

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. ÁLTALÁNOS IRODALMI ÁTTEKINTÉS, FIZIKAI ALAPOK

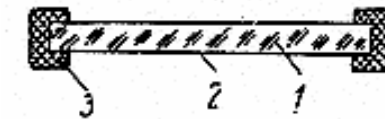
Tarnóczy (1963) szerint a hang rugalmas közegben terjedő mechanikai zavarási állapot, mely térben, vagy térben és időben változik. A zavarási állapot nem korlátozódik egyetlen részecskére, hanem a szomszédos részecskék is impulzust kapnak, így kialakul a hangtér. A rezgés egyetlen részecske állapotváltozásának időben lejátszódó periódusosan ismételt folyamata. A frekvencia a rezgés időegységre eső periódusainak száma $1/s$, dimenziója 1Hz (hertz). A hangintenzitás a felületegységre eső teljesítmény, dimenziója W/m^2 , mely helyett a szakirodalom gyakran W/cm^2 értéket közöl. Frekvencia szerint megkülönböztetjük a 20Hz alatti infra, 20Hz-16kHz között hallható, 16kHz -100MHz között ultra, illetve 100MHz feletti hiper hangokat. Az ultrahangot rezgéskeltőkkel állítjuk elő. Ezek közül ismerjük az elektromechanikus (elektromágneses, magnetosztatikus, piezoelektromos), aerodinamikus, hidrodinamikus és mechanikus átalakítókat. Legelterjedtebbek az elektromechanikus átalakítók. Ezek fő részei a generátor, amely a szükséges frekvenciájú váltakozó elektromos áramot termeli, illetve a sugárzó-, amely a generátortól kapott elektromos energiát mechanikai rezgéssé alakítja, és azt a vele érintkező közegnek átadja. Kvarc sugárzó alkalmazása esetén a nagyfrekvenciás feszültség 2-20kV, a bárium-titanát és ólom-cirkonát, vagy ólom-cirkonát-titanát (PZT) sugárzókkal pedig 50-300V.

Tar (1982) szerint a hangtér a tér minden olyan pontja, ahol a hanghullámokra jellemző, váltakozó nyomás lép fel. A hangtérben kialakuló hullámtípusok a sugárzó típusától, a hangtér kialakításától, valamint a hangtér fizikai paramétereitől függenek. Longitudinális hullám esetén a hullámmozgást végző közeg sűrűsödései és ritkulásai a hullám terjedésének irányában vannak, ami a gázokra és folyadékokra jellemző. A hullámfront vagy hullámfelület a haladó hullámoknak, valamely időpontban azonos rezgési fázisban lévő pontjaival jellemzett folytonos felülete. Egyszerű hullámformák közül fontos a síkhullám, a gömbhullám, illetve a hengerhullám. A hullámok találkozásánál interferencia jelenség lép fel, mely a hullámpontok helyi és pillanatnyi értékeinek előjel és nagyság szerinti összegződése, amelyekből egy eredő hullám alakul ki, a találkozó hullámok szuperpozíciójaként. Az állóhullám akkor alakul ki, ha két azonos típusú, frekvenciájú és amplitúdójú, de ellentétes irányú hullám találkozik, tehát

ez is interferencia jelenség. Az állóhullám olyan hullám, melynek mentén a csomópontok és duzzadó helyek térbeli elhelyezkedése nem változik. Az állóhullám általában úgy keletkezik, hogy egy haladó hullám valamilyen akadályon visszaverődik és az eredeti, valamint a visszavert hullám interferál. Ha egy irányba halad a hullám, haladó hullámról van szó. A Huygens-elv kimondja, hogy a közeg minden egyes pontja az odaérkező hullám hatására pontszerű gömbi hullámforrássá változik, azaz a hullámfront minden pontja újabb hullámforrás, amelyből további hullámok indulnak ki. A hangszóródás ott jelentkezik, ahol a hullámok rugalmas közegbe ágyazott idegen testhez, akadályhoz érnek. Az akadályhoz viszonyítva nagyon kicsi részecske együtt mozog a térrel, illetve arról gömb hullámok terjednek, ami a hullámok energiájának egy részét elvonja. A hanghullámok minden anyagban frekvenciájuktól, a hullám típusától, a hőmérséklettől, illetve az anyag tulajdonságaitól függő mértékben adszorbeálódnak, a rezgési energia irreverzibilis hővé alakulása következtében. A hangtérben a hangnyalábot feloszthatjuk közel térre, átmeneti tartományra és távoltérre.

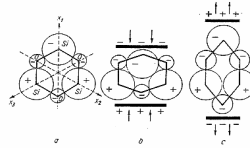
Fry (1978) szerint kis testeken is erőteljesen jelentkezik az ultrahangszóródás.

Bezzubov et al. (1967) szerint a piezoelektromos sugárzó piezoelektromos tulajdonságú elemből (1), elektródából, vagyis vákuumgőzöléssel felvitt fém fegyverzetekből (2), és tartókból (3), áll (1. ábra).



1. Ábra: Piezoelektromos sugárzó

Működésük a piezoelektromos jelenségen alapul, frekvenciatartományuk a geometriájuk alapján a teljes ultrahang tartományt felöleli. Ha piezoelektromos tulajdonságú anyagok felületére váltakozó feszültséget vezetünk, akkor mechanikai rezgésbe jönnek, amit negatív piezoelektromos hatásnak nevezünk. Fordított esetben pozitív piezoelektromos hatásról van szó, ha a piezoelektromos tulajdonságú anyag a felületére adott mechanikai erőre elektromos feszültség ébredéssel reagál (2. ábra). A jelenség fizikai magyarázata, hogy például a kvarc Si- és O-atomjai egy szabályos hatszög csúcsaiban helyezkednek el. Ha a rendszert úgy nyomjuk össze, hogy két szemközti sarkon elhelyezkedő Si- és O-atom közelebb kerül egymáshoz, az előbbi helyen az O-atomok negatív töltése, az utóbbi helyen a Si-atomok pozitív töltése jelentkezik.



2. Ábra: A piezoelektromos kristályrács (a) és a pozitív (b), valamint a negatív (c) piezoelektromos hatás sémája.

A mesterséges piezoelektikumok piezoelektromos tulajdonsága akár több, mint 50-szer nagyobb, mint a természetes kvarcé, de a hőmérséklet növekedésével a piezoelektromos tulajdonságuk csökken, majd a Curie-ponton depolarizálódnak. A mesterséges piezoelektikumokból bármilyen geometriájú sugárzó kialakítható.

Tarnóczy (1962) leírása alapján, a piezoelektromos lap kétoldali sugárással az energiát megfelelően, tehát a hasznos irányba is és hátrafelé is azonos mértékben sugároz. Ha azonban a piezoelektromos lap két oldalán nem azonos közeg helyezkedik el, a sugárzás abban az irányban lesz erősebb, amelyik irányban a közeg akusztikai keménysége közelebb áll a piezoelektromos lap anyagához. Ha a sugárzó egyik oldalán levegő, a másikon víz van, akkor mivel a levegő akusztikai keménysége több nagyságrenddel eltér a piezoelektikumétól, az energia csaknem 100%-ban a folyadék felé hagyja el a rezgő piezoelektikum lapot, mivel a víz akusztikai keménysége közelebb esik a piezoelektikuméhoz. A sugárzó fejben a J. Gruetzmacher-féle légpárna alkalmazásának ez a célja. A homlokfal vastagsága a minimális veszteségek miatt $n \cdot \lambda / 2$ kell, hogy legyen.

Az ultrahangok alkalmazásának két csoportját különböztethetjük meg, az aktív és a passzív felhasználást. Passzív felhasználás alatt információszerzési vagy információátadási tevékenységet értünk, melyek például a víz alatti jeladás, vagy szonár technika, szilárd anyag belső hibáinak kimutatása, ultrahangos test átvilágítás és diagnosztika. Az aktív felhasználás alatt az anyagra gyakorolt hatást értjük, melyek például a sterilizálás, emulgeálás, homogenizálás, koagulálás, katalizálás, polimerizálás, fémtisztítás és növekedésserkentés. A passzív mérés technikában $1\text{W}/\text{m}^2$ - $10000\text{W}/\text{m}^2$ energia használatos. Az aktív ultrahangtechnikában $10000\text{W}/\text{m}^2$ ($1\text{W}/\text{cm}^2$) feletti intenzitásokkal dolgoznak.

A rezgés-átalakítókat zárt fejbe építjük, érintésbiztonsági és mechanikai okból. A közvetlen besugárzásnak két útja van. Vagy a besugározandó teret helyezzük el a rezgés-átalakító felett, vagy a rezgés-átalakítót visszük be a kezelő térbe.

Szakaszos töltő-ürítő üzemben az optimális besugárzási idő elteltével az anyagot leeresztjük, és újat töltünk be. A folyamatos üzemben minden közegrészecske elvileg azonos ideig tartózkodik a térben, miközben ki van téve az ultrahang hatásának. Az optimális besugárzási idő beállítása az áramlás sebességének szabályozásával oldható meg.

Ha nagyobb energiákra lehet szükség, az energia megfelelő koncentrálásáról kell gondoskodni, parabolatükör, homorú sugárzó felületek, vagy mechanikai erősítő oszlop segítségével.

2.2. AZ ULTRAHANG ÁLTALÁNOS ÉLELMISZERFIZIKAI ÉS BIOLÓGIAI HATÁSAI

Moser és Pálmai (1992) szerint az aktív ultrahang biológiai hatásai lehetnek az életfunkciók serkentése, gátlása, illetve a sejtek, szövetek irreverzibilis, morfológiai károsítása. Az ultrahang biológiai hatása függ az ultrahang intenzitásától, a behatás időtartamától, a frekvenciától, és a sejtektől, szövetektől. Az egyes anyagoknak eltérő az abszorpciós koefficiense és az egyes anyagok energia-abszorpciós képessége nő a frekvenciával. Az anyagban az ultrahang energiája exponenciálisan csökken az úttal.

Fry (1978) szerint az ultrahang hőhatása könnyen elegendő a biológiai struktúrák és folyamatok megváltoztatásához. Az intenzitást a hangtér egy adott pontján az [1]. képlettel fejezte ki:

$$I = I_0 * e^{-2\alpha x} \quad [1],$$

ahol (I_0) W/cm^2 vagy dB a kiindulási intenzitás, (I) az aktuális intenzitás W/cm^2 vagy dB, (α) az abszorpciós koefficiens $Np/cm=8,7dB/cm$, (x) pedig az adott irányban megtett távolság. A hőképződés egységnyi térfogatra pedig a [2]. képlet alapján:

$$q_v = 2\alpha I \quad [2].$$

Förster és Holste (1937) szerint az ultrahang biológiai hatásának jellege mechanikus, termikus, biokémiai és elektrokémiai lehet és az egysejtűek, baktériumok, vörösvértetek, sőt egyes neoplazma-féleségek ultrahanggal szétroncsolhatók.

Besugárzáskor a szövetrészek belső súrlódás következtében melegsznek, az oxidációs folyamatok és az ionok membránon átjutása gyorsul.

Bezzubov et al. (1967) szerint az ultrahangrezgések roncsoló hatását fel lehet használni csíráatlanítás, pasztörözés, fertőtlenítés céljából, mely hevítés nélküli élelmiszerkezelési eljárást tehet lehetővé, így a kezelt anyag íze, illata és vitaminállománya jobban megőrizhető lehet. Az ultrahang biológiai hatásait, annak intenzitása, frekvenciája, a besugárzás időtartama, a közeg összetétele, kémhatása, és az adalékok jelenléte befolyásolja. Fehérjék aminosav molekulákra bomlanak, az enzimek fehérjéi pedig oxidálódnak ultrahangsugárzásra, így azok inaktiválódnak. A zsírok, sőt a viaszok is hidrolizálnak és könnyen szappanosíthatók ultrahang hatására. Ultrahang hatására a sejt tartalmának bonyolultabb fiziko-kolloidális elváltozásai is bekövetkeznek.

Davis (1949) leírása alapján a tej ultrahangos kezelésekor egyidejűleg lejátszódik a zsírgömböcskék egybeolvadása 75kHz frekvencián, illetve a zsírgömböcskék felaprózódása, diszperziója 16 és 35kHz frekvencián. Egyenletes és tartós emulziók állíthatók elő 380kHz frekvencián 8W/cm² intenzitással, 15-20 perc besugárzási idővel. Szerinte a tej ultrahangos kezelése jelentősen csökkentheti a tejben lévő mikroflórát, ugyanakkor a kezelt tej színe, illata nem változik.

Mason et al. (1994) megállapították, hogy az ultrahang élelmiszeripari alkalmazási területei többek között a keverés, vegyítés, emulzifikálás, jégkristály kialakulás gyorsítás, húsok és borok érlelése, tisztítás, homogenizálás lehet.

Mason et al. (1996) szonokémiai tapasztalataikat használták a sejtek élettevékenységének befolyásolására, sterilizációra, enzimaktivitás befolyásolásra, extrakcióra, kristályosításra, emulgeálásra, szűrésre, szárításra az ultrahanggal.

2.3. ALKALMAZOTT ULTRAHANG FIZIKAI ÉS BIOLÓGIAI SZAKIRODALMAINAK ÁTTEKINTÉSE

Horbenko (1977) a hangtérben, a közel tér (near field) távolságát a kör alakú rezgőnél a [3]. képlettel fejezi ki:

$$N_{\text{kör}} = D^2 * f / 4 * c = 0,25 * (D^2 * f / c) \quad [3].$$

ahol (D) a rezgő átmérő [m], (f) a frekvencia [Hz], (c) a hullám terjedési sebessége [m/s]. A közel tér hektikus energia eloszlású zóna.

Fry (1978) és Nyborg et al. (1974) biofizikai vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy ultrahangos besugárzás alatt az intracelluláris sejttestecskék egyenletesen pörögnek a sejtekkel együtt, ami az *ultrahangos forgató nyomaték* következménye. Lényeges akusztikai jelenség a határréteg közeli, vagy *mikroáramlás*, mely az a folyadék és a szuszpendált objektum közti határrétegben indukálódik, ahol a váltakozó irányú áramlás eredményeként, erős turbulenciákként manifesztálódik. A határréteg közeli, vagy mikroáramlás fontos kapcsolatban van a biológiai hatásokkal, mert magas sebesség gradiens és nagy nyírófeszültség jellemző rá, ami a sejtek, sejtalkotók és a makromolekulák roncsolódását okozza.

Williams et al. (1976) szerint a mikroáramlások olyanok a közegben, mint egy átlósan rezegtetett fémdrót, ami úgy funkcionál a hangtérben, mint egy csapódó penge.

Connolly (1969) kísérletei során megállapította, hogy a mikroáramlás az eritrociták közelében hemolízist, illetve hőemelkedést okozott.

2.4. SUGÁRZÁSI ERŐTÉR KUTATÁSÁNAK SZAKIRODALMI HÁTTERE

Suslick (1988) összefoglalása szerint a sugárzási erő azt jelenti, hogy a hangtérben minden besugárzott objektumra egy adott nagyságú és irányú erő hat, melyet a sugárzó intenzitása és a tér paraméterei befolyásolnak.

Dvorak (1876), Rayleigh (1902), Eckart (1948) és Post (1953) tanulmányozta legkorábban, az ultrahangtérben fellépő sugárzási erőt. A hangtér kölcsönhatásai kis méretű objektumokkal, a kutatóknak egyedülálló lehetőséget ad a részecskék manipulálására, irányítására, ami a sugárzási erő speciális alkalmazása lehet.

Bjerknes (1906) sugárzási erőtér segítségével végzett először a hangtérben gömb alakú buborék irányítására, mozgatására kísérleteket.

Gor'kov (1962) a hullámhosszhoz képest kis méretű objektumokra ható sugárzási erő számításakor áramlásdinamikai megközelítést is alkalmazott, míg Westervelt (1951) korábban különböző alakú objektumokra próbálta meghatározni azt.

2.5. AZ AKUSZTIKAI KAVITÁCIÓ SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉSE

2.5.1. A KAVITÁCIÓ MEGJELENÉSI FORMÁI

Flynn (1964) bevezette a stabil és tranziens kavitáció kifejezéseket a buborék kéttípusú viselkedésére a hangtérben. Szerinte tranziens kavitáció történik, ha a buborék

összeomlása nagyon gyors, és az összeomlás velejárója, hogy a buborék vagy üreg megszűnik. Stabil kavitáció akkor történik, ha a buborék számos cikluson keresztül oscillál, a térből való távozás nélkül és a depresszió alatt mérete csökken, majd az ellenkező fázisban újra kitágul, mivel gőzt tartalmaz.

Frizzel (1988) definiálta az ultrahangos kavitációt, mely kimondja, hogy a kavitációs jelenség olyan folyadékokban alakul ki, amelyek akusztikai zavarnak vannak kitéve és akkor, ha az akusztikai nyomás a hangciklus ritkulási fázisának folyamán a teljes nyomást nézve lecsökken egy bizonyos küszöb, vagy határérték alá. Ez a határérték az akusztikai nyomás amplitúdóban, függvénye számos fizikai paraméternek, amelyek a közeg állapotát írják le. Ezekbe beletartozik a hangintenzitás, frekvencia, hőmérséklet, nyomás, oldott gáz típusa, mennyisége, a viszkozitás, a közeg előlétele, a kavitációs magok típusa, mennyisége, oldott ion koncentráció, stb.

Atchley és Crump (1988) is megfogalmazta, hogy a tranziens kavitáció a buborék néhány hangciklus alatt történő megnövekedését, majd változóan heves összeomlását foglalja magában. A stabil kavitáció jelensége alacsonyabb akusztikai nyomás amplitúdók mellett következik be, és a buborék adott körülményeknek megfelelő egyensúlyi sugár körüli oscillációját foglalja magában, több ezer akusztikai ciklust is átfogó növekedési időtartammal.

Kuttruff (1991) a soft és hard kavitáció bevezetését javasolja a stabil és tranziens kifejezések helyett. A múltban a kavitációs magokból kiindulónan vizsgálták a tranziens kavitáció kialakulását. A folyamat, amely során a nukleusz, vagyis a kavitációs mag kialakít egy detektálható buborékot, több lépésből áll. Először egy stabilizált mag besugárzása kezdődik a hangtérben, ezért a nukleusz oscillációra gerjed. Ha az ultrahangtér átlép egy bizonyos akusztikai nyomás amplitúdó értékét, akkor a nukleusz instabil állapotba kerül, és gyorsan, akár egy akusztikai ciklus alatt megnövekedik, vízgőz töltötte „stabil” kavitációs buborékká.

Apfel (1986) és Kuttruff (1991) leírta a buborék tranziens, vagy tehetetlenségi összeomlásának folyamatát egy szilárd objektum, például fal mellett. Összeomlás során a buboréknak a szilárd fal felőli oldalán, a szabad folyadék felőli oldalhoz képest, a közegáramlás összetevője erőteljesen lecsökken. Ezért a kavitációs üreg falának mozgása a középpontjához képest aszimmetrikussá válik. Ezáltal a buborék falának a szilárd fallal ellentétes oldala nagyobb sebességre szert téve fog a buborék középpontja felé mozogni,

mint a szilárd fal felőli buborék oldal. A buborék falának aszimmetrikus egyre gyorsuló mozgása a leggyorsabb részen egy túszerű folyadéksugár kialakulását eredményezi, ami tehetetlensége miatt nagy sebességgel átdöfi a buborékot, majd becsapódik a szemben lévő szilárd falba, erodálva azt. Ez a tranziens, vagy tehetetlenségi kavitáció.

Miller (1987) szerint a sejtek lízisének, széttöredezésének alapvető kiváltói a határreteg közeli áramlás (mikroáramlás), a mozgó buborék körüli nyírófeszültség, buborék összeomlaskori folyadéksugár kilövellés, és a szonokemikáliák kialakulása.

Miller et al. (1996) szerint a nem termikus ultrahanghatások legfontosabbika a kavitáció, ami az ultrahang, a mikro-buborékok és a folyadék közötti kölcsönhatás.

Schmitt et al. (1930) elsőként állapították meg, hogy az ultrahang pusztító hatásáért, a biológiai anyagokban fellépő akusztikai kavitáció is felelős.

Verall és Sehgal (1988) szerint a tranziens kavitáció a sejt lízis erőteljes megindítója, aminek kapcsán a sejtmembrán összetörik.

Fry (1978) méréseivel kimutatta, hogy az akusztikai térben oszcilláló buborékok hőforrásként is felfoghatók.

Schnett-Abraham et al. (1992) szerint a tranziens kavitáció összeomlásánál akár 100Mpa nyomás és 5000K hőmérséklet feletti értékek is kialakulhatnak, ezek a fizikai paraméterek pedig potenciálisan felelősek a sejtmembrán károsodásáért.

Miller et al. (1996) szerint a tranziens kavitáció relatíve magasabb ultrahang intenzitás mellett alakul ki, mint a stabil kavitáció. A kavitációs buborékok sejtkárosító hatásának okai a buborékközeli turbulenciák, a képződő szonokémiai anyagok, az UV, és a könnyű röntgen kibocsátás. Megerősítették, hogy a sejteken belül is kialakulhat stabil kavitációs buborék.

2.5.2. A KAVITÁCIÓS KÜSZÖB

Fry (1978) és Neppiras (1980) szerint a hangtérben nincs kavitáció addig a pillanatig, amíg az akusztikai nyomás amplitúdó felül nem múl egy bizonyos értéket, amit kavitációs „küszöb”, vagy „határ” értéknek nevezünk. A beszámolókból ez a kavitációs küszöb érték nagyon változatos egy adott közeg esetében is, mivel nagyon különbözőek a kísérleti és a mérési feltételek. A stabil kavitációs buborékok erősen összenyomhatóak, és hatékonyak az akusztikai energia elnyelésében, abszorpciójában, eloszlásában, ami nagyobb mérvű, mint egy ugyanolyan méretű szilárd részecskén. E gáztest pulzálása,

mint másodlagos ultrahangforrás által, a közeg erősebb áramlásra gerjesztődik, mint e nélkül.

Crum (1980) és Flynn (1982) a közeg viszkozitásának szerepét bizonyították a kavitáció kialakulásával kapcsolatban. Azt állítják, hogy a kavitációs küszöb a vízben és a vízszerű anyagokban a rektifikált diffúzió sebességének a függvénye.

ter Haar (1988) szerint is határa van az akusztikai kavitációnak. A nagyszámú fizikai befolyásoló paraméter miatt azonban a víznél például 1MHz frekvencián $1\text{W}/\text{cm}^2$ – $2,7 \cdot 10^3\text{W}/\text{cm}^2$ közötti kavitációs határ tartományt mértek, eltérő körülmények között. Általánosan leírható, hogy a kavitációs aktivitás növekszik a növekvő intenzitással (növekvő akusztikai nyomás amplitúdóval), a kavitációs határ nő a növekvő frekvenciával, és a növekedő környezeti nyomással, a minta növekedő viszkozitásával, illetve a kavitációs határ csökken a minta növekvő gáztartalmával, illetve a növekvő hőmérsékletével.

Deng et al. (1996) a kavitációs küszöböt mérték emberi vérben in vitro módon. A frissen vett teljes vérben, a kavitációs küszöb akusztikai nyomás amplitúdója 6,3Mpa, az 50%-ban hígított vérben 4,1Mpa volt, illetve a hígítással tovább csökkent.

2.5.3. A KAVITÁCIÓ DETEKTÁLÁSA

Neppiras és Parrot (1965), és Neppiras (1969) kimutatták, hogy a stabil kavitáció által kibocsátott alharmónikusok, valamint a tranziens kavitáció által kibocsátott sziszegések, pattogások hidrofonos és mikrofonos felvételezése alkalmas a kavitációs aktivitás mérésére.

Lauterborn (1974), Lauterborn és Bolle (1975), valamint Gülham és Beylich (1987) nagysebességű filmfelvételt készített a stabil kavitációs buborékok oszcillációjáról és a tranziens kavitációs üregek összeomlásáról.

Blake (1948) hidrofonnal detektálta a kavitációs hangot, és azt figyelte meg, hogy a kavitációs hang megjelenése egybe esik a buborékok hangtérbeli megjelenésével.

Neppiras (1969) 18-46kHz frekvencia tartományban mérte a kavitáció zaját.

Veit (1977) és Kuttruff (1991) szerint a kavitáció akusztikailag zajként jelentkezik, ami mikrofonnal vagy hidrofonnal felvehető és elemezhető.

Esche (1952) megmérte, hogy a kavitációs buborékok által kibocsátott frekvencia 10^2 - $3,3 \cdot 10^6$ Hz közt van.

Rooney (1970) disznó eritrocitákat használt, hogy a hemoglobin felszabadulásának detektálásával következtessen a határréteg közeli, vagy mikroáramlások intenzitására az ultrahangtérben.

Miller és Williams (1989) szerint a hemolízis, hígított szuszpenzióban a kavitáció egyik indikátoraként alkalmazható. Logikai alapon kijelentik, hogy a sejtek károsításában résztvevő buborékok száma meghatározható, mivel a sejtszám ismert.

Apfel (1981) szerint a kavitáció detektálása történhet *vizuális megfigyelés* útján és *alharmonikusok detektálásával* ami a rektifikált diffúzió miatt kialakult stabil kavitációs buborékok megfigyelésére használható, illetve *audió módszerekkel* tranziens kavitáció zajának elemzésére, továbbá egyéb *fizikokémiai eljárásokkal*.

2.5.4. A KAVITÁCIÓS MAG ELMÉLETEK ÉS A KAVITÁCIÓS KÜSZÖB ELMÉLETI HÁTTERE

Fox és Herzfeld (1954) fejlesztette ki a különböző kavitációs magok elméletét és főleg a szerves bőrszerű molekularéteg által stabilizált kavitációs magokat modelleztek.

Sirotyuk (1970) módosította a szerves bőr hipotézist úgy, hogy a mikro-buborékokat apoláris és poláros részekből álló molekulák filmszerű rétegének stabilizációja óvja meg a gáz folyadékba történő diffúziója ellen.

Strasberg (1959) bevezette a hasadék modellt, amit Apfel (1970) fejlesztett tovább a hasadékok méretének bevezetésével, ezt pedig Crum (1979) fejlesztette tovább a felületi feszültség által meghatározott érintőszögek bevezetése alapján. Atchley (1984) a hasadék modellt korszerű formában újra fogalmazta, ami a kúpos hasadékokban lévő kavitációs magok mechanikai stabilitásának figyelembevételén alapult. Eredményei a valós mérési eredményekkel jó egyezést mutatnak.

Carstensen et al. (1993) szerint az ultrahangos kezelőedény fala közreműködik a kavitációs mag képzés folyamatában, amely hatással van a kavitációra, az pedig a sejtekre gyakorolt biológiai hatásokra.

Connolly és Fox (1954) a gáztenzió függvényében vizsgálták a kavitációs küszöb alakulását. Azt találták, hogy a gázzal telített folyadékban a rektifikált diffúzió miatt

sokáig megfigyelhetőek a stabil kavitációs buborékok a hangtérben és nincs tranziens kavitációra utaló éles hang sem. Gázzal telítetlen, vagy kevés oldott gázt tartalmazó folyadékokban ropogós, sziszegő, sístergő hangú, tranziens kavitáció van, az erőteljes buborék összeomlások miatt.

Crum (1979) szerint a kavitációs küszöb függ a felületi feszültségtől, amire egy empirikus modellt írt ami a gyakorlati mérési eredményekkel jól egyezik.

2.6. AZ ULTRAHANG SEJTBIOLOGIAI HATÁSAI

Thacker (1973) a haploid és diploid pékélesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) sejtek ultrahang besugárzással kapcsolatos túlélését vizsgálta. Tapasztalatai alapján nem szinkronizált populációk vizsgálatát javasolja, a sejtek eltérő kavitációs érzékenysége miatt. A vizsgálataiból kapott túlélési görbék nem egy, hanem több fázisúak voltak. Emiatt az eredményei eltérést mutattak a szokványos exponenciális túlélési görbétől, habár a kavitációs határon dolgozó kutatók a pusztulási dinamikát az egyszerűség kedvéért állandó exponenciális lefutásúra veszik.

Thacker (1974) egy évvel később négy genetikai rendszerhez tartozó élesztő sejteket vizsgált, az ultrahang mutagén hatásának tekintetében. Azt tapasztalta, hogy a mitokondriális DNS-ben legtöbbször mutáció történt a kavitáció hatására. A mutagén hatás gyakorisága pedig növekedett a hőmérséklet emelkedésével.

Hughes (1961) szintén élesztő sejteket tárt fel akusztikai kavitáció segítségével és arra a megállapításra jutott, hogy a kavitáció során keletkező szabadgyökök kismértékben hozzájárulnak, viszont a kavitáció mechanikai roncsoló hatásai dominálnak a sejtek feltáródásában.

Hrazdira et al. (1998) is azt állítják, hogy a sejtszuszpenziókban, ultrahang besugárzás miatt keletkező szabadgyökök és más szonokemikáliák a sejtek életképességének 2-3%-os csökkenését okozzák, a többi a mechanikai hatásoknak tudható be.

Kim et al. (1971) és Schnitzler (1973) kromatidák széttöredezéséről számoltak be, a stabil kavitáció következtében sejtszuszpenziókban. A töredezés a mitózisos osztódás anafázisban volt a legerőteljesebb. A centromérák erőteljes töredezésére hívták

fel a figyelmet. Azt állítják, hogy az oszcilláló stabil kavitációs buborékok okozzák a kromoszóma aberrációt az ultrahanggal kezelt sejteknél.

Hughes és Nyborg (1962) vizsgálták az *Escherichia coli* baktériumok ultrahang általi pusztulását, és azt tapasztalták, hogy stabil kavitáció esetében is megtörtént a sejtek pusztulása, így ez alapján ők is azt állítják, hogy a tranziens, összeomló típusú kavitáció nem elengedhetetlen a sejtek széttöredezéséhez.

Morton et al. (1982) szerint az ultrahangos besugárzás, a szuszpenziókban lévő sejtek líziséhez, széteséséhez, széttöredezését vezet. Szoros összefüggést mutattak ki a szuszpendált sejtek roncsolódása és az összegzett kibocsátott alharmonikus energia közt, amely a stabil kavitációs buborékok jelenlétének következménye. Azt is kimutatták, hogy amikor elkezdődött az alharmonikus kibocsátás, akkor kezdtek pusztulni a sejtek. A sejtek életerejének felbecsülésére vitális festést alkalmaztak trypon kékkel.

Kaufman et al. (1977) és Morton et al. (1982) bebizonyították, hogy a szuszpendált sejtek ultrahangos besugárzása a sejtek líziséhez, vagyis széteséséhez, feloldódásához, illetve a sejtek teljes széttöredezéséhez vezet, aminek fő kiváltója a kavitáció. A lízis közvetlen, azonnal jelentkező következménye az ultrahangszugárzásnak, nem egy később expresszálandó hatás.

ter Haar et al. (1980) és Li et al. (1977^a) szerint, az ultrahangnak alávetett sejtek esetében, amelyeknél hőmérsékletnövekedés következik be, és amely sejtek nem pusztulnak el a mechanikai sérüléseik miatt rögtön, szaporodóképesség vesztés léphet fel.

Chapman (1974) kimutatta, hogy az ultrahang képes szubletális változásokat indukálni a plazmamembránban, például a kálium anyagforgalom besugárzást követő azonnali csökkenésével.

Harvey et al. (1975) kimutatták, hogy amely sejt közelében tranziens kavitációs összeomlás történt, ott a sejtek roncsolódása következett be, melynek kapcsán az endoplazmatikus retikulum kitágult, a mitokondrium károsodott és más szabálytalan mechanizmusok is felléptek.

Dyson (1985) azt állítja, hogy a sejtmembrán K-Na ionokra permeabilitás változást szenved ultrahang besugárzásra és a mitokondrium membrán a legérzékenyebb.

Dinno et al. (1989) szerint az ultrahang besugárzás megváltoztatja a sejtmembrán permeabilitását, transzport aktivitását, így a sejt elektromos paraméterei módosulnak, a teljes ionvezetés növekszik.

Dinno et al. (1993) szerint az 1MHz frekvenciájú ultrahang besugárzás hatására, a membrán permeabilitás változás a kavitáció mechanikai hatásának eredménye, mivel a kavitációval képződő szabadgyököket, gyökfogó anyagokkal, mint például ciszteinnel megkötötték a kísérlet folyamán és a hatás így is érvényesült.

Watmough et al. (1977) bebizonyították, hogy az intracelluláris kavitációs mikrobuborékok a sejtmag, a mitokondrium és a granuláris endoplazmatikus retikulum membránjának kavitációs magjaiból fognak kinövekedni, és ez a jelenség, azok roncsolódásához vezet.

ter Haar et al. (1979) szerint a sejtmembránján ultrahangos besugárzás után elektronmikroszkóposan kimutatható apró, repedés-szerű elváltozások keletkeznek, ami az előző elméletet támasztja alá.

Rubleson et al. (1975) szerint a mikroorganizmusok ultrahangos szétroncsolása, a tej pasztörözésének tekintetében, a konvencionális, tradicionális sterilizálási és pasztörözési eljárások kiegészítéseként kerülhet szóba. A baktériumok kizárólag ultrahangos elpusztítása nehézkes, de az ultrahang fel tudja erősíteni a konvencionális hőkezelés hatását, ami így felgyorsul, mivel a baktérium plakkok, a besugárzás hatására diszpergálódhatnak.

Liebeskind et al. (1979) szerint az ultrahang hatása a sugárzást túlélő sejtekre lehet struktúra, funkcióváltozás, illetve az örökítőanyagra, a DNS-re gyakorolt hatások.

Miller et al. (1995) ultrahang sugárzás hatásaként DNS fonal töredezéséről, Macintosh és Davey (1970) kromoszóma széttöredezéséről, Barnett et al. (1988) kromatida aberrációról, Kaufman (1985) mutagén hatásról, Dooley et al. (1984) a sejtek makromolekula szintézisének megváltozásáról számoltak be.

Miller et al. (1996) szerint az ultrahang *in vitro* hatása három alapvető elemből tevődik össze, melyek a termikus, a kémiai és a mechanikai mechanizmusok.

Hughes és Nyborg (1962) szerint a víz szonolízisének kialakuló szabadgyökök ($H^+ + OH^-$) közül a hidroxid ionok DNS károsító hatásának oka a polimereket összekötő hidrogén hidak megtámadása.

Miller et al. (1991) és Riesz és Kondo (1992) szerint a tranziens kavitáció folyamán szabad gyökök, valamint egyéb szonokémiai termékek képződnek. A szonokémiai hidrogén-peroxid jól detektálható, *in vitro* ultrahang besugárzást követően, amit tranziens kavitáció hoz létre, és ez járul hozzá a sejtek DNS károsodásához.

Miller és Thomas (1994) kimutatták, hogy a hidrogén-peroxid és egyéb szonokemikáliák, megfelelő koncentrációban történő termelődése biokémiai változásokat eredményez az élő sejtekben, illetve ehhez adódik még hozzá a kavitáció által okozott direkt mechanikai sejtkárosító hatás is.

Prise et al. (1989) szerint a sejtpusztuláshoz szükséges hidrogén-peroxid koncentráció 1mM, amelynek hatása a DNS károsításán alapszik.

Miller és Thomas (1993) hidrogén-peroxid termelődését és hemolízis megindulását írták le ugyanazzal a küszöbvel, ahogy a tranziens kavitáció megindult. A kavitáció következtében a besugárzás 1. perceiben, közel 100%-os sejt lízis következett be, viszont a hidrogén-peroxid koncentráció a besugárzás 30. percében mindössze 10µM volt, ami az előzőek alapján szintén a mechanikai roncsoló hatás dominanciáját húzza alá.

Inoue et al. (1989) szerint amennyiben a sejtben egy gáz mag (kavitációs mag) található, az ultrahang hatására akusztikailag aktiválódva kitágul és szétrepesztheti a sejtet. Ekkor a buboréknak még össze sem kell omlania a sejtek károsításához. Ha viszont egy buborék a sejtben tranziens összeomláson megy keresztül, az mechanikailag és a képződött szonokemikáliák hatására biokémiaailag is károsíthatja a sejtet intracellulárisan.

Fu et al. (1980) vizsgálták a sejtek ultrahangkezelés hatására kialakuló telepépzési erélyváltozását, amellyel kapcsolatban megállapították, hogy ez a tulajdonság már 1W/cm² intenzitású ultrahang besugárzás hatására megváltozik.

Alliger (1975) kimutatta, hogy rövid időtartamú *in vitro* ultrahang besugárzás hatására a citoplazma membrán leválhat a sejtfalról. Mérései szerint eltérő mikroorganizmus fajok eltérő érzékenységgel rendelkeznek az ultrahangkezelésre, például a kokkusz fajok ellenállóbbak, mint a pálcika alakúak.

Ordonez et al. (1984) hőkezeléssel kombinálták az ultrahang besugárzást, és azt állapították meg, hogy a baktérium sejtek érzékenyebbek a hőkezelésre, ha ultrahangnak is ki vannak téve.

Hurst et al. (1995) javasolják a hőkezelés ultrahangkezeléssel való szimultán alkalmazás elnevezésének a termoultraszonikáció kifejezést. Megállapították, hogy a termoultraszonikáció eredményesebben alkalmazható a sejtek elpusztítására, mint a hő vagy az ultrahang kezelés önálló alkalmazása.

2.6.1. AZ ULTRAHANG SEJTBIOLOGIAI HATÁSAINAK FIZIKAI BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐI

Brayman et al. (1994) szerint a nagyobb átmérőjű sejtek kavitációra vonatkozó nagyobb érzékenysége annak eredménye, hogy a nagyobb sejtek nagyobb valószínűséggel találkoznak a kavitációs buborékokkal.

Blackshear és Blackshear (1987) a hemolízissel kapcsolatosan kimutatták, hogy a sejt méret csökkenésével, sokkal nagyobb nyíróerő volt szükséges a sejtmembrán szétszakításához, mely tény is szerepet játszik az egyes sejt típusok közötti eltérő ultrahang érzékenységben.

Veress és Vincze (1977), Loverock és ter Haar (1991) kimutatták a sejt koncentráció fontosságát az *in vitro* szonolízisre. A szonolízis, amely könnyen és egyértelműen detektálható az alacsony sejt koncentrációknál, gyakran nehézkesen zajlik a magasabb sejt koncentrációk mellett.

Ellwart et al. (1988) növekedő vörös vértest számmal relatíve csökkenő mértékű sejt hemolízist figyeltek meg.

Nyborg et al. (1974) elméletileg és gyakorlatilag is bebizonyították, hogy a kavitációs buborékok hidrodinamikai okokból vonzzák, rozettaszerűen összegyűjtik a szuszpendált sejteket.

Brayman és Miller (1993) azt tapasztalták, hogy a buborékaktivitás elfojtódott a buborékok körüli sejt csoportosulás, vagyis rozettaképződés miatt, így megszűnt a kavitáció. Ezen túl a sejtek élettevékenységük, respirációjuk során felhasználják a potenciális kavitációs magnak minősülő oldott oxigént, így növekedik a kavitációs küszöb. A respiráció gátlásával az ultrahang kavitációs aktivitása nem csökkent.

Carstensen et al. (1993) azt tapasztalták, hogy a sejtroncsolás mértéke erőteljesen csökkent a közeg viszkozitásának növekedésével. A viszkozitás hatással van a kavitáció nyíróerejére, buborékvándorlási aktivitásra és a tranziens kavitáció dinamikájára is. Szarvasmarha eritrociták hemolízise fordított arányban függött össze a sejt koncentrációval. Amíg 0,5% koncentrációnál erős hemolízis mutatkozott, addig 5% koncentrációnál egyáltalán nem volt szonolízis.

Kondo et al. (1988) kimutatták, hogy a közegben oldott gázok típusa és mennyisége befolyásolja a kavitáció sejt károsító hatásának mértékét.

Li et al. (1977^b) és Raso et al. (1994) szerint a besugárzási hőmérséklet befolyásolja a sejtek ultrahang érzékenységét. A termoultraszonikáció szignifikánsan kisebb „D” értékeket ad, mint az önálló hő-, vagy ultrahangkezelés.

Petin et al. (1999) az ultrahangnak hipertermiával kombinált hatását tanulmányozták *Saccharomyces cerevisiae* diploid sejtjeinek inaktiválásával kapcsolatban, amelyre matematikai modellt is alkottak. Meghatározták azt a hőmérsékleti tartományt, ahol az élesztőre a két kezelés szinergista sejtroncsoló hatása érvényesül.

Lillard (1993) kimutatta, hogy az ultrahang sejtroncsolási hatékonysága nő a klorid vegyületekkel való szimultán sugárzásalkalmazással.

Lee et al. (1989) azt tapasztalták, hogy azonos mikroorganizmusok ultrahang rezisztenciája különböző élelmiszerekben eltérő. Az élelmiszerek magas zsírtartalma csökkenti az ultrahang citolitikus hatását. A közeg lényeges fizikai paraméterei az ultrahang abszorpció, reflexió, diszperzió képesség.

Ahmed és Russel (1975) azt tapasztalták, hogy a Gram (+) sejtek ellenállóbbak az ultrahangra, mint a Gram (-) sejtek. Azért lehet ez így, mert a Gram (+) sejtek sejtfa vastagabb, mint a Gram (-) sejté, mivel vastag peptidoglikán réteget tartalmaz.

Feindt (1951) megfigyelései szerint a fiatalabb sejtek érzékenyebbek az ultrahang hatására, mint az idősebbek, ami a protoplazma korfüggő minőség különbségéből adódik.

Sanz et al. (1985) kimutatták, hogy a spóraformák sokkal rezisztensebbek az ultrahangkezelésre, mint a vegetatív baktériumok.

Petin et al. (1980) tapasztalatai szerint, szimultán ultrahang - ionizáló sugárzás kezelése szinergista hatása érvényesül a stacioner fázisú *Saccharomyces cerevisiae* élesztőre.

Ciccolini et al. (1997) alacsony frekvenciájú termoultraszonikáció hatását tanulmányozták *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgombára, és megállapították, hogy magasabb hőmérsékleten csökken a sejtek ultrahang rezisztenciája.

2.7. AZ ÁLLÓHULLÁM ÉS BIOLÓGIAI HATÁSAI

Church et al. (1982) és ter Haar (1988) megfogalmazták, hogy akusztikai állóhullámtérben a folyadéknál kisebb sűrűségű anyag, így a biológiailag aktív buborékok a sebességi vagy más néven kimozdulási csomósíkokba, míg a nagyobb sűrűségű anyag, vagyis a sejtek a nyomási csomósíkokba vándorolnak és ott csapdázódnak.

Bondy és Söllner (1935) és Tarnóczy (1963) korai munkájukban, az állóhullámú interferenciaterében összezsapódott anyagokra megállapították, hogy ha a diszpergált fázis fajsúlya kisebb a diszpergáló fáziséénál, akkor az a kimozdulási csomósíkba koagulál, és a felhajtóerő egy bizonyos értéke felett a felszínre vándorol, illetve fordított esetben az aljzatra szedimentálódik.

Church és Miller (1983) szerint, mivel az állóhullám eredményeként a sejtek és a buborékok egymástól elkülönülten rétegződnek a térben, ezért köztük nincs interakció. Az ultrahangos sugárzófejjel szemben elhelyezett adszorber, mint a nagy sűrűségű szuszpenzió kizárja az állóhullám kialakulási lehetőségét. Az ultrahang sugárzófejjel szembeni levegőréteg közel tökéletes reflexiója miatt viszont majdnem tökéletesen mozdulatlan állóhullámbeli sejt és buborék sávok alakulhatnak ki.

Handl et al. (1998) gyakorlati szinten bebizonyították, hogy az ultrahangos szeparációnál a szuszpendált szemcséken akusztikai erő ébred, amely erő az elsődleges, másodlagos akusztikai erőből és a Bernoulli erőből áll és alkalmas a szemcsék diszpergáló közegből történő kiválasztására.

Bleaney et al. (1972) és Maeda és Murao (1977) kimutatták, hogy ha az állóhullámtérben a mintatartó forgatásával mozgatták a sejtsuszpenziót, akkor a gyengébben csapdázott sejtek a buborékok irányába az akusztikai erőterében elmozdulhattak, így buborék – sejt interakció és nagymértékű sejtroncsoló hatás történhetett.

Radel et al. (1999^a) péklesztő sejteket állóhullámok által térbeli rendszerbe hozták gélbe zárás céljára. Felhasználói szinten bizonyították, hogy alacsony intenzitású ultrahang állóhullámtérben sajátosságosan rendszerezhetjük a sejteket.

Gröschl et al. (1999) szerint a kis méretű szuszpendált részecskék manipulálására, irányítására alkalmas rezonátorok legkevesebb négy összetevőből kell, hogy álljanak. Ezek a piezoelektromos sugárzófej, a hordozó edény (üvegedény), a folyadék, mint hangtér (szuszpenzió) és az akusztikai reflektor.

Radel et al. (1999^b) vizsgálták a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba vitalitását, a kezelési idő függvényében álló és haladó hullámtérben 2MHz frekvencián. A sejtek nagyarányú életképesség változása akkor következett be, ha a sejtek kimozdultak a nyomási csomósíkokból, vagy ha haladó hullámtérbe kerültek. Az állóhullámtérben nem történt jelentős életképesség változás.

Brayman és Miller (1992) is azt tapasztalták, hogy az állóhullámtérben kismértékű, de szignifikáns sejtpusztulás történik.

Walsh et al. (1999) a sörélesztő ultrahangos immobilizációjánál azt tapasztalták, hogy az élő sejtszám csökkenés, valamint a sejt osztódási képességének a csökkenése (elvesztése) a fő hatásai a terjedő (haladó) ultrahang hullámoknak az élesztő sejtek fiziológiájára. Az állóhullámú térben nem voltak nagymértékű károsító hatások. Az eredményeik metilénkék vitális festésen és inkubációs kitenyésztés utáni telepszámláláson alapultak.

Benes et al. (1998) beszámoltak arról, hogy az európai unióban TMR hálózat keretében, több kutatóintézet és egyetem összefogásával EuroUltraSonoSep néven közös programot hívtak életre. A program általános célja a biotechnológiai diszperzió disszociáció ultrahangos megoldása, amelyben különböző minőségi típusú, például élő és holt, illetve eltérő fajú sejtek szétválasztásának megoldása is cél.

Doida et al. (1992) azt tapasztalták, hogy instabil állóhullámbeli sejtsávok esetében, vagy ahol a haladó hullám dominált, ott erősebb sejtpusztulás volt tapasztalható, míg erős állóhullámbeli sejtsávok esetében pedig elenyésző volt a sejtek pusztulása.

Carstensen et al. (1993) szerint, egy adott ultrahang intenzitásszint felett, a sugárzási erők visszahatnak a buborékokra, ami miatt azok gyorsan kilökődnek a közegből, így csökken a sejtekkel való találkozásukra rendelkezésre álló idő.

2.8. AKUSZTIKAI ÁRAMLÁS

Eckart (1948) írta le először a *kvarcszelet*, ultrahangtérbeli globális akusztikai áramlásként, a sugárzótól a közeg felé. Oka a folyadék nemlineáris viselkedése, vagyis az, hogy a folyadék jobban tágul, mint amennyire összenyomható. Az akusztikai áramlásban a folyadékban lévő szuszpendált részecskék a folyadékkal együtt mozognak, miközben egymáshoz súrlódnak.

Saad és Williams (1985) kimutatták, hogy ultrahang által kiváltott kavitáció miatt, folyadékban intenzív akusztikai áramlások, turbulenciák alakulnak ki.

Wathmough et al. (1990) szerint, akusztikai áramlás miatt belső keveredés történik az ultrahangtérben, amely az ultrahangszög irányultságától függ.

Mitome (1998) az akusztikai áramlás kialakulásával foglalkozott. Az akusztikai áramlás egy állandó folyadékmozgás, amit az intenzív ultrahang okoz. Az akusztikai sugárzási nyomás miatt alakul ki, mivel a térben nem egységes az energia disszipáció. Az áramlást két nemlineáris jelenség alakítja ki, az egyik a folyadék dinamikájának nemlineáris viselkedése, ami a tehetetlenségi erő dominanciáját jelenti a viszkozitási erővel szemben, a másik a nemlineáris akusztikai hatás, ami az akusztikai áramlás hajtóerejének alapja.

2.8.1. AKUSZTIKAI ENERGIA HANGTÉRBELI ELVÁLTOZÁSAI

Fry (1978) kifejtette, hogy az ultrahangtérben, a kavitációs buborékok, kis sűrűségük és erőteljes összenyomhatóságuk miatt hatékonyak az akusztikai energia eloszlásában. A hangszóródás akkor jön létre, ha a hang áthalad egy olyan közegen, amely tartalmaz olyan testet, melynek az akusztikai tulajdonságai eltérnek a közegétől, és amely rendszer ezért inhomogén, anizotrop. Az abszorpció és a hangszórás mértéke a gázbuborék esetében nagyobb mérvű, mint ugyanilyen méretű folyékony, vagy szilárd részecske esetében. Buborékok jelenlétében a közeg intenzív akusztikai áramlásba jön.

Hill et al. (1978) rámutattak, hogy az ultrahangnak két fő veszteségforrása van a közegben. Az egyik az abszorpciós folyamat, melyben az akusztikai energia hővé, vagy más típusú energiává alakul, amely a kölcsönhatás helyén mutatkozik meg. A másik a szóródási folyamat, amiben a hangenergia újból kisugárzódik a kölcsönhatás helyszínéről, némileg megváltozva ott, a beeső hanghullámhoz képest. Ez a szórt hullám beesőhöz képest amplitúdóbeli, irányítottságbeli, fázisbeli, sebességbeli, illetve frekvenciában történő megváltozását jelenti.

Rayleigh (1892) szerint az összetett szórás a legegyszerűbb modell inhomogén közegekre, amely egymástól különálló térbeli elrendezésű, azonos fizikai tulajdonságú szóró centrumok hangfizikai hatását kezeli homogén mátrixban.

Foldy (1945) az összetett szórásra modellt fejlesztett a Boltzmann integrál egyenlet mintájára, ami a transzport folyamatok számításba vételén alapszik.

Rudenko és Soluyan (1977) a nemlineáris ultrahanghatásokkal foglalkoztak, a hangterjedés függvényében. A hullám terjedésének elméleti analízisét Airy (1845) fejlesztette ki, amit Fay (1931) magasabb amplitúdójú ultrahangra is leírt.

Rooney (1988) leírta, hogy az ultrahang fizikai kémiai és biológiai hatásainak elméleti megértéséhez a kifejezéseket a kimozdulási amplitúdóra nem lineáris, hanem magasabb fokú egyenletekkel kell felírni. A legfontosabb nemlineáris akusztikai jelenségek, az akusztikai áramlás, a sugárzási erő és a buborék nemlineáris dinamikája.

Muir és Carstensen (1980) bebizonyították, hogy a nemlineáris ultrahangterjedés befolyásolja a biológiai anyagok abszorpcióját a hullám tulajdonságainak változása miatt.

Carstensen et al. (1981) a nemlineáris hatást, az effektív abszorpciós koefficiens tükrében vizsgálták, abban a tekintetben, hogy hol van az egyes biológiai anyagok károsodásának küszöb értéke.

Langenberg (1985) kimondta, hogy ha a beeső hullám longitudinális, akkor az objektumon hullámátalakulás történik, a szórt hullám irányeloszlása pedig az objektum geometriájától és a frekvenciától függ.

Kuttruff (1991) leírta, hogy ha a hang terjedési irányába eső akadály a hullámhosszhoz képest kicsi, akkor a hang erőteljesen eltérítődik a kis objektum által. Ez a hangelhajlás, vagy hangszóródás. A szóródásnál a tér hangnyomása a másodlagos szórt hullám hangnyomásából és az eredeti hullám maradvány hangnyomásának az összegéből áll. Az abszorpció miatt az ultrahang intenzitása a távolsággal exponenciálisan csökken, $P_x = P_0 \cdot e^{-\alpha x}$ összefüggés szerint, ahol α , az abszorpciós koefficiens (dB/m), P_0 a kiinduló intenzitás (dB), x a megtett út (m). Az abszorpció mindig jellemez egy adott közeget, környezetet, struktúrát, ami meghatározza a terjedés paramétereit. Az α nagysága függ a hullám típusától, a hangtér anyagi minőségétől, a frekvenciától. Az abszorpciós koefficiens folyadékok esetén a viszkózus (α_v) és a hő (α_h) abszorpcióból tevődik össze ($\alpha = \alpha_v + \alpha_h$ (dB/m)).

2.8.2. AKUSZTIKAI ENERGIA ELVÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA BIOLÓGIAI ANYAGOKBAN

Dunn et al. (1969) különböző aminosav koncentrációk mellett mérték a hang sebességét a hangtérben és ebből számították ki az abszorpciós koefficienst.

Carstensen és Schwann (1959) oxo-, és methemoglobin, Kessler és Dunn (1969) pedig szérum albumin 0–15g/100ml tartományban, Lang és Cerf (1969) 0,3-0,6g/100ml koncentrációjú DNS oldatban mérték az abszorpciós koefficienst, a hőmérséklet,

koncentráció, pH, függvényében. Azt állapították meg, hogy az abszorpció minden esetben egyenesen arányban állt a koncentrációjával.

Hawley et al. (1965) szerint érdekes hogy a poliszacharid oldatok abszorpciós koefficiense 2,2-11,4g/100ml-es koncentrációtartományban a hemoglobinhoz nagyon hasonló.

Allegra és Hawley (1972) vizsgálta a hang csillapításának mértékét emulziókban és szuszpenziókban, elméleti és gyakorlati módszerekkel. A csillapítás okaként a viszkozus és a hő transzport folyamatokat jelölték meg, amelyek a mátrix inhomogenitásain jönnek létre, illetve az anyag belső abszorpciójából származnak. Az Epstein-Carhart megközelítést az emulziókon kívül a szuszpenziókra is kiterjesztették.

Hibberd et al. (1999) a kolloid diszperziók ultrahangos jellemzését végezték poliszitirén modellanyaggal, és vizsgálták az állóhullám hatására kialakult adszorber rétegek jelenlétének és a flokkulációnak a hatását. Allegra és Hawley féle ultrahang szóródás számítást használtak minden kolloid diszperzió jellemzésének elméleteként. Ultrahang spektroszkópiát végeztek folyamatos frekvencia spektrométerrel a hang sebességének és a csillapítás mérésére. Eredményeik szerint a csillapítás nőtt az adszorber rétegek hangtérbeli megjelenésével a modellhez képest, mivel a modell homogén szemcse eloszlást feltételez.

Wedlock et al. (1993) automatikus ultrahang sebesség szkennelésről számolnak be koncentrált diszperziókban. A mérésekkel megállapították, hogy az ultrahang sebesség profilja a szuszpenziók térbeli koncentráció profiljának függvénye.

Sayan és Ulrich (2002) vizsgálták a szuszpendált szemcsék méretének és a szuszpenzió koncentrációjának hatását vizes oldatban az ultrahang szuszpenzióbeli sebességére. Az anyagban a hang sebessége erőteljesen, egyenes arányban függött a szemcse mérettől és a koncentrációtól. A vizsgálatokat sók, NaCl₂, KNO₃, K₂SO₄, és MgSO₄*7H₂O 250-500µm-es szemcsenagyságú szuszpenzióiban, 0-60m/m% koncentráció tartományban végezték.

Babick et al. (2000) az ultrahang csillapításának anyagtulajdonságoktól való függését vizsgálták, az ultrahang spektroszkópia segítségével, amivel emulziókat, és szuszpenziókat jellemezték, a részecskék méretének és koncentrációjának széles tartományában, on-line módon. Megállapításaik szerint a hullámhossznál kisebb szemcséknél, a disszipációs eloszlási folyamatok kerülnek előtérbe.

Ahuja és Hendee (1978) szuszpenziókban, a részecskék alakjának és egyéb tulajdonságainak a hatását vizsgálták a hang terjedésére. Megállapították, hogy a részecskék alakja erősen, a szuszpendáló szerhez viszonyított sűrűségük pedig szignifikánsan befolyásolja a hang szuszpenziókban bekövetkező szóródását.

2.9. AZ AKTÍV ULTRAHANG BIOLÓGIAI FELHASZNÁLÁSI LEHETŐSÉGEI

Riera-Franco de Sarabia et al. (2000) nagyenergiájú ultrahangot alkalmaztak a szilárd részecskék folyadékokból történő eltávolítására. Az ultrahang ipari alkalmazhatóságának legújabb zászlóshajójaként ezt az alkalmazási módot tekintik a konvencionális szeparáció erősítésére a leghatékonyabb megoldásnak.

Tolt és Feké (1993) diszperz fázist választottak el folyadéktól akusztikailag besugárzott kamrában. A szeparáció egy csőben zajlott 0,35-1,41 MHz frekvencia tartományban és 25 W teljesítmény mellett, a cső egyik alumínium végéhez ólom cirkonát piezokerámia csatlakozott, hasonlóan az általunk tervezett berendezéshez. Ez az akusztikai erőteret kihasználó módszer, a finom másodlagos fázist a kamrán átfolyó fázisból folyamatosan el tudta választani. Az akusztikai sugárzási erő a másodlagos fázist az állóhullám nyomási csomósíkjaiba terelte és az áramló szuszpendáló szerhez képest, megtartotta ott azt.

Hua és Thompson (2000) *Escherichia coli* baktériumok inaktiválását végezték ultrahang besugárzás által, amellyel kapcsolatban az oldott gáztartalom és a frekvencia befolyásoló hatását vizsgálták. Ar, O₂, valamint Ar + O₂ gáz esetén az oldott gáz minőségének nem volt jelentős befolyásoló hatása a pusztulásra, illetve a 4,6-74 W/cm² közötti intenzitás tartományban nem volt jelentős különbség a pusztulás mértéke közt. Azonban alacsonyabb frekvenciákon nagyobb ütemű pusztulást tapasztaltak, mint ellenkezőleg.

Raso et al. (1998) a hőmérséklet és a nyomás hatását vizsgálták az ultrahang letalítására *Yersinia enterocolitica* baktériumnál. Azt találták, hogy az ultrahang egyértelműen befolyásolja a baktérium hőrezisztenciáját, valamint a kombinált hőnyomás-ultrahang kezelés esetében az ultrahang amplitúdójának növelésére, a tizedelési időintervallum 4 percről 0,37 percre csökkent.

Mandralis és Feké (1993), Gupta et al. (1995) és Johnson és Feké (1995) szuszpenziókból, szilárd részecske keveréket, választottak szét egymástól folyamatos

frakcionálással, a szemcsék kompresszibilitása alapján ultrahangos állóhullámú térben. A szétválasztás szeparátor csatornában zajlott, ahol az állóhullámú akusztikai tér és a lamináris anyagáramlás egymásra merőlegesek voltak. A módszer eredményeként a szemcsék röppályájuk alapján szelektíven szétváltak.

Gröschl (1998) szintén szuszpenzióból választott le részecskéket, az előző vizsgálathoz képest a különbséggel, hogy kettős kamrás leválasztást alkalmazott, ahol a sugárzóoldali kamrában hűtés valósult meg, amely eredményeként a biológiai anyagok hosszabb kezelésre sem károsodtak, a kerámián ébredő hó által.

Kozuka et al. (1998) ultrahangos állóhullámter irányítását végezték a szuszpendált részecskék kétdimenziós manipulálásáért a kontaktusmentesség biztosítása céljából. A szemcsék agglomerációját, csapdázódását követték nyomon, a nyomási csomósíkokban, fél hullámhossz távolságokban. Ez a részecskemanipulációs technika, illetve maga a részecskemanipuláció ultrahangos lehetősége, jó alapja munkánknak.

Coakley (1997) analitikai biotechnológiában alkalmazott ultrahangos szeparációt, melynek lényege, hogy a sejtek kavitáció nélküli állóhullám térben egymástól milliméternél kisebb távolságokban, sávokban koncentráálódtak mely eredményeként innen történt a leválasztásuk.

Hawkes et al. (1998^a) *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba manipulációját és szeparációját végezték milliméter hullámhossz tartományú ultrahangos állóhullámterben, ezzel bizonyítva az ultrahangos állóhullám biotechnológiában való alkalmazhatóságát.

Coakley et al. (2000) analitikus méretű ultrahangos állóhullámteret alkalmaztak mikrorészecskék manipulálására. Eukarióta sejteket manipuláltak áramló és álló közegű rendszerben 5ml–50l-ig, sík és csöves sugárzó elemmel, 1-12MHz frekvencián, ezzel kapcsolatban vizsgálták a koncentráció hatását a sejtek közötti kölcsönhatásokra.

Hawkes et al. (1998^b) állóhullámú ultrahangterben manipuláltak *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba sejteket 1 és 3MHz frekvencián, 1 és 1,8 g mikrogravitációs térben. A részecskék (sejtek) egymástól fél hullámhossz távolságokban sávokat képeztek a nyomási csomósíkokban, illetve a sugárzási irányban a sávok csőszerű képletet alkottak. 1 g-nél nagyon stabilak maradtak az élesztő sávok, de 1,8 g-re történő átálláskor a sávok egy része feltört.

Gould et al. (1992) vizsgálták az ultrahangos állóhullámú térben, 9µm átlagos átmérőjű szemcsék koncentrálásának felső hangnyomás határát, 1,02-3,14MHz

frekvenciákon, vizes szuszpenziókban. A sávós oszlopok stabilitását, és a kavitáció megjelenését monitorozták, az általános kavitációs hang megjelenésének vizsgálatával, mely módszerek alapját, az akusztikai jelenségek detektálásához mi is felhasználtuk. Alacsony akusztikai nyomás amplitúdóknál a szemcsék természetesen fél hullámhossz távolságokban az akusztikai nyomási csomósíkokban, sávosan koncentráálódtak, a sávok által a sugárzás irányában oszlopot kialakítva. A tiszta vízben 1,02MHz frekvencián 1100kPa volt a kavitációs határ, a szuszpendált szemcsék 1900kPa-nál stabilizálódtak sávokban a kavitáció nélküli állóhullám térben, azonban 3,14Mhz frekvencián nem indult be kavitáció, csak az erőteljes akusztikai áramlás.

Hawkes et al. (1997) ultrahangos állóhullám segítségével *Escherichia coli* baktérium és *Saccharomyces cerevisiae* élesztő szuszpenzióból történő sejtleválást hatékonyságát vizsgálták, 1 és 3MHz frekvencián. Az élesztőt $7 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ sejtkoncentráció mellett $5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ térfogatárammal 98% hatékonysággal, míg a baktérium esetében 10^{10} ml^{-1} sejtkoncentráció esetén 80% hatékonysággal, még alacsonyabb sejtkoncentráció mellett még kisebb hatékonysággal lehetett leválasztani a szuszpenzióból. Azonban mindkét mikroorganizmust tartalmazó szuszpenzió esetében a baktériumot 10^3 ml^{-1} sejtkoncentráció esetén is 80% hatékonysággal lehetett szeparálni.

Limaye és Coakley (1998) 2,5ml szuszpenzióból 1MHz frekvencián szeparálta a fenti mikroorganizmusokat. A sugárzóval szembeni reflektor miatt oszlopszerűen koncentrálódtak sejtsávok szedimentáció miatt a rezonátor aljba kiüledtek. A $3 \cdot 10^9 \text{ db/ml}$ kiinduló sejtszámú élesztő 99,5% mértékben 4,5 perc alatt, az $1,3 \cdot 10^{11} \text{ db/ml}$ kiinduló sejtszámú baktérium pedig szintén ilyen mértékben 11,5 perc alatt üledett ki.

Whithworth és Coakley (1992) korábban részecskeoszlop képződését tanulmányozták ultrahang állóhullámtérben. A szuszpendált részecskék sávjai a sugárzási tengely mentén oszlopot képeztek, az egyes sávokban pedig a részecskék a fal felé mozogtak, miközben üledtek. A mozgás sebessége függvénye volt a részecskék közeghez képesti kompresszibilitásának.

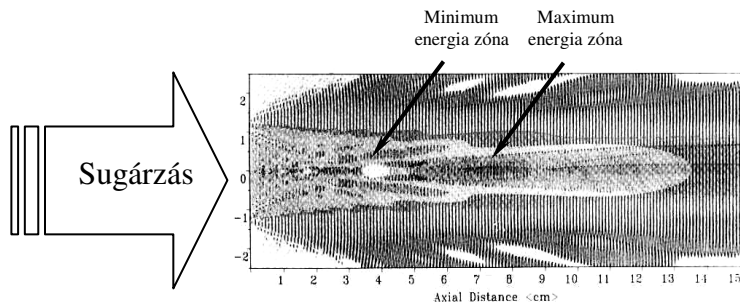
Miller et al. (1999) az ultrahang besugárzás hatását, *in vitro* és *in vivo* módon, plazmid segítségével történő génátvitel expressziós hatékonyságán keresztül vizsgálták. Megállapításaik szerint, ami luciferáz indikátor gén bevitelén alapult, kijelentették, hogy az ultrahang által támogatott génátvitel megnöveli a gének kifejeződésének hatékonyságát, mind *in vitro* mind *in vivo* módon, a hagyományos eljárásokhoz képest.

Tiehm et al. (2001) ultrahangos iszapstabilizálás mértékének vizsgálatával foglalkoztak, az intenzitás, frekvencia és a kezelési idő függvényében. Alacsony frekvencián, ahol nagyobb kavitációs buborékok alakulnak ki, jobb iszapelosztatás, és könnyebb mikroorganizmus inaktiválás volt jellemző. Rövid besugárzásra pelyhesedés, hosszabbra a mikroorganizmusok pusztulása jött létre.

Mikio et al. (1994) az ultrahang hatását vizsgálták fermentált tej előállítására *Lactobacillus delbrückii* segítségével. A besugárzás hatására csökkent a vitális sejtszám és nőtt a laktóz felszabadulás, de később a sejtek szaporodása és termelésük meghaladta a kontroll fermentációját.

Tarleton (1992) ökonómiailag is vizsgálta az ultrahang segítségével történő szilárd-folyadék szétválasztást, és azt állapította meg, hogy egységnyi termékre ezzel a módszerrel volt a legkevesebb az energia felhasználás.

Watmough et al. (1990) felvették az akusztikai állóhullám, illetve az ultrahangtér energia eloszlását 1MHz frekvencián (3. ábra). Az ábrán megfigyelhetőek a nyomási és sebességi csomósíkok, illetve az állóhullámtér eltérő energiájú zónái is.



3. Ábra: Állóhullámtér energia eloszlása

Smedsgaard (1997) HPLC vizsgálat előtti minta előkészítés céljából alkalmazta az ultrahangot, különböző gombák anyagcseretermékeinek extrahálására.

Villamiel és Jong (2000) vizsgálták *Pseudomonas fluorescens* és *Streptococcus thermophilus*, illetve összes jelenlévő baktérium tejben történő inaktiválásának lehetőségét áramló közegű (folyadékáramoltatásos) ultrahangrendszerben, az eredményeket konvencionális hőkezelés eredményeivel vetették össze. A Gram (-) *Pseudomonas fluorescens*, alacsonyabb rezisztenciával rendelkezik, mint a Gram (+) *Streptococcus thermophilus*. Így e munka kapcsolódik Ahmed és Russel (1975)

megállapításához is. Az ultrahangos folyamatos tejbesugárzás akár önállóan, akár a konvencionális hőkezelési technológiákkal kombinálva sokat ígérő megoldások, mivel szimultán a tej homogenizálása is megtörténik, alacsonyabb összes energiaráfordítással.

McClements (1995) ultrahangot alkalmazott az élelmiszerek analízisére és módosítására. Az alacsony intenzitású, nem destruktív ultrahang információt nyújt az anyag fizikai és kémiai tulajdonságairól, így összetételéről, struktúrájáról, állapotáról. A magas intenzitású ultrahang alkalmas az élelmiszerek fizikai, kémiai állapotának a megváltoztatására, például emulzióképzésre, sejt roncsolásra, kémiai reakciók elősegítésére, enzimek gátlására, húspuhításra, kristályosításra.

Povey és McClements (1988) szerint az ultrahang felhasználható az élelmiszerek analízisére, a hangsebesség, csillapítás meghatározása által, ami betekintést nyújthat az élelmiszerek kvantitatív és kvalitatív tulajdonságaiba.

Earnshaw et al. (1995) megmérték *Listeria monocytogenes* és *Zygosaccharomyces bailii* „D” értékeit hő, ultrahang és kombinált termoultraszonikáló kezelések esetén többféle élelmiszerben. A baktérium D érték UHT tejben 60°C-os hőkezelésre 2,1 perc és 20°C-on 20kHz-en 0,4, 38kHz-en 0,3 és 800kHz-en több mint 10 perc volt. Termoultraszonikáció D értéke 20kHz-en 0,3, 38kHz-en 1,3 és 800kHz-en 1,4 perc volt. Az élesztőgomba tizedelődési időintervalluma 55°C-on narancslében 10,5, rizspudingban 11perc volt. Narancslében 20°C-on 20kHz-en 2,4, 38kHz-en 0,9, 800kHz-en 1,4 perc D érték adódtak. Rizspudingban ugyanerre 20kHz-en 2,3, 38kHz-en 0,5 percet kapott. Termoultraszonikációra 55°C-on narancslében 20kHz-en 3,9, 38kHz-en 1,8, 800kHz-en több mint 10 perc, viszont rizspudingban 20kHz-en 1 és 800kHz-en több mint 10 perc volt a D érték.

Dolganowa et al. (1994) szerint a magas frekvenciájú alacsony intenzitású ultrahangnak mikroorganizmus szaporodáskereső hatása van. *Chlorella vulgaris* populáció intenzívebb növekedésnek indult ultrahang sugárzás hatására. A szaporodáskereső hatást a sejtmembrán potenciálváltozása okozta, ami a membrán megnövekedett permeabilitásának az eredménye. Azt javasolják, hogy a szonikációt a biotechnológiai folyamatokban, mint *Chlorella* szám hatványozó eszközt érdemes használni.

Neis és Tiehms (1999) és Tiehms (1999) eleven iszapot sugárzott be ultrahanggal, amely során a mikroorganizmusok nem károsodtak a folyamatos ultrahang besugárzás

során, 1MHz feletti frekvenciákon, ezért batch fermentációban is tanulmányozhatták az ultrahang stimulációs hatását. A besugárzott eleveniszapban lévő mikroorganizmusok életerejét az oxigén felhasználás alapján vizsgálták a biodegradáció alatt, egyszerűen lebontható szubsztrátok esetén. A magasabb 1MHz feletti frekvenciákon alacsony $2\text{W}/\text{cm}^2$ intenzitásszint mellett, a 25cm^2 alapterületű 250ml mennyiségű kezelt mintában fokozódott a mikroorganizmusok élettevékenysége. Az eleveniszapos szennyvízkezelésnél az oxigénfelhasználás-növekmény a magasabb, 3,2MHz körüli frekvenciatartományokban volt a legerőteljesebb, az alacsonyabb frekvenciákkal szemben.

2.10. ALKALMAZOTT MIKROBIOLÓGIA

Deák (1997) szerint a környezeti tényezőkön keresztül ható beavatkozások, melyek a mikroorganizmusok pusztulását okozzák, a vizsgálatok többségének eredményei szerint exponenciális lefutásúak. Továbbá kinetikailag a sejtpopulációk pusztulásának időbeli lefutása az egysejtű mikroorganizmusok szaporodásához hasonlóan, az elsőrendű kémiai reakciók analógiájára a [4]. egyenlet alapján írható le:

$$dN / dt = -k * N. \quad [4].$$

Az egyenletben az (N) a túlélő sejtszám, melynek változása (t) idő alatt arányos a mindenkori sejtszámmal, és ahol a (k) arányossági tényező a pusztulási sebességi együttható, vagyis a fajlagos pusztulási sebesség. A fenti differenciál egyenletet (N_0) (kezdeti sejtszám t_0 időpillanatban) és (N_t) (túlélő sejtszám t időpillanatban) határok közt integrálva, a mikrobapopulációk pusztulásának alapegyenletét [5]. kapjuk:

$$N_t = N_0 * e^{-k(t-t_0)} \quad [5],$$

amely alakilag azonos az exponenciális szaporodás egyenletével, csak az együttható negatív előjelű. Az egyenletet logaritmálva, a túlélési görbe egyenletét [6]. kapjuk:

$$\lg N_t = \lg N_0 - (k/2,303) * (t-t_0) \quad [6],$$

a görbe meredeksége a pusztulási sebességi együtthatóval arányos, melyet a [6]. egyenletből kifejezve [7]. egyenletet kapjuk:

$$k = ((2,303 / (t-t_0)) * \lg (N_0 / N_t)) \quad [7].$$

A kezdeti (t_0) és a (t) időben mért végső sejtszámból a (k) értéke meghatározható. Ha a túlélési görbe egyenletében szereplő $t-t_0$ időt úgy definiáljuk, mint azt az időtartamot, mely alatt a túlélő sejtszám a tizedére csökken, akkor a tizedelési idő (D) fogalmához jutunk. Ha $t-t_0 = D$ és $N_t = 0,1 * N_0$, akkor [8]. egyenlet szerint:

$$k = 2,303 / D, \text{ és } D = 2,303 / k \quad [8].$$

A tizedelési idő a mikrobapopuláció ellenállásának (rezisztenciájának) percekben kifejezett mértéke. Adott behatás mellett, minden (D) időtartam alatt a sejtek 10%-a marad életben, 90%-a elpusztul, tehát a pusztulási arány állandó és független a kezdeti sejtszámtól. Amennyiben a populáció kiindulási sejtszámának tizedénél nagyobb mértékű pusztulási arányt akarunk elérni, akkor a többségi pusztulási időt (τ) kell meghatározni. Ha az exponenciális pusztulási kinetika érvényesül és ismerjük a tizedelési időt, akkor a mikrobaszám tetszőleges mértékű csökkentéséhez szükséges többségi pusztulási időt, bármely kezdeti sejtszám esetére kiszámolhatjuk a [9]. szerint:

$$\tau = D * (\lg N_0 - \lg N_t) \quad [9].$$

Ezzel meghatározhatjuk a kívánt mértékű mikrobaszám csökkentéséhez szükséges kezelési időt állandó pusztító dózis alkalmazása mellett. A többségi pusztulási idő (TDT) általában 10-12 D .

A pusztulási görbe pedig a különböző erősségű kezelések pusztító hatásának kifejezésére szolgál. Ha a többségi pusztulási időt a pusztító behatás különböző erősségű dózisének függvényében ábrázoljuk, a pusztulási görbét kapjuk. A görbe meredeksége megadja a mikroorganizmus rezisztenciájának változását, a pusztító hatás erősségének függvényében. A pusztulási görbe legtöbbször alkalmazott területe a hőpusztulás mértékének meghatározása. A görbe jellemző értéke a z -érték, ami az a hőmérsékletnövekedés, ami a többségi pusztulási időt egy tizedére csökkenti. A z érték a hőpusztulási idő hőmérsékletfüggését jelzi és a hőpusztulási görbe iránymeghatározásának negatív reciproka.

A tizedelési idővel, a hőpusztulási görbével analóg görbét szerkeszthetünk, ezt a görbét hőrezisztencia görbének nevezzük, mivel a tizedelési idő a mikroorganizmus

hőrezisztenciájának mértéke. Ebben az esetben a tizedelési idők logaritmusát ábrázoljuk az a pusztító behatás különböző erősségű dózisának függvényében. A hőrezisztencia görbe meredeksége megegyezik a hőpusztulási görbe meredekségével.

Kardos és Szenes (1972) szerint a pusztulási sebesség hőmérsékleti koefficiense kiszámítható [10]. egyenlet szerint:

$$Q_{10}=D_a/D_{a+10}, \text{ ahol } [10].$$

D_a a tizedelési idő egy adott hőmérsékleten, D_{a+10} pedig a tizedelési idő az adott hőmérsékletnél 10°C-al magasabb hőmérsékleten. Megadja, hogy a 10°C-al magasabb hőmérsékleten hányszor nagyobb sebességgel zajlik a tizedelődés, mint az alacsonyabb hőmérsékleten. A „z” érték és a pusztulási sebesség hőmérsékleti koefficiense közötti összefüggés [11]. egyenlet szerint:

$$z=10/\lg Q_{10} \quad [11].$$

Szakály (2001) szerint a „z” és „D” tizedelési időintervallum érték közötti összefüggés [12]. egyenlettel írható fel:

$$z = (T_1 - T_2) / (\lg D_2 - \lg D_1) \quad [12].$$

T_1 a magasabb hőmérséklet, T_2 az alacsonyabb hőmérséklet, D_1 a T_1 hőmérséklethez, D_2 a T_2 hőmérséklethez tartozó tizedelési érték. A TDT a teljes pusztulási időtartam, ami a D érték 10-12-szerese.

Bíró (1976) szerint a mikroorganizmusok életképességének meghatározására a legrégebbi és legegyszerűbb eljárás a metilénkékes festés. Főleg az élesztők esetében elterjedt a módszer, melynek alapja, hogy ha az élő és holt sejtekből álló szuszpenziót híg metilénkéssel hozzuk össze, akkor a holt sejtek rögtön kékre festődnek, míg az élők a festék dehidrogenázokkal történő redukálása miatt, nem színeződnek. Az utóbbiak számarányának és az összes csíraszámnak ismeretében az élő csíraszám meghatározható.

2.11. MUNKÁNK CÉLJA A SZAKIRODALMAK ISMERETÉBEN

Miles et al. (1995) kijelentették, hogy kevés a mikroorganizmusokkal kapcsolatos ultrahangos munka és fontos lenne a különböző akusztikai jelenségek küszöb értékeinek vizsgálata is ezzel kapcsolatban.

Az ultrahang biológiai kísérleteinek szakirodalmi eredményeiből tudjuk azt, hogy bizonyos esetekben mennyire ellenálló az adott biológiai anyag az ultrahangra, de véleményünk szerint általános szakirodalmi hiányosság, hogy a biológiai hatások vizsgálatánál szinte kizárólag az alkalmazott ultrahang intenzitását, az akusztikai nyomás amplitúdót közlik, és legtöbbször nincsenek figyelemmel az adott intenzitáson kialakult akusztikai jelenségre, amely mellett a kísérletek folytak. Ez olyan hiba lehet, mely beláthatatlan következményekkel jár az eredmények értelmezése szempontjából, mivel ma már köztudott, hogy nem az intenzitás, hanem a kialakult akusztikai jelenség hat elsődlegesen a hangtér biológiai anyagaira és az alkalmazott intenzitás, mindössze az akusztikai jelenség bekövetkezését befolyásolja.

Az alkalmazott ultrahang intenzitás nem kizárólagos szerepére példa, hogy a kavitáció akusztikai jelensége ter Haar (1988) szerint a nagyszámú fizikai alapparaméter módosulat miatt, csak tiszta víznél 1MHz frekvencián 1W/cm^2 – $2,7 \cdot 10^3\text{W/cm}^2$ között jelentkezhet. Könnyen belátható, hogy amikor egy szakirodalomnál az intenzitást és a biológiai hatást közlik, mint ahogy azt Raso et al. (1998) *Yersinia enterocolitica* baktériumnál tették azzal, hogy az ultrahang intenzitásának növelése miatt, a tizedelési időintervallum 4 percről 0,37 percre csökkent, hiányos információ, mivel ebből nem állapítható meg, hogy az alacsonyabb tizedelési időintervallum már egy másik akusztikai jelenségre jellemző-e, vagy valamely más fizikai hatás következménye. Könnyen alátámasztható e kétely azzal, hogy Hua és Thompson (2000) *Escherichia coli* baktériumok inaktiválásánál $4,6$ – 74W/cm^2 közötti intenzitás tartományban nem tapasztalt jelentős különbséget a pusztulás mértéke közt. Ez a megállapítás is azt bizonyítja, hogy ebben az intenzitástartományban egy adott akusztikai jelenség mellett zajlottak a kísérletek, amire a szerzők itt sem voltak figyelemmel.

Emiatt vizsgálataink célja nem lehet más, mint az akusztikai jelenségek, alapvető fizikai paramétereken keresztüli befolyásolhatóságának és azok biológiai hatásainak ellenőrzése, különböző ultrahang berendezés rendszerekben.