Aghababaei R. ; Shailendra R. ; Joshi P. , (2011) , Grain size–inclusion size interaction in metal matrix composites using mechanism-based gradient crystal plasticity , *International Journal of Solids and Structures* , (48)8 , pp: 2585-2594 .

Bond D. A. ; Paul A. ; Smith R. , (2016) , Modeling the Transport of Low-Molecular-Weight Penetrants Within Polymer Matrix Composites , *J of Appl. Mech. Rev*, 59(5) , pp;249-268.

Anhalt M. ; Kirchberg S. ; Weidenfeller B. , (2019) , Thermal diffusivity and mechanical properties of polymer matrix composites , *J. of Appl. Phys.*, (11)1, pp: 123- 133.

Ahmed A. R. ; Irhayyim S. S. ; Hammood H. S. , (2017) , Effect of Yttrium Oxide Particles on the

investigate mechanical properties of new material polyurethane–cement composite (PUC). *J. Construction and Building Materials*, (50)5, pp: 200-208.

Jain K. ; Kumar B. S. ; Venkatachalam G. ; Vimalanand S.; Ayyappan S. , (2018) , Vibrational Analysis Of Hybrid Fabric-Reinforced Polymer Matrix Curved Composite Beams , *J.of Composites* , (16)3 , pp: 269-282.

Klaus F. ; ZhongZ. A. ; K. Schlarb , (2015) , " Effects of various fillers on the sliding wear of polymer composites " , *J. Of Composites Science and Technology*, (65) 8, pp: (2329-2343).

Krishnan T. ; Jayabal S. ; Krishna V. N. , (2018) , Tensile, flexural, impact, and hardness properties of alkaline-treated Sunnhemp fiber reinforced polyester composites , *Journal of Natural Fibers* , (3)5 , pp:132-146.

Kaushik K. ; Nadeem F. , (2018), "Mechanical and tribological behaviour of nano scaled silicon carbide reinforced aluminium composites", *Journal of experimental nano sciences*, (

Chen X. ; Yuming M. ; Wan X. ; liang Z. ; Jian L. C. ; Feng J. I. , (2018) , Friction stir welding/processing of polymers and polymer matrix composites , *J. of Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* ,(105)11 , pp: 235-257.

Compsite Expo – (2014), 7th international specialized of exhibitions on composites materiel and technologies , Moscow , Russia.

Daniel J.M. ; Cory L. ; Kristina H.; Zeinab E. ; Pelling M. , (2014) , Apple Derived Cellulose Scaffolds for 3D Mammalian Cell Culture., *J. of Che. Phy. Letters*, (614) 8 , 148-150.

Eswar, P.E. ; Barun, D. ; Urmimala, M. ; Upadrasta, R. ; Rao, C.N.R. ,(2009), Extraordinary synergy in the mechanical properties of polymer matrix composites reinforced with 2 nanocarbons, *J.Of comp.* ,(106)32, pp: 13186-13189.

Hornak P. ; Zubko P., (2017), The Effect of Applied Load on Hardness of Steels , *J. of mat. sci.*, (891) 8, pp: 83-88.

Haleem K.H. ; Gui W. ; Yu W.Y. ,(2014), Experimental study to

- Engineering and Technology*, **(3)1** , PP : 22-31. **13)4**, pp:788-801.
- Rudyak V. Y. ; Efimova E. A. ; Guseva D. V. ; Chertovich A.V. , (2019) , Thermoset Polymer Matrix Structure and Properties: Coarse-Grained Simulations , *Journal Of Polymers* , **11(1)** , pp : 123-133.
- Sabry H. A. ; Alrobeigy N. A. , (2015) , *Degree of conversion and surface hardness of bulk-fill composite versus incremental-fill composite* , *Tanta Dental Journal* , **(10) 6** , pp: 71-80.
- Shao Y. ; Xi Q. F. ; Bernd L. ; Yiu W. M. , (2018) , Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate–polymer composites , *J. Of Composites Part B: Engineering*, **(39)6** , pp: 933-961 .
- Sathishkumar G.K. ; Rajkumar G. ; Srinivasan K. , (2017) , Structural analysis and mechanical properties of lignite fly-ash-added jute–epoxy polymer matrix composite , *J. of Reinforced Plastics and Composites*, **(18)5**, pp:336-352.
- Tiba A. ; Zeller G.G. ; Estritch C.; Hong A. , (2004) , Effect of Longauerová M. , Hornak P. ; Zubko P. , (2017) , The Effect Of Applied Load On ardness Of Polymer Matrix Reinforced By Al₂O₃ , *J. of mat. Sci.* , **(91) 11**, pp: 182 – 188.
- Lau K. T. ; Shi S. Q. ; Zhou L. M. , (2013) , *Micro-hardness and Flexural Properties of Randomly-oriented Carbon Nanotube Composites* , *J. of Comp. Mat.* , **(18)5**, pp: 176-188.
- Petr H. ; Muller M. , (2016), Three-body Abrasive Wear of Polymer Matrix Composites Filled with Jatropha Curcas L. , *J. of Procedia Engineering*, **(136) 4** , pp: (169-174).
- Popescu D. , (2007). A Model for Damage Prediction in Polymer Matrix Composites Subjected to Bending Fatigue Loading. , *J. Of Romanian Academy*, **(8)2**, pp: 222-235.
- Raghavendra N ; V S Ramamurthy, (2014) , Effect of Particle Size and Weight Fraction of Alumina Reinforcement on Wear Behavior of Aluminum Metal Matrix Composites , *International Journal of Innovative Research in Science*,

- Yingjie X. ; Pan Z.; Weihong Z. , (2015) , Two-scale micromechanical modeling of the time dependent relaxation modulus of plain weave polymer matrix composites . *J. Of Composite Structures* , (35) 4 , pp: 877-891.
- Yun S. X.; Chung, D.D.L.; Cathleen, M. (2001). Thermally conducting aluminum nitride polymer-matrix composites., *Composites Part A: Appl. Sci. and Manufacturing.*, 32(12), pp:1749-1757.
- Yang R. ; Zhang Q. ; Xiao P. ; Wang J. ; Bai Y. , (2017) , Two opposite size effects of hardness at real nano-scale and their distinct origins, *A Nature Research Journal* , (7) 5 , pp : 675 – 691.
- Grain Size on Elastic Modulus and Hardness of Nanocrystal line ZrO₂-3 wt%Y₂O₃ Ceramic , *J. of Materials Science*, 39(9), pp:3057-3061.
- World Industrial Reporter, (2014). "Developing Carbon Nanotubes with High Degree of Dispersion, Stability within the Polymer Matrix".
- Wang W. ; Sain M. , (2018) , Effect of reinforcements on polymer matrix bio-composites – an overview , *J. of Science and Engineering of Composite Materials* , (12)3, pp: 22- 34.
- Yunsheng X.; Chung D.D.L.; Cathleen M. , (2001) , Thermally conducting aluminum nitride polymer-matrix composites, *J. Of Composites Part A: Appl. Sci. and Manufacturing.* 32(12), pp: 1749-1757.

Spectrophotometric for Determination of Trifluoperazine hydrochloride in Dosage form Using 2,4-dichloroaniline Reagent

Israa Talib Humeidy

Abstract:

This research involves a simple spectrophotometric method for the determination of microgram amounts of trifluoperazine hydrochloride (TFPH). The proposed method based on the oxidative coupling reaction of 2,4-dichloroaniline reagent (2,4-DCHA) as a new coupling reagent with the drug in the presence of potassium periodate as an oxidizing agent in a strong acidic medium, producing a violet colored product shows maximum absorption at 550 nm. It was found that the linear range of 5-60 $\mu\text{g. ml}^{-1}$ of TFPH within the limits of Beer's law with the molar absorptivity value was 13932 $\text{L.mole}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, the sandell sensitivity index of 0.0345 $\mu\text{g. cm}^2$. The relative standard deviation of the proposed method $\leq 0.6039\%$ depending on the TFPH concentration and the average recovery 99.89%. The proposed method was successfully applied to determine TFPH in pharmaceutical formulation as tablets.

Keywords: Spectrophotometry, 2,4 - DCHA, trifluoperazine hydrochloride.

التقدير الطيفي لهيدروكلوريد الترافلوبيرازين في المستحضرات الصيدلانية باستخدام كاشف ٤,٢- ثنائي كلورو انيلين

اسراء طالب حميدي

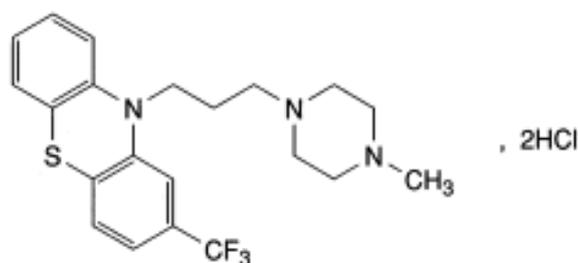
الخلاصة:

تضمن البحث طريقة طيفية بسيطة لتقدير كميات مايكروغرامية من عقار هيدروكلوريد الترافلوبيرازين. تستند الطريقة المقترحة على تفاعل الاقتران التأكسدي لتفاعل ٤,٢- ثنائي كلورو انيلين ككاشف اقتران جديد مع العقار باستخدام بيرويدات البوتاسيوم كامل مؤكسد في وسط حامضي قوي ينتج عن ذلك ناتج بنفسجي اللون يظهر أقصى امتصاص عند ٥٥٠ نانوميتر. وجد ان المدى الخطي ٥ - ٦٠ مايكروغرام/ مل من الترافلوبيرازين ضمن حدود قانون بير مع قيمة امتصاصية مولارية ١٣٩٣٢ لتر. مول^{-١}. سم^{-١} ودلالة ساندل ٠,٠٣٤٥ مايكروغرام. سم^٢. الانحراف القياسي النسبي للطريقة المقترحة $\leq 0.6039\%$ بالاعتماد على تركيز هيدروكلوريد الترافلوبيرازين وبمعدل استردادية ٩٩,٨٩%. تم تطبيق هذه الطريقة بنجاح لتقدير هيدروكلوريد الترافلوبيرازين في المستحضرات الصيدلانية على شكل حبوب.

مفتاح البحث: الطريقة الطيفية، ٤,٢ - ثنائي كلورو انيلين، هيدروكلوريد الترافلوبيرازين

Introduction

Trifluoperazine hydrochloride (TFPH) is a very important phenothiazine derivative and the scientific name of trifluoperazine hydrochloride according to



M. wt = 480.4 g/mol

IUPAC system is:
10-3 [4-methylpiperazine-1-yl] -2-(trifluoromethyl) -10H-phenothiazine dihydrochloride ⁽¹⁾
and its structural formula is:

some heart diseases such as obstruction of the aorta⁽⁵⁾. Side effects of trifluoperazine hydrochloride are lethargy, rash, dry mouth, sweating, fatigue, muscle weakness, loss of appetite, blurry vision, nervous and muscular convulsions⁽⁶⁾.

hydrochloride (TFPH), includes reaction of 2,4-dichloroaniline reagent (2,4-DCHA) as a new coupling reagent with the drug using potassium periodate as an oxidizing agent in a strong acidic medium

Experimental

Apparatus

Each spectral measurements were performed using the spectrometer UV-VIS double beam model UVD-3000 / UVD-3200, the

scheme 1: structural formula for trifluoperazine hydrochloride

Trifluoperazine is an antipsychotic used as a treatment for schizopoenia⁽²⁾. It is used to treatment symptoms associated with rhinitis⁽³⁾, treatment of vomiting and nausea⁽⁴⁾, treatment of hysteria and violent behavior and the treatment of

Numerous analytical techniques have been used to determination of trifluoperazine hydrochloride, including spectrophotometric methods⁽⁷⁻¹⁵⁾, potentiometric⁽¹⁶⁾, flow-injection⁽¹⁷⁾, HPLC⁽¹⁸⁻²²⁾ and atomic absorption spectrometry⁽²³⁻²⁴⁾. in the present research we suggested a simple spectrophotometric method for the determination of microgram amounts of trifluoperazine

water and completed the volume to 100 ml in a volumetric flask

-Sulphuric acid solution(1M)

The acidic solution has been prepared through appropriate dilution of 5.47 ml of the concentrated sulfuric acid(H_2SO_4) (18.29 M) with distilled water and then completed the volume to 100 ml using volumetric flask(100 ml).

6-TFPH tablet preparations (250 μ g/ml)

Pharmaceutical products containing of the trifluoperazine hydrochloride are found in tablets[Salabid(1mg)] form produced by the General Company for Pharmaceutical Industry SDI Samarra - Iraq:

25 tablets of the pharmaceutical products have been well grind for the obtain to a weight 25mg and dissolved in a certain amount of distilled water. The solution filtered and the filtrate was completed to the mark in a volumetric flask (100 ml) with distilled water, which gives the concentration of 250 μ g/ml.

Selection of optimal experimental conditions

The influence of various factors on the color intensity of the product formed have been tested by taking 2 ml of trifluoperazine hydrochloride (250 μ g /ml), 1.0 ml of 2,4-dichloroaniline (10^{-2} M) and 1.0 ml

sensitive balance and the magnetic stirrer (BIOSAN MSH 300).

Chemical materials and reagents used

The chemical materials and reagents used were of high purity and were prepared as follows:

- Trifluoperazine hydrochloride solution 1000 μ g / ml (2.0816×10^{-3} M)

A stock solution has been prepared by dissolving 0.1000 g of trifluoperazine hydrochloride powder (M.wt = 480.4 g/mol)in a quantity of distilled water and then completed the volume to the mark in a volumetric flask (100 ml) with the same solvent, dilute concentration (250 μ g/ml) has also been prepared from the gradual dilution of trifluoperazine hydrochloride solution with the same solvent.

-2,4-dichloroaniline solution (10^{-2} M)

The solution of 2,4-dichloroaniline has been prepared by dissolving 0.1620 g of it (M.wt = 162.0166g/mol) in 10 ml abs ethanol ≥ 99.5 % and then completed the volume to the mark in a volumetric flask (100 ml) with distilled water.

- potassium periodate solution (3×10^{-2} M)

potassium periodate solution has been prepared by dissolving 0.6900 g of it (230.000 g/mol)in distilled

ml of H₂SO₄ solution. It was found that the best pH is 1.85 using 2.5 ml of sulfuric acid solution because of highest absorbance, Therefore, it was adopted in following experiments, Fig. (1).

of potassium periodate (3×10^{-2} M) in a strong acidic medium and the experimental conditions have been optimized .**Effect of pH**After selecting the sulfuric acid(H₂SO₄) as the best acid, the effect of pH was

studied by adding 0.5-4.0

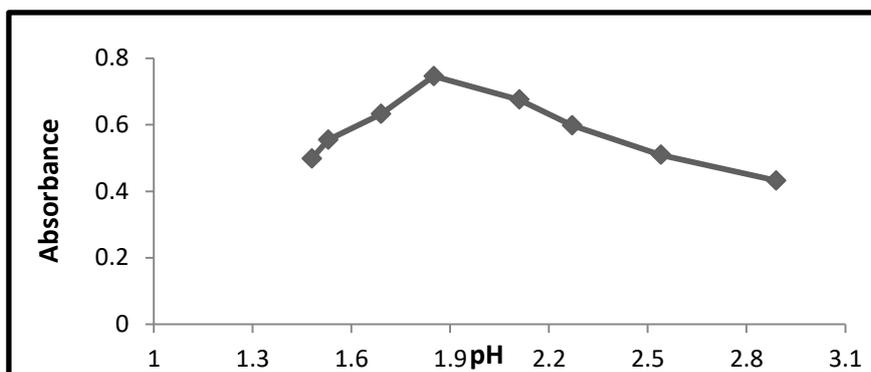


Fig.(1) Effect of pH

blank value. Fig. (2), so that it was selected for subsequent studies.

Effect of oxidizing agent

The color density of the product reached the maximum with about 1.75 ml of potassium periodate solution (3×10^{-2} M), Because they give high sensitivity with minimum

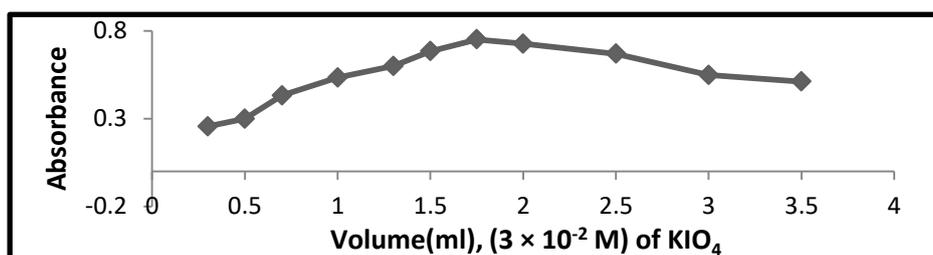


Fig.(2)Effect of oxidizing factor quantity on the product absorption.

the reagent gave higher sensitivity of product at 550 nm, so that it was selected for subsequent studies, Fig.(3).

Effect of the 2,4-dichloroaniline reagent

Different quantities (0.3-3.5 ml) from 2,4-dichloroaniline reagent were tested. 1.5 ml of (1×10^{-2} M) of

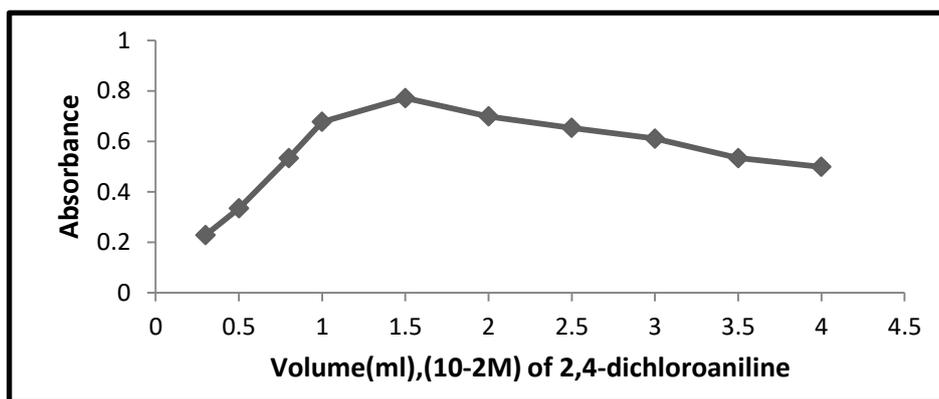


Fig.(3) Effect of 2,4-dichloroaniline quantity on the product sufficient to complete the oxidation process prior to dilution with distilled water and the color obtained remains stable for 60 min , so it was recommended in subsequent studies.

absorption.

Effect of reaction time

The time needed to complete oxidation was studied. It was observed from the results shown in the Table (1), that 15 min was

Table (1) Effect of oxidation time.

Time(min)	5	10	15	20	25	30
Absorbance	0.٦٨٥	0.709	0.772	0.771	0.772	0.772
Time(min)	35	40	45	50	55	60
Absorbance	0.770	0.7٧١	0.769	0.7٧٠	0.٧٦٨	0.٧٦٨

10 - 50 °C for 5 - 60 min and results are recorded in Table 2. A high absorption value was obtained at room temperature (25 °C) because the absorption value of the violet product was stable at 25 °C for at least 60 min while the rise of the temperature caused change of the color product and low absorption.

Effect of temperature with developing time

The effect of temperature with time on the absorption and stability of the violet product was studied using temperatures between

Temp °C	Absorbance/min of 20µg / ml of triflouperazine									
	٥	١٠	١٥	٢٠	٢٥	30	٣٥	٤٠	٥٠	٦٠
١٠	٠,٣٧٦	٠,٣٨٥	٠,٣٩٩	٠,٣٩٨	٠,٣٩٦	0.397	٠,٣٩٥	٠,٣٩٧	٠,٣٧٩	٠,٣٧٨
١٥	٠,٤٧٣	٠,٥٢٠	٠,٥٢٦	٠,٥٢٦	٠,٥٢٩	0.526	٠,٥٢٤	٠,٥٢٦	٠,٥٢٢	٠,٥٢٢
٢٥	0.731	0.766	0.771	0.772	0.773	0.771	0.772	0.772	0.698	0.697

٤٠	٠,٣٨ ٣	٠,٣٧٦	٠,٣٥٩	٠,٣٥٣	٠,٣٤١	0.329	٠,٣١٣	٠,٢٩١	٠,٢٧ ٤	٠,٢٦ ٣
٥٠	٠,٢٧ ٨	٠,٢٦٦	٠,٢٤٩	٠,٢٣٦	٠,٢٢٣	0.205	٠,١٩٦	٠,١٨٤	٠,١٧ ٢	٠,١٦ ٥

Table (2)Effect of temperature.

periodate in a strong acidic medium, the violet color product gives maximum absorption at 550 nm (Fig. 4).

Absorption Spectra

Trifluoperazine hydrochloride reacts with 2,4-dichloroaniline reagent (2,4-DCHA) in the presence of potassium

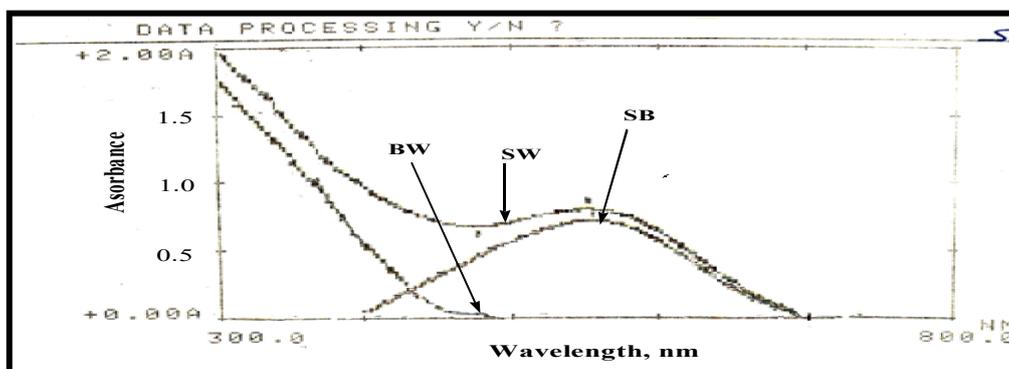


Fig.(4)Absorption spectra of product versus Blank reagent (SB)distilled water(SW) and blank reagent versus distilled water(BW).

Table 3, Which indicated that this method was sensitive. Linearity is represented by the equation of the straight line, the correlation coefficient of the trifluoperazine HCl is determined by the proposed method where the linearity was excellent. Relative standard deviation and average recovery to analyze six replicates of each two various concentrations within Beer's law Limits for trifluoperazine HCl

The analytical method of constructing the calibration curve

After employing optimum conditions, a calibration curve for the determination of trifluoperazine hydrochloride(TFPH) with 2,4-dichloroaniline reagent (2,4-DCHA) was explained by drawing absorbance versus concentration (Fig. 5). Limits of the Beer's law, the value of the molar absorptivity and the Sandell's sensitivity index has been evaluated and is shown in

and precise.

indicated that the study was accurate

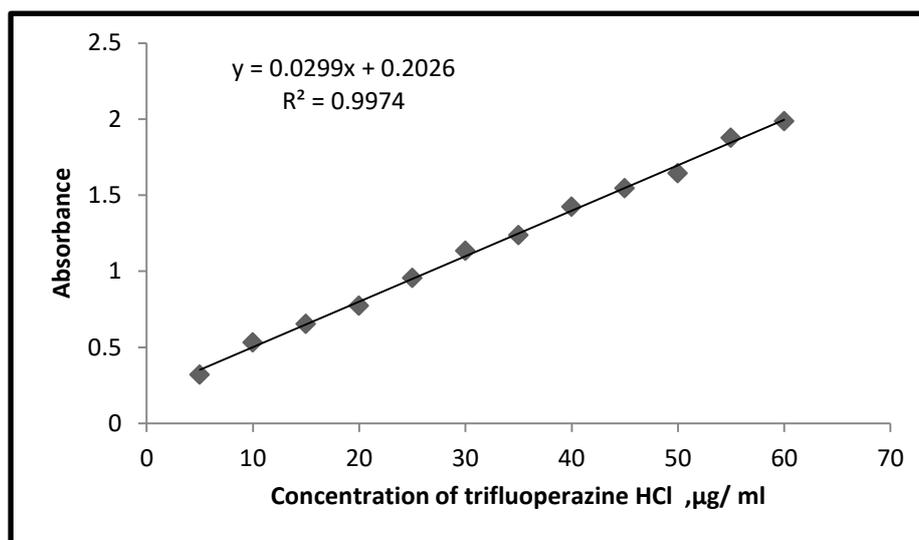


Fig.(5) Calibration curve for determination of trifluoperazine HCl

Table 3. optical properties and statistical information of the proposed method.

parameter	value
$\lambda_{max.}(nm)$	550
Limits of the Beer's law ($\mu g/ml$)	5-60
Molar absorptivity ($L.mol^{-1}. cm^{-1}$)	13932
Sandell's sensitivity index ($\mu g. cm^2$)	0.0345
Relative standard deviation (%)*	0.3363-0.6039
Average recovery(%)*	99.89
Correlation coefficient (r)	0.997
Slope, <i>a</i>	0.029
Intercept, <i>b</i>	0.202

* Average of six determinations

both methods, the concentration of trifluoperazine hydrochloride solution and reagent solution (2,4-DCHA) was 5.2040×10^{-4} M. Fig.6 shows that the ratio is 1:1 between trifluoperazine hydrochloride and 2,4-DCHA reagent .

Stoichiometry of the reaction

Under optimal conditions, (cons. of 2,4-DCHA, cons. of KIO_4 , pH, time, temperature) the stoichiometry of the chemical reaction of trifluoperazine hydrochloride(TFPH) and 2,4-DCHA was studied by applying the mole ratio and Job's methods. In

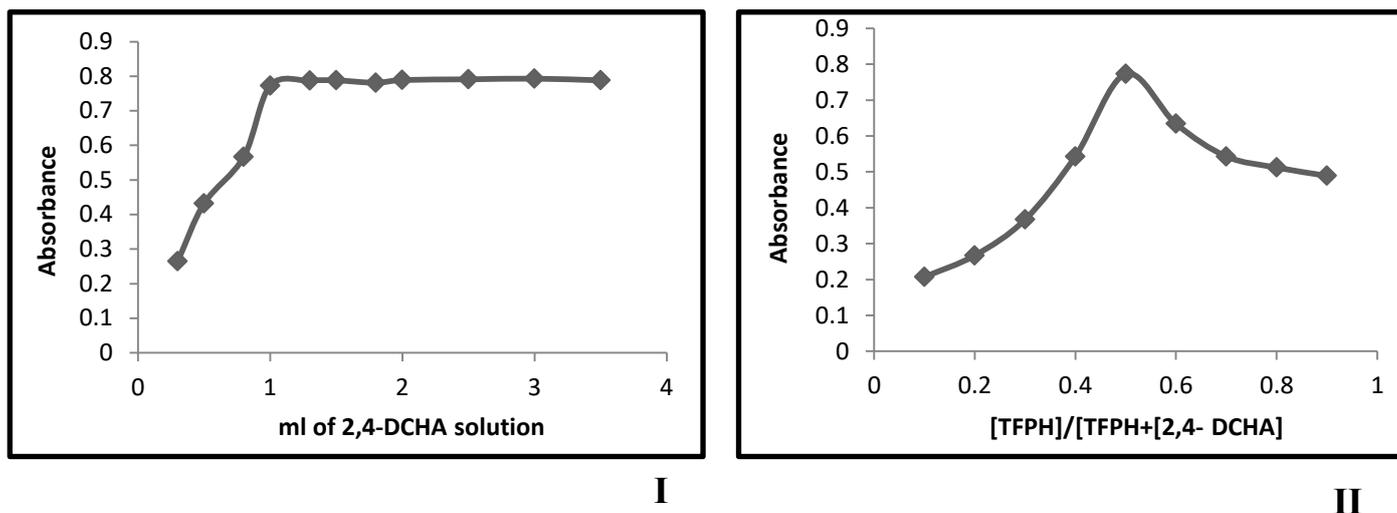
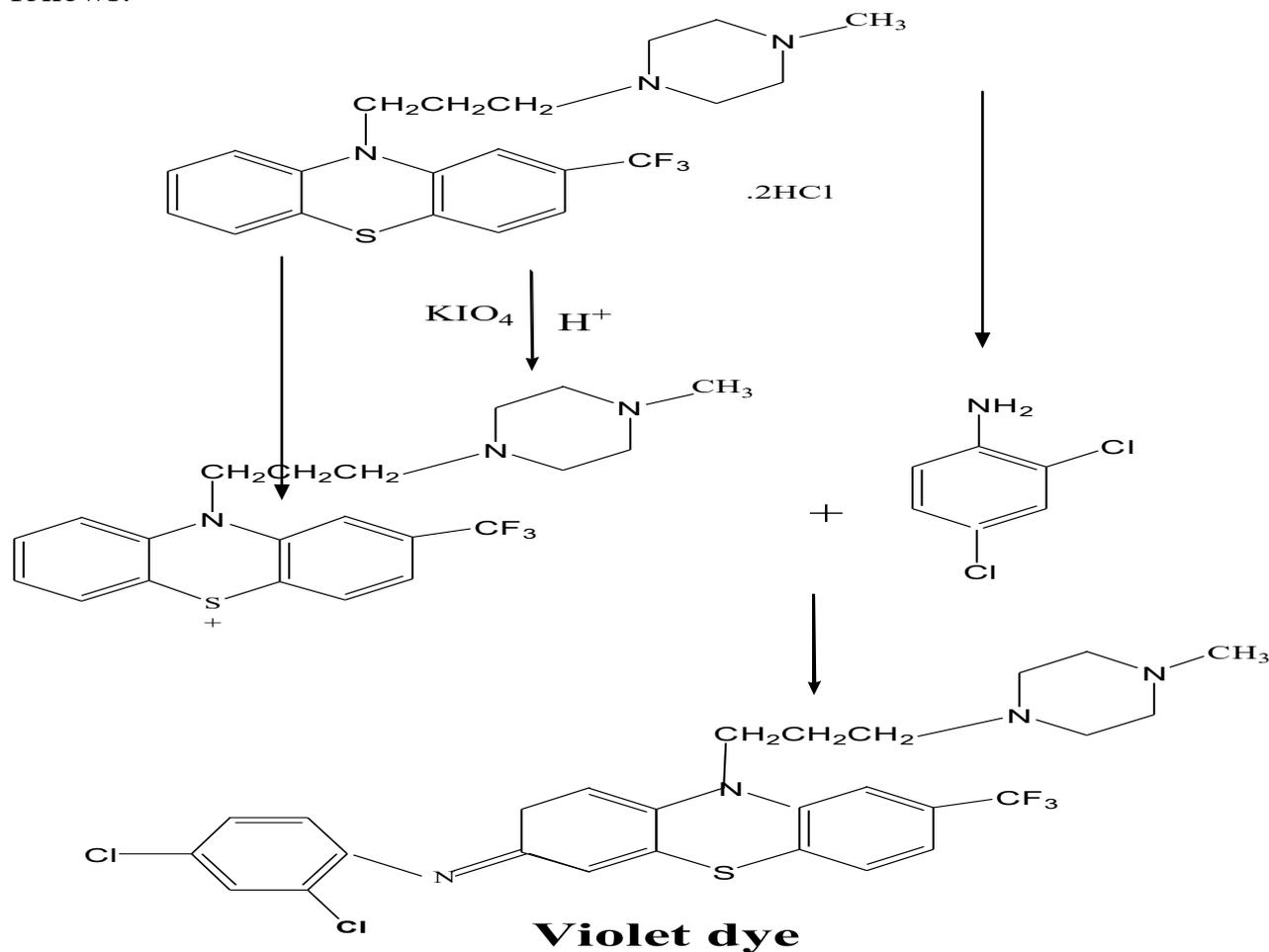


Fig.(6) Molar ratio(I) and Job's (II) methods of the product TFPH - 2,4-DCHA

The proposed mechanism for the oxidative coupling reaction between trifluoperazine hydrochloride with 2,4-dichloroaniline reagent is written as follows:



Effect of interferences

of the trifluoperazine hydrochloride solution in volumetric flask (25 ml). The absorbance was measured at 550 nm versus the blank solution and recovery was calculated. The results shown in table 4 indicated that there is no interferences.

This study was carried out to test the efficiency and selectivity of the proposed method, by adding different amounts of the Foreign compound (glucose, sucrose , lactose and starch) to 2.0 ml

Table (4)Effect of interferences.

Foreign compound	Recovery (%) of 20 µg/ml of TFPH per µg /ml foreign compound added		
	100	200	300
Glucose	99.15	100.28	100.19
Sucrose	98.78	96.25	97.72
Lactose	97.64	99.31	100.23
Starch	98.75	99.57	97.56

obtained are cited in Table 5, which indicated to the efficiency and success of the proposed method for estimating trifluoperazine hydrochloride (TFPH) in the pharmaceuticals via its good recovery.

Applications of the proposed method in pharmaceuticals to estimate trifluoperazine.

A standard additions method was used to estimate the trifluoperazine hydrochloride (TFPH) in pharmaceuticals (salabid tablets), Fig.(5). The results

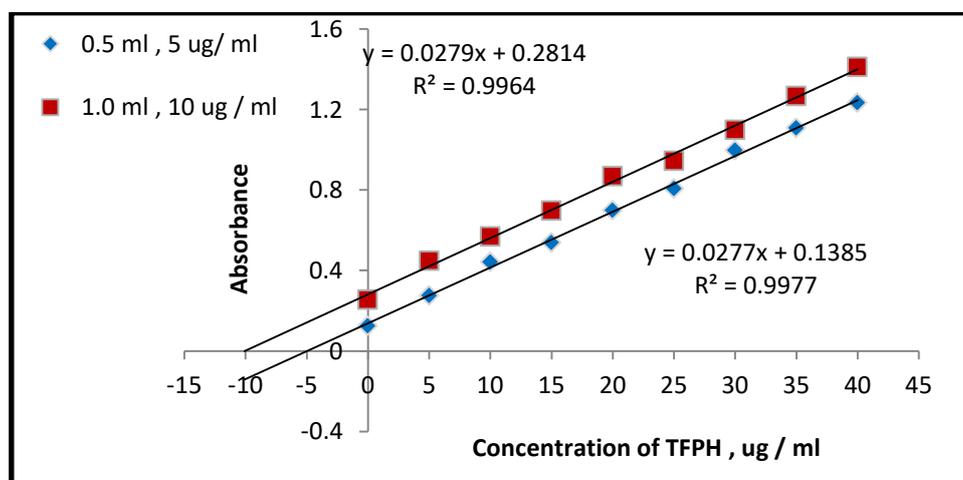


Fig. (7) graph of standard additions method of the estimation of TFPH in salabid tablets

Table (5) Analysis results of salabid tablets using standard additions method.

pharmaceuticals	TFPH present μg/ml	TFPH measured μg/ml	Recovery,%
Salabid tablets	5.00	5.11	102.2
	10.00	10.04	100.4

T-test is used to verify the credibility of the proposed method.

The t value is computed by the equation:

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2) / S_{\text{pooled}}}{\sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}}}$$

eight degrees of freedom of salabid. This confirms that the proposed method is accurate and can be applied for estimation the trifluoperazine hydrochloride in its studied pharmaceutical preparation and the proposed method is consistent with the standard method, the results are shown in table 6.

-F-test

This test is used to determine whether there is a significant difference between the results of the proposed method and the standard method using the following equation:

$$F = S_1^2 / S_2^2$$

where

$$S_1^2 > S_2^2$$

Compare the proposed method with the standard method

The analytical method was compared with the standard method to determine the accuracy and validity of the analysis application of the proposed method by applying the following two tests:

- t - test

where :

N_1, N_2 : number of readings of the proposed and the standard methods respectively.

\bar{X}_1, \bar{X}_2 : the average of absorption of the proposed and the standard method respectively.

S_{pooled} : standard deviation of the two methods and which is computed by the following equation :

$$S_{\text{pooled}} = \sqrt{\frac{\sum (X_1 - \bar{X}_1)^2 + \sum (X_2 - \bar{X}_2)^2}{N_1 + N_2 - 2}}$$

The experimental T value (1.26) is less than the tabulated value of 2.31 at the confidence level 95% and

:

N : the number of readings

S_1^2 and S_2^2 variance coefficients for the two methods.

N-1: degrees of freedom

S^2 is computed by :

It was found that the experimental F value (٣.٥٣) is less than the tabulated value 6.39 at the confidence level 95

$$S^2 = \sum (X_i - \bar{X}_i)^2 / N - 1$$

X_i : the value of a specific reading

\bar{X}_i : Average of readings

% and four degrees of freedom of salabid, the results are shown in table 6.

Table (6) Comparison with the standard method.

Drug	Pharmaceutical preparation	Recovery*%		t.exp	F.exp
		Present method	British pharmacopeia method		
trifluoperazine HCl	Salabid tablets	98.78	97.96	1.26	3.53

stationary office, London, in CD-ROM"

2- British Pharmacopeia, 2005 ,The Requirements of the 5th Ed. of the European Pharmacopoeia , CD – Rom .

3-British Pharmacopeia, 2001 , Incorporating the 3rd Ed of the European Pharmacopoeia , CD – Rom.

4- Bertram, G. K. , 2001, Basic and Clinical Phurmacolgy Mc Graw Hill , London, p 256.

5- British Pharmaceutical , Codex Co. London , 2001 , 256 .

Conclusions

The advanced spectrophotometric method for the determination of trifluoperazine hydrochloride (TFPH) is simple, sensitive, inexpensive and offers a excellent linearity an reasonable degree of accuracy and precision. The method does not include any critical conditions(temperature or pH control) of reaction and can be positively compared with other existing methods.

References:

1-British Pharmacopeia, 2009, 6th Ed., by system simulation ltd., the

determination of trifluoperazine hydrochloride and vanadium (V) ions in real matrices by visible spectrophotometry after cloud point extraction" Science Journal of Analytical Chemistry, 3(5), 61-70.

11- Al-Rufaie, M. M. and katham, K. H., 2014 ; " **New spectrophotometric method for determination trifluoperazine hydrochloride in pharmaceutical preparations by using oxidative coupling reaction"** World Journal of Pharmaceutical Research, 3(6), 1202 – 1214.

12- Ahmed, N. R., 2014; "**Ultraviolet Spectrophotometric Determination of Trifluoperazine. HCl in Pharmaceutical Preparations and Environmental Wastewater Samples: Application to Content Uniformity Testing.**" R.R.J.P.A, 3 (2), 30 – 34.

13- Bhaskar Reddy, C.M.; Subba Reddy, G.V. and Ananda Kumar Reddy, N., 2012 ; "**Development and validation of U V spectrophotometric method for determination of trifluoperazine hydrochloride in bulk and pharmaceutical dosage form"** International

6- Ross, J. and Tarazi, I. , 2006;" **Pharmacotherapy of Psychosis and Manin,**" 11th Ed . New York, p 978- 981.

7- Hamzah, M. J.; Taqi, R. M. M.; Hasan, M. M. and Al-Timimi, R. J. M. ; 2017 "

Spectrophotometric Determination of Trifluoperazine HCL in Pure Forms and Pharmaceutical Preparations "

International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research , 9(5), 337-342.

8- Abdurahman. M. T. and Mahmoud, K. M., 2016; "**Spectrophotometric determination of trifluoperazine hydrochloride using oxidative coupling reaction "** International Journal of Innovative Research in Technology & Science, 4(6), 23 - 27.

9- Prashanth, K. N.; Swamy, N. and Basavaiah, K., 2016 ; "**Rapid spectrophotometric determination of trifluoperazine dihydrochlorids base form in pharmaceutical formulation through charge-transfer complexation"** Acta. Poloniae Pharmaceutica- Drug Research, 73 (3), 627- 636.

10- Khammas , Z. A-A. and Rashid, R. A., 2015; "**Mutual**

Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 35(5), 1027–1034.

1٨- Patel, K. V.; Mandev, B. and Nishith, K., 2015; " **Analytical method development and validation for simultaneous estimation of trifluoperazine, chlordiazepoxide and**

trihexiphenidyl in its pharmaceutical dosage form by RP-HPLC "J. Pharm. Sci.

Bioscientific Res., 5(6), 556-564.

19- Suman, P. and Ash Rani, Y., 2015 ; " **Novel RP-HPLC method development and**

validation for simultaneous estimation of trifluoperazine and isopropamide in tablet dosage form" International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 7(1), 105-109.

20- Dhabab, J. M.; Al-Ameri, S.A.H. and Taufeeq, A. H., 2013; " **Separation and determination of trifluoperazine and prochlorperazine in pharmaceutical**

preparations by HPLC "Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences, 13(1), 14–18.

21- Dhabab, J. M., 2011 ; " **Simultaneous determination of chlorpromazine and trifluoperazine in pharmaceutical preparations using high performance liquid**

Journal of Scientific and Research Publications, 2(8), 1-5.

14- Abbas, S.S.; Zaazaa, H.E.; Abdelkawy, M. and Abdelrahman, M.M., 2010; " **Spectrophotometric determination of isopropamide iodide and trifluoperazine**

hydrochloride in presence of trifluoperazine oxidative degradate" Drug Test Anal.,

2(4), 168-181.

1٥- Al-Sabha, T. N. and Al-Tae, O. A., 2010; " **Spectrophotometric determination of**

trifluoperazine via oxidative coupling reaction with sulfanilic acid" J. Edu. & Sci., 23 (1), 6 - 14.

16- Hassan, A.K.; Ameen, S.T.; Saad, B. and Al-Aragi, S.M., 2009 ; " **Potentiometric sensors for the determination of trifluoperazine hydrochloride in pharmaceutical preparations**" Anal. Sci., 25(11), 1295-1299.

17- Ruedas Ram, M.J.; Ruiz Medina, A. and Molina Díaz, A., 2004 ; " **Bead injection**

spectroscopy-flow injection analysis (BIS-FIA): an interesting tool applicable to pharmaceutical analysis: Determination of promethazine and trifluoperazine" Journal of

spectrophotometric determination of trifluoperazine

hydrochloride in pharmaceuticals" Arabian Journal for Science and Engineering , 36 (4), 553-563.

24- Qasim, A. W. and Khammas,Z. A. A.,2010;"**An indirect atomic absorption**

spectrometric determination of trifluoperazine hydrochloride in pharmaceutical

formulations based on chelate formation with palladium(II) "E- Journal of Chemistry,S433-S441,7(S1).

chromatography"Al- Mustansiriya J. Sci, 22(2),123-128.

22- Sharma. D; Shrivastava, A.; Duggal, D.and Patel,A.,2010;"**Stability indicating RP- HPLC method for the estimation of trifluoperazinehydrochloride as API and estimation in tablet dosage forms"**International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance,2(2),38-41.

23- Waleed,A. Q. ;Khammas,Z.A- A.;Al-Ayash, A.S. and Jasim, F.,2011; "**An indirect atomic absorption**

absorption

Number of New Mixed Ligands - Cu(II) Complexes, Characterization, Biological Activities & Laser Effect

Prof. Dr. Zuhoor F. Dawood* & Dr. Rana R. A. Al-Bustani

ABSTRACT

New Copper(II) complexes containing mixed ligands {isatinazine (IAH₂) and benzilthiosemicarbazonebenzelidene (BtscbH), or benzilthiosemicarbazone-ortho-hydroxy-benzelidene (BtscoH₂), or benzilthiosemicarbazone-meta-hydroxybenzelidene (BtscmH₂) or benzilthiosemicarbazone-para-hydroxybenzelidene (BtscpH₂)} have been prepared using classical and microwave heating methods. The resulted compounds have been characterized by physical and chemical techniques. The ligands formed ionic complexes having general formulae [Cu(IAH₂)(LH_i)Ac]Ac in neutral (or slightly acidic) medium, whereas, neutral complexes of the general formula [Cu(IAH)(LH_{i-1})] in basic medium have been resulted {where LH_i=BtscbH, BtscoH₂, BtscmH₂ or BtscpH₂ ligands; LH_{i-1}= deprotonated LH_i ligand; IAH= deprotonated IAH₂ ligand}. Accordingly, hexa-coordinated mononuclear complexes have been investigated having distorted octahedral geometries.

No laser effects have been observed on solid ligands and complexes, this means that all the compounds were stable and were not affected by this kind of radiation. The biological activity of the ligands and all the complexes have been evaluated by agar plate diffusion techniques against *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*. Some ligands and complexes were found to have antibacterial activity. All the ligands and compounds have been screened for antifungal activity in vitro against *Aspergillus niger* and *Candida albicans*. No effects have been observed.

عدد من المعقدات الجديدة لمزيج من الليكاندات - للنحاس (II) وتشخيصها وفعاليتها الحيوية وتأثير الليزر

أ. د. زهور ف. داود* و د. رنا ر. ع. البستاني

الملخص

حضرت معقدات جديدة للنحاس (II) مع مزيج من الليكاندات {إزاتين أزين (IAH₂) وبنزل ثايوسميكاربازون بنزيلدين (BtscbH) أو بنزل ثايوسميكاربازون أورثو-هيدروكسي بنزيلدين (BtscoH₂) أو بنزل ثايوسميكاربازون ميتا-هيدروكسي بنزيلدين (BtscmH₂) أو بنزل ثايوسميكاربازون بارا-هيدروكسي

بنزيلدين (BtscpH₂)} باستخدام طرائق تقليدية والتسخين بأشعة الأمواج الدقيقة. سُخِّصَت المَعَقَّدَات الناتجة باستخدام تقانات فيزيائية وكيميائية. أُسْتِجِحَ أَنَّ الليكندات تُعْطِي مَعَقَّدَات أُيُونِيَّة (مُوصَلَّة كَهْرِبَائِيًّا) ذات صيغة عامَّة [Cu(IAH₂)(LH_i)Ac]Ac في الوسط المُعَادِل (أو الحامضي قليلاً) في حين تتكوَّن مَعَقَّدَات مُتَعَادِلَة (غير مُوصَلَّة كَهْرِبَائِيًّا) ذات صيغة عامَّة [Cu(IAH)(LH_{i-1})] في الوسط القاعدي. إذ =LHi =الليكد =IAH أو BtscbH أو BtscmH₂ أو BtscH₂، =LH =الليكد LH_i مُزَال مِنْهُ بروتون، =IAH₂ =الليكد IAH₂ مُزَال مِنْهُ بروتون و=1 أو 2، ولقد أثبتت الدراسة أَنَّ المَعَقَّدَات تكون سُدَاسِيَّة التَنَاسُق ذات أشكال ثمانية السطوح غير المنتظم .

لم يُلْحَظْ أَي تَأْثِير لِأَشْعَةِ اللِيزِرِ عَلَى اللِيكندات والمَعَقَّدَات الصلبة أي أَنَّ المَعَقَّدَات مُسْتَقَرَّة فلم تتأثر بهذا النوع من الإشعاع . ودرست الفعالية الحيوية لليكندات والمَعَقَّدَات على بكتريا ستافيلوكوكس أوريس وسيدوموناس إروجينوزا وبروتيس ميرابيليس وإشريشيا كولي باستخدام تقانة الإنتشار على سطح الآكار، فلوحظ أَنَّ بعض الليكندات والمَعَقَّدَات تمتلك فعالية كمضادات بكتيرية. كما درست أيضاً الفعالية لليكندات والمَعَقَّدَات على فطريات أسبرجيلس وكانديدا ألبيكانس ولم يُلْحَظْ تَأْثِيرُ لِلْمُرْكَبَاتِ فِي الفطريات .

INTRODUCTION

Copper has been important for all organisms. Copper and it's compounds have been used for the treatment of radiation sickness and more recently as an adjunct to radiotherapy for cancer patients and have been used for different purposes⁽¹⁻³⁾.

Azines was an intensive area of study and numerous transition metal complexes of these ligands have been investigated, due to their capability of acting as multidentate donor. Moreover azines and their complexes had important analytical and

industrial applications, and biological activities⁽⁴⁻⁸⁾.

Thiosemicarbazones have been studied due to their capability of acting as multidentate NS, NNS, SNNS donor. Thiosemicarbazones and their complexes had important biological applications. They have been receiving considerable attention due to their pharmacological properties, antitubercular activity, activity against viruses , protozoa small pox and certain kinds of tumor⁽⁹⁻¹⁶⁾.

Metal complexes of Schiff-bases have been widely studied. This may be attributed to their stability, biological activity and

potential applications in many fields such as oxidation catalysis, electrochemistry, etc⁽¹⁷⁻²⁴⁾.

Mixed ligand complexes aroused considerable interest due to their importance in the field of metalloenzymes and other biological activities. A good deal of work has been published on their complexes⁽²⁵⁻³²⁾.

Microwave is an electromagnetic radiation, it is a prominent method used to prepare chemical compounds. The short time, high yield and pure products in addition to the un limited uses of microwave heating made this technique very merit⁽³³⁻⁴⁰⁾. Laser technique was employed to produce light ray used scientifically and applicably. Laser irradiation may be caused ionization of the compounds when it passes through them, many compounds were prepared and studied using this technique⁽⁴¹⁻⁴³⁾.

Antibacterial and antifungal activity of complexes aroused considerable interest by chemists and biologist and a good deal of work has been reported on preparation of compounds that can be used as antibiotics to kill or inhibit the bacteria or fungi⁽⁴⁴⁻⁴⁸⁾.

Due to the importance of mixed ligand complexes, their preparation in microwave oven (Green chemistry) and their importance antimicrobial activities, we took a part in the chemistry of mixed ligands and

their biological activity, and some articles have been published⁽⁴⁹⁻⁵²⁾.

EXPERIMENTAL

1- Materials :

The primary compounds have been supplied from Merck, Aldrich, BDH, and Fluka. All the compounds and solvents have been used as supplied, except aniline has been used after purification by distillation

2- Synthetic Methods:

I- Preparation of ligands by classical methods

IAH₂ ligand (Fig. 1) has been prepared according to the literature method⁽⁵³⁾. Btsch has been prepared according to the published method⁽⁵⁴⁾, followed by the preparation of the ligands BtschH, BtscoH₂, BtsmH₂ and BtscpH₂ (Fig. 1) as follows: (10 gm, 0.0353 mole) Btsch dissolved in 20 ml ethanol has been added to a solution of {3.29 gm, 0.0353 mole) or (3.85 gm, 0.0353 mole) or (3.85 gm, 0.0353 mole) or (3.85 gm, 0.0353 mole)} aniline or ortho-hydroxy-aniline or meta-hydroxyaniline or para-hydroxyaniline, respectively. The mixtures have been refluxed for half an hour followed by evaporation to half their volumes then cooled. The residues were separated by filtration, washed with cold water and crystallized from hot ethanol.

II- Preparation of ligands by heating with microwave technique

(1 gm, 0.0034 mole) isatin has been mixed with (0.44 gm, 3.4×10^{-3} mole) hydrazine sulfate and (0.12 gm, 3.4×10^{-3} mole) conc. ammonium hydroxide. The mixture has been heated in microwave oven for 98 second, the resulted product (IAH₂) has been washed with cold distilled water followed by cold ethanol and dried at 70 °c. The product is dark yellow, its melting point 224 °c, its molecular weight theor. (exp.)= 290.28 (297.05).

BtscH has been first prepared as follow: (10 gm, 0.0476 mole) benzil mixed with (4.34 gm, 0.0476 mole) thiosemicarbazide and (3.90 gm, 0.0476 mole) anhydrous sodium acetate. The mixture has been heated in microwave oven for 120 second, the resulted product has been washed with cold distilled water followed by cold ethanol and dried. The product is yellow crystals, its melting point=118 °c, its molecular weight theor. (exp.)= 283.35 (271.11).

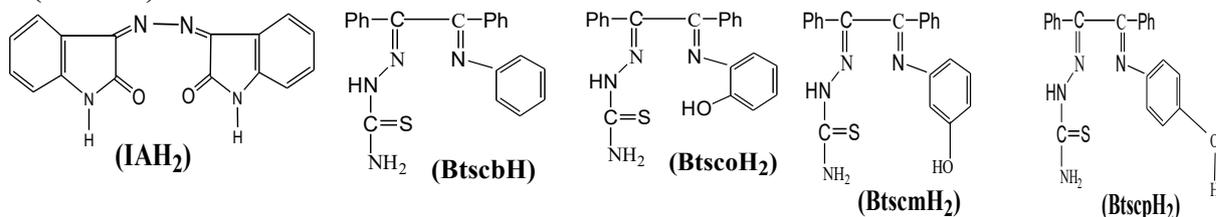


Fig. 1: Model structures of the ligands

Preparation of thiosemicarbazone benzilidene and substituted benzilidene

(2 gm, 0.0071 mole) of BtscH has been mixed with (0.66 gm or 0.77 gm or 0.77 gm or 0.77 gm, 0.0071 mole) aniline or ortho-hydroxyaniline or meta-hydroxyaniline or para-hydroxyaniline. The mixture has been heated in microwave oven for 100 - 130 second, the resulted product has been washed with cold distilled water followed by cold ethanol and dried. The product of BtscbH is yellow crystals, its melting point=175 °c, its molecular weight theor. (exp.)= 358.46 (348.95). The product of BtscoH₂ is yellow crystals, its melting point=143 °c, its molecular weight theor. (exp.)= 374.46 (361.92). The product of BtscmH₂ is yellow crystals, its melting point=95 °c, its molecular weight theor. (exp.)= 374.46 (361.92). The product of BtscpH₂ is yellow crystals, its melting point=135 °c, its molecular weight theor. (exp.)= 374.46 (361.92).

a-With solvent:

Complexes of the type $[\text{Cu}(\text{IAH})(\text{Btscb})]$ has been prepared by the reaction of (0.5 gm, 2.5×10^{-3} mole) $\text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dissolved in 10 ml distilled water with ethanolic solution (2.5×10^{-3} mole) IAH_2 and (2.5×10^{-3} mole) BtscbH in 1:1:1 molar ratio. The mixture was heated until clear solution has been resulted. Aqueous solution of sodium hydroxide (2M) has been added dropwise to the mixture until $\text{pH}=9-10$. The products have been filtered off, washed with cold distilled water followed by diethylether and dried. Complexes with the other ligands have been prepared using same method (Table 1)

b- Microwave heating:

Complexes of the type $[\text{Cu}(\text{IAH})(\text{Btscb})]$ has been prepared by the reaction of (0.5 gm, 2.5×10^{-3} mole) $\text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ with (2.5×10^{-3} mole) IAH_2 and (2.5×10^{-3} mole) BtscbH and amount of sodium hydroxide (Table 1) mixed then 2 drops of distilled water were added, mixed well then heated using microwave oven (500 watt) for certain time until the reaction was completed. The compound was washed with cold distilled water followed by diethylether and dried. Complexes with the other ligands have been prepared using same method (Table 1)

3- Preparation of the complexes: (In neutral (or slightly acidic) medium):**a-Reflux method**

$[\text{Cu}(\text{IAH}_2)(\text{BtscbH})\text{Ac}]\text{Ac}$ has been prepared by the reaction of (0.5 gm, 2.5×10^{-3} mole) $\text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dissolved in 10 ml. distilled water with ethanolic solution of (2.5×10^{-3} mole) IAH_2 and (2.5×10^{-3} mole) BtscbH ligands in 1:1:1 molar ratio. The mixture has been refluxed for three hours. evaporated to about half its volume and cooled. The resulting complex was filtered off, washed with cold distilled water followed with diethylether and then dried. Complexes with the other ligands have been prepared using same method (Table 1)

b- Microwave heating:

$[\text{Cu}(\text{IAH}_2)(\text{BtscbH})\text{NO}_3]\text{NO}_3$ has been prepared by the reaction of (0.5 gm, 2.5×10^{-3} mole) $\text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ with (2.5×10^{-3} mole) IAH_2 and (2.5×10^{-3} mole) BtscbH . 2 drops of distilled water were added and mixed well then heated using microwave oven (500 watt) for certain time until the reaction completed. The compound was washed with cold distilled water followed by diethylether and dried. Complexes with the other ligands have been prepared using same method (Table 1)

II- In basic medium:

Table (1): Experimental conditions and the suggested formulae of the prepared complexes

No	Wt. ligands (gm)	Wt IAH ₂ (gm)	pH	T. (Sec)	Amounts of KOH	%	Suggested Formula
1	0.8977	0.7269	7-6	-		75	[Cu(IAH ₂)(BtscbH)(Ac)]Ac
2	0.8977	0.7269	7-6	18		85	[Cu(IAH ₂)(BtscbH)(Ac)]Ac
3	0.8977	0.7269	10	-	20	82	[Cu(IAH)(Btscb)]
4	0.8977	0.7269	10	20	0.110 gm	84	[Cu(IAH)(Btscb)]
5	0.9377	0.7269	7-6	-		90	[Cu(IAH ₂)(BtscoH ₂)(Ac)]Ac
6	0.9377	0.7269	7-6	20		80	[Cu(IAH ₂)(BtscoH ₂)(Ac)]Ac
7	0.9377	0.7269	10	-	15 d	83	[Cu(IAH)(BtscoH)]
8	0.9377	0.7269	10	20	0.084 gm	88	[Cu(IAH)(BtscoH)]
9	0.9377	0.7269	7-6	-		70	[Cu(IAH ₂)(BtscmH ₂)(Ac)]Ac
10	0.9377	0.7269	7-6	15		75	[Cu(IAH ₂)(BtscmH ₂)(Ac)]Ac
11	0.9377	0.7269	10	-	20 d	94	[Cu(IAH)(BtscmH)]
12	0.9377	0.7269	10	7	0.110 gm	83	[Cu(IAH)(BtscmH)]
13	0.9377	0.7269	7-6	-		80	[Cu(IAH ₂)(BtsepH ₂)(Ac)]Ac
14	0.9377	0.7269	7-6	17		83	[Cu(IAH ₂)(BtsepH ₂)(Ac)]Ac
15	0.9377	0.7269	10	-	10 d	83	[Cu(IAH)(BtsepH)]
16	0.9377	0.7269	10	20	0.056 gm	84	[Cu(IAH)(BtsepH)]

T= time heated in microwave oven, d= drops ; ligands= BtscbH, BtscoH₂ , BtscmH₂ , BtsepH₂

a 1 cm cell. The infrared spectra of the ligands and their complexes have been recorded on Model Alpha–Bruker in the range 400-4000 cm^{-1} . Solid ligands and complexes were irradiated using visible laser type He-Ne of power 1 mW and 700-600 nm wavelength for different times (0.5–2.5 hours). Every 0.5 hour, the melting point, molar conductivity and electronic spectra, after the irradiation, have been measured. ^1H NMR have been recorded for the ligands by NMR Bruker Ultra Shield 300 MHz in Dayquil University-Turkeys using Deutrated DMSO. Mass spectra have been recorded for the ligands at Sheffield University by Water-Micromass LCT Electrospray Mass Spectrometer using Deutrated DMSO

5- Antimicrobial assay of the complexes

Four pathogenic microorganisms {*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*} have been selected to study the antibacterial activity of the ligands and their complexes. All the bacterial strains have been identified before use in Biology Department, Education for Pure Science College, Mosul University⁽⁵⁸⁾. The antibacterial activity has been evaluated by agar plate diffusion technique^(59,60) a variety of medicinally important gram-

4-Analytical and physical measurements:

The prepared complexes were analyzed for carbon, nitrogen, hydrogen, sulfur (CHNS) in Turkeya-Diyar Bruker-Dykel University by Instruments Elemental Combustion Costech Type 4010 and S.N/2110910423 (Italy). Copper contents have been determined by titration method⁽⁵⁵⁾ after the decomposition of the complexes with concentrated nitric acid. Relative molecular weights of the ligands and their complexes have been determined cryoscopically⁽⁵⁶⁾. Molar refraction measurements have been carried out with Atago Illumination, Atago Co-LTD, Japan using 10^{-3} M dimethylsulfoxide solution⁽⁵⁶⁾ (Danials , 1962) . Conductivity measurements have been carried out with an electrolytic conductivity measuring set LF-42 and Multiline f/SET-2WTW Wiscenschaf Technische Werketattem 82362 Weiheim using 10^{-3} M dimethylsulfoxide at 25 °c⁽⁵⁷⁾. Magnetic susceptibility of the complexes have been measured by (SHERWOOD SCIENTIFIC Magnetic Susceptibility (MSB) at 25 °c. Electronic spectra has been recorded on Shimadzu UV-1650 PC UV-Visible Spectrophotometer for 10^{-3} and 10^{-4} M solutions of the ligands and their complexes in dimethylsulfoxide at 25 °c , using

concentration (MIC), different concentrations of the tested materials (500, 250, 125 µg/ml) were used, the highest dilution which inhibits the growth have been recorded. These dilutions have been done in triplicate. Two pathogenic microorganisms *Aspergillus niger* and *Candida Albicans* have been selected to study the antifungal activity of the ligands and their complexes using same procedure as above^(59,60).

The resulted complexes were colored solids, air stable, insoluble in water but soluble in dimethylsulfoxide. The elemental analyses, metal contents and molecular weight revealed that the complexes had the formulas [Cu(IAH₂)(LHi)Ac]Ac and [Cu(IAH)(LHi-1)] in neutral and basic medium , respectively (Table 2).

positive and gram-negative. In this method Nutrient agar plates have been seeded with 0.1 ml. of the broth culture of the tested microorganism containing (10⁸) cells/ml., filter paper discs were impregnated with the tested materials then placed on the surface of seeded Nutrient agar plates, the plates were incubated at 37 °c for 24 hr., the zone of inhibition have been measured for the determination of minimum inhibitory

RESULTS AND DISCUSSION

The reaction of copper (II) nitrate and the ligands in 1:1:1 molar ratio in neutral and basic medium can be represented by reactions:

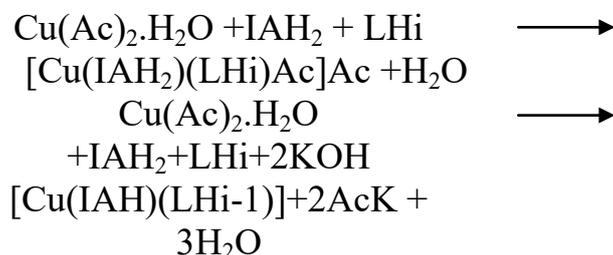


Table (2): CHNS analysis, Metal contents and M.Wt. of the prepared complexes

No.	%C	H%	N%	S%	Cu%	ΔT °c	M. Wt.
	(Exp.) Calc.		(Exp.) Calc.				
1	(59.24)	(3.91)	(13.86)	(3.31)	(7.62)	0.64	(828.99)830.40
	59.31	4.13	13.49	3.86	7.65		
2	(58.80)	(4.55)	(14.23)	(3.15)	(7.93)	0.64	(828.99) 830.40
	59.31	4.13	13.49	3.86	7.65		
3	62.57	3.69	15.78	4.51	(8.52)	0.55	(712.22) 710.295
					8.95		
4	62.57	3.69	15.78	4.51	(8.89)	0.55	(712.22) 710.295
					8.95		
5	58.18	4.05	13.24	3.79	(7.62)	0.65	(841.96)

					7.51		846.40
6	58.18	4.05	13.24	3.79	(7.30)	0.65	(841.96)
					7.51		846.40
7	(61.61)	(3.21)	(15.43)	(4.31)	(8.89)	0.56	(725.20)
	61.19	3.61	15.43	4.41	8.75		726.29
8	(61.47)	(3.94)	(15.66)	(3.79)	(8.89)	0.56	(725.20)
	61.19	3.61	15.43	4.41	8.75		726.29
9	(58.08)	(3.75)	(13.94)	(4.87)	(7.30)	0.65	(841.96)
	58.18	4.05	13.24	3.79	7.51		846.40
10	(57.40)	(3.01)	(13.75)	(3.60)	(7.62)	0.65	(841.96)
	58.18	4.05	13.24	3.79	7.51		846.40
11	61.19	3.61	15.43	4.41	(8.52)	0.56	(725.20)
					8.75		726.29
12	61.19	3.61	15.43	4.41	(8.89)	0.56	(725.20)
					8.75		726.29
13	58.18	4.05	13.24	3.79	(7.93)	0.65	(841.96)
					7.51		846.40
14	58.18	4.05	13.24	3.79	(7.62)	0.65	(841.96)
					7.51		846.40
15	(61.43)	(2.41)	(15.66)	(4.95)	(8.52)	0.56	(725.20)
	61.19	3.61	15.43	4.41	8.75		726.29
16	(61.32)	(3.30)	(15.74)	(4.96)	(8.89)	0.56	(725.20)
	61.19	3.61	15.43	4.41	8.75		726.29

additive and constitutive property. It has been used to construct the correct structure of the compound⁽⁶³⁾. The electronic spectra of the complexes (Table 3) in dimethylsulfoxide solution have been recorded giving d-d and charge transfer spectra. Copper(II) complexes showed a wide absorption band at 15384.62-17543.86 cm^{-1} attributed to the accumulation of the two electronic transitions ${}^2E_g \rightarrow {}^2B_{1g}$ and ${}^2A_{1g} \rightarrow {}^2B_{1g}$. The presence of this band strongly supported the octahedral geometry of the complexes, and since the higher ability of the stable state E_g for the Jian-Teller

The values of the molar conductivities (30-39 and 8-17 $\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$) approached those expected for 1:1 and non electrolytes, for complexes prepared in neutral and basic medium⁽⁶¹⁾ respectively (Table 3). The magnetic moments (1.548- 1.735 B.M) indicated the presence of one unpaired electron, for copper(II) complexes⁽⁶²⁾, assigned to a monomeric structure, having octahedral geometry (Table 3). The refraction of the complexes in 10^{-3} M dimethylsulfoxide solution were in the range 1.4773×10^{-4} - 1.4877×10^{-4} (Table 3) The molar refraction is an