

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

LŐRINCZ ATTILA

**NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
MOSONMAGYARÓVÁR**

2004

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
MOSONMAGYARÓVÁR
Agrárműszaki, Élelmiszeripari és
Környezettechnikai Intézet

Program- és Doktori Iskola Vezető
Prof. Dr Schmidt János, DSc
az MTA levelező tagja

Alprogram- és témavezető
Prof. Dr. Neményi Miklós, DSc
az MTA doktora

**ÉLELMEZÉSI CÉLÚ BIOLÓGIAI ANYAGOK
ULTRAHANGOS BESUGÁRZÁSÁNAK
ÉLELMISZERFIZIKAI ÉS MIKROBIOLÓGIAI
VONATKOZÁSAI**

Készítette:

LŐRINCZ ATTILA

MOSONMAGYARÓVÁR
2004

**ÉLELMEZÉSI CÉLÚ BIOLÓGIAI ANYAGOK ULTRAHANGOS
BESUGÁRZÁSÁNAK ÉLELMISZERFIZIKAI ÉS MIKROBIOLÓGIAI
VONATKOZÁSAI**

**Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében
A Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar**

**Állati termék előállítás biológiai, technológiai, ökológiai, takarmányozási
és ökonómiai kérdései programja**

Biológiai anyagok energiatakarékos és minőségmegőrző szárítása, tárolása és feldolgozása

Írta:

LŐRINCZ ATTILA

A jelölt a doktori szigorlaton.....%-ot ért el,

Mosonmagyaróvár,

.....
a Szigorlati Bizottság Elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem)

Első bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Mosonmagyaróvár,

A Bírálóbizottság elnöke

Doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Az EDT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
2.1. ÁLTALÁNOS IRODALMI ÁTTEKINTÉS, FIZIKAI ALAPOK.....	10
2.2. AZ ULTRAHANG ÁLTALÁNOS ÉLELMISZERFIZIKAI ÉS BIOLÓGIAI HATÁSAI.....	13
2.3. ALKALMAZOTT ULTRAHANG FIZIKAI ÉS BIOLÓGIAI SZAKIRODALMAINAK ÁTTEKINTÉSE.....	14
2.4. SUGÁRZÁSI ERŐTÉR KUTATÁSÁNAK SZAKIRODALMI HÁTTERE.....	15
2.5. AZ AKUSZTIKAI KAVITÁCIÓ SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉSE.....	15
2.5.1. A KAVITÁCIÓ MEGJELENÉSI FORMÁI.....	15
2.5.2. A KAVITÁCIÓS KÜSZÖB.....	17
2.5.3. A KAVITÁCIÓ DETEKTÁLÁSA.....	18
2.5.4. A KAVITÁCIÓS MAG ELMÉLETEK ÉS A KAVITÁCIÓS KÜSZÖB ELMÉLETI HÁTTERE.....	19
2.6. AZ ULTRAHANG SEJTBiológiai Hatásai.....	20
2.6.1. AZ ULTRAHANG SEJTBiológiai Hatásainak Fizikai Befolyásoló Tényezői.....	24
2.7. AZ ÁLLÓHULLÁM ÉS BIOLÓGIAI HATÁSAI.....	25
2.8. AKUSZTIKAI ÁRAMLÁS.....	27
2.8.1. AKUSZTIKAI ENERGIA HANGTÉRBELI ELVÁLTOZÁSAI.....	28
2.8.2. AKUSZTIKAI ENERGIA ELVÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA BIOLÓGIAI ANYAGOKBAN.....	29
2.9. AZ AKTÍV ULTRAHANG BIOLÓGIAI FELHASZNÁLÁSI LEHETŐSÉGEI.....	31
2.10. ALKALMAZOTT MIKROBIOLÓGIA.....	36
2.11. MUNKÁNK CÉLJA A SZAKIRODALMAK ISMERETÉBEN.....	39
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	40
3.1. FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS ULTRAHANGRENDSZER.....	40
3.1.1. A FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS KÍSÉRLETSOROZAT MÓDSZEREI, TÚLÉLŐ SEJTSZÁM MEGHATÁROZÁSÁRA.....	42
3.1.2. A KEZELÉS DEFINÍCIÓJA.....	43
3.1.3. A CÉLOBJEKTUMHOZ JUTÓ ULTRAHANG INTENZITÁS MEGHATÁROZÁSA.....	43
3.2. NEM ÁLLANDÓ HŐMÉRSÉKLETŰ ULTRAHANG SUGÁRZÓFEJJELEL VÉGZETT VIZSGÁLATOK.....	44
3.3. HŐHATÁS MEGHATÁROZÁSÁNAK ESZKÖZEI ULTRAHANGTÉRBEN.....	45
3.3.1. AZ ULTRAHANG HŐHATÁSÁNAK VIZSGÁLATI MÓDSZERE.....	50
3.4. AKUSZTIKAI JELENSÉGEK KIALAKULÁSÁNAK VIZSGÁLATA.....	51
3.4.1. KEZELŐ BERENDEZÉSEK.....	51
3.4.2. VIZSGÁLT SZUSZPENZIÓ.....	51
3.4.3. KAVITÁCIÓS ZAJ VIZSGÁLATA.....	52
3.4.4. KAVITÁCIÓS HATÁRKONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSA.....	53
3.4.4.1. KAVITÁCIÓS HATÁRKONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSÁNAK ALAPMÓDSZERE.....	53
3.4.4.2. KIEGÉSZÍTŐ MÓDSZER KAVITÁCIÓS HATÁRKONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSÁRA.....	54
3.4.5. KAVITÁCIÓ KIALAKULÁSI IDŐINTERVALLUM VIZSGÁLATA.....	54
3.4.6. KÍSÉRLETI TERV.....	55
3.5. PUSZTULÁSI DINAMIKA MEGHATÁROZÁSA AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK FÜGGVÉNYÉBEN.....	55
3.5.1. KEZELŐ BERENDEZÉSEK.....	55
3.5.2. SZUSZPENZIÓ.....	55
3.5.3. AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK ÉS A SEJTBiológiai Hatások Vizsgálata.....	55

3.5.4. KÍSÉRLETI TERV	56
3.5.5. VITÁLIS SEJTSZÁM ÉS A HANGTÉR AKUSZTIKAI JELENSÉGEINEK SZIMULTÁN VIZSGÁLATA	56
3.6. SEJTANALITIKAI ELJÁRÁSOK	57
3.6.1. ANALÓG SEJTANALÍZIS	57
3.6.2. DIGITÁLIS SEJTANALÍZIS	59
3.7. <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> HNCMB170001 FELTÉTELESEN KÓROKOZÓ BAKTÉRIUMTÖRZS ULTRAHANGKEZELÉSÉNEK ANYAGA ÉS MÓDSZERE	59
3.7.1. A REFERENCIATÖRZS FELÉLESZTÉSE	60
3.7.2. SEJTKONCENTRÁCIÓ BEÁLLÍTÁSA	60
3.7.3. <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> HNCMB170001 BAKTÉRIUMTÖRZS ÉLŐSEJTSZÁM MEGHATÁROZÁSA ÖSSZCSÍRASZÁM MEGHATÁROZÁSSAL	60
3.7.4. KONTROLLVIZSGÁLAT	61
3.7.5. MINTÁK KEZELÉSE	61
3.8. AZ ULTRAHANG SZELEKTÍV SEJTBIOLOGIAI HATÁSA	62
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	63
4.1. FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS KÍSÉRLETSOROZAT EREDMÉNYEI	63
4.1.1. SEJTRONCSOLÓ HATÁS	63
4.1.2. INTENZITÁSVÁLTOZÁS FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS RENDSZERBEN	64
4.1.3. MIKROBIOLOGIAI ELEMZÉS PUSZTULÁSI DINAMIKÁRA	65
4.2. NEM ÁLLANDÓ HŐMÉRSÉKLETŰ ULTRAHANG SUGÁRZÓFEJJELEL VÉGZETT KÍSÉRLETEK EREDMÉNYEI	66
4.3. ULTRAHANG HÓHATÁSVIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI	69
4.3.1. A MÉRŐESZKÖZÖK ÖSSZEHASONLÍTÁSA	69
4.3.2. HŐMÉRSÉKLETVÁLTOZÁSI VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	71
4.3.3. A KAVITÁCIÓ DINAMIKÁJÁNAK HATÁSA A HŐKÉPZŐDÉSRE	73
4.4. AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK VIZSGÁLATI EREDMÉNYEI	77
4.4.1. KAVITÁCIÓS ZAJ VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI	77
4.4.2. AKUSZTIKAI JELENSÉGEK HANGTÉRBELI KIALAKULÁSÁNAK VIZSGÁLATI EREDMÉNYEI	78
4.5. A <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ÉLESZTŐGOMBA TÚLÉLÉSI DINAMIKÁJÁNAK EREDMÉNYEI, AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK FIGYELEMBEVÉTELÉVEL	84
4.5.1. A TÚLÉLÉSI DINAMIKAI ALAPVIZSGÁLATAINAK EREDMÉNYEI	84
4.5.2. AZ ULTRAHANGTÉR AKUSZTIKAI JELENSÉGEI	85
4.5.3. TÚLÉLÉSI DINAMIKA VIZSGÁLAT EREDMÉNYEI	89
4.6. A SEJTANALITIKAI MÓDSZEREK ALKALMAZÁSÁNAK EREDMÉNYEI	94
4.6.1. ANALÓG MÓDSZER EREDMÉNYEI	94
4.6.2. DIGITÁLIS SEJTANALITIKAI MÓDSZER ALKALMAZÁSÁNAK EREDMÉNYEI	95
4.7. <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> HNCMB170001 BAKTÉRIUMTÖRZS ULTRAHANGKEZELÉSÉNEK SEJTBIOLOGIAI HATÁSAI	97
4.8. BIOLÓGIAI ULTRAHANG KÍSÉRLETEK EREDMÉNYEINEK ÖSSZESÍTÉSE	100
4.8.1. AZ ULTRAHANG HATÁSÁNAK ÖSSZESÍTÉSE <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ÉLESZTŐGOMBÁRA	100
4.8.2. AZ ULTRAHANG HATÁSÁNAK ÖSSZESÍTÉSE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> BAKTÉRIUMRA	104
4.8.3. SZELEKTIVITÁSI KRITÉRIUMOK	104

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	108
5.1. FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS ÉS A NEM ÁLLANDÓ HŐMÉRSÉKLETŰ ULTRAHANGVIZSGÁLATOK	108
5.2. ULTRAHANG HŐHATÁSA	108
5.3. AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK VIZSGÁLATA	109
5.4. <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> BAKTÉRIUM ÉLESZTÖGOMBA TÚLÉLÉSI DINAMIKÁJÁNAK ÉRTÉKELÉSE AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK FIGYELEMBEVÉTELÉVEL	110
5.5. SEJTANALITIKAI MÓDSZEREK	110
5.6. <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> ULTRAHANGKEZELÉSE	110
5.7. SZELEKTÍV ULTRAHANGHATÁS KRITÉRIUMAI	111
6. ÖSSZEFOGLALÁS	112
7. SUMMARY	114
8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	116
9. KIVONAT	118
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	119
11. IRODALOMJEGYZÉK	120
I. MELLÉKLET	139
II. MELLÉKLET	142
III.A. MELLÉKLET	145
III.B. MELLÉKLET	164
IV. MELLÉKLET	167
V. MELLÉKLET	170
VI. MELLÉKLET	173
VII. MELLÉKLET	185

1. BEVEZETÉS

A munkánk célja az volt, hogy a nagyfrekvenciás és nagyenergiájú aktív ultrahang sejtkárosító hatását különböző típusú ultrahangrendszerekben megvizsgáljuk illetve, hogy tisztázzuk az ultrahang biológiai hatásainak okait, valamint a sejtroncsoló hatásokat célszerűen befolyásoljuk, bizonyos fizikai paraméterek megváltoztatásával.

A dolgozat folyamatában követi a munkákat úgy, hogy az egyes fázisokban leszűrt következtetésekből hogyan és merre léptünk tovább. Ez alapján összesen nyolc egymásra épülő kísérletsorozatból, vagy lépcsőből áll a dolgozat és az egyes lépcsők, konvencionális dolgozati felépítésben találhatóak.

Az első kísérletsorozatban 20°C állandó hőmérsékleten tartott, folyadékáramoltatásos ultrahangkezelő rendszert építettünk, amellyel az volt a célunk, hogy különböző, 7,5 – 12W/cm² kibocsátott ultrahang teljesítmények mellett, megvizsgáljuk, hogy 1110kHz ultrahang frekvencián milyen összefüggés áll fenn a marker *Saccharomyces cerevisiae* pékélesztőgomba túlélési dinamikája, tizedelőési időintervallum értékei és az alkalmazott kibocsátott ultrahang teljesítmények között. Meghatároztuk a túlélési, rezisztencia, majd a pusztulási görbéket. Kiszámítottuk, hogy az alkalmazott kísérleti felépítményben, mennyiben módosul az ultrahang fő fizikai paramétere, a teljesítménye, amíg eléri a célobjektumot, vagyis a szuszpendált sejteket. A konvencionális mikrobiológiai képleteket átalakítva meghatároztuk a „z” értéket, a tizedelőési időintervallum tizedére csökkenéséhez szükséges ultrahang teljesítménynövekményt.

A második munkafázisban, nem állandó hőmérsékleten tartott sugárzófej alkalmazásával az volt a célunk, hogy különböző kiinduló sejt koncentrációk és teljesítmények mellett megvizsgáljuk, milyen összefüggés áll fenn e vizsgált tényezők között a *Saccharomyces cerevisiae* sejtek túlélési dinamikájának vonatkozásában.

A harmadik kísérletsorozattal az volt a cél, hogy különböző hőmérsékleti, koncentráció, illetve anyagminőségi viszonyok mellett megvizsgáljuk, hogy az alkalmazott 9W/cm² teljesítményű 1117kHz frekvenciájú ultrahang hőhatása mennyiben játszhat szerepet a biológiai hatásokban. További célunk volt, hogy a keltett hőhatás, az egyes anyagok különböző koncentrációi esetén különböző állandó hőmérsékletek mellett mennyire utal magára az adott anyagra, tehát a módszer alkalmazható-e esetleg

kvantitatív és kvalitatív részecskeanalízisre, vagy az ultrahang akusztikai jelenségeinek dinamikájának elemzésére. A kísérletek végrehajtásához speciális ultrahang berendezés rendszert terveztünk és kivitelettünk több szakmai szervezet segítségével, az első két kísérletsorozat tapasztalatai alapján, mellyel reprodukálható módon vizsgálhatók a nagyfrekvenciás aktív ultrahang fizikai és biológiai hatásai.

A negyedik lépcsőben, a hőhatásnál megfigyelt akusztikai jelenség anomáliák miatt, választ kerestünk arra, hogy a szuszpenziók kvalitatív és kvantitatív tulajdonságai hogyan befolyásolják az ultrahangtérben kialakuló akusztikai jelenségek, az állóhullám, az akusztikai áramlás és esetünkben leginkább a kavitáció bekövetkezését és küszöbértékét. A vizsgálatok alatt műszeres kavitáció detektor rendszert alkalmaztunk. A vizsgálatokhoz kereskedelmi forgalomban kapható préselt, illetve szárított *Saccharomyces cerevisiae* pékélesztőt, valamint azzal megegyező átmérőjű dolomitkö szemcsékből álló szuszpenziót használtunk. A kísérleteket 1,117MHz frekvenciáján, 0-12W/cm² teljesítményen végeztük, longitudinális hullámokkal. Vizsgáltuk különböző ultrahang teljesítmények mellett, a kavitáció megszüntetéséhez szükséges hangtérbeli szemcsekoncentráció g/l mennyiségét, vagyis a „kavitációs határkoncentrációt”, valamint e mennyiségek 1,5-szeresének felhasználásával a kísérletek beindításától a kavitáció ismételt kialakulásáig eltelt időintervallumot, a „kavitáció kialakulási időintervallumot”. A két érték reményeink szerint jellemezheti, előre jelezheti a hangtérben kialakuló hullámjelenségeket, a hullámjelenségek pedig az ultrahang hatásait.

Az ötödik kísérletsorozatnál, a negyedik kísérletsorozatban, 9W/cm² teljesítményen és 1117kHz frekvencián mért, hangtérbeli kavitáció megszüntetéséhez szükséges liofilizált *Saccharomyces cerevisiae* pékélesztő koncentráció g/l mennyiségét használtuk alapul. Ezután e mennyiség többszöröseinek felhasználásával követtük nyomon a hangtérben kialakult akusztikai jelenségeket, illetve szimultán, vitális festés segítségével a sejtek túlélési dinamikájának alakulását. A vizsgált akusztikai jelenségek az akusztikai áramlás, az állóhullám, a kavitáció voltak. A hangtér fizikai paraméterei alapvetően befolyásolták a hangtérben kialakuló akusztikai jelenségeket és azok kialakulási küszöbértékeit. A jelenségek visszahatottak a hangtér anyagi minőségére, így jelenség-hatás láncreakció zajlott le a besugárzás alatt.

A hatodik lépcsőben sejtanalitikai rendszereket dolgoztunk ki az ötödik kísérletsorozat gyorsabb, egyszerűbb sorozatos kivitelezésére. A sejtanalitikai eljárás

kidolgozásának célja, kísérleti alkalmazásának lényege az, hogy a fáradtságos, kísérletsorozatonként több ezer túlélő sejtszám vizsgálatot, tehát a manuális munkát valamilyen módon automatizáljuk, és ezzel nagyszámú, gyors és egyszerű vizsgálatra nyíljon mód. További célunk, az eredmények archiválásának és kiértékelésének megoldása biztonságos és közérthető módon. A sejtek túlélését, analóg és digitális módon értékeltük.

A hetedik kísérletsorozatban az ötödik, *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgombára vonatkozó kísérletsorozat fizikai paramétereivel és két esetben $6\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítményű kísérletsorozattal kiegészítve, vizsgáltuk a *Pseudomonas aeruginosa* HNCMB170001 baktériumtörzs túlélési dinamikáját.

A nyolcadik lépcsőben az első, második és az ötödik, *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgombára, illetve a hetedik kísérletsorozat *Pseudomonas aeruginosa* baktériumra vonatkozó eredményeit összevetettük, a megegyező fizikai paramétereik alapján. Meghatároztuk az élesztőgomba „z” értékét a teljesítményváltozás és kiinduló csíraszám változás függvényében minden kísérletre.

Végül a két különböző fajhoz tartozó mikroorganizmusra vonatkozóan a kiinduló csíraszám, illetve az ultrahang teljesítmény függvényében megfogalmaztuk az egy fajon belüli és a fajok közötti szelektív ultrahanghatás kritériumait.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. ÁLTALÁNOS IRODALMI ÁTTEKINTÉS, FIZIKAI ALAPOK

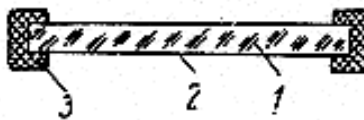
Tarnóczy (1963) szerint a hang rugalmas közegben terjedő mechanikai zavarási állapot, mely térben, vagy térben és időben változik. A zavarási állapot nem korlátozódik egyetlen részecskére, hanem a szomszédos részecskék is impulzust kapnak, így kialakul a hangtér. A rezgés egyetlen részecske állapotváltozásának 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, magnetosztrikciós, 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 ponszerű 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 távolytérre.

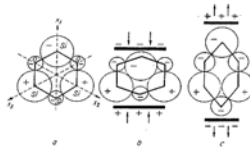
Fry (1978) szerint kis testeken is erőteljesen jelentkezik az ultrahangszóródás.

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 piezoelektrikumok 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 piezoelektrikumokból bármilyen geometriájú sugárzó kialakítható.

Tarnóczy (1962) leírása alapján, a piezoelektromos lap kétoldali sugárással az energiát megfelezi, 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 piezoelektrikumétól, az energia csaknem 100%-ban a folyadék felé hagyja el a rezgő piezoelektrikum lapot, mivel a víz akusztikai keménysége közelebb esik a piezoelektrikuméhoz. 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 információ átadási 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 1W/m^2 - 10000W/m^2 energia használatos. Az aktív ultrahangtechnikában 10000W/m^2 (1W/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, vörösvértestek, sőt egyes neoplazma-féleségek ultrahanggal szétroncsolhatók. Besugárzáskor a szövetrészek belső súrlódás következtében melegszenek, az oxidációs

folyamatok és az ionok membránon átjutása gyorsul.

Bezzubov et al. (1967) szerint az ultrahangrezgések roncsoló hatását fel lehet használni csírátlantás, 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, homogénizálás 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:

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

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 nyomadék* 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 rezgetett fémrót, 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 erőter 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 előélete, 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 kiindulón 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 buboréknek 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 határréteg közeli áramlás (mikroáramlás), a mozgó buborék körüli nyírófeszültség, buborék összeomláskori 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, elosztatásában, ami

nagyobb mérvű, mint egy ugyanolyan méretű szilárd részecskén. E gázttest 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 készítettek 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 határreteg 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 molekuláreteg által stabilizált kavitációs magokat modelleztek.

Sirotyuk (1970) módosította a szerves bőr hipotézist úgy, hogy a mikrobuborékokat 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 lefutására 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 sejtuszpenziókban, 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 sejtuszpenziókban. A töredezés a mitózis 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.

Harwey 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 sejtmag membránján 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) ultrahangsugárzás 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 10 μ M 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 összeomlással megy keresztül, az mechanikailag és a képződött szonokemikáliák hatására biokémiai is károsíthatja a sejtet intracellulárisan.

Fu et al. (1980) vizsgálták a sejtek ultrahangkezelés hatására kialakuló telepképzési 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.

Ordóñez 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 sejtméret csökkenésével, sokkal nagyobb nyíróerő volt szükséges a sejtmembrán szétszakításához, mely tény is szerepet játszik az egyes sejtípusok közötti eltérő ultrahang érzékenységben.

Veress és Vincze (1977), Loverock és ter Haar (1991) kimutatták a sejtkoncentráció fontosságát az *in vitro* szonolízisre. A szonolízis, amely könnyen és egyértelműen detektálható az alacsony sejtkoncentrációknál, gyakran nehézkesen zajlik a magasabb sejtkoncentrációk 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 sejtsoportosulás, 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 sejtkárosító 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 abszorpciós, reflexiós, diszperziós 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-
la vastagabb, mint a Gram (-) sejtéké, 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 interferenciaterben összezsapódott anyagokra megállapították, hogy ha a diszpergált fázis fajsúlya kisebb a diszpergáló fázisénál, 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 erőterben 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 sajtószerűen 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 sejsávok esetében, vagy ahol a haladó hullám dominált, ott erősebb sejtpusztulás volt tapasztalható, míg erős állóhullámbeli sejsávok 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 áramlasként, 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 ultrahangszugár 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 eloszlatásában. 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 analizisét 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 viszkozus (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 koncentráció tartományban a hemoglobinéhoz nagyon

hasonló.

Allegra és Hawley (1972) vizsgálta a hang csillapításának mértékét emulziókban és szuszpenziókban, elméleti és gyakorlati módszerekkel. A csillapítás okaként a viszkózus 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 koloid diszperziók ultrahangos jellemzését végezték poliszti-rén modellanyaggal, és vizsgálták az állóhullám hatására kialakult adszorber rétegek jelenlétének és a flokkulációnak a hatását. Allegra és Hawley féle ultrahang szóródás számítást használtak minden koloid 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, NaCl_2 , KNO_3 , K_2SO_4 , és $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 250-500 μm -es szemcsenagyságú szuszpenziókban, 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 jellemeztek, a részecskék méretének és koncentrációjának széles tartományában, on-line módon. Megállapításaik szerint a hullámhossznál kisebb szemcséknél, a disszipációs elosztatási 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 Feke (1993) diszperz fázist választottak el folyadéktól akusztikailag besugárzott kamrában. A szeparáció egy csőben zajlott 0,35-1,41MHz frekvencia tartományban és 25W 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 4,6-74W/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 hőreziisztenciáját, valamint a kombinált hőnyomás-ultrahang kezelés esetében az ultrahang amplitúdójának növelésére, a tizedelési időintervallum 4 percről 0,37 percre csökkent.

Mandralis és Feke (1993), Gupta et al. (1995) és Johnson és Feke (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 azzal 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 hő által.

Kozuka et al. (1998) ultrahangos állóhullámtér 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 állóhullámtérben, 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 ultrahangtérben 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, 9 μ m átlagos átmérőjű szemcsék koncentrálásának felső hangnyomás határát, 1,02-3,14MHz frekvenciákon, vizes szuszpenziókban. A sávok 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 sejtleválasztás hatékonyságát vizsgálták, 1 és 3MHz frekvencián. Az élesztőt $7 \cdot 10^7$ ml⁻¹ sejtkoncentráció mellett 5ml*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 koncentrálódott sejtsávok szedimentáció miatt a rezonátor aljba kiüledtek. A $3 \cdot 10^9$ db/ml kiinduló sejtszámú élesztő 99,5% mértékben 4,5 perc alatt, az $1,3 \cdot 10^{11}$ 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.

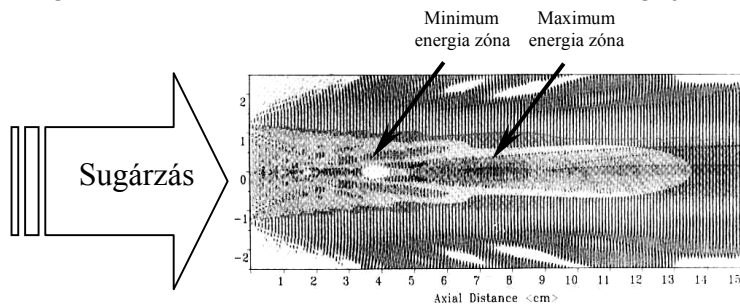
Miller et al. (1999) az ultrahang besugárzás hatását, *in vitro* és *in vivo* módon, plazmid segítségével történő génátvitel expressziós hatékonyságán keresztül vizsgálták. Megállapításaik szerint, ami luciferáz indikátor gén bevitelén alapult, kijelentették, hogy az ultrahang által támogatott génátvitel 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 ultrahangter energia eloszlását 1MHz frekvencián (3. ábra). Az ábrán megfigyelhetők 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 tejesugárzás 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 analizésére 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 analizésére, 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 tizedelőési 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 Tiehm (1999) és Tiehm (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

2W/cm² intenzitásszint mellett, a 25cm² 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 mindenkorai sejtszámmal, és ahol a (k) arányossági tényező a pusztulási sebességi együttható, vagyis a fajlagos pusztulási sebesség. A fenti differenciál egyenletet (N₀) (kezdeti sejtszám t₀ 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 (t₀) 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:

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

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:

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

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 irántangensének 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 dózisének 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 tizedelőds, 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 legrégebb 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 $1\text{W}/\text{cm}^2$ – $2,7 \cdot 10^3\text{W}/\text{cm}^2$ 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 $4,6$ – $74\text{W}/\text{cm}^2$ 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 keresztül befolyásolhatóságának és azok biológiai hatásainak ellenőrzése, különböző ultrahang berendezés rendszerekben.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS ULTRAHANGRENDSZER

A folyadékáramoltatásos ultrahangrendszer létrehozásának az volt a célja, hogy az iparban alkalmazható folyamatos ultrahangkezelés lehetőségét tanulmányozhassuk (Neményi et al., 2002). A kísérletek alapanyagaként vízben szuszpendált előzetesen préselt, kereskedelmi forgalomban kapható *Saccharomyces cerevisiae* pékélesztő sejteket használtunk. Az élesztőgomba életképesség változását 1% metilénkék indikátorral vizsgáltuk az effektív kezelési idő függvényében. A kísérletek 7,5, 9,6, 10,5 és 12W/cm² kisugárzott ultrahang teljesítmények mellett, 1100kHz ultrahang frekvencián történtek. Így a sejtátmérő-hullámhossz arány hozzávetőleg 1:100 volt, mivel az élesztőgomba megközelítőleg 0,01mm átmérőjű, a hullámhossz pedig vizes közegben 1,336 mm a fenti frekvencián. Az ultrahang jelgenerátor a 4. ábrán, az ultrahang erősítő az 5. ábrán látható, melynek teljesítménye 0-14W között szabályozható 0,7-1,4MHz frekvenciatartományban.

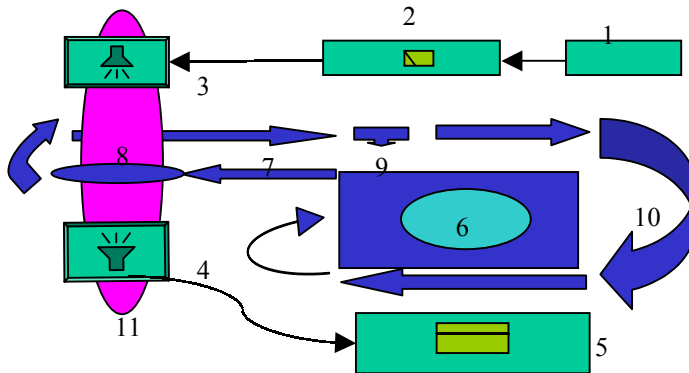


4. Ábra: Ultrahang jelgenerátor



5. Ábra: Ultrahang erősítő

A felerősített nagyfrekvenciás jelet az adó ultrahang sugárzófejben elhelyezett piezoelektromos elem segítségével alakítottuk ultrahanggá, illetve egy másik ultrahang sugárzófej segítségével alakítottuk vissza az ultrahangot elektromos jellé, tehát egy adó és egy vevő sugárzófejet alkalmaztunk. Mindkét ultrahang sugárzófej síkfelületű bárium-titanát piezoelektromos elemet tartalmazott, felületük 1-1cm² volt. A 6. ábra az ultrahangrendszer elrendezést mutatja. A vevő sugárzófejet oszcilloszkóppal kötöttük össze. A kezeléseket állóhullám elleni adszorberrel borított „visszhangmentes” tartályban végeztük. Az adó és a vevő sugárzófej között ultrahang közvetítő folyadékként, gáztalanított desztillált vizet használtunk. A folyadékáramoltatásos rendszer 4mm belső átmérőjű szilikon csővezetékekből, ultrahangos kezelő küvettából, perisztaltikus szivattyúból és megcsapoló ágból áll, melynek összes belső térfogata 50ml.



6. Ábra: Folyadékáramoltatásos ultrahang rendszer.

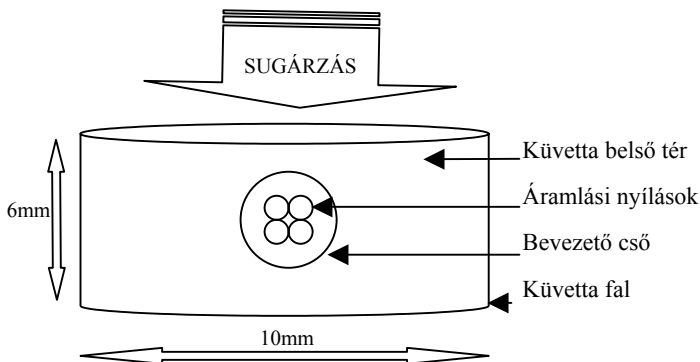
(1. jelgenerátor, 2. ultrahang erősítő, 3. adó sugárzófej, 4. vevő sugárzófej, 5. oszcilloszkóp, 6. perisztaltikus szivattyú, 7. kivezető folyadékág, 8. ultrahangos kezelő küvetta, 9. mintavevő csap, 10. visszavezető folyadékág, 11. visszhangmentes állandó hőmérsékletű tatály)

Az oszcilloszkópot az ultrahangrendszer állandó konfiguráción tartásához használtuk, a reprodukálható kísérleti elrendezés miatt, vagyis azért hogyha egy szerkezeti elemet elmozdítottunk, akkor vissza tudjuk állítani az „eredeti” helyzetébe. Ekkor az adó sugárzófej és a kezelő küvetta helyzetét addig változtattuk, amíg a stabilizált vevő sugárzófej éppen 10mV jelet nem érzékelt, állandó 1W/cm² kisugárzott intenzitás mellett. Mivel a vevő által vett feszültséget nem lehet objektív módon értékelni kalibráló hidrofon hiányában, ezért a vevőt, az eredmények egymáshoz képest való összehasonlításával, kizárólag a rendszer konfiguráció állandóságának biztosítása érdekében alkalmazhattuk és a küvetta juto ultrahang effektív sugárzási intenzitását pedig emiatt számítani kellett.

Az 50cm³ belső térfogatú rendszerben (voltak próbálkozások 50, 100 és 200 ml-re) a sejtuszpenziót perisztaltikus szivattyúval cirkuláltattuk a rendszeregységek között 100mm/sec csöbéli sebességgel, melyet a perisztaltikus szivattyú rotorjának kerületi sebességével állítottunk be. A 4mm belső átmérőjű, vagyis 0,12566cm² áramlási felületű szilikon csőre vonatkozóan. Ez azt jelenti, hogy a 100mm/sec mellett 1,2566cm³/sec volt a térfogatáram a csőben. Így egy cirkuláció 39,78sec és egy óra alatt 90,49 cirkuláció van.

Az ultrahangos kezelő küvetta (7. ábra) kvarcüvegből készült, falvastagsága 0,1 mm, be- és kiáramlási nyílásai 0,1mm körüli átmérőjűek a folyadék turbulens küvettabeli áramoltatása miatt. A küvettaban a folyadék réteg magassága 6mm és a küvetta átmérője

10mm, így belső térfogata $0,471\text{cm}^3$. Az $1,2566\text{cm}^3/\text{sec}$ folyadékáram mellett a küvétányi folyadékmennyiség cirkulációnkénti tartózkodási ideje $0,3748\text{sec}$, vagyis óránként ($90,49\text{cirkuláció} \cdot 0,3748\text{sec}$) $33,91\text{sec}$ az effektív kezelési idő.



7. **Ábra:** Ultrahangos kezelő küvetta fotója és a keresztmetszeti síkja

A küvetta és a benne áramló folyadék az ultrahang sugárra merőlegesen volt elhelyezve. Az immerziós látóterek képét, biológiai mikroszkópra szerelt CCD kamerával összekötött digitalizáló számítógéppel rögzítettük. A visszhangmentes kádat *LAUDA* típusú fűthető-hűthető berendezéssel 20°C állandó hőmérsékleten tartottuk.

3.1.1. A FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS KÍSÉRLETSOROZAT MÓDSZEREI, TÚLÉLŐ SEJTSZÁM MEGHATÁROZÁSÁRA

A pékélesztőgombából 1g mennyiséget szuszpendáltattunk 50ml desztillált vízben, mágneses keverővel. A préselt élesztő hozzávetőleg $10^9/\text{gramm}$ csíraszámú, a minták koncentrációját $2\text{-}3 \cdot 10^7/\text{ml}$ körülire állítottuk be. Kontrollként Bürker-kamra segítségével sejtszámlálást végeztünk 4 ismétlésben, ismétlésenként 10 cellát leszámolva, majd az eredményeket átlagolva. A szuszpenzióhoz 5 csepp 1% metilénkék oldatot cseppentettünk a túlélési dinamika vizsgálata céljából, amely koncentráció, a kontroll vizsgálatok alapján nem befolyásolta az élesztősejtek vitalitását.

Az előkészített 20°C hőmérsékletű szuszpenziót folyamatos keverés mellett a folyadékáramoltatásos rendszer bevezető ágán keresztül a rendszerbe áramoltattuk. Ezután rövidre zártuk a rendszert, amittől kezdve cirkuláció folyt a csövekben, majd bekapcsoltuk az oszcilloszkópot és kicsatoltuk az ultrahangot.

A folyadékáramoltatásos rendszer rövidre zárása után és az ultrahangrendszer bekapcsolásától kezdődően az ultrahang sejtroncsoló hatását a megcsapoló ágból vett minták immerziós objektív alatti adott effektív kezelési időpillanathoz tartozó átlagos relatív élő sejtszámának és a kiinduló abszolút élősejtszámnak az ismeretéből kaptuk. Az idő függvényében vett minták mennyisége egyenként legalább 15 μ l volt, melyből legalább 15 immerziós látótér leszámolásának átlagából kaptuk a relatív élősejtszámot.

Az egyes effektív kezelési időpillanatokhoz tartozó relatív élősejtszám értékekből az abszolút élősejtszámok ismeretében Deák (1997) szerint meghatároztuk a tizedelési időintervallumot minden kezelt mintára. Ebből pedig meghatároztuk a túlélési, a rezisztencia és a pusztulási görbéit az élesztőgombának és a tizedelési időintervallumok egy nagyságrenddel történő megváltoztatásához szükséges teljesítményváltozás mértékét.

3.1.2. A KEZELÉS DEFINÍCIÓJA

Kezelésnek tekintettük azt az időtartamot, amely során a folyadékáramoltatásos rendszerben keringetett sejtszuspenziót meghatározott ideig, meghatározott teljesítményű ultrahanghatásnak vetettük alá. A kezelési időn az ultrahang bekapcsolásától, annak leállításig eltelt időt értjük (Lőrincz & Neményi, 2003^b).

3.1.3. A CÉLOBJEKTUMHOZ JUTÓ ULTRAHANG INTENZITÁS MEGHATÁROZÁSA

Célunk a küvettában lévő sejtszuspenzióhoz jutó intenzitás meghatározása. Tarnóczy (1963) a folyadékba merülő, folyadéktól eltérő akusztikai keménységű lemezre vonatkozóan határozta meg a reflexiót, vagy visszaverődési fokot Eszerint:

$$R = \frac{(q^2 - 1)^2}{(q^2 + 1)^2 + 4q^2 \text{ctg}^2(2\pi d/\lambda)} \quad [13].$$

$$q = \frac{\rho_2 \cdot c_2}{\rho_1 \cdot c_1} \quad [14].$$

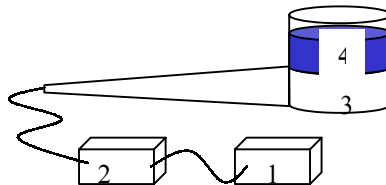
$$z = \rho \cdot c \quad [15].$$

Ahol (R) a visszaverődési fok (z) az akusztikai keménység, (q) a két közeg akusztikai keménységének hányadosa, (d) a lemez vastagsága, (λ) a lemezben kialakuló hullámhossz, (ρ) a térfogattömeg, (c) a hangsebesség adott közegben. A képlet lényege, hogy $z = \rho_1 \cdot c_1$ akusztikai keménységű közegbe $\rho_2 \cdot c_2$ akusztikai keménységű (d) vastagságú lemez merül. Ekkor a lemezre merőlegesen beeső hangrezgések

visszaverődési foka: (R). Ebből az átvezetési fok: $S=1-R$. Kvarcüveg esetében $\rho_2=2600\text{Kg/m}^3$, $c_2=5370\text{m/s}$, $\lambda=0,0048\text{m}$, $d=0,0001\text{m}$. Víz esetében $\rho_1=1000\text{Kg/m}^3$, $c_1=1483\text{m/s}$, $\lambda=0,001327\text{m}$. A hangenergia változását minden intenzitásszint mellett kifejeztük.

3.2. NEM ÁLLANDÓ HŐMÉRSÉKLETŰ ULTRAHANG SUGÁRZÓFEJJEL VÉGZETT VIZSGÁLATOK

A kísérletekhez, a folyadékáramoltatásos rendszernél ismertetett jelgenerátort (1) és nagyfrekvenciás erősítőt (2) alkalmaztunk, a 8. ábrának megfelelő elrendezésben. Az alkalmazott ultrahang sugárzófej eltért a folyadékáramoltatásos rendszernél ismertetettől. Az aktív elem szintén bárium-titanát, viszont átmérője 20mm volt, mely öntött alumínium foglalatban (3) helyezkedett el. A sugárzóelem alumínium foglalatára egy 40mm átmérőjű műanyag hengert (4) erősítettünk, melybe a kezelt szuszpenzió, mint hangtér került elhelyezésre.



8. Ábra: Nem állandó hőmérsékletű sugárzófejhez tartozó felépítmény sémája

A nem állandó hőmérséklet azt jelenti, hogy az ultrahang sugárzófej egyetlen elemére sem alkalmaztunk állandó hőmérsékletet (hűtést), így a kezelés folyamán a hangtér, vagyis a kezelt szuszpenzió hőmérséklete nagyobb mértékben emelkedhetett, az intenzíven el nem szállított veszteség miatt, mint az állandó vízköpeny hőmérsékletű, vagy a folyadékáramoltatásos berendezés hangterének hőmérséklete. A berendezést 20°C-os léghőmérsékletű helyiségben üzemeltettük és a kezelés megindításától számított 10 percen belül 39-43°C-os szuszpenzió hőmérséklet alakult ki, amely több órás kezelés alatt sem melegedett tovább. E hőmérséklettartomány mellett a hőpusztulás még nem jellemző. A kezelt szuszpenzió mennyisége minden esetben 50ml volt. Az alkalmazott sejtszuszpenzió koncentrációkat hozzávetőleg $0,4-2 \cdot 10^7/\text{ml}$ -re állítottuk be.

A 40mm átmérőjű hengerben az 50ml szuszpenzió 41mm magasságot ér el, ezért mivel vizes szuszpenzióban a hang sebessége $c=1483\text{m/s}$ 20°C mellett és 1110kHz

frekvenciánál ez 1,33mm hullámhosszt ad, így 41mm 30λ (hullámhossz) a távolságnak felel meg, viszont a reflexió miatt az összes hangenergia a kezelőedényben marad. A hullámhossz több mint százszorosa az élesztőgomba átmérőjének.

A 3. ábrán látható, hogy az ultrahang sugár a közegek akusztikai keménységétől függő mértékű szögben széttartó, divergens, tehát az ultrahangtér alsó régiója, a sugárzófej sugárirányában gyengébben szórt lehet ultrahanggal. A kavitáció és az akusztikai áramlásnál intenzív áramlások turbulenciák alakulnak mely keverő hatására a hangtér minden pontja, állandóan keveredik, így elméletileg minden részecske a hangtér minden pontján ugyanakkora időintervallumig tartózkodik. Az effektív kezelési idő meghatározását azért nem végeztük el, mert a divergencia a pillanatnyi véletlenszerű szemcsekoncentrációtól, anyagi minőségtől is függ, amit nem ismertünk, illetve a holttér akusztikai nyomás amplitúdója függ még a buborékokon és szemcséken lévő hangszóródástól, ami szintén ismeretlen tényező.

A kísérletekhez 6,5 és 8,5W kicsatolt ultrahang teljesítményeket alkalmaztunk, melyeket a $3,14\text{cm}^2$ sugárzási felület ismeretében felületegységre eső teljesítményre átszámítva, 8,5W esetén $2,7\text{W}/\text{cm}^2$, 6,5W esetén $2,07\text{W}/\text{cm}^2$ volt a felületegységre eső teljesítmény.

Minden mintához 5csepp 1%-os töménységű metilénkék oldatot adtunk, amivel a sejtek vitalitását vizsgáltuk, e mennyiség a kontrollvizsgálatok alapján nem befolyásolta a mikroorganizmusok vitalitását, a kezelési időszakon belül. A kezelés folyamán az elsötétedett sejtek a pusztult állapotot, a világos sejtek az élő mikroorganizmusokat mutatták. A kezelés beindításától adott időközönként vett $15\mu\text{l}$ mennyiségű mintákat mikroszkóp tárgylemezre helyeztük, majd azt fedőlemezzel lefedve, immerziós objektív alatt vizsgálva, mintánként legalább 15 látóteret leszámolva és átlagolva kaptuk meg a túlélési eredményeket.

A kapott eredmények alapján minden kiinduló koncentrációnál és minden teljesítményszinten meghatároztuk a tizedelési időket, amiket grafikonos és táblázatos formában dolgoztunk fel.

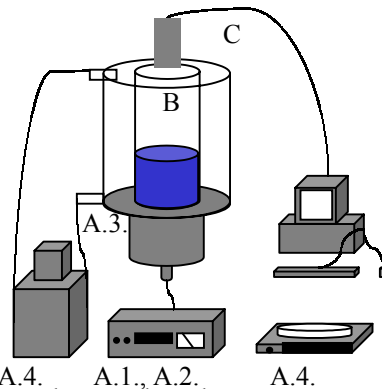
3.3. HŐHATÁS MEGHATÁROZÁSÁNAK ESZKÖZEI ULTRAHANGTÉR BEN

A kísérletek végrehajtásához speciális ultrahang berendezés rendszert terveztünk és kivitelezünk. Célunk egy olyan műszerrendszer megalkotása volt, mely segítségével

kiterjedten, reprodukálható módon vizsgálhatók a nagyfrekvenciás aktív ultrahang fizikai és biológiai hatásai. A tervezés kiterjedt a jelgenerátorra, az ultrahang erősítőre, az ultrahang sugárzófejre, illetve kezelő edényrendszerre, továbbá a teljes kísérleti felépítményrendszerekre. Figyelembe vettük azt, hogy a kísérletek átfolyó és töltő-ürítő rendszerben is végrehajthatóak legyenek.

Az ultrahang hőhatásának vizsgálatához felhasznált anyagok és eszközök három csoportra bonthatóak: „A” az alkalmazott kezelő berendezések, „B” a vizsgált minta és „C” az elemző rendszerek tekintetében. A 9. ábra mutatja az ultrahang hőhatásának vizsgálatára alkalmazott kísérleti rendszert.

Az ultrahang jelgenerátor szinuszos jelképet állít elő, 1kHz–16MHz frekvencia tartományban, mely 1kHz frekvencia tartományonként manuális frekvenciaállítási lehetőséget biztosít, a kettes számrendszernek megfelelő kapcsolós léptetéssel. A frekvencia beállítást a fényképen látható berendezés bal felső részén lévő kapcsolószorral végezhetjük el. A készülék az aktuálisan alkalmazott frekvencia értéket egy monitor egységen jelzi ki, mely a készülék középső részén látható. A jelgenerátor kapcsolási rajzát, illetve elektronikai karakterisztikáját az I. melléklet 1-2. ábrája tartalmazza.



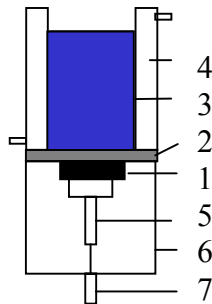
9. Ábra: A felhasznált anyagok és eszközök

(A.1., A.2. ultrahang jelgenerátor és erősítő, A.3. ultrahang rezonátor, A.4. vízfürdő, A.4. analitikai mérleg, B. hangtér, C.. hőmérő egység)

Az ultrahang erősítő 100kHz–2MHz frekvenciatartományban jó közelítéssel lineáris, erősítési szintet ad. A piezokerámia, illetve a kezelőedény rendszer ellenállása 50Ω. Emellett az impedancia érték mellett az ultrahang erősítő 0-40W erősítést tesz lehetővé. Az erősítés mértékét egyenfeszültségben adja meg, melyet kalibrációs görbe

segítségével és a sugárzási felület ismeretében W/cm^2 értékre tudunk vonatkoztatni. A kivezetett feszültségjelet multiméterrel dolgoztuk fel, melyet RS232 csatlakozón keresztül számítógéppel csatlakoztattunk. A multiméter adatait a valós idő függvényében számítógép kezelte, így on-line regisztrációs és adatrögzítési, valamint vizualizációs lehetőségünk volt, és az adatokat egyetemi licencű Excel-ben dolgozhattuk fel.

A rezonátor, illetve a kezelőedény felépítését a 10. ábra mutatja be sematikusan. A vizsgálatainkban folyamatos hullám (CW) módot alkalmaztunk, legfőbbképpen longitudinális hullámformát előállítva. A kezelőedény kialakítása alkalmas az álló és a haladó sík hullámok kialakítására is. A kezelőedény és a ultrahang sugárzófej eredeti tervrajzai a I. melléklet 3.-4. ábráján láthatók.



10. Ábra: A rezonátor fő szerkezeti egységei

(1. piezoelektromos kerámia, 2. elektro-akusztikai csatolás, 3. hangtér, 4. állandó hőmérsékleten tartott kettős falú edény, 5. elektromos csatolás, 6. készülék ház, 7. elektromos csatlakozó.)

A rezonátor fő aktív eleme a PZT-4 ólom cirkonát kerámia, melynek rezonancia frekvenciája 1,1MHz frekvenciára tervezett és a sugárzó rendszerrel egybeépítve bemérése alapján 1180, 1097 és 989kHz frekvenciákon vannak rezonancia értékei. A piezoelektromos kerámia síkfelületű, átmérője 22mm. A kerámia, illetve a teljes kezelő berendezés Smith-diagramjai, a viszonylagos akusztikai és elektronikai impedancia, a rezonancia-frekvenciamérési értékekkel az II. melléklet 1. 2. 3. és 4. ábráján láthatóak. Az ultrahang sugárzófejen található elektro-akusztikai csatolás egy elektronikai, akusztikai és áramlástanai szempontok szerint tervezett lapka, melynek anyaga speciális alumínium ötvözet és a vastagsága az anyagban mért hangvezetési sebességből kapott fél hullámhossz. Ezáltal a lapkán a hangenergia visszaverődése a longitudinális hullámokra vonatkoztatva elméletileg nulla, így a maximális hangáteresztés biztosított. Ebben az

esetben mindössze a lapka anyagi minőségéből adódó abszorpció érvényesül, ami a speciális anyagából adódóan az átengedett hangsugárzás értékéhez képest szintén elenyésző. Így a lapkán keletkező veszteség is minimális.

A hangtér, vagyis a kezelt anyag foglatát kettős falú, 30mm belső és 80mm külső átmérőjű, 200mm magas, hengeres kialakítású állandó hőmérsékleten tartott kettős falú üvegedényből alakítottuk ki. A két üvegfal közötti vízköpenyt gumicsöveken keresztül csatlakoztattuk össze a LaudaE100 típusú hűtő-fűtő vízfürdővel, amely a hangtér állandó hőmérsékleten tartását biztosította. A kettős falú üvegeköpenyt felülről csavarokkal biztosított nyomóerő nyomja a sugárzófej akusztikai csatolására, egy gumitömítés ellenében. A számításaink szerint az [1]. $N_{\text{kör}}=D^2*f/4*c$ képlet alapján, az alkalmazott szuszpenzió mennyiség a hangtér near field tartományába esik. Ennek oka, hogy mivel a rezgő piezoelem átmérője $D=0,022\text{m}$, a frekvencia $f=1117000\text{Hz}$, a hullámterjedési sebessége $c=1483\text{m/s}$, ebből adódóan $(0,022^2*1117000)/(4*1483)=0,091\text{m}$, vagyis 9,1cm távolságig (magasságig) terjed az ultrahang sugárzófejtől a near field tartomány az adott sugárzási körülmények között. Az alkalmazott 25ml kezelt szuszpenzió pedig 3,53cm, vagyis 26,6λ magasságú. A zárt vízköpeny miatt nem fordulhat elő keveredés az állandó hőmérsékletet biztosító víz és a kezelt anyag között.

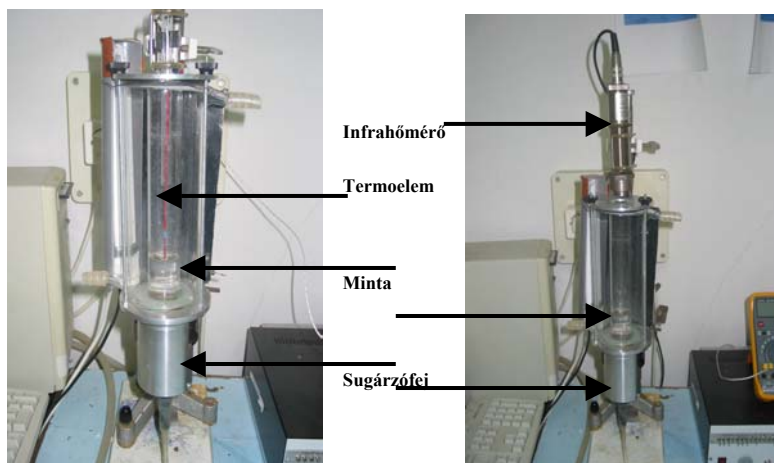
A piezoelektromos kerámia alatt található speciális kialakítású Gruetzmacher-féle légréssel ellátott gyűrűszerű elektromos csatolás a készülékházba épített elektromos csatlakozó aljzaton keresztül csatlakozik az erősítőhöz. A légréteg azt biztosítja, hogy a váltakozó feszültség és a negatív piezoelektromos hatás által kialakított mechanikai rezgések csaknem 100%-ban az akusztikailag keményebb alumíniumlapka felé terjedjenek a kerámiából, mivel a légréteg a piezoelektromos kerámiához kvázi tökéletes reflektorként csatolódik. Így a veszteségek minimalizálhatóak, továbbá biztosítható a rezgés egy irányba való továbbítása. Könnyen belátható, hogy ezzel a tervezési módszerrel a vizsgálatok végrehajtásához rögtön 50%-os mechanikai energia-nyereségünk adódik.

A nem rideg reflektor maga a folyadék felett található légréteg, amely mint tökéletes reflektor, a sugárzás 100%-át visszaveri a folyadékba, így például állóhullám kialakításában elsődleges szerepe van. A komplett rezonátornak, a vizsgálati folyadékmennyiséggel feltöltött állapotban, 1117kHz frekvencián van rezonancia maximuma.

A tömeg mérésére Precisa 505M-2020C DR SCS, $\pm 0,001\text{g}$ pontosságú analitikai mérleget alkalmaztunk.

Termoelemet és infrahőmérőt alkalmaztunk hőmérsékletmérésre (11., 12. ábra). A termoelemet multiméterhez csatlakoztattuk és számítógéppel regisztráltuk az adatokat az idő függvényében. Mérési lépcsője 1°C , méréstartománya $0\text{-}350^\circ\text{C}$. A termoelemet méréskor a folyadékba helyeztük, mégpedig minden mérés esetében, a 9. ábrának megfelelően, a hangtér hosszanti középtengelyének felső negyedébe került.

Az „Almemo” gyártmányú infrahőmérő $\pm 0,1^\circ\text{C}$ mérési pontosságú, $0\text{-}300^\circ\text{C}$ méréstartományú berendezés. Elhelyezése a kezelt minta felett minden mérés esetében 20cm -re történt, még hozzá a minta mértani középtengelyében. Ennek az elhelyezésnek az oka, hogy a hőmérő mérőzónája egy adott nyílásszöggel rendelkezik, tehát a mérendő zónától való távolság növekedésével egyre nagyobb zóna hőmérsékletét méri, így a pontatlan elhelyezésből mérési pontatlanságok eredhetnek.



11. Ábra: Termoelem alkalmazási elrendezése

12. Ábra: Infrahőmérő alkalmazási elrendezése

Az infrahőmérőt adatgyűjtő alegységen keresztül számítógéppel csatlakoztattuk, amely az adatokat az idő függvényében regisztrálta, illetve adatfájl formátumban eltárolta. Az alkalmazott szoftvert mi írtuk C++ (S/N: CPP1145WW10180) programnyelven. Alkalmaztuk még a LabView (S/N: J10X45461) szoftvert is az adatgyűjtéshez. A végső adatfeldolgozás egyetemi licencű Excel programmal történt.

Vizuális megfigyelési módszert is alkalmaztunk a kavitáció és állóhullám idő

függvényében nyomon követésére, majd a vizuális tapasztalatokat összevetettük a tapasztalt hőmérsékletváltozási jelenségekkel.

3.3.1. AZ ULTRAHANG HŐHATÁSÁNAK VIZSGÁLATI MÓDSZERE

Önállóan vizsgált, illetve szuszpendáló anyagként friss csapvizet alkalmaztunk. A kísérletek alatt a kettős falú üvegedényben lévő vízköpenyt mindig adott hőmérsékleteken tartottuk. Szuszpendált anyagként a „Budafoki Élesztőgyár” által előállított, kereskedelmi forgalomban kapható préselt élesztőt, illetve dolomitport használtunk. A dolomitporban lévő szemcsék 90%-a $d=25\mu\text{m}$, 50%-a $d=10\mu\text{m}$ és 10%-a $d=3\mu\text{m}$ alatt van, és az átlagos szemcsemérete: $\bar{d}=\text{kb.}12\mu\text{m}$, mely térfogattömege $2,85\text{g/cm}^3$. A szemcseméret-eloszlás meghatározására irányuló három párhuzamos vizsgálatot MALVERN Instruments M7 típusú készülékkel végeztettük. A dolomit szemcsék és az élesztő sejtátmérője így összeegyeztethető a fizikai vizsgálatokhoz.

Analitikai mérlegen a szuszpendálendő anyagból, a vizsgálathoz szükséges koncentrációnak megfelelő mennyiséget mértünk be $\pm 0,001\text{g}$ pontossággal. Ezután a lemért szuszpendálendő anyagot hozzáadtuk a szuszpendáló szerként használt megfelelő mennyiségű vízhez. A lombik tartalmát ezután 1-2percig mágneses keverővel homogenizáltuk. A homogén, adott koncentrációjú szuszpenzióból 25ml mennyiséget mértünk be a kezelő berendezésbe. A kezelő berendezést, vagyis az ultrahang sugárzófejet és a hangteret a megfelelő hőmérsékletű vízköpeny segítségével folyamatosan, az aktuálisan elvárt hőmérsékleten tartottuk. Így a 25ml szuszpenzió beöntése után még 3-5perc hő beállási időt alkalmaztunk. A szuszpenzió kezelő berendezésbe való bemérése után az alkalmazott infra, vagy kontakthőmérési módszernek megfelelően, az alkalmazott anyagok és eszközök fejezetben leírt módon helyeztük el a mérőberendezést, illetve a járulékos berendezéseket, a számítógépeket, adatgyűjtő berendezéseket és az adatgyűjtő szoftvereket üzemeltük be.

A hő beállási idő elteltével az 1117kHz frekvenciájú, 9W/cm^2 teljesítményű jelet kezelőedényre csatoltuk. Ettől a pillanattól kezdve a kezelőedényben mind vizuálisan, mind műszeresen nyomon kísértük és dokumentáltuk az akusztikai jelenségeket, illetve a hőmérsékletváltozást. A hőmérsékletmérés az előre eltervezett időszakon keresztül folyt, majd az erősítést a hőmérés után megszüntettük és elmostuk a kezelőedényt.

Kísérleteink során az élesztő és a dolomit szuszpenziókat 10 és 20g/l

koncentrációk és 0-60°C hőmérsékletű vízköpeny mellett vizsgáltuk. Három kísérletsorozatot végeztünk, melyből az első, a 10g/l koncentrációjú élesztő szuszpenzió, 0-60°C tartományban, 10°C vízköpeny hőmérsékleti lépcső melletti hőmérsékletváltozási analízisét jelentette, a második sorozatban ugyanezt vizsgáltuk 20g/l élesztőgomba koncentráció mellett. A harmadikban pedig dolomit szuszpenziókat vizsgáltunk, illetve élesztő-dolomit szuszpenziókat a fenti koncentrációkkal.

A vizsgálatok során minden hőmérsékleti lépcső mellett külön felvettük a víz és külön az adott koncentrációjú szuszpenzió hőmérsékletváltozását. Ennek segítségével, az eredményeket táblázatos és grafikonos formában dolgoztuk fel. A „nyers” hőmérsékletmérési értékeket mutató diagramokat „szono-termogram”-nak, az adott állandó hőmérséklet mellett, a tiszta víz ultrahangos kezelés alatti hőmérséklet értékeiből kivont, minden adott kezelési időpillanatra vonatkozó szuszpenzió hőmérsékleti értékeit pedig „differenciál szono-termogram”-nak neveztük el. A differenciál szono-termogram megmutathatja, hogy mely kezelési tartományokban mekkora a különbség a víz és a szuszpenzió hőmérséklete között adott kezelési időszak elteltével. Továbbá a differenciál szono-termogram megmutathatja azt, hogy milyen akusztikai jelenségek játszódtak le az ultrahangos kezelés alatt az anyagban. A differenciál szono-termogramokat kísérletsorozatokban, illetve az egyes kísérletsorozatok között hasonlítottuk össze.

3.4. AKUSZTIKAI JELENSÉGEK KIALAKULÁSÁNAK VIZSGÁLATA

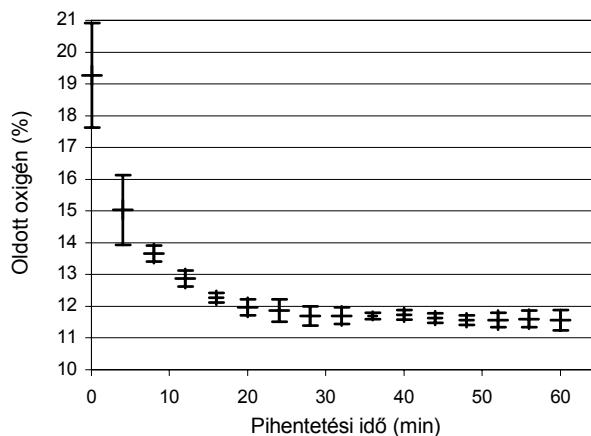
3.4.1. KEZELŐ BERENDEZÉSEK

Az alkalmazott ultrahangrendszer jelgenerátora és erősítője megegyezik a 3.3. fejezetben ismertetettel. A kísérletekhez szinusz jelformát használtunk, 1,117MHz frekvencián, 0-12W/cm² teljesítménnyel.

3.4.2. VIZSGÁLT SZUSZPENZIÓ

Szuszpendáló szerként ½-1óra időintervallumon keresztül pihentetett csapvizet használtunk, melyet 20°C hőmérsékletű, nem rázatott vízfürdőben pihentettünk. A víz oldott oxigén tartalmának, mint potenciális kavitációs magnak a változását, New Brunswick Scientific BIOFLOW III fermentorhoz tartozó 12mm átmérőjű „Ingold” típusú oldott oxigénmérővel követtük, melynek az idő függvényében a fent ismertetett

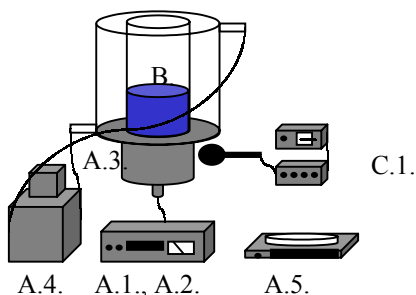
körülmények közötti eredménye a 13. ábrán látható. Megfigyelhető, hogy a nagyon eltérő kiinduló oxigén tartalmú vízminták között, az alkalmazott pihentetési időintervallum után, $\pm 0,5\%$ -nál kisebb oldott oxigén tartalom eltérés mutatkozott, ami a kísérletek reprodukálhatóságának egyik alapfeltétele volt. A pihentetett vízminták oldott oxigéntartalma 20°C hőmérsékleten $11-12\%$ közé csökkent és onnan tovább már nem változott. A mért százalékos értékeket úgy kell értelmezni, hogy az oxigénmérő 100% -os analitikai tisztaságú oxigénnel majd hidrogénnel és végül 0% -os mérő nélküli kalibrációja után a 100% telítettséghez képesti folyadékbeli oxigéntelítettség százalékos értékéről van szó. E méréssel a szuszpendáló szer alkalmazhatóságát bizonyítjuk. Szuszpendált anyagként liofilizált és préselt *Saccharomyces cerevisiae* péklesztőgombát, illetve az élesztővel megegyező átlagos átmérőjű dolomitszemcséket alkalmaztunk, amelyeket a 3.3. fejezetben is alkalmaztunk.



13. Ábra: A szuszpendáló víz oldott oxigén tartalmának alakulása 20°C hőmérsékleten

3.4.3. KAVITÁCIÓS ZAJ VIZSGÁLATA

Veit (1977) szerint a kavitáció akusztikailag zajként jelentkezik, ami mikrofonnal felvehető és elemezhető. A kavitációs zaj vizsgálati módszerünk ezen alapult. A műszeres kavitációs zaj elemző rendszer részei a mikrofon, az erősítő és az oszcilloszkóp voltak. A kondenzátormikrofont az ultrahang sugárzófej külső részén a beeső ultrahang sugárra merőlegesen rögzítettük, a 14. ábra szerint. Az elemzési eljárás célja, az objektivitás, attól függetlenül, hogy a kavitáció zaja jól hallható.



14. Ábra: Akusztikai jelenség vizsgáló rendszer

(A.1., A.2. ultrahang frekvencia generátor és erősítő, A.3. ultrahang rezonátor, A.4. vízfürdő, A.5. analitikai mérleg, B. kísérleti minta, hangtér, C.1. analóg kavitációs zajjelző egység).

Az oszcilloszkóp képernyőjén kísérhettük figyelemmel a jelintenzitást és hullámformát. Ha a vizsgálat előtt kalibrációt végeztünk és kijelöltük a monitoron a kavitációmentes háttérzaj és a kavitációs zaj jelszintjét, ezzel a kialakuló, vagy megszűnő kavitációt objektíven követhettük.

Az állóhullámot és az akusztikai áramlást vizuálisan vizsgáltuk a hangtérben, mivel többek között Saad és Williams (1985) is rámutattak, hogy ultrahang által kiváltott kavitáció miatt folyadékban vizuálisan megfigyelhető akusztikai áramlások alakulnak ki. Wathmough et al. (1990) szintén akusztikai áramlás miatti folyadékkeveredést tapasztaltak a hangtérben. Church és Miller (1983) kísérletében pedig azt tapasztalta, hogy az állóhullám eredményeként a sejtek és a buborékok egymástól elkülönülten rétegződtek. Ezáltal a kavitáció, az akusztikai áramlás és az állóhullám vizuálisan megfigyelhető jelenségek.

3.4.4. KAVITÁCIÓS HATÁRKONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSA

3.4.4.1. KAVITÁCIÓS HATÁRKONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSÁNAK ALAPMÓDSZERE

A 25ml, ½-1órán keresztül pihentetett csapvizet töltöttünk be a kezelőedénybe. A hangteret folyamatosan 20°C hőmérsékleten tartottuk, állandó hőmérsékletű vízköpeny segítségével. Analitikai mérlegen bemérő kanálra, a mintából 0,5-1g mennyiséget mértünk be $\pm 0,001\text{g}$ pontossággal. Bekapcsoltuk a hangtér jelenségeit elemző

berendezéseket. Sugárzófejre csatlakoztattuk az ultrahangot, a tiszta vízben megindult a kavitáció, vizsgálhatóvá vált a kavitációs zaj. A bemérő kanál segítségével elkezdtük beadagolni a szuszpendálható szemcséket. A beadagolás addig tartott, amíg a műszeresen elemzett kavitációs zaj meg nem szűnt. Ez a kavitációs határkoncentráció. A kavitációs határkoncentráció meghatározásához, a fogyott anyagmennyiséget analitikai mérleggel $\pm 0,001\text{g}$ pontossággal visszamértük. A kísérleteket minden mintánál, minden teljesítményszinten négyszer megismételtük.

3.4.4.2. KIEGÉSZÍTŐ MÓDSZER KAVITÁCIÓS HATÁRKONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSÁRA

Alkalmazásának célja, hogy az alapló módszer kavitációs küszöb eredményeit tovább pontosítsuk közelítő módszer segítségével. Az alapló módszer segítségével kapott kavitációs határkoncentráció alatti és feletti tömegbeméréssel megközelítettük a kavitációs határkoncentrációt. Ha három, egymástól maximum 2mg-ban különböző szuszpendált minta közül a középső minta esetében, az ultrahang bekapcsolása után 2 másodpercen belül beindult a kavitáció, az alatta lévő tömegnél azonnal, a felette lévőnél jóval később, akkor ismertnek tekintettük a kavitációs határkoncentrációt a középső és alsó mintatömeg átlagára vonatkozóan.

3.4.5. KAVITÁCIÓ KIALAKULÁSI IDŐINTERVALLUM VIZSGÁLATA

A hangtérbe 25ml 20°C-os pihentetett csapvizet töltöttünk. A különböző típusú szemcsék esetében, a kavitáció kialakulási időintervallumot, minden egyes kezelési teljesítmény szinten a kiegészítő módszer segítségével mért kavitációs határkoncentráció értékek 1,5-szeres mennyiségének hangtérbe adagolásával vizsgáltuk. E mennyiség alkalmazásánál azt követtük, hogy mivel új megfigyelés és módszer kidolgozása történt, ne távolodjunk el túlzottan az ismert kavitációs határkoncentrációtól, mivel ekkor nagy lenne annak a kockázata, hogy nem tudnánk, mi történik a két távoli koncentráció között az akusztikai jelenségek alakulásával. A szemcséket tehát az aktuális kiegészítő vizsgálatból származó kavitációs határkoncentrációra mért értéknek 1,5-szeres mennyiségében, a hangtérben előszuszpendáltattuk, majd a keverő hangtérből való eltávolítása után az aktuális kavitációs határkoncentrációnál alkalmazott teljesítménnyel

meg egyező teljesítményt kapcsoltuk a sugárzófejre. Az ultrahang bekapcsolásától a kavitáció kialakulási időpillanatig eltelt időintervallum a kavitáció kialakulási időintervallum. A vizsgálatokat négy ismétléssel végeztük.

3.4.6. KÍSÉRLETI TERV

1,117MHz frekvencián meghatároztuk a különböző szuszpendált szemcsékre vonatkozó „kavitációs határkoncentráció” értékeket, g/25ml és ebből g/l koncentrációra, 3, 6, 9 és 12W/cm² teljesítmény mellett, 20°C hőmérsékleten, az alap majd a kiegészítő módszer segítségével. A kiegészítő vizsgálatból kapott határkoncentráció 1,5-szeres mennyiségének felhasználásával a „kavitáció kialakulási időintervallum” vizsgálatát végeztük.

3.5. PUSZTULÁSI DINAMIKA MEGHATÁROZÁSA AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK FÜGGVÉNYÉBEN

3.5.1. KEZELŐ BERENDEZÉSEK

Az ultrahangkezelést ugyanazzal a berendezéssel végeztük, mint amit a 3.3. és 3.4. fejezetben alkalmaztunk (Lőrincz, 2004^a).

3.5.2. SZUSZPENZIÓ

Szuszpendáló szerként ½-1órán keresztül pihentetett, 20°C hőmérsékletű csapvizet használtunk. Szuszpendált anyagként háztartási liofilizált *Saccharomyces cerevisiae* pékélesztőgombát alkalmaztunk.

3.5.3. AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK ÉS A SEJTBiológiai HATÁSOK VIZSGÁLATA

A vizsgálatok alatt a kavitációs zajt, a 3.4.3. fejezetben ismertetett módon, kondenzátormikrofon, erősítő és oszcilloszkóp segítségével vizsgáltuk. A vizuális módon a megfigyelhető akusztikai jelenségeket, az állóhullámot, az akusztikai áramlást és a folyadéksugár kialakulását a kezelési idő függvényében folyamatosan nyomon kísértük.

Az élesztő kezelés alatti életképesség változását metilénkék vitálisfestéssel vizsgáltuk, a képeket biológiai mikroszkópra szerelt CCD kamerán keresztül számítógéppel rögzítettük.

3.5.4. KÍSÉRLETI TERV

A biológiai hatás és akusztikai jelenség vizsgálatokhoz a liofilizált élesztőre előzetesen a 3.4. fejezet szerint 1,117MHz frekvencián, 9W/cm² teljesítmény mellett, 20°C hőmérsékleten, kiegészítő módszer segítségével meghatározott, kavitációs határkoncentráció eredményeit használtuk fel.

A kiegészítő vizsgálatból kapott kavitációs határkoncentráció többszörös (1; 1,5; 1,7; 2,2; 3.) mennyiségeinek felhasználásával került sor az „állóhullám kialakulási időpillanat”, a „kavitáció kialakulási időpillanat”, és a biológiai hatások vizsgálatára, szimultán módon.

3.5.5. VITÁLIS SEJTSZÁM ÉS A HANGTÉR AKUSZTIKAI JELENSÉGEINEK SZIMULTÁN VIZSGÁLATA

Az ultrahang sejtroncsoló hatásai a szakirodalom szerint azonnal jelentkeznek a sejteken. A hangtérbe, a kísérleti tervben meghatározott koncentráció elérése érdekében, 25ml mennyiségű szuszpendáló szerbe megfelelő mennyiségű biológiai anyagot szuszpendáltunk bekeveréssel, majd a keverőt eltávolítottuk onnan. Ezután három csepp 1% töménységű metilénkék oldatot cseppentettünk a hangtérbe. Az ultrahang bekapcsolásának pillanatában egy mintázó órával mérni kezdtük; majd 15 másodpercenként 0,05ml mennyiségű mintákat vettünk a kezelt szuszpenzióból, ebből vizsgáltuk a relatív élősejtszámot a látóterenkénti világos és festődött sejtek számarányának meghatározásával, minden minta esetében a megfelelő konfidencia intervallum elérése érdekében legalább mintánkénti 15 látótér leszámolásával és átlagolásával. A mintavételeket a hangtér akusztikai hullámjelenségeinek állandósult állapotáig végeztük.

Stopperórával, mértük a kísérletek beindításától az állóhullám kialakulásáig, illetve a kavitáció kialakulásáig, vagyis a műszeresen vizsgálható kavitációs hang megjelenéséig eltelt időt.

Deák (1997) szerint meghatároztuk a „D” tizedelési időintervallum és a „k” fajlagos pusztulási sebesség értékeket, az egyes kísérletek különböző akusztikai jelenségszakaszaira, majd ábrázoltuk a túlélési görbéket.

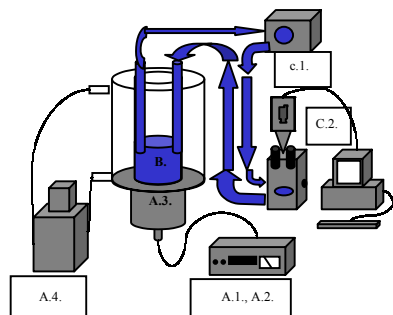
3.6. SEJTANALITIKAI ELJÁRÁSOK

A sejtanalitikai eljárásaink analóg és digitális elvet követnek. A vizsgálatok alapja, a teljesítmény, a frekvencia, a kísérleti felépítmény, az alkalmazott sejtkoncentráció megegyezik 3.5. fejezetben leírtakkal.

A kezelt szuszpenzióból folyamatosan mintát vettünk, majd a mintát detektor egységbe vittük és a detektorból érkező jelet műszeresen analizáltuk, analóg, vagy digitális módon.

3.6.1. ANALÓG SEJTANALÍZIS

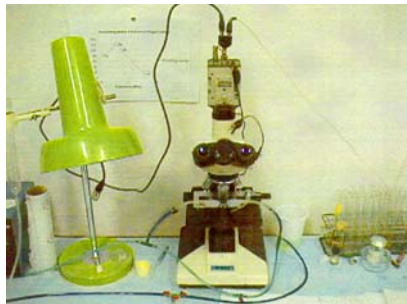
Az analóg sejtanalitikai rendszer, a 3.5. fejezetnél is alkalmazott kezelőedényben lévő szuszpenzióból áll, amiből egy kivezető folyadékágon keresztül perisztaltikus szivattyú segítségével állandó áramlási sebesség mellett folyadékot szivattyúztunk ki, illetve az analízis után azt egy másik ágon folyamatosan visszavezettük (15. ábra).



15. Ábra: Sejtanalitikai rendszer sematikus ábrája

(A.1., A.2. jelgenerátor és ultrahang erősítő, A.3. ultrahang sugárzófej, A.4. vízfürdő, B. hangtér, vagy szuszpenzió, C.1. perisztaltikus szivattyú a folyadékáramoltatásos rendszerrel, C.2. optikai átfolyó küvettával ellátott biológiai mikroszkópra szerelt CCD kamera a jelfeldolgozó számítógéppel.)

A kivezetett folyadékot optikai átfolyóküvetába vezettük, amely 10mm átmérőjű, korong alakú, üreges kvarc küvetta, mely kialakítását tekintve megegyezik a 7. ábrán bemutatott ultrahangos kezelő küvetával, melyben a kezelt szuszpenzió áramlik (Lőrincz, 2004^b). Detektorként biológiai mikroszkópot alkalmaztunk, melyre CCD kamerát szereltünk (16. Ábra).

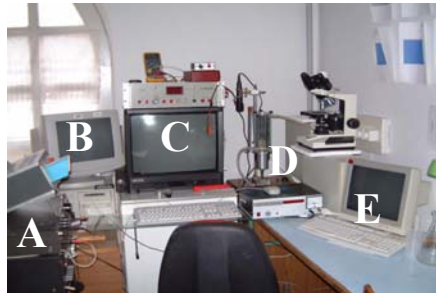


16. Ábra: Detektorként használt biológiai mikroszkóp

A küvetában áramló sejtek 1000-szeresre nagyított képe jutott el a kamerába. A folyadékáramoltatás, és az egyszerre sok sejtet befogadó látótér jó lehetőséget biztosít egy számláló célműszernek ahhoz, hogy az élő sejszám változásáról állandó objektív adatokat biztosítson. A kamerából a jel két irányban jutott tovább. Az egyik a számítógép, a másik az álszín kódoló. Az archiváló számítógép egyetemi licencű Windows operációs rendszerrel, és videokártyával rendelkezik.

Az álszín kódoló mesterséges látásra fejlesztett rendszer, melyet a NASA az EUREKA programban égitestek és egyéb mesterséges objektumok felkutatására alkalmazott. Az álszín kódoló a teljes ultrahangrendszert mutató 17. ábrán az RGB bontó televízió tetején, illetve az általa közvetített kép a II. melléklet 5. ábráján látható. A műszer a fény visszaverődése, így a szűrkeségi fokok alapján tesz különbséget az objektumok között. A túlélő sejszám változása vitális festés által, a pusztuló sejtek folyamatos kék elszíneződése, elszürkülése miatt követhetővé válik, melyből viszonyszámok adódnak. Ezek a viszonyszámok egy kalibráló sor felvétele után alkalmasak arra, hogy a mikroorganizmusok térfogat egységenkénti túlélő, vagy pusztulási számát pontosan megadják. A viszonyszámokat elektronikai elven egyenfeszültség jellé alakítottuk át és így a jelfeldolgozás a valós időben műszeresen is

megvalósulhatott. Az álszín kódolótól érkező egyenfeszültség jelet az idő függvényében analóg plotter, illetve adatgyűjtő multiméteren keresztül számítógéppel értékeltük.



17. Ábra: Sejtanalitikai rendszer az álszín kódolóval

(A. Analóg kavitáció detektor rendszer, B. Digitális sejtanalitikai rendszer, C. Analóg sejtanalitikai rendszer, D. Ultrahang rendszer, E. Hőhatás vizsgáló rendszer)

3.6.2. DIGITÁLIS SEJTANALÍZIS

A digitális sejtanalízis elve, hogy a detektorból érkező képet adott időközönként CCD kamerával fájl formában lefényképezve (archiválva), a fényképeket egy képanalizáló szoftver segítségével értékelve kaptuk meg az eredményt. A képek feldolgozásához az „IDRISI” (ID: 63473) professzionális térinformatikai szoftvert alkalmaztuk, melynek segítségével lehetőségünk volt a bevitt, maximum 8bit színmélységű, bitmap (BMP) fájlformátumú képet szűrkeségi fokokra bontani. Így a túlélés hisztogram-szerűen dolgozható fel, és kalibráció alapján lehetőség van a pusztulás időbeli mértékének meghatározására, hisztogram segítségével.

3.7. *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* HNCMB170001 FELTÉTELESEN KÓROKOZÓ BAKTÉRIUMTÖRZS ULTRAHANGKEZELÉSÉNEK ANYAGA ÉS MÓDSZERE

Elsőként a liofilizált baktériumtörzset felélesztettük, majd beállítottuk a kívánt sejt koncentrációkat, ezután a kiinduló sejt koncentrációval kontrollvizsgálatot végeztünk, illetve a beállított, kiinduló sejt koncentrációjú mintákon elvégeztük az ultrahangos kezeléseket és ezután a kezelt minták kicsíráztatását és az eredményeket a szabványos módszerrel kiértékeltek.

A kísérletek elvégzése során arra törekedtünk, hogy a 3.5. fejezetben leírt

kísérleti körülményektől semmiben ne térjünk el. Így hasonló abszolút sejtkoncentrációkat állítottunk be, hasonló frekvenciát, hűtőhőmérsékletet, kezelt szuszpenzió mennyiséget alkalmaztunk, hasonlóképpen vizsgáltuk a kísérletek folyamán kialakult akusztikai jelenségeket. A túlélő sejtszámot, vagyis a mikrobiológiai vizsgálatokat a Nyugat-Magyarországi Egyetem, Élelmiszertudományi Intézetének DAR akreditációval rendelkező patogén laboratóriumában végeztük, mikrobiológus irányítása és felügyelete mellett.

3.7.1. A REFERENCIATÖRZS FELÉLESZTÉSE

Referenciatörzsként Rt14 *Pseudomonas aeruginosa* HNCMB170001 feltételesen kórokozó baktériumtörzset alkalmaztunk, amit az OKI-tól szereztünk be liofilizált formátumban. A liofilizált törzset GSP táptalajon revitalizáltuk

3.7.2. SEJTKONCENTRÁCIÓ BEÁLLÍTÁSA

A sejtkoncentrációt „DENSIMAT” műszerrel állítottuk be, amely minták élősejtszámát azután összcsíraszám meghatározással kontroláltuk. A koncentráció eredményt McFarland fokban kaptuk, amit kalibráló skálán keresztül baktérium koncentrációra váltottunk át. A hígításokat minden esetben 0,85% koncentrációjú nátrium-klorid (NaCl) tartalmú peptonvízzel végeztük, a L 03.00-1 szabvány szerint.

3.7.3. *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* HNCMB170001 BAKTÉRIUMTÖRZS ÉLŐSEJTSZÁM MEGHATÁROZÁSA, ÖSSZCSÍRASZÁM MEGHATÁROZÁSSAL

Az élősejtszám meghatározását az ÉTI-ML-SOP-VU-FM-01-A/2 ref.: L06.00-18 szabvány alapján végeztük, melynek címe a „Vizsgálati utasítás az *aerob csíraszám* meghatározásához 30°C-on húsból és húskészítményekből”.

A vizsgálat elve, hogy a vizsgálandó mintából decimális hígítási sort kell készíteni, majd annak tagjaiból 1-1ml mennyiséget Petri-csészékbe kell pipettázni, majd Plate-Count agarral egyenletesen elkeverni. A lemezeket 72 órán át 30°C-on kell inkubálni aerob körülmények között, majd a fejlődött telepeket megszámlálni és azt a minta ml-ére vonatkoztatni. Az alkalmazott táptalaj, Plate-Count Agar elkészítését SOP-03-1/3 szerint kell végezni, jelesül az ÉTI-ML-SOP-03 szabvány szerint. Az inkubálás

után telepszámlálást végeztünk és azokat a lemezeket vettük figyelembe, ahol a telepek száma 20-300 közötti volt. A csíraszám számítását az értékelhető lemezek telepszámának súlyozott átlagaként kell számolni a következő [16]. képlet alapján:

$$C = ((\Sigma C) / (n_1 + 0,1n_2)) * d, \text{ ahol } [16].$$

C a telepszám súlyozott középértéke, ΣC a számításba bevont valamennyi lemez telepeinek összege, n_1 a legalacsonyabb kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma, n_2 a következő kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma, d a legkisebb kiértékelt hígítási szint hígítási faktora.

3.7.4. KONTROLLVIZSGÁLAT

Célja a kiinduló sejt koncentráció ismeretében a kiinduló élősejtszám meghatározása. A kontrollvizsgálatokat a sejtszuszpenziók kezelésének megkezdése előtt a 3.7.3. pont szerint végeztük.

3.7.5. MINTÁK KEZELÉSE

Ismert kiinduló sejt koncentrációjú sejtszuszpenziókból végeztük az ultrahangkezeléseket 25ml mintánkénti kezelt mennyiségekkel. Az 1, 2, 3, 5, 8 és 15 percen keresztül kezelt, 25ml mennyiségű mintákból 1ml mennyiséget vettünk ki Plate Count táptalajos csíráztatásra, vagyis élősejtszám meghatározásra, a milliliterenkénti túlélő csíraszám vizsgálatokhoz. A kezeléseket csak úgy lehetett kivitelezni a 3.5. kísérletsorozattal való azonosság miatt, hogy ha sarzsokat képeztünk és ellenőrzöttén azonos kiinduló élősejtszámú mintákból indultunk ki, az adott mintavételi időpillanatban leállítottuk a kezelést, a rendszert ismét előkészítettük, majd újra kezeltük az előzővel megegyező kiinduló csíraszámú és élősejtszámú mintát, most már a következő mintavételi időpillanatig és így tovább a kívánt maximális kezelési időintervallumig. Erre azért volt szükség, mert minden mintavételi időpillanatban 1ml mintamennyiséget távolítottunk el a kezelt anyagból a mikroorganizmus törzs kicsíráztatásának céljára. Emiatt az eredeti 25ml kezelt mennyiségből a következő időpillanatig eltelt időintervallumon már nem lettek volna azonosak a kísérleti körülmények a 3.5. kísérletsorozattal, mivel ott 0,05ml-es mintamennyiségek mintánkénti kivételével nem

befolyásoltuk nagymértékben a hangteret.

A vizsgálatokat a 3.5.4. pontban feltüntetett, élesztőgombára vonatkozó kavitációs határkoncentráció értékek többszörös mennyiségeinek megfelelő csíra/ml koncentrációkkal, 9 és 6W/cm² ultrahang teljesítményeken végeztük úgy, hogy az öt különböző sejtkoncentrációnál 9W/cm² teljesítménnyel és a legalacsonyabb és legmagasabb sejtkoncentrációknál 6W/cm² teljesítménnyel is elvégeztük a kezeléseket.

3.8. AZ ULTRAHANG SZELEKTÍV SEJTBIOLOGIAI HATÁSA

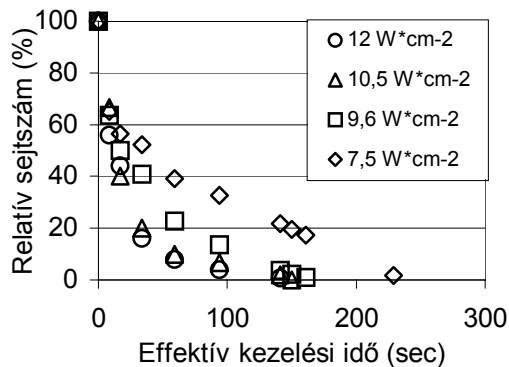
Végső vizsgálatként a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba és a *Pseudomonas aeruginosa* baktérium esetében összevetettük a túlélési- és rezisztenciagörbéket, az alkalmazott teljesítmények és a koncentrációk függvényében, majd felrajzoltuk a rezisztenciasíkokat és meghatároztuk a szelektív ultrahanghatás kritériumait egy fajon belül és a fajok között.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS KÍSÉRLETSOROZAT EREDMÉNYEI

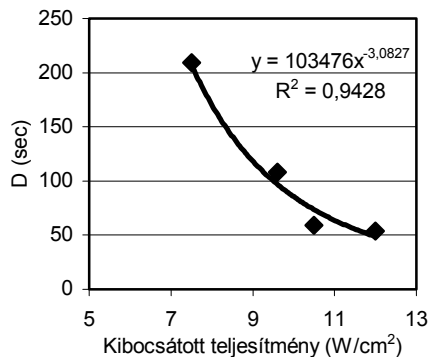
4.1.1. SEJTRONCSOLÓ HATÁS

A 18. ábrán az effektív kezelési idő függvényében a relatív túlélő sejtszámok láthatóak az egyes ultrahang teljesítményeknél. A kezelés folyamán kialakult abszolút és relatív élősejtszámok a VII. melléklet 1. táblázatában, a „D” tizedelési idők és a „k” pusztulási sebesség értékek pedig a VII. melléklet 2. táblázatban láthatóak.



18. Ábra: Élesztő sejtszám változása az effektív kezelési idő és a kibocsátott teljesítmény függvényében

A 18. ábrán látható, hogy a nagyobb teljesítményű ultrahangkezelés hatására gyorsabb sejtkárosítás mutatkozik (Neményi & Lőrincz, 2002^b). A 19. ábra a tizedelési idők kisugárzott teljesítmény függvényében való változását mutatja be.

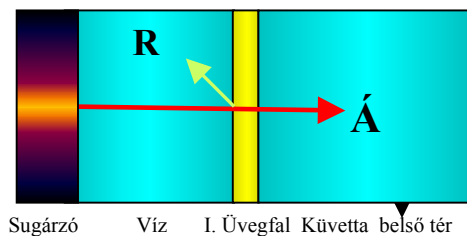


19. Ábra: „D” értékek alakulása a kibocsátott ultrahang teljesítmények függvényében

A 19. ábrán az látszik, hogy a nagyobb kisugárzott teljesítményeken a sejtszámok csökkenése az idő függvényében sokkal gyorsabb, vagyis a tizedelési idő sokkal rövidebb. Az ultrahang tehát a teljesítménye függvényében intenzíven befolyásolta a sejtek túlélését (Neményi & Lőrincz, 2001^{a,b}).

4.1.2. INTENZITÁSVÁLTOZÁS FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS RENDSZERBEN

A 13. képlet alapján meghatároztuk a kivetta kezelőterébe (20. ábra) jutó ultrahang intenzitás relatív értékét. Ebből illetve az ismert kibocsátott intenzitások alapján meghatároztuk az effektív küvettába jutó intenzitást (Lőrincz & Neményi, 2001^{a,b} és Lakatos et al., 2002). A számításnál az abszorpciót nem vettük (Neményi et al., 2003) figyelembe elhanyagolhatóan kis értéke miatt (kvarcüvegben 0,7dB/m, ami 0,0001m-en 0,00007dB, vízben 0,9dB/m ami 0,1m-en 0,09dB ezek pedig a 130dB körüli kibocsátott intenzitások mellett elhanyagolható értékek.)



20. Ábra: A sugárzó és az ultrahangos kezelő küvetta (R =reflexiós fok, \hat{A} =átbocsátási fok)

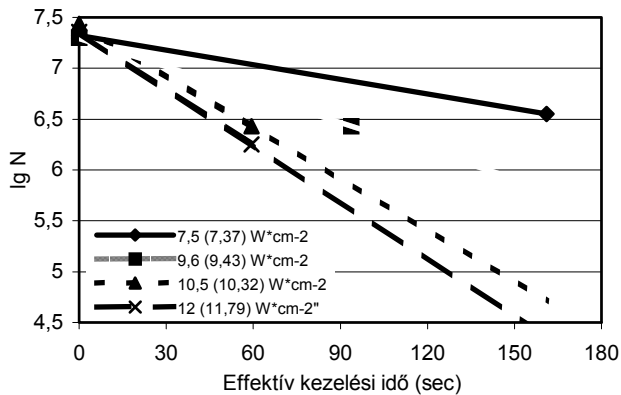
A vízbe merülő adott geometriájú kvarclemezen kialakuló visszaverődési fok 1,66%, ebből az át bocsátási fok 98,34%, innen az 1. táblázatban, a kisugárzott ultrahang intenzitások függvényében a küvettába jutó ultrahang intenzitásokat mutatja.

1. Táblázat: A küvetta belsejébe bejutó intenzitás értékek

Kibocsátott ultrahang intenzitás	Küvettába jutó ultrahang intenzitás
7,5W/cm ²	7,37W/cm ²
9,6W/cm ²	9,43W/cm ²
10,5W/cm ²	10,32W/cm ²
12W/cm ²	11,79W/cm ²

4.1.3. MIKROBIOLÓGIAI ELEMZÉS PUSZTULÁSI DINAMIKÁRA

Felrajzoltuk a különböző kisugárzott és küvettába jutó ultrahang teljesítményekhez tartozó túlélési görbéket (21. ábra).



21. Ábra: Az élesztő túlélési görbéi különböző teljesítményszinteken (N= élősejtszám)

A hőpusztulás analógiájára meghatároztuk a „z” értéket, vagyis a tizedelési időintervallum értékek tizedére csökkenéséhez szükséges ultrahang teljesítményváltozást, a tizedelési időintervallum és küvettába jutott teljesítmény értékek alapján, a [10]. egyenlet átalakításával, a [17]. egyenlet szerint:

$$Q = D_1/D_2, \quad [17.]$$

ahol D_1 az alacsonyabb, D_2 a magasabb ultrahang teljesítményhez tartozó tizedelési idő érték és a Q innen a pusztulási sebesség ultrahang teljesítmény koefficiense. Ebből a „z” érték meghatározását a [11.] egyenlet átalakításával a [18.] egyenletből kaptuk:

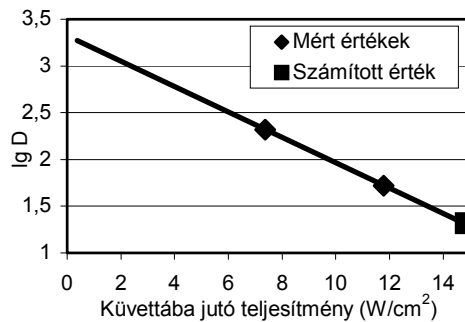
$$z = (P_2 - P_1) / \lg Q, [18.]$$

ahol P_2 a magasabb, P_1 az alacsonyabb ultrahang intenzitás, vagy teljesítmény. Ha behelyettesítjük a mért tizedelési és teljesítmény sarokértékeket, a következő értékhez jutunk:

$$Q = 209,36/53,65 = \underline{3,9} \text{ és}$$

$$z = (11,79 - 7,37) / \lg 3,9 = 1,14 / 0,589 = 7,47$$

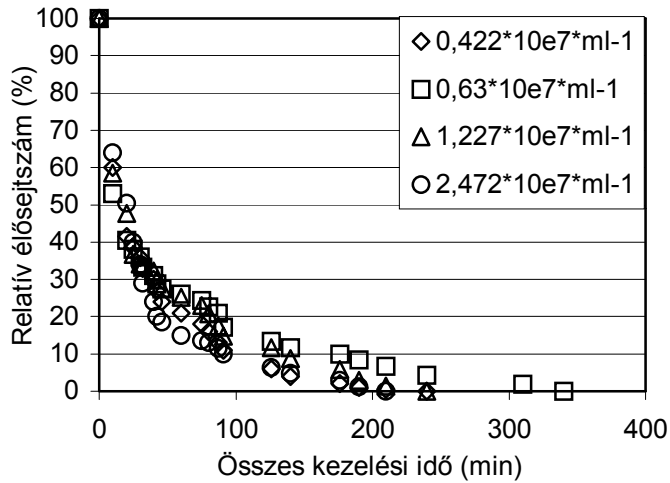
ahol 3,9 azt jelenti, hogy a 4,42W küvetta belsejébe jutó ultrahang teljesítménynövekmény miatt, vagyis a kibocsátott teljesítményt 7,5W/cm²-ről 12W/cm²-re növelve a D tizedelési érték az alacsonyabb teljesítményhez tartozó D érték 3,9-ed részére csökken. A 7,47 érték pedig azt jelenti, hogy (11,79-7,37=4,42), azaz 4,42W/cm²+7,47W/cm²=11,89W/cm² teljesítménynövekményre a D érték a tizedére csökken, az alacsonyabb (7,37W/cm²) teljesítményre jellemző D értékhez képest. A 7,37W/cm² küvetába jutó ultrahang teljesítményhez 209,36sec, 11,79W/cm²-hez 53,65sec effektív tizedelési idő tartozik, illetve így 7,37W/cm²+7,47W/cm²=14,84W/cm²-hez 20,9sec tizedelési idő tartozhat. A 22. ábrán az élesztő ultrahang rezisztenciagörbáját ábrázoltuk. Az élesztő pusztulási görbéje TDT= D*10 esetén úgy alakul, hogy a 22. ábrán látható pontok lgD+1-el feljebb kerülnek, a görbe meredeksége nem változik.



22. Ábra: Az élesztő rezisztenciagörbéje az ultrahangra („D” másodpercben)

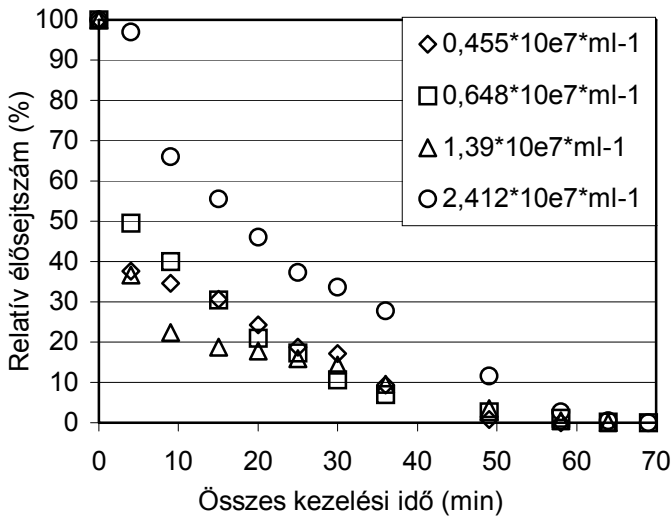
4.2. NEM ÁLLANDÓ HŐMÉRSÉKLETŰ ULTRAHANG SUGÁRZÓFEJJELEL VÉGZETT KÍSÉRLETEK EREDMÉNYEI

A 6,5W kisugárzott teljesítménnyel, vagyis 2,07W/cm² felületre eső teljesítménnyel kezelt különböző koncentrációjú sejtszuszpenziók túlélése relatív sejszámokra a 23. ábrán, a 8,5W kisugárzott teljesítményre, vagyis 2,7W/cm² felületre eső teljesítményre a 24. ábrán láthatóak.



23. Ábra: 2,07W/cm² melletti relatív élő sejtszám alakulás

A magasabb kiinduló sejtszuszpenzió koncentrációk esetén általában, viszont az alacsonyabb teljesítményszinteken mindig hosszabb időszakot igényel a kiinduló élő sejtszámok hasonló mértékű csökkenése.

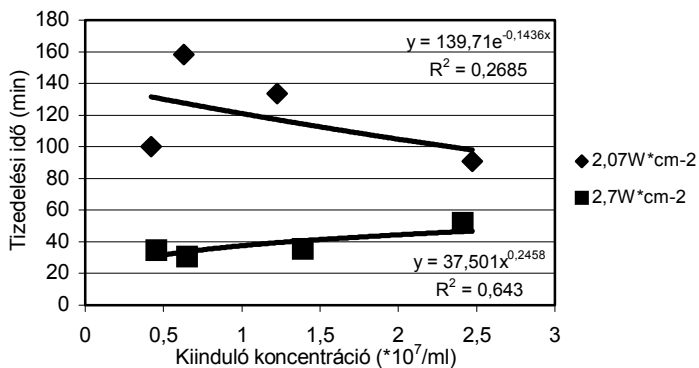


24. Ábra: 2,7W/cm² melletti relatív élő sejtszám alakulás

Megfigyelhető, hogy a 2,7W/cm² felületre eső teljesítményhez tartozó

kezeléseknél a $2,41 \cdot 10^7/\text{ml}$ sejtszám esetében a kezelés kezdetén „lankásabb” pusztulási zóna van, mert a kavitáció öt percet késett, az összes többi esetben a kavitáció dominált. A fenti tapasztalatunk alapján egyetértünk Rooney (1970) és Miller és Williams (1989) kijelentéseivel, hogy a pusztulási dinamika alakulása használható a kavitáció detektálásra is. A $2,07\text{W}/\text{cm}^2$ felületre eső teljesítményhez tartozó kezelések sejtszám értékeinek ábrázolásakor az 50-85. percben, az egyes eltérő kiinduló sejtkoncentrációjú minták esetében nagyon hasonló túlélési dinamikát mutatnak, a gyors élő sejtszám csökkenési szakasz után lassabb pusztulás, majd utána ismét egy gyorsabb pusztulási szakasz látható. A görbék tapasztalataink szerint tehát több huzamúak lehetnek, hasonlóan Thacker (1973) megfigyeléséhez.

A tizedelési időintervallumok meghatározását szintén Deák (1997) szerint végeztük, melyhez felhasznált adatok a VII. melléklet 3. 4. és 5. táblázatban találhatóak. A különböző teljesítményszintekhez tartozó kezelések különböző kiinduló koncentrációjú mintáinak tizedelési időintervallum értékeinek ábrázolása a 25. ábrát adja.



25. Ábra: 2,07 és 2,7W/cm² teljesítményszinten végzett különböző kiinduló koncentrációval rendelkező mintákon végzett kísérletek tizedelési időintervallumainak alakulásai

A 25. ábra alapján látható, hogy az alkalmazott teljesítmények nagymértékben befolyásolták a túlélés dinamikáját. A magasabb teljesítmény szintekhez jóval alacsonyabb tizedelési időintervallumok tartoznak. A $2,7\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítményszinthez tartozó tizedelési időintervallum értékek 30-52 perc körüli értéket mutatnak, melyek az alkalmazott koncentráció növekedésével kismértékben növekvő tendenciájúak. A $6,5\text{W}$

kisugárzott teljesítményszinthez, vagyis $2,07\text{W}/\text{cm}^2$ felületre eső teljesítményhez tartozó „D” értékek 158-91 perc körüli tizedelési időintervallum értékeket adtak, csökkenve a növekvő kiinduló sejtkoncentrációval.

A nem állandó hőmérsékletű berendezéssel végzett kísérletek tizedelőési időintervallum eredményeit a 22. ábrából várható értékekkel az azonos kezelt mennyiségek alapján összehasonlítva, látható, hogy a $2,7\text{W}/\text{cm}^2$ -nál kapott 30perc körüli értékek a 22. ábrából várható értékeknél némileg magasabbak, de arányaikban annak megfelelőek. Viszont $2,07\text{W}/\text{cm}^2$ -nél kapott 100perc körüli értékek a várhatónak több mint a dupláit, így itt szóba jöhet a sugárzótér térintenzitásának egyenetlensége, az ultrahang hővesztesége, illetve az, hogy az alacsonyabb intenzitás gyengébb akusztikai áramlást produkál, így a sejteknek a „holttérből” a magas intenzitású akusztikai zónába történő szállítása valószínű, hogy nem volt biztosított megfelelő mértékben. Így a berendezésben az effektív kezelési idő meghatározása fontos feladat lett volna, azonban a térintenzitás meghatározása meghaladta eszközfelkészülésünköt, emiatt egyenesen térintenzitású kezelő berendezés tervezését és kivitelezését végeztük el.

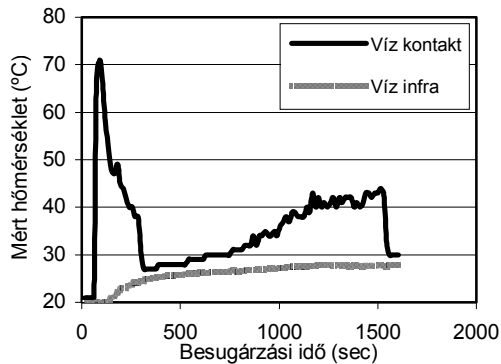
4.3. ULTRAHANG HŐHATÁSVIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI

4.3.1. A MÉRŐESZKÖZÖK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Először meghatároztuk, hogy a termoelemes és az infrahőmérős adatok összeegyeztethetők-e azonos mérési körülmények között. Ennek érdekében desztillált vizet alkalmaztunk mintaként, 20°C állandó vízköpeny hőmérséklet mellett, 1117kHz frekvencia és $9\text{W}/\text{cm}^2$ kicsatolt teljesítmény szinten. A mérés eredményei a 26. ábrán figyelhetők meg.

A termoelemet a hangtérbe helyezve, ott abszorberként funkcionált és nemcsak, hogy megzavarta a hangteret, de hangenergia elnyeléséből adódóan hamis eredményt is mutatott. A kísérlet kezdetén 70°C feletti értékre „ugrott” a termoelem hőmérséklete, ezután viszonylag gyorsan lehűlt majd ezután ismét felmelegedett. A jelenségek oka az lehetett, hogy a termoelem ultrahang abszorpciója bár állandó érték, azonban a kezelés kezdetén még nem alakult ki a rektifikált diffúzió miatt a hangabszorpcióban elsődleges szerepű akusztikai kavitáció, tehát intenzív termoelem hőemelkedés következhet be. A besugárzás első időszaka után kialakult a kavitáció, majd folyamatosan növekedett a hangtérben az akusztikai áramlás intenzitása. Az akusztikai folyadékáramlás a kezelés

folyamán, a termoelemen keletkezett hőt intenzíven elszállíthatta, a hűtött csőfalnak pedig leadhatta, emiatt a termoelem lehűlhetett. A termoelem folyadéknak leadott hője miatt maga a folyadék is nagyobb mértékben melegekedhetett a nem bolygatott hangterű mintához képest, így a termoelem hőmérséklete folyamatosan növekedhetett az expozíció alatt, kiegyenlítődési görbe-szerűen.



26. Ábra: Kontakt és infra hőmérővel mért hőmérsékleti értékek összevetése

Infrahőmérővel való mérés során folyamatos hőmérsékletemelkedés tapasztalható, kiegyenlítődési görbe-szerűen az ultrahangkezelés alatt. Az infrahőmérős mérés alatt kizárólag a hangtér abszorpciójából származó hőmérsékletváltozást mérhettük, ami abból is jól látszik, hogy az azonos 1500 sec időintervallumon keresztül történő ultrahangkezelés folyamán a két hőmérési módszer által mért végső, ultrahangmentes hőmérsékleti értékek csupán néhány °C-kal térnek el egymástól, még hozzá a termoelemes minta hőmérséklete a magasabb, ami a termoelem önabszorpciójából származó többlet hő elméletet bizonyítja.

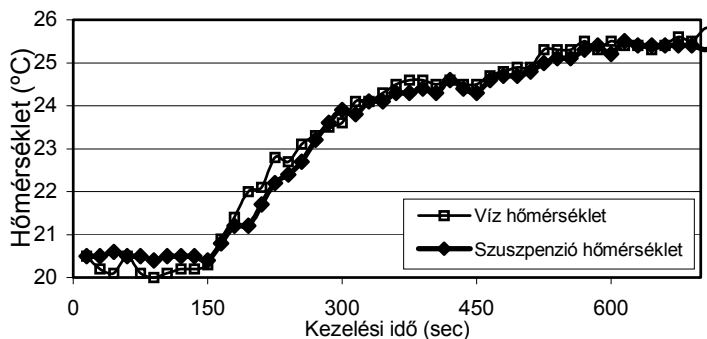
Következésképpen a fentiek alapján megállapítottuk, hogy a további ultrahangkezelés alatti hőmérsékletváltozási vizsgálatokhoz, a hamis eredmények kizárása érdekében, kizárólag az infrahőmérőt alkalmazzuk.

A három kísérletsorozat összes eredménye ábra formában a III.A. mellékletben található.

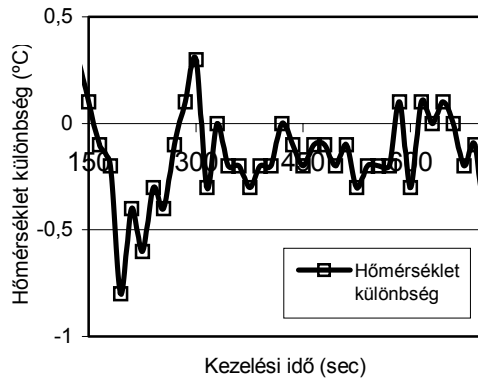
A vizsgálatsorozatokban a fő vizsgálati szempontunk az volt, hogy a sorozat differenciál szono-termogramjait összevessük egymással.

4.3.2. HŐMÉRSÉKLETVÁLTOZÁSI VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI

A 27. és a 28. ábrán, a $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének alakulása (szono-termogramja és differenciál szono-termogramja) figyelhető meg 20°C -os vízköpeny és kiinduló hangtér hőmérséklet mellett, $10\text{g}/\text{l}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál. A kezeléseket a 150. másodpercben indítottuk, a hőmérsékletbeállítás miatt. A 27. és a 28. ábrán, illetve a teljes $10\text{g}/\text{l}$ kísérletsorozatból is megfigyelhető, hogy a hangtér hőmérséklete soha nem emelkedett, még hosszabb kezelési periódus hatására sem a kiinduló vízköpeny hőmérséklete fölé 10°C -kal. A kezelés alatti hangtér hőmérséklet csak mintegy $25,5^\circ\text{C}$ -ig emelkedett mind a víz, mind a szuszpenzió esetében, sőt a szuszpenzió hőmérséklete a differenciál szono-termogramból láthatóan, a kezelés alatt alacsonyabb volt, mint a vízé (27., 28. ábra). Ebből adódóan nem lehet a 4.1., illetve a 4.2. fejezetben tapasztalt sejtpusztulást megmagyarázni csak a hőhatással, mivel 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett is történt a kezelés alatt sejtpusztulás. A hőhatás miatti sejtpusztulás inkább hangabszorpció következménye lehetne. Ginzburg (1980) szerint az élesztőgombának $70,6\%$ (4.5.2. fejezet) nedvességtartalom mellett 24°C -on $3634\text{J}/\text{kgK}$ a fajhője, így a $10\text{g}/\text{l}$ koncentrációjú 25ml szuszpenzióknak $104,51$, a $20\text{g}/\text{l}$ -esnek $104,37\text{J}/25\text{gK}$ a fajhője, a vízé pedig $104,65\text{J}/25\text{gK}$. A szuszpenzióktól tehát a víznél magasabb hőmérsékletet várhatnánk. Ehelyett ennek az ellenkezője következett be az erőteljes hőhatással rendelkező forralás-szerű akusztikai kavitáció intenzitásának szuszpenziók általi csökkentése miatt. Az ultrahang hőhatásának modellezése a III.B. mellékletben található.



27. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének alakulása 20°C -os vízköpeny mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjánál



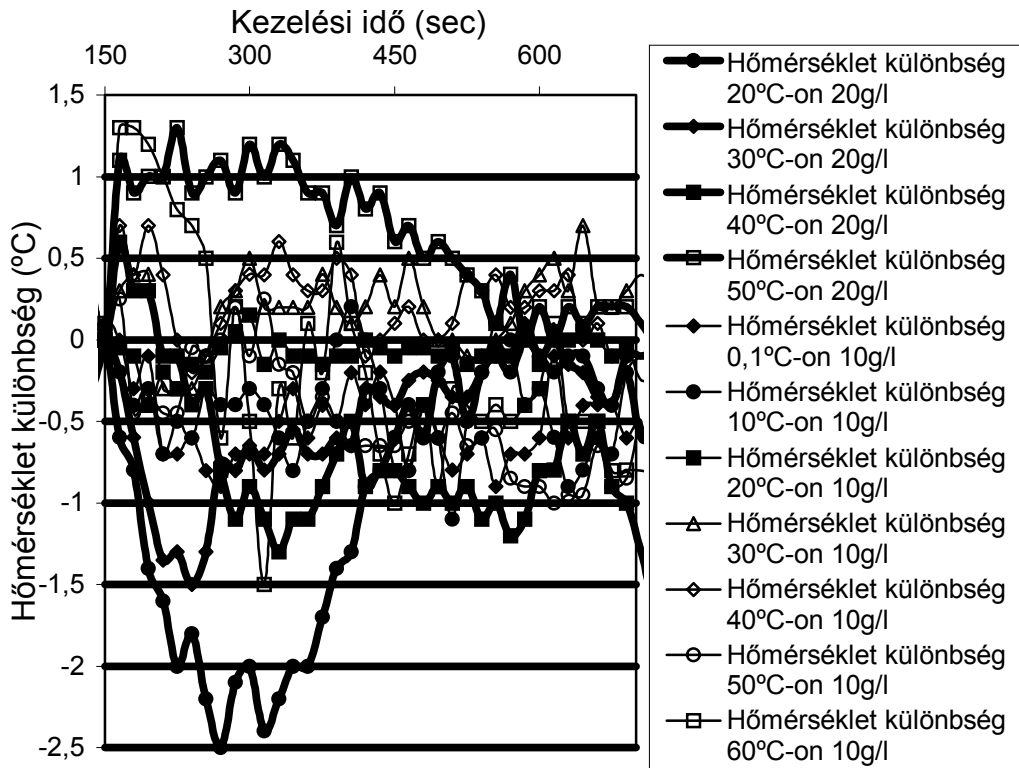
28. Ábra: A fenti ábra differenciál szono-termogramja

A kavitáció hőhatásának szuszpenzió általi csökkenésére további bizonyíték a differenciál szono-termogramok kísérlet sorozatokon belüli egybevetése, mely a 29. ábrán látható. A 29. ábrán látható, hogy a 10g/l koncentrációval rendelkező 30 és 40°C-os mintán kívül, a kezelés kezdeti szakaszától eltekintve, ahol a 30, 40, 50, 60°C-os minta is magasabb hőmérsékletű volt, mint a víz, nem volt más minta, mely viszonylag folyamatosan a víz kezelése alatti hőmérsékleténél magasabb hőmérsékletű lett volna. Ez alapján állítható, hogy a 30 és 40°C-os vízköpeny hőmérsékletű kísérleteken kívül ez a 10g/l koncentráció csökkentette a kavitáció aktivitását, ezáltal a hőképződés mértékét is.

Még érdekesebb eredményre juthatunk, ha a 10 és a 20g/l koncentrációval rendelkező sejtsuszpenzió minták vizsgálatának eredményeit is összevetjük (29. ábra). Megfigyelhető, hogy a 20g/l koncentrációval rendelkező minták, az 50°C-os vízköpeny hőmérsékletű minta kivételével mindig alacsonyabb hőmérsékletűek voltak, mint az ugyanolyan körülmények között kezelt 10g/l koncentrációjú szuszpenzió és tiszta víz minták.

A kezelés alatt tapasztalt alacsonyabb szuszpenzió hőmérséklet eredmények oka a Brayman és Miller (1992) által felfedezett kavitációs buborékok körüli rozettaképződés lehet, amiből a kavitációs aktivitás csökkenése következik. Három esetben tapasztalt, víznél magasabb szuszpenzió hőmérséklet oka pedig a szakirodalom által szintén sokszor említett kavitációs magképzés folyamata lehet a szemcsék által, melynek az adott hőmérsékletek mellett kedvezhet az alkalmazott sejtsuszpenzió koncentráció. A fent említett rozettaképzési és kavitációs magképzési elméletek főleg a kezelések 450.

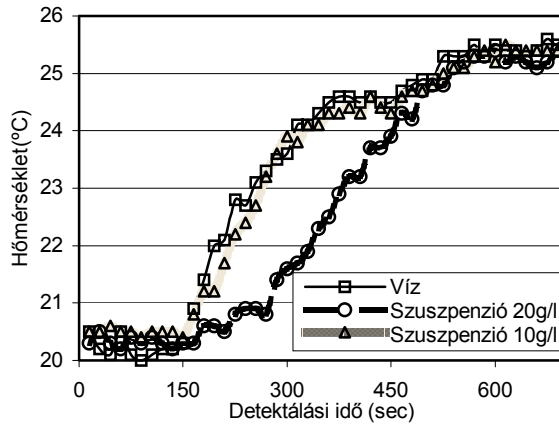
másodperc feletti időszakaira vonatkozhatnak.



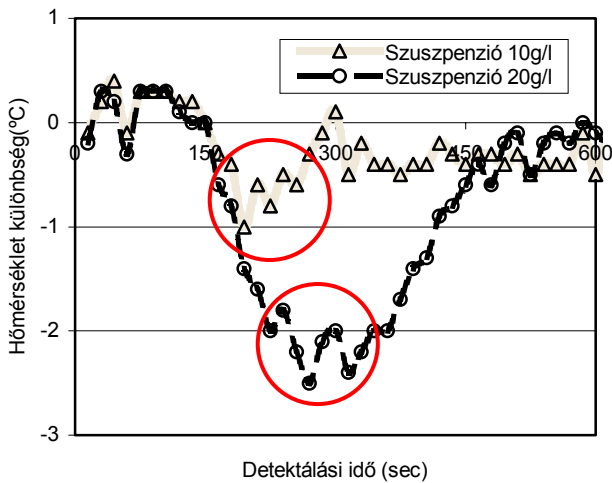
29. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 1-60°C-os vízköpeny mellett kezelt 1 és 2g/100ml élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbségei (differenciál szono-termogramjai)

4.3.3. A KAVITÁCIÓ DINAMIKÁJÁNAK HATÁSA A HÓKÉPZŐDÉSRE

Amikor a kezelés kiinduló pillanataitól alacsonyabb hőmérsékletű volt a víznél a szuszpenzió, vagy a kísérlet kezdete után meredeken esni kezdett a szuszpenzió hőmérséklete a vízhez képest, akkor a kavitáció megindulása késett az ultrahang sugárzófejre csatolásának időpillanatához képest ugyanúgy, mint a 24. ábra $2,41 \cdot 10^7/\text{ml}$ (20g/l) mintája esetén. Amennyiben például kizárólag a 20°C-os vízköpeny hőmérséklettel jellemezhető minták eredményeit vizsgáljuk, a 10 és 20g/l koncentráció mellett, a 30. és a 31. ábrát megvizsgálva globális következtetést vonhatunk le a kavitáció dinamikájára.



30. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ mellett víz, illetve 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ sejtuszuszpenzió hőmérsékletének alakulása 20°C -os vízköpeny mellett



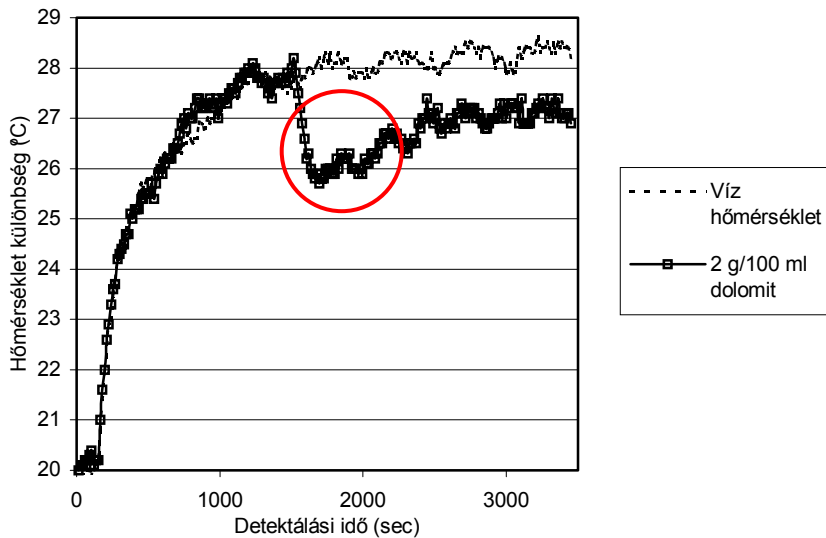
31. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 20°C -os vízköpeny mellett kezelt 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)

A 30. és a 31. ábrát megfigyelve látható, hogy a két különböző sejt koncentrációjú szuszpenzió esetében egymáshoz hasonló görbéket kaptunk. A kettő között mindössze az a különbség, hogy a $20\text{g}/\text{l}$ koncentrációval rendelkező sejtuszuszpenziónál a hőmérséklet-különbség a kezelés első időszakában sokkal nagyobb mértékűvé válik, mint az

alacsonyabb 10g/l esetében. Amíg nem jelentkezett kavitáció a hangtérben, hiába volt bekapcsolva az ultrahang, a nagymértékű hőképződés elmaradt, ebből adódóan egyre nagyobb lett a hőmérséklet-különbség. Viszont amint megindult a kavitáció, azonnal megindult a hőképződés is. A 30. és a 31. ábrát tanulmányozva megfigyelhető még, hogy a magasabb szuszpenzió koncentráció esetén később indult be a kavitáció, ennek okán pedig később emelkedett a hőmérséklet, ezáltal minél később indult meg a kavitáció annál nagyobb lett a különbség a víz és a szuszpenzió hőmérséklete között. A 10g/l koncentrációnál a 195. másodpercben indult a kavitáció, ez a kezelés kezdeti pillanatától 45 másodperces késést jelent és a víz hőmérsékletétől 1°C-os elmaradást, míg a 20g/l szuszpenzió koncentráció esetében az elmaradás 150 másodperc és 2,5°C körüli érték. Hasonló esetek fordultak elő mindkét sejtkoncentráció kísérletsorozatai esetén, amikor már a kezelés kiindulása után negatív irányú hőmérsékletkülönbség növekedés mutatkozott a szuszpenzió és a víz között.

Ugyanez a hatás következett be dolomit szuszpenzió esetében is, amit a 32. ábra mutat. A 32. ábrán megfigyelhető, hogy a 20g/l koncentrációval rendelkező dolomit szuszpenzió esetén a kezelés folyamán az 1500. másodperc körül leállt a kavitáció, a hőmérséklet abban a pillanatban esni kezdett a hűtött vízköpeny miatt, majd a kavitáció ismételt beindulása után a hőmérséklet rövid idő elteltével ismét emelkedésnek indult, viszont az nem érte el a víz hőmérsékletét. A jelenség dinamikájának az lehet az oka, hogy a kísérlet kiindulásakor a magasabb folyadékbeli oldott oxigén szintnél, magasabb hangtérbeli szemcsekonzentráció mellett is kialakulhat az akusztikai kavitáció. A kavitáció során csökkenő oldott oxigén szint alakul ki a folyadékokban és dinamikus szemcse szedimentáció – felkavarodás történik az ultrahangtérben. Így a kezelés során csökkenő oldott oxigén szint kialakulása mellett, a kavitáció során jelenlévő akusztikai áramlás hatására az aljzatról felkavarodó szemcsék, az akusztikai nyomás amplitúdó hangtérbeli értékét a hangszórás és hangabszorpció miatt a kavitációs küszöb alá csökkenthetjük. Ennek hatására a kavitáció leállhatott, majd a kavitációmentes hangtérben a visszafogottabb akusztikai áramlás miatt, a szemcsék ismételt kiülepedése során az akusztikai nyomás amplitúdó a kavitációs küszöb fölé emelkedhetett, így újból kialakulhatott a kavitáció a csökkent oldott oxigén szint ellenére is. Azonban a csökkent oldott oxigén szint mellett kialakult kavitáció intenzitása miatt alacsonyabb lehetett a tiszta vízhez képest, ezért a szuszpenzió hőmérséklete elmaradt a tiszta víztől. A

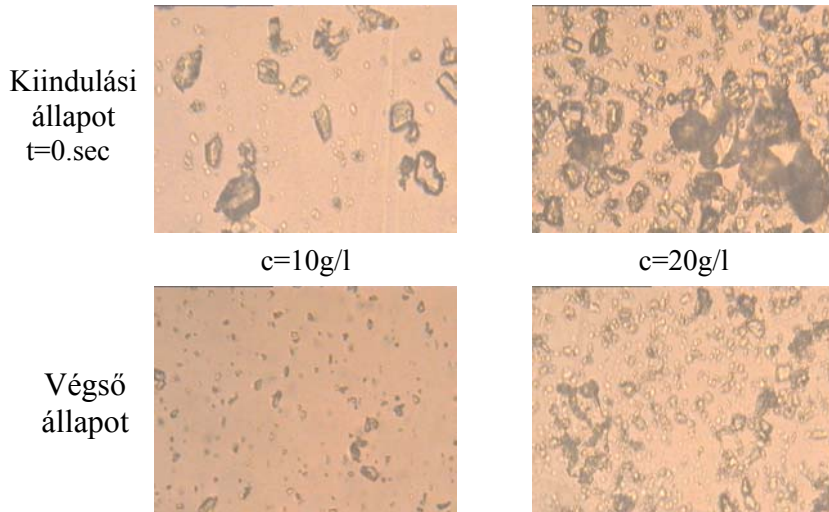
szuszpenzió hőmérsékletének alakulását mutató görbe két kavitációs szakasza közt ez lehet a különbség.



32. Ábra: 9W/cm² teljesítménnyel kezelt víz és dolomit szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 20°C-os vízköpeny mellett, 1 és 2g/100ml szuszpenzió koncentrációnál

A 29. és a 32. ábrán megfigyelhető, hogy a kavitációs anomáliák miatt, csak a vizsgálat végső fázisában alakult ki az akusztikai jelenségek átváltásától függetlennek tűnő hőmérséklet érték. Viszont ebben a zónában, főleg az élesztógomba szuszpenziók esetén nincs mérhető különbség az egyes anyagok, de még az egyes koncentrációk hőmérsékletkülönbség értékei között sem.

Független vizsgálatból 10 és 20g/l dolomit szuszpenzió koncentrációknál felvettük a szemcsék aprózódását, mely kezdeti és végpontjait a 33. ábra, illetve az egész kezelést a IV. melléklet mutatja. Az ábrákon jól megfigyelhető a dolomit szemcsék aprózódása, töredezése a kezelés hatására a kavitáció miatt.



33. Ábra: A 25ml 10g/l és a 20g/l koncentrációjú dolomit szuszpenzió, 20°C-os vízköpeny és 9W/cm² ultrahang teljesítménnyel történt kezelésének kiinduló és végső állapotai

Ezek alapján szükségesnek tartottuk az akusztikai jelenségek kialakulásának, átalakulásának körülményeit megvizsgálni, e nélkül a kialakuló fizikai jelenség, mint például a szuszpenziókban vizsgált hőhatás hektikusnak tűnhet, így nem tervezhető nélküle a célszerű ultrahangos munka. Ezért a következőkben az ultrahang szuszpenzióbeli reakcióját, akusztikai jelenségeit vizsgáltuk kísérletek segítségével.

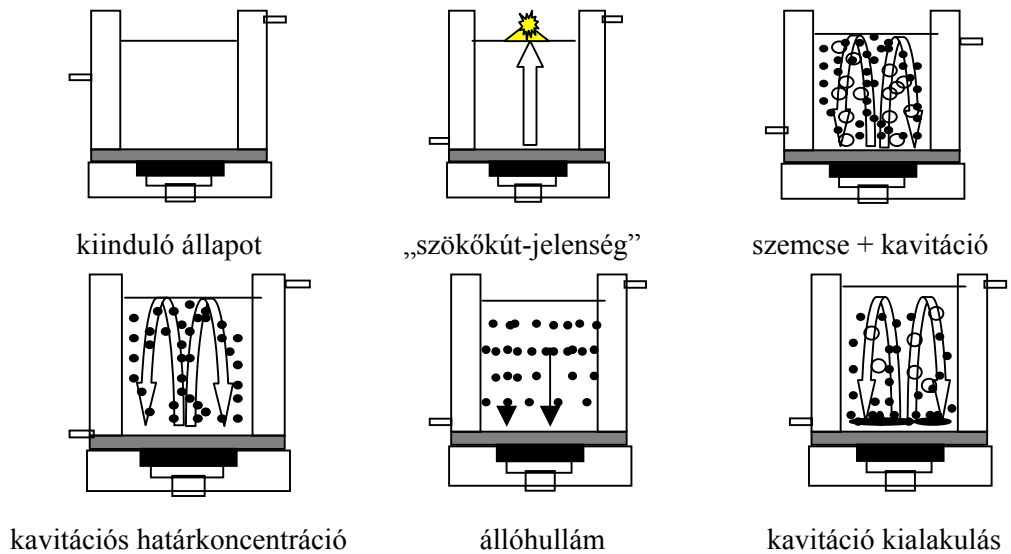
4.4. AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK VIZSGÁLATI EREDMÉNYEI

4.4.1. KAVITÁCIÓS ZAJ VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI

Az oszcilloszkóp segítségével végzett vizsgálatok során a háttérzajhoz képest a kavitációs és háttérzaj együttes görbéje látványos jól kivehető eltérést mutatott a periódusidőbeli oszcillációk sűrűségében, illetve spektrumanalíziskor a vizsgált 0,2-20kHz-es tartományon belüli kibocsátott frekvenciák intenzitásának változásában.

4.4.2. AKUSZTIKAI JELENSÉGEK HANGTÉRBELI KIALAKULÁSÁNAK VIZSGÁLATI EREDMÉNYEI

A kavitációs határkoncentráció, illetve a kavitáció kialakulási időpillanat meghatározásánál a 34. ábra által stilizált akusztikai jelenségeket tapasztaltuk (Lőrincz, 2003^b).



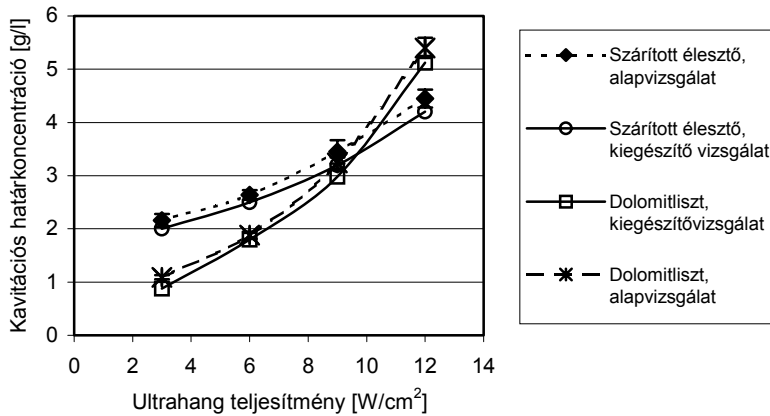
34. Ábra: A hangtérben tapasztalt akusztikai jelenségek

Nyugalomban lévő 20°C-os 25ml csapvízből indultunk ki, majd az ultrahang rákapcsolása után akusztikai áramlás miatt szökőkút jelenség alakult ki, amelyet követően néhány másodperc után a rektifikált diffúzió hatására hosszú időn keresztül megfigyelhető stabil, illetve a műszeresen is érzékelt kavitációs zajból következően tranziens kavitáció alakult ki. A szuszpendálható szemcsés anyag hangtérbe szórásának megkezdése után a kavitációs buborékok és a szuszpendált szemcsék is jelen voltak a hangtérben, intenzív akusztikai áramlásban. A szemcsék további hangtérbe adagolásakor egy adott beszórt szemcsemennyiség elérésekor a kavitációs határkoncentrációnál megszűnt a műszeresen is érzékelhető kavitációs zaj, az intenzív akusztikai áramlás vált dominánssá, ez a kavitációs határkoncentráció.

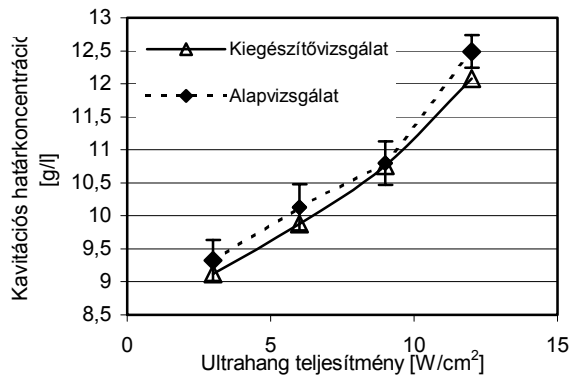
A kavitáció kialakulási időintervallum, vagy visszakavitálási időintervallum vizsgálatakor az előszuszpendáltatás után, az ultrahang bekapcsolásakor először akusztikai áramlás, majd egy adott időintervallum után a szemcsék nyomási csomósíkokba terelésével állóhullám alakult ki, olyan módon, ahogy Gould et al. (1992) publikálták. Az állóhullám szemcsekoncentrációs, térfogattömeg növelő hatására az akusztikai erőteréből a szemcse aggregátumok folyamatosan kiüledhetnek, hasonlóan Bondy és Söllner (1935) leírásához. A hangtér szemcsekoncentrációjának lecsökkenése miatt az akusztikai nyomás amplitúdó kavitációs küszöb fölé emelkedhetett, kialakult a műszeresen elemezhető kavitációs zaj. A kísérlet beindításától a kavitáció kialakulási időpillanatáig eltelt időintervallum a kavitáció kialakulási időintervallum, vagy visszakavitálási időintervallum (Lőrincz & Neményi, 2002^d). E tapasztalatunk szorosan illeszkedik a 4.3.3. fejezetben vázolt megfigyelésekhez és feltételezésekhez (Neményi & Lőrincz, 2002^c).

A kavitációs határkoncentráció meghatározásának eredményeit liofilizált élesztőre és dolomitlisztre a 35. ábra, préselt élesztőre a 36. ábra mutatja be, különböző ultrahang teljesítmények függvényében. Az eredmények vizsgálatok megfigyelhető, hogy az egyes vizsgált anyagok esetében a kavitációs határkoncentráció értékek a kezelési teljesítménnyel egyenes arányban változtak, tehát a teljesítmény növelésére a kavitációs határkoncentráció növekedése figyelhető meg, illetve fordítva.

Másik nézőpontból szemlélve úgy is megfogalmazható a tapasztalatunk, hogy a magasabb részecsk koncentrációknál egyre magasabb intenzitás szükséges az akusztikai kavitáció jelenlétéhez. A kiegészítő vizsgálatok kavitációs határkoncentráció eredményei minden vizsgált anyag, minden kezelési teljesítmény szintjén kisebb értékeket mutatnak, mint az alapvizsgálat eredményei. Oka, hogy a felületi feszültség miatt a folyadékfelszínen szemcsék maradtak fenn, ezért nagyobb mennyiségű szemcsét kellett beszórunk az alapvizsgálatnál, hogy ugyanolyan szemcsekoncentrációjú szuszpenzióhoz jussunk, mint a kiegészítő vizsgálat kavitációs határkoncentráció értéke.

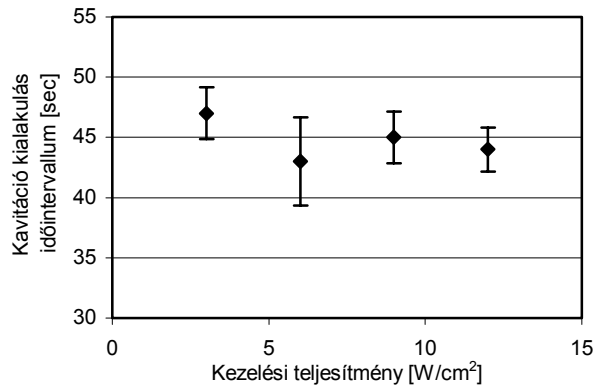


35. Ábra: Kavitációs határkoncentráció eredmények szárított élesztő és dolomitliszt esetén, 4 ismétlésből

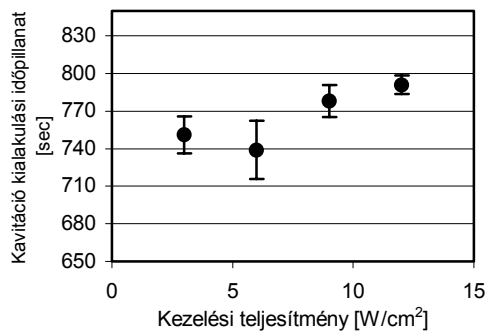


36. Ábra: Kavitációs határkoncentráció eredmények préselt élesztő esetében, 4 ismétlésből

A 37. ábra a kavitáció kialakulási időintervallum értékeit mutatja másodpercben az alkalmazott ultrahang teljesítmények függvényében a liofilizált élesztő, a 38. ábra pedig a dolomitliszt esetében.



37. Ábra: Kavitáció kialakulási időintervallum liofilizált élesztő esetében, 4 ismételéből



38. Ábra: Kavitáció kialakulási időintervallum dolomitliszt esetén, 4 ismételéből

Az eredmények a kavitációs határkoncentrációk 1,5-szeres szemcsekoncentrációjára vonatkoznak a hangtérben. Látható, hogy a beadagolt anyagmennyiségben nagy eltérések voltak az egyes vizsgált anyagok esetében különböző ultrahang teljesítmények mellett. Liofilizált élesztő esetén például 3W/cm² teljesítményen 3g/l, míg 12W/cm² teljesítményen 6,3g/l a kavitációs határkoncentráció másfélszerese. A két különböző formátumú élesztőgomba kavitációs határkoncentrációja közötti majdnem háromszoros eltérés oka az lehet, hogy a préselt élesztőgomba átlagos nedvességtartalma nedves bázisra 70,6%, míg a liofilizálté pedig 7%. Ezek alapján, ha a kavitációs határkoncentráció vizsgálatakor kapott eredményeket, a hangtérbe szuszpendált élesztő szárazanyagra vonatkoztatjuk, akkor (V. melléklet 1. ábra) nagyon hasonló kavitációs

határkoncentráció értékeket kapunk a két különböző élesztőgombára. Ez alapján kijelenthető, hogy a szuszpendált anyagok szárazanyag tartalma mérvadó a hangszűr elváltozásban.

A kavitáció kialakulási időintervallum értékek egyes anyagoknál mért nagy hasonlósága abból eredhetett, hogy minden anyagnál, minden teljesítményszinten, a kavitációs határkoncentrációhoz képest mindig ugyanabban a mértékben (KHK*1,5) emelt hangtérbeli szemcsekoncentrációval dolgoztunk (Lőrincz & Neményi, 2002^a). A préselt élesztő kavitáció kialakulási időintervallum eredményei hiányoznak az ábráról, mivel olyan erőteljes sávok jöttek létre az állóhullámtér nyomási csomósíkjában, hogy nem történt meg a szedimentáció, nem következhetett be a kavitáció kialakulása harminc perces ultrahangkezelés esetén egyik teljesítmény szinten sem. Ezzel vizsgálataink igazolták Hawkes et al. (1998^b) megfigyelését, hogy földi gravitációs körülmények (1g) között nagyon stabil sávok alakulnak ki ultrahang térben, hidratált *Saccharomyces cerevisiae* szemcsék esetén. Ebből adódóan a Coakley (1997) által publikált részecske szeparáció, az akusztikai jelenségek jelen szakában kivitelezhető lehet. Más speciális felhasználási lehetőséget is nyújthat ez az akusztikai jelenségszakasz, amelynek kapcsán például a sejtek gélbe zárása valósítható meg tetszőlegesen nagy felületen, a szubsztrátról való leghatékonyabb termékképzés céljára (Radel et al., 1999^a). További ok lehet a tartós állóhullám jelenlétére, az hogy az élesztőgomba Brayman és Miller (1993) szerint, az élettevékenysége során felhasználhatta a potenciális kavitációs magként szereplő oldott oxigént, a már egyébként is gáztalanított, csökkentett oldott oxigén tartalmú vízből, amely elképzelés szintén összeegyeztethető lehet a 4.3.3. fejezetben vázolt feltételezéssel.

A liofilizált élesztőgomba és a dolomitliszt szuszpenzió kavitáció kialakulási időintervallumai közötti eltérés oka az lehet, hogy az akusztikai áramlás miatt mozgásban lévő, dehidratáltan 0,65g/cm³ fajsúlyú élesztő szemcsék az egységnyi erősségű akusztikai erőter részéről, állóhullámban könnyebben csapdázhatók a nyomási csomósíkokban, mint a nagyobb tehetetlenséggel rendelkező 2,85g/cm³ fajsúlyú akusztikai áramlásban lévő dolomit részecskék. Az ultrahangtérben kialakuló akusztikai jelenségek egymás utáni sorrendje: akusztikai áramlás, állóhullám és az akusztikai kavitáció. Tapasztalataink szerint a préselt élesztőnél az állóhullám sávjai tartósabbak voltak, a dolomit lisztnél pedig az akusztikai áramlás jelensége volt erőteljesebb, mint a többi akusztikai jelenség. Így mérési eredményeink fentiek szerinti átértékelése alapján is igazolva látjuk Radel et

al. (1999^a) megállapítását, hogy pékélesztő sejtek akusztikai állóhullám által, térbeli rendszerbe hozhatóak, azzal a hozzátétellel, hogy tartósan fenntartható ez az aktív térbeli struktúra, a sejtek gélbe zárása nélkül is, a szubsztrát sávok közötti hidrodinamikai odaszállításának és a termék elszállításának előnyével. Ebben az esetben biológiai reakció katalizátorának stabil pozicionálására és a legnagyobb diffúziós felület biztosítására használható az akusztikai állóhullám.

A vizsgálati módszereink által lehetőség nyílik a hangtérben diszpergált anyagok kvalitatív és kvantitatív paramétereinek szemcseanalitikai meghatározására is (Lőrincz & Neményi, 2003^a). Az eredményeket ultrahang analitikai nézőpontból szemlélve, az anyagok meghatározásával kapcsolatosan látható, hogy a legtöbb esetben már a kavitációs határkoncentráció eredményekkel is nagy pontossággal jellemezhető egy anyag. Azonban a szárított élesztő és a dolomit szuszpenzió $9\text{W}/\text{cm}^2$ mellett mért kavitációs határkoncentráció eredményeinek hasonlósága mellett a kavitáció kialakulási időpillanat eredményeket, mint kiegészítő vizsgálati eredményeket felhasználva, tökéletes biztonsággal képesek lehetünk meghatározni egy adott anyagot ezzel a módszerrel (Neményi & Lőrincz, 2002^a).

Az eredeti célunknak megfelelően, az akusztikai jelenségek hangtérbeli bekövetkezésének és átalakulásának dinamikáját az alkalmazott modellanyagok segítségével körültekintően vizsgáltuk, az általunk kidolgozott új vizsgálati módszerek szerint. Az eredmények által a hangtérben kialakuló akusztikai jelenségek előre jelezhetők, ezáltal a 4.2. fejezet bizonytalanságai esetleg a későbbiekben kiküszöbölhetővé válhatnak.

A hangtér akusztikai jelenségeinek dinamikájában komplex jelenség-láncreakciót mutattunk ki. A mérési eredmények egytényezős varianciaanalízis szignifikancia eredményeivel az V. mellékletben számszerűen megtalálhatóak.

4.5. A *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ÉLESZTŐGOMBA TÚLÉLÉSI DINAMIKÁJÁNAK EREDMÉNYEI AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK FIGYELEMBEVÉTELÉVEL

4.5.1. A TÚLÉLÉSI DINAMIKA ALAPVIZSGÁLATAINAK EREDMÉNYEI

A 2. táblázat a 4.4. fejezet alap és kiegészítő vizsgálataiból származó kavitációs határkoncentráció (KHK) értékeit 9W/cm² ultrahang teljesítménynél, a 3. táblázat pedig a biológiai vizsgálatoknál alkalmazott mintakoncentrációkat mutatja.

2. Táblázat: Kavitációs határkoncentrációk (KHK)

KHK,	(g/l)
1.1. Alapvizsgálatból	
1. Ismétlés	3,72
2. Ismétlés	3,24
3. Ismétlés	3,52
4. Ismétlés	3,32
alapvizsgálatok ismétlés átlaga	3,45
1.2. Kiegészítő vizsgálatból	
	3,2

3. Táblázat: Az alkalmazott szuszpenzió koncentrációk

Szuszpenzió	koncentráció		
KHK*	(g/25ml)	(g/l)	(*10 ⁷ /ml)
(KHK*1)	0,08	3,2	1,79
(KHK*1,5)	0,12	4,8	2,68
(KHK*1,7)	0,136	5,44	3,04
(KHK*2,2)	0,176	7,04	3,94
(KHK*3)	0,24	9,6	5,37

A 39. ábra a kavitációs határkoncentráció 1,7-szeres koncentrációjú kezelés egy ismétléséből származó, különböző időpillanatokban vizsgált állapotának mikroszkópos képeit mutatja, arra bizonyítékként, hogy az ultrahangnak objektívan vizsgálható hatása van a kezelt sejtekre, mivel a kék színű pusztult sejteknek egyre nagyobb a részaránya a kezelés előrehaladta folyamán (Lőrincz & Neményi, 2002^{b,c}).



39. Ábra: A kavitációs határkoncentráció 1,7-szeres koncentrációja mellett végzett kezelés egy ismétlésének kiinduló, 60. és 195. másodpercében vett mintáinak 1-1 immerziós látótere a vitális sejttség csökkenésével

A relatív túlélő sejtszámok vizsgálatának eredményei az egyes kísérletekben a 40. ábrán és a VII. melléklet 6. táblázatában láthatóak egytényezős varianciaanalízis eredményekkel. A kezelés nélküli kontroll minták esetében, nem történt élő sejtszám változás, még órákkal a szuszpendálás és metilénkék indikátorcseppentés után sem. A kísérletsorozat egy ismétlésének mikroszkópi fényképsorozata a VI. mellékletben látható.

A vitális festés módszer alacsony relatív túlélő sejtszám értékek mellett nagy mérési bizonytalanságot eredményezett, így a VII. melléklet 6. táblázatában látható utolsó mintavételi időpillanatban feltüntetett nulla értékek hipotetikusak, azt jelentik, hogy beállt az egyensúlyi állapot, és a túlélő sejtszám csökkenése nagy valószínűséggel ugyanabban az ütemben folyik tovább, mint az utolsó akusztikai jelenségzónában. A VII. melléklet 6. táblázatban a piros számok az állóhullám kialakulási, a zöld számok a kavitáció kialakulási időpillanatokot jelölik, melyeket a 40. ábrán trendvonalakkal kötöttünk össze.

4.5.2. AZ ULTRAHANGTÉR AKUSZTIKAI JELENSÉGEI

A 40. ábrán az állóhullám kialakulási időpillanatok és a kavitáció kialakulási időpillanatok relatív túlélő sejtszám értékeit trendvonalakkal tehát összekötöttük. Ezt azért tettük meg, mert az egyes grafikusán ábrázolt zónák által, az időben határolt akusztikai jelenségszakaszok, egy kísérleten belül diszkrét egymás utáni sorrendben következtek be. Emiatt három (I. akusztikai áramlás, II. állóhullám, III. kavitáció) különálló zóna látszik az ábrán. A zónák tehát eltérő hangtérbeli akusztikai jelenségeket mutatnak.

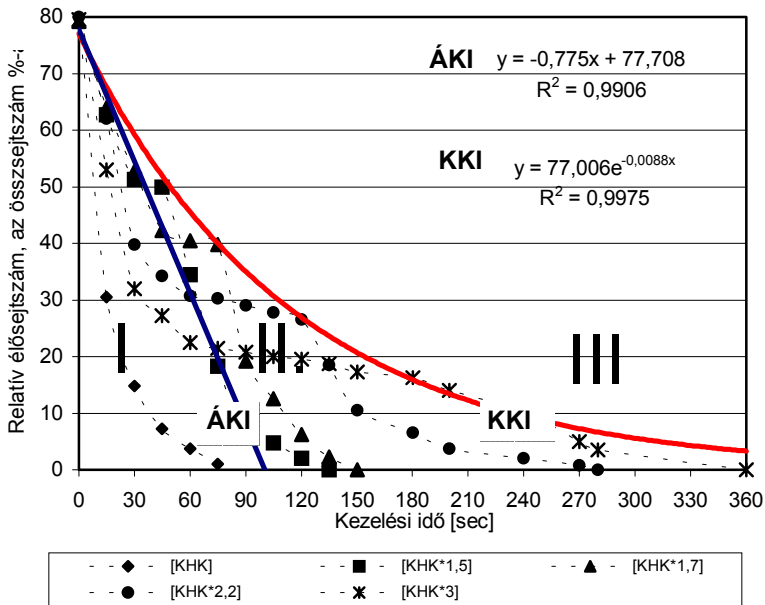
Az egyes üzemállapotok, vagy akusztikai jelenségzónák egymás utáni megjelenése főleg ultrahang fizikai okokra vezethető vissza. Az általunk használt akusztikai rendszerben a hangtér részecskekoncentrációja befolyásolhatta az egyik vagy másik akusztikai jelenség érvényre jutását az ultrahangtérben, a 4.3.3. és a 4.4.2. fejezetben felvázolt fizikai mechanizmusok alapján. Akkor következik be az akusztikai áramlás, ha a részecskéken több akusztikai energia nyelődik el, mint ami a sugárzóval szembeni sík akusztikai reflektorról visszaverődik. Esetünkben az akusztikai áramlás, a kvázi akusztikai reflektor nélküli hangtér domináns jelensége volt, amely a szemcsék ultrahangtérbe történő kavitációs határkoncentráció feletti túladagolása miatt következett be. Emiatt a sugárzóval szembeni légréteg reflexiós képessége nem érvényesülhetett, ami miatt állóhullám alakulhatott volna ki. Ez nem azt jelenti, hogy egyáltalán nem történik

meg a reflexió, hanem, hogy kisebb mértékű, mint a részecskék abszorpciója és szórása a reflektorfelületig megtett hang úton.

A szuszpenziókban a részecskék akusztikai áramlás mellett részlegesen ülepednek, illetve gyenge állóhullám miatt részlegesen sávosan strukturálódhatnak. Ennek oka és okozata, hogy sugárzófejjel szembeni levegőréteg reflexiós képessége egyre fokozottabb mértékben érvényesülhet. Egy adott felületegységre eső reflektált teljesítmény mellett jellemző akusztikai nyomás amplitúdónál alakulhat ki az állóhullám, mely egy adott anyag esetén állandó érték, így jó viszonyítási alapot szolgáltat az egyes kísérletek között.

A kavitáció a részecskék állóhullámban történő ülepedése miatti növekvő akusztikai nyomás amplitúdó hatására alakulhat ki, mivel az egyre alacsonyabb hangtérbeli szemcsekoncentráció egyre kevesebb akusztikai energiát nyel el, illetve szór szét. Ez azt jelenti, hogy esetünkben az állóhullám addig maradhatott fenn a letisztuló szuszpendáló szerben, amíg az akusztikai nyomás amplitúdó meg nem haladta a kavitációs küszöböt.

E tapasztalatok alapján elmondható, hogy a hangtérben bármely üzemiállapot, vagyis akusztikai jelenség a részecskekoncentráción keresztül befolyásolható, tehát szükség esetén fenn is tartható, vagy át is ugorható. Továbbá adott esetben az akusztikai jelenségek láncreakció-szerűen is elindíthatóak, úgy ahogy ezt a kísérleteink során tapasztaltuk.



40. Ábra: Minták relatív élő sejtszám alakulásai és az állóhullám kialakulási időpillanatok (ÁKI) és a kavitáció kialakulási időpillanatok (KKI) relatív élő sejtszámaira fektetett trendvonalak (4 ismétlés, I. Akusztikai áramlás, II. Állóhullám, III. Kavitáció)

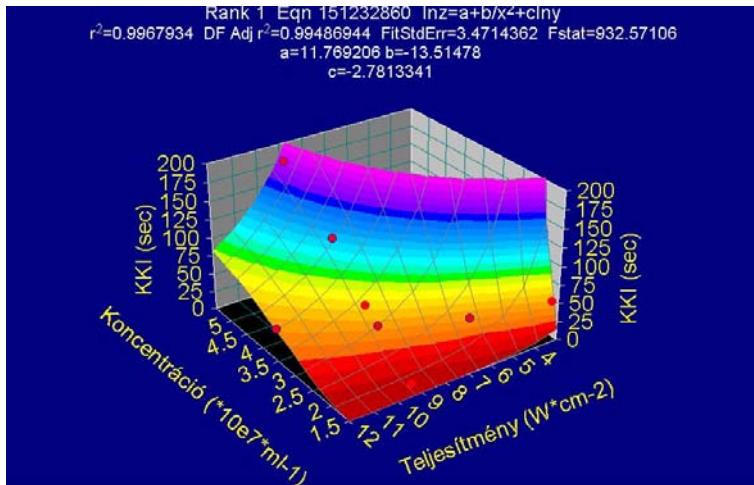
Az I. grafikusán feltüntetett akusztikai jelenségzóna a 80% körüli relatív élő sejtszámtól kiindulva az állóhullám kialakulásának időpillanatáig tart. Ennek során az akusztikai áramlás jelensége dominál. Szilárd szemcséket szuszpendálva tehát a hangtérbe, azok adszorpciós és hang diszperziós képessége miatt az akusztikai nyomás amplitúdó a kavitációs határ alá csökkenhetett, tehát az akusztikai reflektor nagyrészt érvényét veszítette, gomolygó akusztikai áramlást eredményezve. Ez jellemző az I, vagyis az akusztikai áramlás jelenségzónára, ami a 40. ábrán a szemcsék hangtérbeli koncentrációjának kavitációs határkoncentrációja feletti értéke mellett adódik, mely a kísérlet beindításától az állóhullám kialakulásáig terjedt az időben. Az akusztikai áramlási jelenség hangtérbeli fennmaradásának időintervalluma láthatóan a magasabb szuszpenzió koncentrációk mellett hosszabb volt. Az akusztikai áramlás a vizsgálat során addig az időpillanatig maradhatott fenn egy adott minta esetén, amíg a sugárzási erők a részecskéket be nem csapdázták a nyomási csomósíkokba és ki nem alakult az állóhullám.

A II. zóna, az állóhullám kialakulási időpillanattól a kavitáció kialakulási időpillanatig terjed az időben (40. ábra). Állóhullámban a sejtek a hangterében szemmel látható módon, egymástól fél hullámhossz távolságra koncentráálódtak Whithworth és Coakley (1992) és a 2.7. fejezet szerint leírt módon, ami mellett a szuszpendált szemcsék szedimentációja zajlott. A különböző sejtkoncentrációjú mintákkal végzett vizsgálatokban a kísérletek beindítása után, az állóhullám kialakulási időpillanatokban mért relatív sejtszám értékekre lineáris trendvonalat fektettünk, ami az akusztikai áramlás és az állóhullám zónáját határolja (40. ábra). Az állóhullám részecske agglomerációs hatása miatt szedimentáció történt, melynek hatására az élesztőgombasejtek a rezonátor aljba kiüledtek, így ezzel a hangtér adszorpciós és szóró centrumainak koncentráció csökkenése következhetett be, ezzel az akusztikai nyomás amplitúdó a kavitáció kialakulási küszöbérték fölé emelkedhetett, kialakult a műszeresen elemezhető kavitáció.

A kavitáció kialakulásának időpillanatában mért relatív élő sejtszámokra szoros exponenciális trendvonalat illesztettünk, ami az állóhullám és a kavitáció jelenségzónáját határolja. A 40. ábrán a III. zóna, a kavitáció kialakulási időpillanattól a végtelenbe tart. A harmadik zóna üres területet mutat a 40. ábrán, azonban ez a jel az akusztikai jelenség időzóna határára vonatkozik csakúgy, mint az előző zónák is, nem pedig a biológiai hatásokra, amelyek ezen akusztikai jelenségeknek a következményei, amit pedig a 42. ábra mutat. Mivel a kavitáció mellett a sejtek pusztulása gyorsabb, mint állóhullám mellett, tehát a relatív sejtszám nem lépi túl ezt a zónahatárt, ezért ezen a diagramterületen elvileg nem is lehetnek pontok. A kavitáció, nagyobb koncentrációk melletti egyre későbbi kialakulásának oka lehet, hogy a hangtérbeli szemcsék koncentráció csökkenés egyre növekvő akusztikai nyomás amplitúdót alakíthat ki, ami a szemcsék ülepedése ellen hat.

Megállapítható, hogy a hangtérbeli szuszpenzió koncentráció alapvetően befolyásolta a hangtérben tapasztalt akusztikai jelenségeket és azok kialakulásának időbeli küszöbértékeit. A kavitációs határkoncentrációról, vagyis 3,2g/l koncentrációról indított kísérletben egyáltalán nem alakult ki állóhullám és akusztikai áramlás, a kísérletek beindításától kezdve állandósult az akusztikai kavitáció. A 3,2g/l koncentrációnál magasabb szuszpenzió koncentrációk esetében a növekvő szuszpenzió koncentrációknál egyre később alakult ki az állóhullám és a kavitáció. A kísérletek egyes ismétlései jó reprodukálhatóságot mutatnak, alacsony szórás értékekkel. A hangtérben az

akusztikai jelenségek bekövetkezésének egymás utáni rendszerét neveztük el az ultrahangtérbeli jelenség - hatás láncreakciónak. A 41. ábrán a jelen és a 4.4.2. fejezetből származó kavitáció kialakulási időintervallum értékeket ábrázoltuk a sejtkoncentráció és az alkalmazott ultrahang intenzitás függvényében TableCurve3D (S/N: 3773020) segítségével.



41. Ábra: Kavitáció kialakulási időintervallum (KKI) értékek a sejtkoncentráció és az ultrahang teljesítmény függvényében

4.5.3. TÚLÉLÉSI DINAMIKA VIZSGÁLAT EREDMÉNYEI

Bürker-kamrás sejt számlálás alapján 1g/l sejtuszpenzió koncentráció esetén a sejtszám $N=5,6 \cdot 10^6/\text{ml}$ volt. Így a kiindulási abszolút sejtszámok és a kísérletek alatt mért relatív élő sejtszámok alakulásának ismeretében mindhárom (I. akusztikai áramlás, II. állóhullám, III. kavitáció) akusztikai jelenség szakaszokhoz tartozó túlélési dinamikát, vagyis a tizedelési időintervallumokat Deák (1997) alapján meghatározhattuk a [7.] és a [8.] egyenletek szerint. Minden kísérlet minden akusztikai jelenségszakaszára meghatároztuk a kezdeti összes sejtszám (N) értékek ismeretében a kiinduló élő sejtszám (N_0) és a végső abszolút túlélő sejtszám (N_t) értékeket, illetve az egyes szakaszok abszolút sejtszámainak tízes alapú logaritmusának ($\lg N_0$, $\lg N_t$), valamint a hozzájuk tartozó kezdeti (t_0) és végső időpontok (t_t), értékét (VII. melléklet, 7. táblázat). Ezek

ismeretében meghatároztuk az egyes kísérletek mindhárom jelenség szakaszára a „D” tizedelési és a „k” pusztulási sebességi együtthatót is.

A 4. táblázat a különböző minták ultrahangkezelés alatt mutatott „D” tizedelési és „k” pusztulási sebesség értékeit tartalmazza másodpercben és a feltüntetett tizedelési időintervallum értékek tízes alapú logaritmus értékeit és a teljes pusztulási időintervallum (TDT) értékeket a $TDT=10D$ esetén. A 42. ábrán az egyes kísérletek különböző jelenség szakaszainak túlélési dinamikái kerültek ábrázolásra. A meredekebb szakaszok gyorsabb sejtpusztulást, tehát az adott jelenségre kisebb rezisztenciáját mutatják a sejteknek, mint a kevésbé meredek szakaszok.

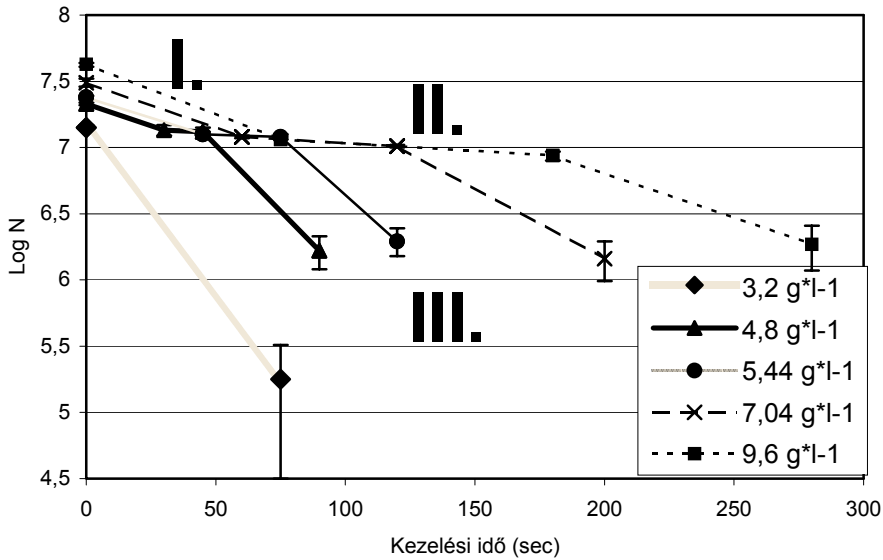
A 42. ábra a 40. ábrán feltüntetett relatív élő sejtszám értékekből és a kiinduló abszolút élő sejtszám értékekből ered. A 40. ábra főleg a hangtér akusztikai jelenségeit, a 42. ábra pedig főleg az ultrahang biológiai hatásait mutatja be az egyes akusztikai jelenségek mellett.

4. Táblázat: **Akusztikai jelenség szakaszokra jellemző, túlélési dinamika**

Kiinduló koncentráció		Akusztikai jelenség	k [sec ⁻¹]	D [sec]	lg D	TDT lg(10D)
g/l	Cfu/ml					
3,2	1,79*10 ⁷	Akusztikai áramlás	-	-	-	-
3,2	1,79*10 ⁷	Állóhullám	-	-	-	-
3,2	1,79*10 ⁷	Kavitáció	0,05833	39,48	1,59	2,59
4,8	2,68*10 ⁷	Akusztikai áramlás	0,01535	150,01	2,17	3,17
4,8	2,68*10 ⁷	Állóhullám	0,00153	1505,2	3,17	4,17
4,8	2,68*10 ⁷	Kavitáció	0,04599	50,07	1,69	2,69
5,44	3,04*10 ⁷	Akusztikai áramlás	0,0143	161,04	2,206	3,206
5,44	3,04*10 ⁷	Állóhullám	0,001535	1500,13	3,17	4,17
5,44	3,04*10 ⁷	Kavitáció	0,0403	57,14	1,75	2,75
7,04	3,94*10 ⁷	Akusztikai áramlás	0,01573	146,4	2,16	3,16
7,04	3,94*10 ⁷	Állóhullám	0,002686	857,4	2,94	3,94
7,04	3,94*10 ⁷	Kavitáció	0,02446	94,17	1,97	2,97
9,6	5,37*10 ⁷	Akusztikai áramlás	0,01749	131,67	2,11	3,11
9,6	5,37*10 ⁷	Állóhullám	0,00263	875,6	2,94	3,94
9,6	5,37*10 ⁷	Kavitáció	0,01543	149,25	2,17	3,17

A 42. ábrából és a 4. táblázatból kitűnik, hogy az akusztikai áramláshoz (I.) és a kavitációhoz (III.) gyorsabb túlélő sejtszám csökkenések, kisebb „D” értékek tartoznak, mint az állóhullám (II.) jelenségéhez. Ahol haladó hullám jelensége dominált, erősebb sejtpusztulás volt tapasztalható, míg állóhullám esetében elenyésző volt a sejtpusztulás. A

magasabb kiinduló sejtszámok esetén az állóhullámú akusztikai jelenségszakasz egyre hosszabb időtartamon keresztül maradt fenn, ami lehetőséget ad a sejtek hangtérbeli hosszabb időtartamú manipulációjára. A 42. ábrán szembetűnő, hogy az egyes jelenségszámokhoz tartozó túlélési dinamikája van (Lőrincz, 2003^a és Lőrincz & Neményi, 2002^c).



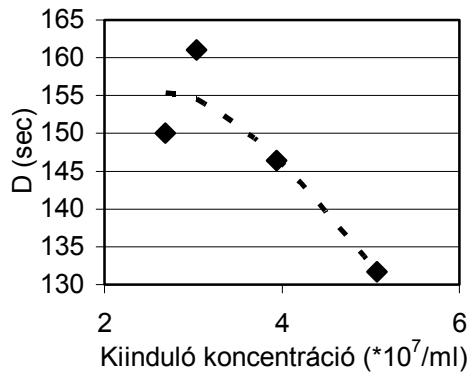
42. Ábra: Az egyes kiinduló sejtkoncentrációkhoz tartozó túlélési görbék (4 ismétlés, I. Akusztikai áramlás, II. Állóhullám, III. Kavitáció, N= élősejtszám)

Alacsony sejtkoncentrációk mellett a kavitáció hatására történt a leggyorsabb sejtpusztulás, itt a legrövidebb a „D” tizedelési időintervallum, az akusztikai áramlás hatására némileg hosszabb, az állóhullám hatására pedig egészen elnyújtott a sejtszám tizedre csökkenéséhez szükséges időintervallum.

Magas hangtérbeli részecskekoncentrációk mellett az előbb leírtak némileg módosulnak, melynek megértéséhez akusztikai jelenségek szerint kellett szemlélni a kapott eredményeket (Neményi & Lőrincz, 2002^{d,e}).

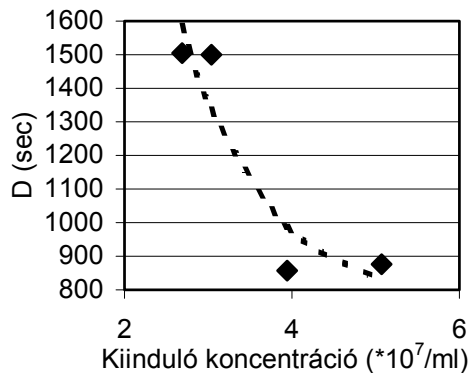
Egyenként megvizsgáltuk az egyes akusztikai jelenségek túlélési dinamikát befolyásoló hatását, az alkalmazott szuszpenzió koncentráció függvényében. A túlélési dinamikát akusztikai jelenségszámokra vonatkoztatva megfigyelhető volt, hogy az

akusztikai áramlás szakaszában a tizedelési időintervallum értékek, az egyre magasabb kiinduló sejtkoncentrációjú minta esetén általában egyre alacsonyabbak voltak (43. ábra).



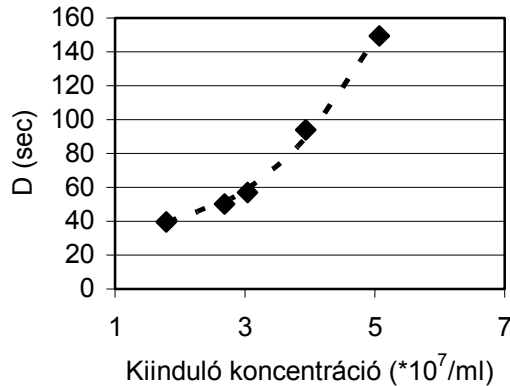
43. Ábra: Akusztikai áramlás melletti tizedelési idők különböző sejtkoncentrációknál, (4 ismétlésből; ♦ számított „D” értékek, ----- trendvonal, $y^2=a+bx*\ln x^{-1}$; $a=69735,3$, $b=-16771,2$, $R^2=0,838$)

Az állóhullám jelenség sejtek túlélésére gyakorolt hatásának vizsgálatokor kitűnik, hogy magasabb sejtkoncentrációk esetén szintén egyre alacsonyabb „D” értékek mutatkoznak. Ennek az egyre hosszabb hangtérben töltött tartózkodási idő lehet az oka (44. ábra). Carstensen et al. (1993) szintén rámutatnak, hogy az állóhullámú térben kismértékű sejtpusztulás tapasztalható.



44. Ábra: Állóhullám melletti tizedelési idők különböző sejtkoncentrációknál, (4 ismétlésből; ♦ számított „D” értékek, ----- trendvonal, $y=a+b e^{-x}$; $a=748,4277$, $b=12322,29$, $R^2=0.87033$)

A kavitáció túlélési dinamikára gyakorolt hatása eltért az akusztikai áramlás és az állóhullám jelensége által kiváltott dinamikától (45. ábra).



45. Ábra: Kavitáció melletti túlélési idők, különböző koncentrációknál

(4 ismétlésből; ♦ számított „D” értékek, ----- trendvonal, $y=a+bx^3$; $a=34,11$, $b=0,896$ $R^2=0.9954$)

A kavitációnál a magasabb sejtkoncentrációjú minták esetén lassabb, míg alacsonyabb koncentrációk esetében gyorsabb volt a tizedelési idő (Lőrincz & Neményi, 2002⁵). A trendvonalakat TableCurve2D (S/N: 3669527) segítségével fektettük. Ez a jelenség több okra vezethető vissza, az egyik, hogy ha a hangtérben azonos besugárzási körülmények között azonos számú kavitációs mag aktiválódik, akkor azok nagyobb számú sejtet arányosan hosszabb idő alatt inaktívnak. Másik ok lehet, hogy az állóhullám jelensége alatt kiüledett sejtek a kavitáció által indukált, intenzív hangtérbeli áramlás hatására folyamatosan felkavarodtak, így a kavitációs buborékokkal való találkozás folyamatosan biztosítottá vált. További ok lehet a Brayman és Miller (1992) szerinti buborékok körüli sejt rozettaképződés, ami elfojthatja a kavitációs aktivitást.

Vizsgálatainkban az egyensúlyi állapotot a kavitáció jelenségének állandósulása jelentette, az állóhullámú jelenségszakaszt követően, így ennek a szakasznak a túlélésre gyakorolt hatása érvényesülhetett a túlélő sejtszám nullára csökkenéséig.

Az egyes kísérletekben az állóhullám jelenség melletti élősejtszám csökkenés 42. ábrán felrajzolt szakaszait, az ordináta tengelyig meghosszabbítva, éppen a 3,2 g/l szuszpenzió koncentrációjú kísérlet kiindulási pontjáig, vagyis a kavitációs határkoncentrációig, lg7,14 sejtszámig jutunk. Az állóhullám melletti túlélési dinamika,

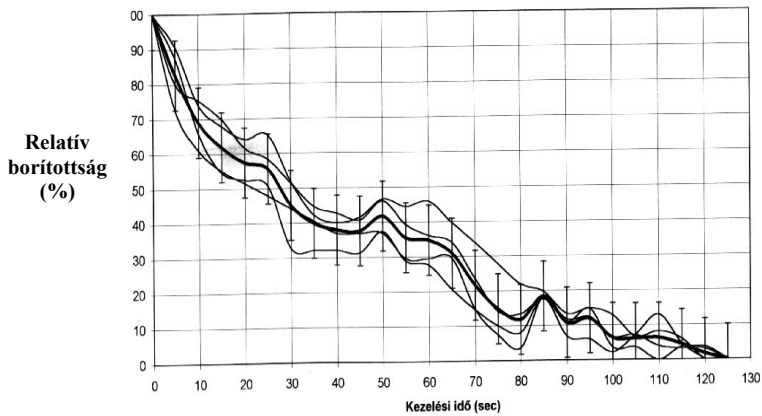
mint egy egybefüggő virtuális egyenes választja el így egymástól az egyenes feletti akusztikai áramlás és az egyenes alatt található kavitáció túlélési zónáját (Lőrincz et al., 2003^a). Kölcsönhatás mutatkozott tehát a hangtérbeli szuszpenzió koncentráció és az akusztikai jelenségek kialakulása között, illetve így a sejtsuszpenzió túlélési dinamikája és a szuszpenzió koncentrációja között. Az ultrahangtérben átfogó akusztikai jelenség-sejtbiológiai hatás láncreakciók játszódtak le a besugárzás alatt.

Az ultrahangtérben kialakuló akusztikai jelenségek egyértelműen befolyásolták az ott lévő sejtek túlélési dinamikáját, mint arra Veress és Vincze (1977), Ellwart et al. (1988), Loverock és ter Haar (1991), Carstensen et al. (1993) is utaltak. Viszont nem a koncentrációtól függött a sejtroncsoló hatás erőssége, hanem az ebből következő akusztikai jelenségek intenzitásától, amire egyik szerző sem volt figyelemmel. Az akusztikai jelenségek kialakulása célirányosan befolyásolható, méréseink szerint éppen magával a sejtkoncentrációval, ami viszont kapcsolódik Frizzel (1988) megfigyeléséhez. Az általunk kapott eredmények segítségével tehát módunk lehet befolyásolni a sejtek túlélési dinamikáját magán az ultrahangtér sejtkoncentrációján keresztül, az akusztikai jelenségek tulajdonképpeni befolyásolásával.

4.6. A SEJTANALITIKAI MÓDSZEREK ALKALMAZÁSÁNAK EREDMÉNYEI

4.6.1. ANALÓG MÓDSZER EREDMÉNYEI

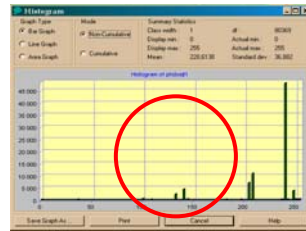
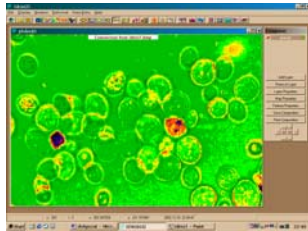
A vizsgálatokat $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítmény, 1117kHz frekvencia és 25ml kezelt *Saccharomyces cerevisiae* szuszpenzió mellett végeztük, a 4.5. fejezettel megegyező módon. Az analóg álszín kódolóval történő pusztulási analízis eredményét a 46. ábra mutatja. Négy ismétlést végeztünk el KHK*1,7, vagyis az élesztőgomba 5,44g/l-es koncentrációjánál. Látható, hogy $\pm 10\%$ -os eltérés szinten belül van a négy ismétlés szórása az átlaghoz képest. Ha a 46. és a 40. ábrákat összevetjük, illetve ha a VII. melléklet 1. ábráját megfigyeljük látható, hogy a kézi számoláshoz mennyire hasonló eredményekhez jutunk az analóg sejtanalitikai berendezésünk segítségével. Az elemzés élő sejtszám kalibráció nélkül az összes területhez képest az adott szűrkeségi fok relatív borítottságát mutatja az ordinátán, így kalibráció nélkül a sejtanalitikai görbék bemutatása a módszer használhatóságának bizonyítását célozza.



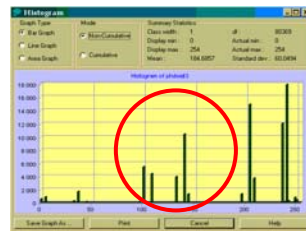
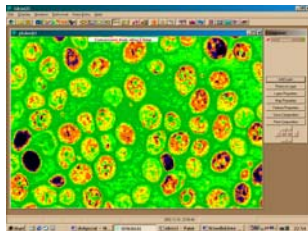
46. Ábra: Túlélési analitikai felvétele analóg elven mesterséges látás alkalmazásával, kalibráció nélkül

4.6.2. DIGITÁLIS SEJTANALITIKAI MÓDSZER ALKALMAZÁSÁNAK EREDMÉNYEI

A digitális sejtanalitikai, vagy képfeldolgozási módszer alapja a térinformatikai „Idrisi” szoftver alkalmazása. Amennyiben ezzel megvizsgáltuk a 4.5.1. fejezetben bemutatott 39. ábrákat színekké konvertált szürkeségi fokok szerinti hisztogram alakulására vonatkozóan, a következő eredményre jutottunk. A 47. ábra bal oldalán a 39. ábra kiinduló időpillanatában vett minta képének beolvasott 8 bites, tehát 256 szürkeségi fokra bontott képe látható az Idrisi menüvezérelt kezelőfelületén. A 47. ábra jobb oldalán a kép nem kumulált oszlopdigramja látszik, amely hisztogram 256 szürkeségi kategóriát kezel. A 47 és a 48. ábrák bal oldalán tehát a beolvasott 256 szürkeségi fokkal rendelkező, de azokat eltérő színekkel ábrázolt bitképek, a jobb oldalakon a bitképek hisztogramjai látszanak, amelyeken a képek egyes szürkeségi fokainak területei kerülnek ábrázolásra oszlopdigramként.



47. **Ábra:** Digitális mesterséges látás sejtanalitikai alkalmazása ultrahangkezelés előtti sejtpopuláció állapot elemzésére (ordináta: pixel, abszcissa: szűrkeségi fok (0-255))



48. **Ábra:** Mesterséges látás sejtanalitikai alkalmazása, ultrahangkezelés 195. másodperc elemzésére (ordináta: pixel, abszcissa: szűrkeségi fok (0-255))

Az egyes szűrkeségi fokok és az azokhoz tartozó területek pixelben természetesen „DAT” fájl formában lehívhatók, ami bármilyen táblázatkezelő programmal feldolgozható.

Az ultrahangkezelés folyamán, különböző időpillanatokban vett minták hisztogramjain megfigyelhető, hogy a kiinduló, tehát kontroll minta esetében a 200-nál magasabb skálaosztásoknál a háttér szűrkeségi fokai és azok képen belüli területei jönnek le. A 100-150-ig terjedő skálaosztásoknál jönnek le a sejtek túlélési adatai. Látható, hogy az egyes képeken a kezelés időszakának növekedésével, több lesz a sötét tónusok területének részaránya az összes területhez képest, ami a hisztogram 100-150-ig terjedő skálaosztályában egyre gyakoribb oszlopsűrűséggel és egyre nagyobb területei borítottságot jelentő oszlopmagasságokkal jelenik meg. A vizsgálatot az időszakosan vett minták elemzésére használtuk, tehát nem a valós időben dolgoztunk vele. A vizsgálati módszer nagy előnye lehet, hogy az egyes sejtalkotók elváltozásait is tudná követni a kezelési idő függvényében, amennyiben annak megfelelő indikátormódszert alkalmaznánk.

A továbbiakban vizsgálatokat lehetne végezni a szinkronizálatlan és más fajkból

álló sejtpopulációk egyedeinek ultrahangos érzékenységének vizsgálatára, melynek segítségével a populáción belüli fejlődési stádiumok eloszlását is el lehetne különíteni az ultrahang rezisztencia alapján, így a környezeti analitikában akár toxicitás, vagy mutagenitási vizsgálatokra is alkalmasak lehetnének a fenti módszerek.

4.7. *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* HNCMB170001 BAKTÉRIUMTÖRZS ULTRAHANGKEZELÉSÉNEK SEJTBIOLOGIAI HATÁSAI

A *Pseudomonas aeruginosa* feltételesen kórokozó gennykeltő baktérium, melynek élelmiszerekben, például ásványvizekben történő előfordulása súlyos emésztőszervi megbetegedéseket idézhet elő, továbbá antibiotikum rezisztenciája miatt bizonyos esetekben problémát jelenthet elpusztítása.

A kavitáció jelensége volt tapasztalható a hangtérben a minden ultrahangkezelés folyamán, melynek kapcsán műszeresen a 4.4.1. fejezetben leírt módon, érzékelhető volt a tranziens kavitáció zaja. Az alkalmazott $5,4 \cdot 10^7$, $5,6 \cdot 10^7$, $2,79 \cdot 10^7$, $2,4 \cdot 10^7$, $2,06 \cdot 10^7$, $1,24 \cdot 10^7$ és $1,41 \cdot 10^7$ sejtkoncentrációk a 4.5.1. fejezetben meghatározott koncentrációkkal összeegyeztethetők, az ott alkalmazott sejtkoncentrációk tartományába esnek.

Az 5. táblázat a 6 és 9W/cm² ultrahang teljesítménnyel végzett kezelések 0., 1., 2., 3., 5., 8. és 15. percében vett mintáinak élő csiraszám értékeit mutatja milliliterenként.

5. Táblázat: Különböző kiinduló csiraszámmal és ultrahang teljesítménnyel végzett kísérletek milliliterenkénti túlélő csiraszám (N) értékei ($\cdot 10^7$ /ml)

	Kezelési időintervallum (min)						
	0	1	2	3	5	8	15
$5,4 \cdot 10^7$ /ml 9W/cm ²	5,4	3	4,1	1,7	1,7	1,95	0,97
$5,6 \cdot 10^7$ /ml 6W/cm ²	5,6	10,9	2,16	8,09	1,61	3,4	1,9
$2,79 \cdot 10^7$ /ml 9W/cm ²	2,79	2,35	2,46	2	2,95	2,33	1,32
$2,4 \cdot 10^7$ /ml 9W/cm ²	2,4	1,1	1	2,22	2,34	1,73	0,63
$2,06 \cdot 10^7$ /ml 9W/cm ²	2,06	1,95	1,76	1,6	2,09	2,01	0,76
$1,24 \cdot 10^7$ /ml 9W/cm ²	1,24	0,69	0,81	2,12	1,65	2,06	1
$1,41 \cdot 10^7$ /ml 6W/cm ²	1,41	1,43	1,67	1,04	0,94	0,91	0,7

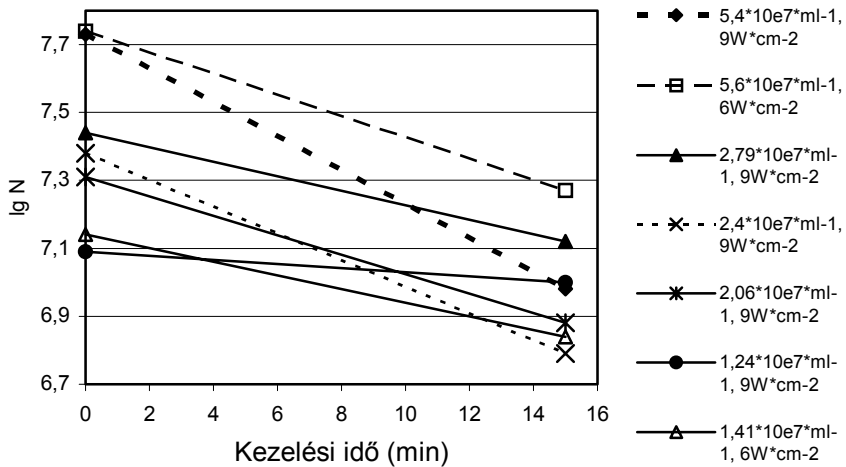
Az 5. táblázatban megfigyelhető, hogy a kiindulási csiraszámhoz képest erőteljes élő sejszám változások alakultak ki az ultrahangkezelés folyamán. Látható, hogy az élő

sejtszámok minden minta esetében a kiindulási sejtszámhoz képest a 15. percben vett minta esetén alacsonyabb értéket mutattak. Azonban a kezelés különböző időpillanataiban más a helyzet. Több esetben élő csíraszám növekedés következett be a kiinduló sejtszámhoz, vagy az előző időpillanatban vett minta élő sejtszámához képest. A legszembetűnőbb ez a szaporodáserkentő hatás az alacsonyabb, $6\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítményszinten mindkét, $5,6 \cdot 10^7$ és $1,41 \cdot 10^7$ sejtkoncentráció esetében, főleg a rövidebb időperiódusú kezelések esetén. Az $5,6 \cdot 10^7$ minta esetében egészen drasztikus a szaporodáserkentés, mivel az 1 perces időintervallumú $6\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítményszintű kezelés esetén az élő csíraszám éppen a duplájára emelkedett a kiinduló csíraszámhoz képest, tehát úgy tűnik, mintha a sejtpopuláció osztódásra kényszerült volna. Ezután ismét csökkenő, majd növekvő élő csíraszám értékek követték egymást, amiből az derül ki, hogy az osztódó sejtek érzékenyebbek az ultrahangkezelésre. Hasonló hatás mutatkozott az 1 és 2 perces időintervallumú $1,41 \cdot 10^7$ kiinduló sejtkoncentrációjú, $6\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítményszintű kezelés esetén is. Meglepő módon $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítményszintű kezelés esetén is bekövetkezett a kezelés folyamán, a kiindulónál magasabb élő csíraszám kialakulása, így a $2,79 \cdot 10^7$ és a $2,06 \cdot 10^7$ kiinduló csíraszámú minták esetén is ezt tapasztaltuk az 5. percben. A legtöbb esetben, így a $2,4 \cdot 10^7$ kiinduló csíraszámú, $9\text{W}/\text{cm}^2$ ultrahang teljesítményű ultrahangkezelés folyamán is hullámlás figyelhető meg az élő csíraszámokban a kezelési periódus alatt.

Általános tapasztalatként leszögezhető, hogy $9\text{W}/\text{cm}^2$ ultrahang teljesítménnyel kezelt minták esetében, az ultrahangkezelés első időszakában az élő csíraszám gyors csökkenése, majd utána az esetenként kiinduló csíraszám fölé emelkedése, majd ismét, az előzőnél nagyobb mértékű csökkenése következett be. A $6\text{W}/\text{cm}^2$ ultrahang teljesítménnyel kezelt minták esetében mindkét esetben a besugárzás kezdeti időszakában a csíraszám a kiinduló csíraszámhoz képesti erőteljes emelkedése, majd a kezelés előrehaladtával a csíraszám csökkenése, majd esetlegesen a magasabb kiinduló csíraszám esetén ismételt emelkedése, illetve csökkenése következett be. Ez a két eltérő túlélési dinamikajellemzője az alkalmazott két különböző ultrahang teljesítménynek a baktériumsejtekre.

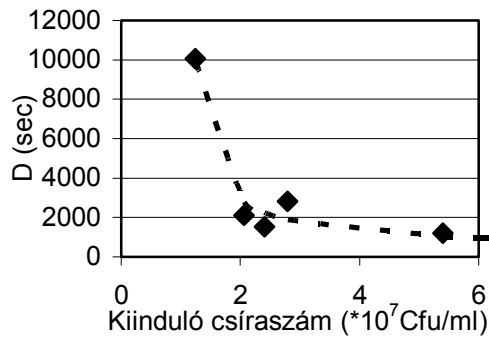
Ha azonban a kezelések csíraszám csökkentő hatását vizsgáltuk, úgy a kiinduló és a 15. percben vett minták csíraszámát vettük alapul minden minta esetében, mivel ekkorra már jelentős csíraszám csökkenés következett be a kiinduló csíraszámhoz képest. A

túlélési görbéket a 49. ábrán ábrázoltuk, ahol az egyes mintákhoz tartozó sejtszámok logaritmusra került ábrázolásra a kezelési időintervallumok függvényében. A két pont közötti egyenes azért lehet használható itt is, mivel a fizikai behatások eredményeként kialakuló túlélést exponenciális lefutásúnak vehetjük (Deák, 1997), mivel a pusztulás üteme az élősejtszám csökkenésével nem változik, ez pedig log-normál diagrammban egyenest ad. A VII. melléklet 8. táblázata az egyes minták (D) tizedelési időintervallumait, (TDT) teljes pusztulási időintervallum értékeit, illetve (k) pusztulási sebesség együtthatóit, valamint a kiszámításukhoz figyelembevett adatokat tartalmazza.

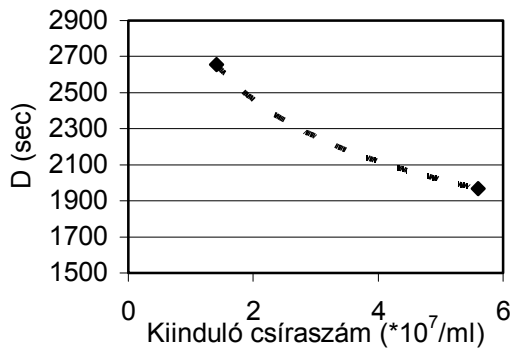


49. Ábra: Baktérium túlélési görbéi eltérő kiinduló csíraszám és teljesítmények esetén

Amennyiben a 9W/cm² teljesítmény mellett mért tizedelési időintervallumokat (50. ábra) és a 6W/cm² teljesítmény mellett mért tizedelési időintervallumokat (51. ábra) ábrázoljuk, megfigyelhető, hogy mindkét teljesítmény esetén a „D” értékek a növekvő kiindulási csíraszám függvényében csökkenő tendenciát mutatnak a kavitáció mellett. A kisebb térfogatú baktériumsejteknek, élesztőgomba sejtekkel való, 4.5.1. fejezetben használt csíraszámával összeegyeztethető alkalmazott koncentrációja még nem vonta maga után az akusztikai jelenségek befolyásolását, vagyis az abszorpciós képesség nem érte el a kavitációs maximumát, tehát a kavitációs határkoncentrációt. Ez lehet az oka az ellentétes túlélési dinamikának a kavitáció mellett.



50. Ábra: *Pseudomonas aeruginosa* „D” értékei 9W/cm² mellett
($y=a+b/\ln x$, $a=-246,069$, $b=2186,163$, $R^2=0,9676$)



51. Ábra: *Pseudomonas aeruginosa* „D” értékei 6W/cm² mellett

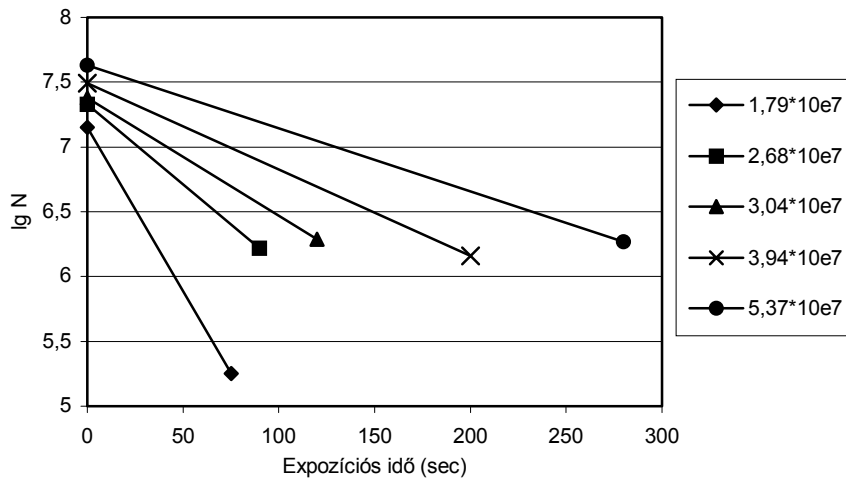
4.8. BIOLÓGIAI ULTRAHANG KÍSÉRLETEK EREDMÉNYEINEK ÖSSZESÍTÉSE

4.8.1. AZ ULTRAHANG HATÁSÁNAK ÖSSZESÍTÉSE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ÉLESZTŐGOMBÁRA

Az eredmények összesítését a 4.1., a 4.2. és a 4.5. fejezet biológiai hatásai alapján végeztük. Az eredmények összesítéséhez minden „D” tizedelési időintervallumot másodpercre, illetve minden kezelt mennyiséget 25ml-re vonatkoztattunk, azaz a 4.1. és a 4.2. fejezet 50ml-re vonatkozó másodpercbeli D érték eredményeit feleztük.

Ha a 4.5. fejezetnek az akusztikai jelenségekre vonatkozó hatását elhanyagoltuk, az iparilag legegyszerűbben kivitelezhető „batch” alkalmazásokra való tekintettel, akkor kizárólag a kezdeti (N_0) és a végső vizsgált élő sejtszámot (N_t) vettük figyelembe. Ekkor

a VII. melléklet 9. táblázatban látható tizedelési időintervallumokat, TDT értékeket és pusztulási sebesség (k) értékeket kaptuk. Amennyiben az akusztikai jelenségek elhanyagolására vonatkozó túlélési görbéket felrajzoltuk, úgy a 42. ábra helyett az 52. ábrát kaptuk.



52. Ábra: A *Saccharomyces cerevisiae* túlélési görbéi az akusztikai jelenségek elhanyagolásával

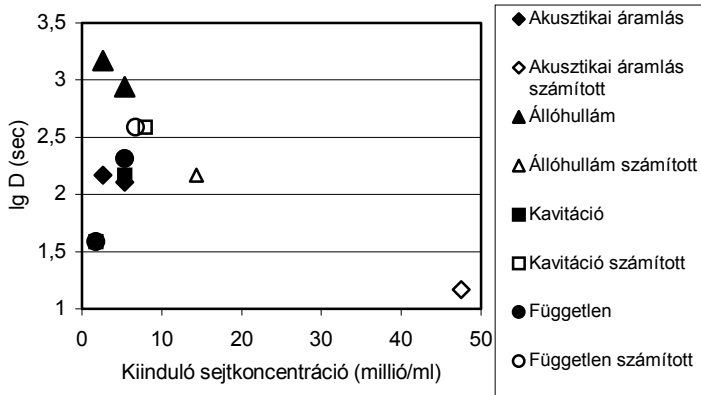
Amennyiben a [12.] egyenletet a [20.] egyenlet szerinti formába írtuk át, úgy a különböző kiinduló sejtkoncentráció értékekre is ki tudtuk fejezni „ z ” értéket, vagyis a „ D ” tizedelési időintervallum tizedére csökkenéséhez szükséges koncentrációváltozást.

$$z = ((c_1 - c_2) / (\lg D_2 - \lg D_1)), \quad [20],$$

ahol c_1 az alacsonyabb, c_2 a magasabb kiinduló sejtszám, a D_1 az alacsonyabb, D_2 a magasabb kiinduló sejtszámhoz tartozó tizedelési időintervallum. Az eredményeket abszolút értékben hozzáadtuk a c_1 -hez, majd a c_1 -hez tartozó D_1 értéket egy nagyságrenddel növeltük, vagy csökkentettük, attól függően, hogy a c_1 -ről c_2 -re növelés hatására a D_1 nőtt vagy csökkent. A D érték egy nagyságrenddel való növelését vagy csökkentését megadta maga az eredmény is, mivel ha negatív számot kaptunk, akkor egy nagyságrenddel növelni kellett a D_1 -et, mert ekkor a kezelésre csökken a mikroorganizmus érzékenysége, illetve fordítva. Ezeket a mért és számított koncentráció

értékeket, illetve az adott, mért, vagy számított másodpercben kifejezett logD és kezelési teljesítmény értékeket a 6. táblázatban tüntettük fel, így a 6. táblázat a 4.1. és 4.2. és 4.5. fejezet mért, adott és számított teljesítmény, koncentráció és logD értékeit tartalmazza.

A 4.5. fejezetből az logD és kiinduló sejtkoncentráció értékeket ábráztuk, ahol az adott akusztikai jelenségek, illetve azok elhanyagolása melletti logD értékeket összekötő képzeletbeli vonalak az élesztőgomba rezisztenciagörbéi (53. ábra).



53. Ábra: A *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba ultrahang rezisztenciagörbéi, különböző akusztikai jelenségek mellett

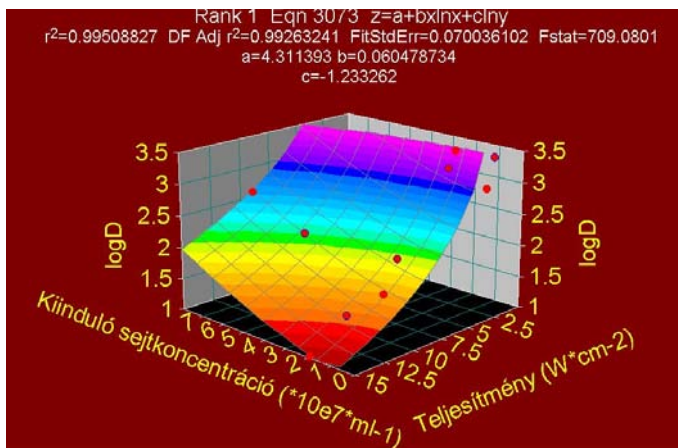
Tizedelési időintervallum tízszeresére, vagy tizedére változásához szükséges kiinduló sejtszám változás számítás alapján való extrapolálást az akusztikai áramlás kivételével, csak a mérések alapján számított tizedelési időintervallum tartományon belül végeztünk.

6. Táblázat: Az ultrahang biológiai hatásának összesítése élesztőgombára

		Koncentráció ($\cdot 10^7/\text{ml}$)	Teljesítmény (W/cm^2)	log D (sec)
Akusztikai áramlás 4.5. fejezetből	Mért	2,68*	9***	2,17*
		5,37*	9***	2,11*
	Számított	47,51**	9***	1,17**
Állóhullám 4.5. fejezetből	Mért	2,68*	9***	3,17*
		5,37*	9***	2,94*
	Számított	14,37**	9***	2,17**
Kavitáció 4.5. fejezetből	Mért	1,79*	9***	1,59*
		5,37*	9***	2,17*
	Számított	7,96**	9***	2,59**
Elhanyagolt akusztikai jelenségek 4.5. fejezetből	Mért	1,79*	9***	1,59*
		5,37*	9***	2,316*
	Számított	6,72**	9***	2,59**
Nem állandó hőmérsékletű ultrahang sugárzófejjel végzett vizsgálat (4.2. fejezet)	Mért	0,42*	2,07***	3,47*
		2,47*	2,07***	3,43*
		0,45*	2,7***	3,01*
		2,41*	2,7***	3,19*
Folyadékáramoltatásos kísérletből (4.1. fejezetből)	Mért	2,54***	7,37***	2,01*
		2,81***	11,79***	1,42*
	Számított	2,5***	14,84**	1,01**

*mért, **számított, ***adott érték.

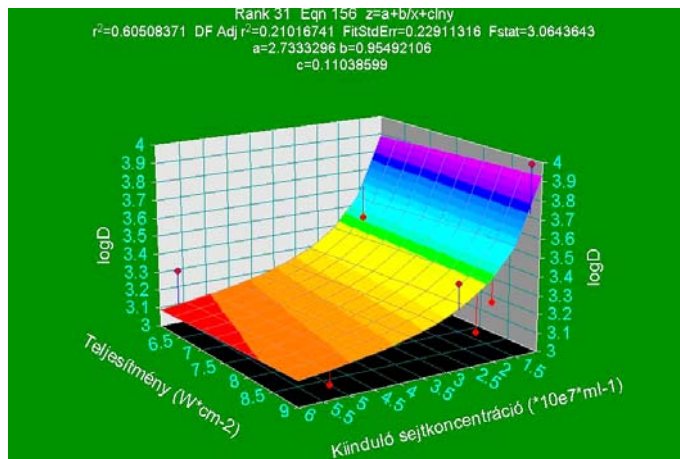
A 4.1., a 4.2. és a 4.5. fejezet kavitáció mellett mért, számított és adott pontjait háromdimenziós grafikonokban ábrázoltuk és azokra rezisztenciagörbe-szerűen a legszorosabb tendenciasíkokat fektettük (54. ábra).



54. Ábra: A 4.6. fejezet kavitáció, valamint a 4.1. és a 4.2. fejezetek mért adott és számított pontjai, illetve az ezekre fektetett rezisztenciagörbe-szerű tendenciasík

4.8.2. AZ ULTRAHANG HATÁSÁNAK ÖSSZESÍTÉSE A *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* BAKTÉRIUMRA

Amennyiben a 4.7. fejezet *Pseudomonas aeruginosa* túlélése esetén ábrázoltuk a rezisztenciasíkot, a 4.7. fejezt 5. táblázatának az adatai alapján, az 55. ábrát kaptuk. Az ábrán megfigyelhető, hogy a nagyobb ultrahang teljesítmények, illetve a magasabb kiinduló csíraszám értékek mellett alacsonyabb tizedelési időintervallumok mutatkoznak, mint fordított esetben.

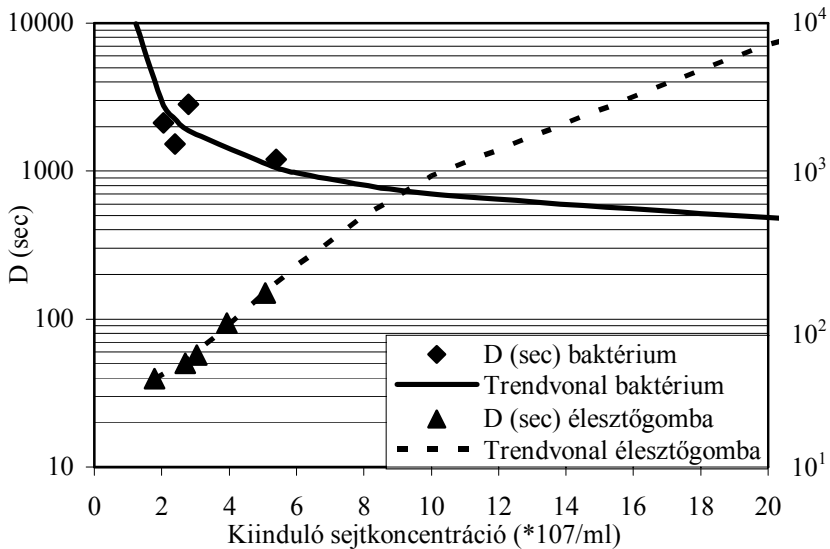


55. Ábra: *Pseudomonas aeruginosa* kavitáció melletti rezisztenciasíkja

4.8.3. SZELEKTIVITÁSI KRITÉRIUMOK

Az 54. és az 55. ábrákat, vagy az 5. és a 6. táblázatot összevethetjük, illetve ha a 45. és az 50. ábrákat a kavitáció akusztikai jelensége mellett egymásra helyezzük, az 56. ábrát kapjuk. Az optimális vizualizáció miatt 54. és az 55. ábra tengelyei nem azonosak. A *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba és a *Pseudomonas aeruginosa* baktérium azonos alkalmazott kiinduló csíraszámai, mind az azonos alkalmazott teljesítményei figyelembevételével, a baktérium esetén hozzávetőleg egy nagyságrenddel magasabb tizedelési időintervallumok adódtak, mint az élesztőgomba esetében. A tizedelési tendenciák között azonban alapvető különbségek mutatkoztak (56. ábra). Látható az 56.

ábrán, hogy a kiinduló csíraszámok alapvetően meghatározták a túlélési dinamikát, méghozzá az élesztőgomba esetén a kiinduló csíraszámmal nőtt, a baktérium esetén pedig csökkent a tizedelési időintervallum. Ha trendvonalakat fektetünk a tizedelési időintervallum értékekre, szembetűnő jelenségre következtethetünk.



56. Ábra: Az élesztőgomba (4.5. fejezet, $R^2=0,9954$) és baktérium (4.7. fejezet, $R^2=0,9676$) túlélési dinamikája $9W/cm^2$ ultrahang teljesítménynél, kavitáció és különböző kiinduló sejtszámok mellett

A 7. táblázat a baktérium és az élesztőgomba kiinduló csíraszám függvényében adódó tizedelési időintervallum értékeire fektetett néhány egyszerűbb tendenciafüggvényt tartalmaz, melyből az 1. sor trendfüggvényeit alkalmaztuk a szelekció előrejelzésekor.

7. Táblázat: A mikroorganizmusok túlélésére fektetett tendenciafüggvények

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
	D (sec)	C (*10 ⁷ /ml)	D (sec)	C (*10 ⁷ /ml)
1	$D = -246,06 + (2186,1 / \ln C)$ $(R^2 = 0,9676)$ $C = e^{(2186,163/D - 46,069)}$		$D = 34,117 + 0,896C^3$ ($R^2 = 0,9954$)	$C = \sqrt[3]{(D - 34,117) / 0,896}$
2			$D = 18,635 * e^{0,2181C}$ ($R^2 = 0,9844$)	$C = \ln(D / 18,635) / 0,2181$
3			$D = 16,175 + 5,077C^2$ ($R^2 = 0,996$)	$C = \sqrt{D - 16,175} / 5,077$
4			$D = 26,91 + 2,11C^{2,5}$ ($R^2 = 0,9956$)	$C = \sqrt[2,5]{(D - 26,91) / 2,11}$
D = tizedelési időintervallum (sec), C = Kiinduló sejt koncentráció (*10 ⁷ /ml) A függvények értelmezési tartománya: {D; C ≥ 0}				

A 7. táblázatból és az 56. ábrából adódóan, az akusztikai kavitáció mellett, elméletileg azonos $9,22 * 10^7$ /ml körüli élesztőgomba és baktérium kiinduló sejtszám és $9W/cm^2$ mellett hozzávetőleg 5896 másodperces kezelés után (mivel az előre jelzett keresztelési pont 737 másodperc körüli „D” értéket mutat) a közeg csíraszám $9,22 * 10^1$ /ml-re csökkenthető, illetve a kezelés alatt a két sejt típus egymáshoz viszonyított aránya nem változik. A fentiek alapján amennyiben $9,22 * 10^7$ /ml csíraszámnál alacsonyabb mindkét szervezet sejtszáma, úgy az élesztőgombát, ha magasabb, úgy a baktériumot lehet gyorsabban kipusztítani a másik sejt típus mellől. Elméletileg abban az esetben viszont, ha a $9,22 * 10^7$ /ml-nél alacsonyabb baktériumkoncentráció mellől, mégis a $9,22 * 10^7$ /ml-nél alacsonyabb kiinduló csíraszámú élesztőgombát akarjuk kiirtani, akkor az ultrahangnak, a 4.7. fejezetben tapasztalt alacsonyabb, $6W/cm^2$ ultrahang teljesítmény és rövidebb, 1-2 perces kezelési periódus mellett jelentkező szaporodáserkentő hatását alkalmazva, akár több lépcsőn keresztül is, elméletileg a baktérium csíraszámát a megfelelő mértékben megsokszorozható ahhoz, hogy a megfelelő mértékű tizedelési időintervallum-különbség alakuljon ki a két szervezet között és így már az alacsonyabb kiinduló csíraszám mellett rezisztensebb, baktériumot lehessen kiirtani az élesztőgomba mellől. A baktérium csíraszám-növekménye ilyenkor az kipusztítása szempontjából azért nem olyan lényeges, mivel az egyik sejt típus kiinduló csíraszámának egy egységnyi megváltoztatása, az egységnyinél nagyobb tizedelési időintervallum különbséget eredményez, a két vizsgált sejt típus között.

A tizedelési időintervallum különbség a fogékonyabb sejttípus ultrahangkezelés miatti kipusztításakor, a rezisztensebb sejttípusnál kisebb mértékű sejtszám változást eredményez, amit annak növekedése a kezelés után kompenzálhat, amit Mikio et al. (1994) a fermentált tej kezelésével kapcsolatban figyeltek meg. Amennyiben a teljesítmény szelektivitását vesszük alapul látható, hogy élesztőgomba esetén, a 6. táblázatban a tizedelési időintervallum $9\text{W}/\text{cm}^2$ -en $\lg 1,59$, azaz 40 másodperc körüli érték $2 \cdot 10^7$ körüli kiinduló kezdeti sejtszám esetén, míg a baktériumnál ez 2113 másodperc. A teljesítménnyel tehát az azonos túlélési tendenciák miatt csak egy irányban reális a szelektivitás kifejezés, mégpedig az élesztő baktérium mellőli kiirtásánál, fordított esetben mindössze elvi jelentőségű lehetőség van erre, a rendkívül nagy sejtszám-különbség esetén, vagyis a több mint tíz nagyságrenddel magasabb élesztőgomba szám esetén.

Ezek alapján, a fajon belüli és a fajok közötti szelektív ultrahanghatás lehetősége biztosítható lehet (Lőrincz et al., 2003^b).

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

5.1. FOLYADÉKÁRAMOLTATÁSOS ÉS A NEM ÁLLANDÓ HŐMÉRSÉKLETŰ ULTRAHANGVIZSGÁLATOK

A vizsgált folyadékáramoltatásos ultrahangrendszerben 7,5, 9,6, 10,5 és 12W/cm² kibocsátott ultrahang intenzitások mellett, 7,37, 9,43, 10,32 és 11,79W/cm² intenzitás értékek jutottak be az alkalmazott ultrahangos átfolyóküvetébe, amely intenzitás csökkenés reflexióból adódott. Azt javasoljuk, hogy komplex hangterek esetén mindig érdemes meghatározni az intenzitásváltozást, az ultrahang biológiai hatásainak objektív értékelése érdekében.

Az 50ml, 2-3*10⁷/ml kiinduló sejtkoncentrációjú *Saccharomyces cerevisiae* szuszpenziók 7,5,-12W/cm² kibocsátott ultrahang intenzitás melletti kezelése esetén, 20°C hőmérsékleten az effektív kezelési időre vonatkozóan 209,36, 108,42, 59,34 és 53,65 másodperces „D” értékeket kaptunk az alkalmazott ultrahang teljesítménnyel fordított arányban. Ebből következően meghatároztuk a mikroorganizmus ultrahang túlélési, rezisztencia és pusztulási görbéit az adott körülményekre, melyek ismeretében lehetőség van különböző ultrahangrendszereknek, akusztikai jelenségek biológiai hatásának, és más mikroorganizmusok ultrahang rezisztenciájának összehasonlítására.

Nem állandó hőmérsékletű ultrahang rendszerben a 0,4-2*10⁷/ml koncentrációjú *Saccharomyces cerevisiae* szuszpenzió minták kezelésének hatására 2,07W/cm² teljesítmény mellett 100,1, 158,1, 133,7, 91 perces, a 2,7 W/cm² teljesítmény mellett 34,9, 30,64, 35,33, 52,2 perces „D” értékek adódtak. Az eredményekből az következik, hogy a „D” értékek és az alkalmazott ultrahang teljesítmény fordított arányban állnak.

Azt javasoljuk, hogy bármilyen ultrahangkezelés folyamán, a fő fizikai paramétereket állandó értéken kell stabilizálni, vagy ha erre nincs mód, akkor az eredmények értékeléséhez ismerni kell a leglényegesebb fizikai paraméterek eredménymódosító hatását, illetve kezelés alatti módosulását és azokkal számolni kell.

5.2. ULTRAHANG HŐHATÁSA

Az alkalmazott 9W/cm² teljesítmény mellett, tiszta szuszpendáló szerhez képest a szuszpenziókban kialakult hőmérsékleti értékek alacsonyabbak voltak. A kavitáció

aktivitását csökkentette, illetve bizonyos esetekben a kavitáció kialakulását akadályozta, illetve megszüntette a hangtér szemcsetartalma. Az eredményekből az következik, hogy az ultrahangos kavitáció felel a fokozottabb hőképződésért, folyadékban.

Csak a vizsgálatok végső fázisában alakult ki az akusztikai jelenségek átváltásától függetlennek-tűnő hőmérséklet érték. Ebben a zónában viszont nem volt mérhető különbség a különböző koncentrációjú szuszpenzió minták és a szuszpendáló szerhez viszonyított hőmérsékletkülönbség értékei között sem. Javasoljuk, hogy az akusztikai jelenségek dinamikáját előzetesen meg kell ismerni, minden kezelt akusztikai rendszer, vagyis minden vizsgált anyag esetében, mely nélkülözhetetlen alapja kell, hogy legyen akár az aktív, akár a passzív az ultrahangos munkának.

5.3. AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK VIZSGÁLATA

Műszeres elven nagy biztonsággal detektálható a kavitációs küszöb. A kavitációs határkoncentráció az alkalmazott $3-12 \text{ W/cm}^2$ mellett, liofilizált élesztőgombánál $2-4,2\text{g/l}$, préselt élesztőgombánál $9,12-12,08\text{g/l}$, dolomitlisztnél $0,88-5,12\text{g/l}$ tartományba esett, a teljesítménnyel egyenes arányban változva. A két különböző formátumú élesztőgomba nedves bázisra számolt szárazanyag tartalmára vonatkoztatva a kapott eredményeket, nagyon hasonló kavitációs határkoncentráció értékek adódtak az egyes teljesítményszintek mellett. Ebből arra a következtetésre jutottunk, hogy a kavitációs határkoncentráció alapvetően függ az egyes anyagok szárazanyag tartalmától.

A kavitáció kialakulási időpillanat dolomitlisztnél 750másodperc körüli, liofilizált élesztőgombánál 45másodperc körüli értéket mutatott, amely különbség az egyes részecskék térfogattömegéből és mozgásából származó tehetetlenségéből adódhat. Következésképpen a kavitációs határkoncentrációval és a kavitáció kialakulási időpillanattal a szemcsés anyagok minőségileg és mennyiségileg reprodukálható módon jellemezhetők. Azt javasoljuk, hogy figyelemmel kell lenni a különböző akusztikai jelenségek ultrahangtérbeli jelenlétének körülményeire és fizikai kritériumaira, továbbá szemcseanalitikai eljárásként, illetve gyors szárazanyag meghatározásra javasoljuk a fenti vizsgálati módszereket.

5.4. SACCHAROMYCES CEREVISIAE ÉLESZTÓGOMBA TÚLÉLÉSI DINAMIKÁJÁNAK ÉRTÉKELÉSE AZ AKUSZTIKAI JELENSÉGEK FIGYELEMBEVÉTELÉVEL

Magasabb *Saccharomyces cerevisiae* kiinduló csíraszámú szuszpenziók esetén egyre később alakult ki az akusztikai áramlás után az állóhullám, majd a kavitáció. Az akusztikai áramlás tizedelési időintervallum értékei 160-130másodperc, az állóhullámé 1500-800másodperc között adódtak, a kiinduló sejtkoncentrációval fordított arányban. A kavitáció esetén 39-150másodperc közötti „D” értékek adódtak, koncentráció növekedésével egyenes arányban, $9\text{W}/\text{cm}^2$ mellett. Kölcsönhatás volt az ultrahangtérbeli szuszpenzió koncentráció és az akusztikai jelenségek kialakulása között, illetve ebből következően, a szuszpenzióbeli sejtek túlélési dinamikája és a szuszpenzió koncentrációja között. Az ultrahangtérben akusztikai jelenség-sejtbiológiai hatás láncreakciók játszódtak le a besugárzás alatt. Javasoljuk, hogy a túlélési dinamikát meghatározó akusztikai jelenségeket a hangtér fizikai paraméterein keresztül befolyásoljuk, így szabályozhatjuk a sejtek túlélési dinamikáját magával a sejtkoncentrációval, visszacsatolás elvén.

5.5. SEJTANALITIKAI MÓDSZEREK

Az alkalmazott analóg sejtanalitikai rendszerrel *Saccharomyces cerevisiae* túlélési dinamikája egyszerűbben gyorsabban követhető volt, mint manuális vitális festéssel. A digitális sejtanalitikai eljárás segítségével szintén objektív eredményekhez jutottunk, azonban a mintavétel folyamatosságának megoldása további kutatást igényel. Javasoljuk, az alkalmazott analóg sejtanalitikai eljárás alkalmazását a sejtek ultrahang rezisztenciájának felderítése céljából, gyors módszerként. Segítségével indirekt módon információt kaphatunk egy sejtpopuláció koreloszlásáról, egy rendszer faji összetételéről, a környezeti analitikában toxicitásról, vagy mutagenitásról.

5.6. PSEUDOMONAS AERUGINOSA BAKTÉRIUM ULTRAHANGKEZELÉSE

A *Pseudomonas aeruginosa* baktérium „D” értékei $9\text{W}/\text{cm}^2$ mellett akusztikai kavitáció esetén 10056-1205másodperc között, $6\text{W}/\text{cm}^2$ esetén 2656-1968másodperc között adódtak az $1,24 \cdot 10^7$ - $5,5 \cdot 10^7$ kiinduló sejtkoncentrációkkal mindkét esetben

fordított arányban, vagyis a magasabb csíraszám melletti alacsonyabb „D” értékek alakultak ki. Következésképpen, a fenti koncentrációtartományban a rendszer még nem érthette el a teljesítőképessége csúcspontját, vagyis a kavitációs határkoncentrációt. Magasabb részecskékonzentrációnál egy kavitációs buborék összeomlása annak közelében lévő több sejtet is szétroncsolhat egyszerre. Alacsonyabb intenzitású, rövidebb időintervallumú ultrahangkezelés szaporodáskereső hatást fejtett ki. Javaslatunk, hogy a vizsgált baktérium, illetve minden organizmus gazdaságos elpusztításához a kavitációs határkoncentráció közelében, de az alatt érdemes üzemeltetni a rendszert, vagyis egy állandó akusztikai jelenség biztonságos felső határa alatt, a teljesítőképesség maximumánál. A szaporodáskereső hatásához pedig rövid időintervallumú alacsonyabb intenzitású kezelést kell alkalmazni.

5.7. SZELEKTÍV ULTRAHANGHATÁS KRITÉRIUMAI

A *Saccharomyces cerevisiae* esetén a kavitáció tizedelési időintervallum – kiinduló szuszpenzió koncentráció egyenes arányban állnak, míg a *Pseudomonas aeruginosa* baktérium esetén e jelenség mellett fordított arány tapasztalható. A szelektivitás lényege, hogy amennyiben a kiinduló csíraszám mindkét vizsgált mikroorganizmus esetén $9,22 \cdot 10^7/\text{ml}$, akkor elméletileg mindkét mikroorganizmus egyforma 737 másodperces tizedelési időintervallummal rendelkezik. Ha ennél alacsonyabb mindkettő sejtszáma, akkor az élesztőgombát, illetve fordított esetben a baktériumot lehet kiirtani a másik sejttypus mellől. A teljesítmény szelektivitása gyakorlatilag egyirányú, mivel az élesztőgomba „D” értéke megközelítőleg tizede a baktériuménak, fordított esetben az élesztőgomba legalább tíz nagyságrenddel magasabb koncentrációjánál fordulhat elő csak. Tehát, ha a vizsgált baktériumot az alacsonyabb kiinduló csíraszám, vagyis a nagyobb „D” értéke ellenére kell kiirtani az élesztőgomba mellől, akkor a $6\text{W}/\text{cm}^2$ melletti baktériumra gyakorolt szaporodáskereső hatást akár több lépcsőben alkalmazva, a baktériumszám kellő mértékben megsokszorozható ahhoz, hogy „D” értéke az élesztőgomba alá kerüljön, így kiirthatóvá váljon az élesztőgomba mellől. Következésképpen az ultrahang alkalmas a sejtszám szelektív szabályzására, így javasoljuk annak alkalmazását akár más fajok esetén is szelektív sejtbiológiai kezelések kivitelezésére.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az értekezésben az ultrahang sejtbiológiai és fizikai hatásaival, akusztikai jelenségek kialakulásának körülményeivel, illetve azok biológiai hatásaival, az ultrahang által okozott hőképződéssel foglalkoztunk. A kutatás alapvető, fő vizsgálati célja a különböző mikroorganizmusok túlélési dinamikájának ultrahangkezelés melletti tanulmányozása volt, a szelektív ultrahanghatás kritériumainak megfogalmazásáért. A kutatás során összesen háromféle ultrahangrendszer került megtervezésre és kivitelezésre a nagyfrekvenciás, magas intenzitású aktív ultrahang kategóriában, mely rendszerek sejtbiológiai és fizikai vizsgálatokban kerültek összevetésre. Az ultrahangrendszerek speciális kiegészítő egységei voltak a kavitáció hangtérbeli kialakulásának detektálása érdekében kialakított műszeres kavitáció detektálási rendszer, és azok járulékos egységei. Az ultrahangrendszerek további kiegészítő rendszereinek tekinthetőek a folyadékáramoltatásos rendszerek, melyek egy esetben magát a teljes kezelt anyagmennyiséget, másik esetben a sejtanalitikai rendszert foglalták magukban. Sejtanalitikai rendszerek annak érdekében kerültek kifejlesztésre és tesztelésre, hogy a sejtbiológiai hatások értékelése gyorsabban és egyszerűbben kivitelezhetővé váljék. A sejtanalitikai rendszerek jelfeldolgozó egységei analóg és digitális elven alapultak. Az ultrahang hőhatásának vizsgálata infra és termoelemes hőmérőrendszerek összevetésével történt, melyek közül az infrahőmérős hőmérséklet meghatározás segítségével, ultrahangtérben három kísérletsorozat folyt, melynek kapcsán derült fény a hangtérben kialakuló akusztikai jelenségek szerepének fontosságára. Az ultrahang hőhatásának meghatározásáért szono-termogramok és differenciál szono-termogramok kerültek kifejlesztésre és alkalmazásra. A cél annak megállapítása volt, hogy a szuszpendáló szer és a szuszpenzió hőmérséklete azonos kezelési körülmények mellett hogyan viszonyul egymáshoz. A hőkezelés mikrobiológiai hatására vonatkozó képletek és egyenletek átalakításával új lehetőség nyílt az ultrahang biológiai hatásainak értékelésére. Módszereket, eljárásokat dolgoztunk ki a kavitációs határkoncentráció ultrahangtérbeli meghatározására, illetve az ultrahangtérben kialakuló visszakavitálási, vagy kavitáció kialakulási jelenségeket megfogalmazzuk, eljárást dolgoztunk ki azok meghatározására, illetve meg is mértük azokat az alkalmazott modellanyagok esetében. Különböző teljesítményszintek és kiinduló *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba csíraszámok

mellett vizsgáltuk az akusztikai jelenségek kialakulási törvényszerűségeit, illetve módszereket, eljárásokat dolgoztunk ki az akusztikai jelenségek vizsgálatára. Bizonyítást nyert, hogy az akusztikai jelenségeknek úgy, mint az akusztikai áramlásnak, az állóhullámnak és a kavitációnak eltérő hatása van a modell élesztőgomba túlélési dinamikájára, továbbá, hogy ezen akusztikai jelenségek célirányosan befolyásolhatóak, illetve meghatározhatóak a kísérleti körülmények közötti befolyásoló paraméterek. Az élesztőgombánál mért túlélési dinamika eredmények további értelmezhetősége és összehasonlíthatósága miatt feltételesen kórokozó *Pseudomonas aeruginosa* baktériummal is elvégeztük az ultrahang besugárzási kísérleteket.

A kísérletek eredményeként, a két modell mikroorganizmus túlélési dinamikájában eltéréseket mutattunk ki az alkalmazott azonos kísérleti körülmények melletti kavitációs jelenség hatására, így lehetővé válhat a szelektív ultrahangkezelés megvalósítása. A fajon belüli szelektivitás annál is inkább lehetővé vált, mivel alacsonyabb intenzitású, rövidebb periódusú ultrahangkezelés serkentően hat a baktérium szaporodására.

A szelektív ultrahanghatás miatt, az ultrahang provizórikus felhasználási lehetőségei is előtérbe kerülhetnek, az élelmiszerkárosító mikroorganizmusok besugárzásának, kiirtásának, vizsgálatának, sőt a humán test folyadékaiban lévő káros sejtek inaktiválásának az irányában, a hasznos sejtek érintetlenül hagyása, vagy serkentése mellett.

7. SUMMARY

In this dissertation we dealt with the cell biology and physical effects of ultrasound, with the conditions for the formation of acoustic phenomena and the biological effects of these phenomena, with heat generated by ultrasound.

Our primary goal with these investigations was to study the survival dynamics of different microorganisms during their irradiation with ultrasound in order to define the criteria for selective ultrasound effects.

We designed and built three ultrasound systems of different type. All of them were operating in the high intensity active ultrasound category. We compared there three ultrasound systems in cell biology related and physical experiments. The ultrasound generating systems were supplemented with the following special units: analogue cavitation detecting systems for detecting the formation of cavitation in the ultrasound field, and their auxiliary equipment. The liquid circulating system can also be considered as another auxiliary system of the ultrasound arrangement. In one experiment this liquid circulating system contained all the irradiated materials, in another case this system contained the cell analytical system.

We developed and tested cell analytical systems for facilitating the evaluation of the cell biology effects. Both analogous and digital signal processing units were used as elements of the cell analytical systems. For studying the effect of heat generated by ultrasound, we compared two thermometer systems based on infrared and thermocouple sensors, respectively. Three sets of experiments were carried out in the ultrasound field by using the infrared based temperature measurement system. Results of the se experiments highlighted the importance of the acoustic phenomena occurring in the ultrasound field.

In relation to the heat generation we developed sono-thermograms and differential sono-thermograms by using a new principle. We used these diagrams to determine the relationship between the suspension media and the suspension temperature under the same irradiation conditions.

We modified several formulas and equations used in microbiological studies for calculating the effect of heat so that they shall be suitable for evaluating the biological effects of ultrasound. We developed methods and procedures for determining the

threshold concentration in the ultrasound field where the cavitation occurs. We clarified the reverse cavitation and cavitation formation phenomena and developed a procedure for determining these processes. In addition we carried out measurements aimed at determining the parameters of these phenomena for different model materials.

We studied the rules controlling the development of the acoustic phenomena at different ultrasound output levels and different starting *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell concentrations, and we worked out methods and procedures for examining these acoustic phenomena. We demonstrated that the different acoustic phenomena, namely acoustic streaming, standing wave and cavitation have different effects on the survival dynamics of the yeast used as a model. We also showed that these acoustic phenomena can be affected advisedly and determined the variables affecting these phenomena. For the purpose of providing more data for interpreting the survival dynamics measured with yeast and for establishing a basis of comparison, We performed the experiments with a human bacteria strain, *Pseudomonas aeruginosa*.

As a result of these experiments we showed differences in the survival dynamics of the two model microorganisms under the same experimental conditions in the range of cavitation. This makes the selective ultrasonic treatment possible. The selectivity can even be more expressed as if ultrasound of low output was applied for shorter periods it stimulated the reproduction of the bacteria.

Due to the selective effect of ultrasound, there are some ad hoc options for its use in the areas of irradiation, extermination, examination of food damaging microbes, or even deactivation of the detrimental cells in human body liquids without affecting, or even stimulating, the useful cells.

8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

8.1. Megállapítottam, hogy állandó hőmérsékletű folyadékáramoltatásos és nem állandó hőmérsékletű töltő-ürítő ultrahangrendszerekben a *Saccharomyces cerevisiae* „D” értékei, az alkalmazott teljesítményekkel fordított arányban állnak, illetve a nem állandó hőmérsékletű ultrahangrendszerben a „D” értékek a kiinduló sejtkoncentrációkkal egyenes arányban változnak alacsonyabb, illetve fordított arányban változnak magasabb ultrahang teljesítmények mellett.

8.2. Megállapítottam, hogy az ultrahangos kavitáció felel a vízben jelentkező fokozott hőképződésért, de nem csak a hőhatás felel az ultrahang biológiai hatásaiért.

8.3 Megállapítottam, hogy a kavitációs határkoncentráció, 3-12W/cm² között egyenes arányban változik minden alkalmazott modellanyag esetén a teljesítménnyel, illetve ennek és a kavitáció kialakulási időintervallumnak az ismeretében meghatározható az adott anyag.

8.4. Megállapítottam, hogy a kavitáció kialakulási időintervallum egyenes arányban változik az alkalmazott részecskekoncentrációval, azonban nem változik a teljesítménnyel, a kavitációs határkoncentráció mindig azonos mértékű változtatásakor.

8.5. Megállapítottam, hogy a *Saccharomyces cerevisiae* „D” értékei a kiinduló sejtkoncentrációkhoz fordítottan aránylanak az akusztikai áramlás és állóhullám mellett, illetve egyenesen aránylanak a kavitáció akusztikai jelensége mellett 1,72*10⁷-5,37*10⁷/ml sejtkoncentráció és 9W/cm² teljesítményszinten.

8.6. Bebizonyítottam, hogy az alkalmazott analóg sejtanalitikai rendszerrel a *Saccharomyces cerevisiae* túlélési dinamikája egyszerűbben gyorsabban követhető, mint azonos körülmények mellett, manuális elemzéssel.

8.7. Megállapítottam, hogy a *Pseudomonas aeruginosa* baktérium „D” értékei a vizsgált 5,5*10⁷-1,24*10⁷ tartományban a kiinduló sejtkoncentrációval fordított arányban állnak kavitáció mellett 6 és 9W/cm² teljesítményszinten.

8.8. Megállapítható, hogy a vizsgált baktérium és az élesztőgomba kavitációval szemben tanúsított ellentétes túlélési dinamikája, a fajok közti szelektív sejtbiológiai ultrahangkezelés lehetőségét bizonyíthatja.

8.9. Új berendezés és eszköz a folyadékáramoltatásos ultrahangrendszer, a nem állandó hőmérsékletű ultrahang rendszer, az ultrahang hőhatásának vizsgálatakor

kifejlesztett ultrahang és detektor rendszerek, a műszeres kavitáció detektor és az analóg és digitális sejtanalitikai rendszerek.

8.10. Új tudományos módszerek a szono-termogramok és differenciál szono-termogramok, a kavitációs határkoncentráció meghatározásának alap és kiegészítő módszerei, a kavitáció kialakulási időpillanat meghatározásának, a szimultán akusztikai jelenség – sejtbiológiai hatás vizsgálat módszerei, a sejtanalitikai eljárások *Saccharomyces cerevisiae* ultrahangtérbeli túlélésének vizsgálatára.

9. KIVONAT

Akusztikai kavitáció kialakulásának koncentrációfüggése szuszpenziókban

Vizsgálatunk tárgya, hogy a szuszpenziók kvalitatív és kvantitatív tulajdonságai hogyan befolyásolják az ultrahangtérben kialakuló akusztikai jelenségek bekövetkezését és azok küszöbértékeit. Vizsgálati alap jelenségként az akusztikus kavitációt választottuk. A vizsgálatokhoz kereskedelmi forgalomban kapható préselt, illetve szárított *Saccharomyces cerevisiae* pékélesztőt, valamint az élesztő átmérőjével megegyező átmérőjű dolomitzemcsékből álló szuszpenziót használtunk. A kísérletek az ultrahangkezelő edényben 1,117MHz frekvenciáján, 0-12W/cm² teljesítmény mellett zajlottak. A hangtérbe sugárzott vezető hullámok longitudinális típusúak. Vizsgáltuk különböző ultrahang teljesítmények mellett a kavitáció megszüntetéséhez szükséges hangtérbeli szemcsekonzentráció g/l mennyiségét, tehát a „kavitációs határ koncentrációt”, valamint e mennyiségek 1,5-szeresének felhasználásával a kísérletek beindításától a kavitáció ismételt kialakulásáig eltelt időintervallumot, a „kavitáció kialakulási időpillanatot”. A két érték jellemzi a rendszerben kialakuló hullámjelenségeket, a hullámjelenségek pedig az ultrahang hatásait. A dolgozat alkalmas az ultrahang felhasználási területének szemcseanalitikai, szelektív részecskemanipulációs, biológiai extrakciós, sejt inaktiválási és fermentációs technikák felé történő további kibővítésére.

Occurrence of acoustical cavitation in suspensions and its dependence of this particle concentration

In our experiments we studied how the qualitative and quantitative properties of water based suspensions effect the occurrence and threshold levels of the ultrasonic phenomena, standing wave, acoustic streaming and especially cavitation. In our experiments commercial pressed (hydrated) and lyophilized (dehydrated) baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), and a dolomite suspension that has the same average particle size as of the yeast were used. The experiments were conducted in the ultrasonic treating vessel under the conditions of 1.117MHz frequency and 0-12W/cm² ultrasound output. We examined the levels of particle concentration (g/l) in the ultrasound field that were needed to terminate cavitation (that is the cavitation threshold concentration), and we measured the length of time that passed from the start of the experiment until the restart of cavitation, which is the time period required for the formation of cavitation. These experiments were carried out under concentration levels that were 1.5 times higher than the cavitation threshold concentrations. The acoustic phenomena taking place in the ultrasound field, and through these, the effects of ultrasound can be characterized by these two measures. This study is suitable for further expanding the application area of ultrasound towards particle analysis, selective particle manipulation, biological extraction, cell inactivation and fermentation techniques.

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki mindazoknak, akik e dolgozat elkészítésében segítettek. Köszönöm Prof. Dr. Neményi Miklós DSc, egyetemi tanár, témavezető segítségét. Köszönetet mondok Prof. Dr. Greguss Pálnak és feleségének Edit Asszonynak, akik támogattak munkámban és konzultációs lehetőséget biztosítottak. Köszönöm a NYME-MÉK Élelmiszertudományi Intézet vezetőjének, Prof. Dr. Szigeti Jenőnek és munkatársainak a mikrobiológiai munkánkhoz nyújtott segítséget, illetve a konzultációs lehetőséget. Továbbá köszönetemet fejezem ki, Prof. Dr. Sitkei György akadémikusnak, aki a kísérletek módszertanában nyújtott segítséget, illetve Prof. Dr. Deák Tibor DSc, egyetemi tanárnak, a munkánk helyességében való megerősítéséért.

Köszönetemet fejezem ki Bata János és Hrehorovszky József híradástechnikai műszerészeknek, az ultrahang berendezések elkészítéséért. Köszönettel tartozom a Kőporc Fejlesztés KFT. Ügyvezető igazgatójának, Dr. Balázs Lászlónak a piezoelektromos kerámiák rendelkezésemre bocsátásáért, illetve a konzultációs lehetőségeikért, továbbá a BMGE Atomfizikai Intézet, Felületi Optika Tanszékről Dr. Maák Pálnak és munkatársainak, illetve Varga Dénes finommechanikai műhelyvezetőnek, akik a sugárzó beméréséhez és kivitelezéséhez járultak hozzá. Köszönetemet fejezem ki Viczián Ferenc üvegtechnikusnak, aki a besugárzó edény elkészítésében nyújtott segítséget.

Köszönetet mondok Dr. habil. Szűcs Mihálynak, az Idrisi szoftver használatáért.

Köszönetemet fejezem ki, Szüleimnek, akik munkám során anyagilag támogattak.

11. IRODALOMJEGYZÉK

1. Ahuja, A.S.^a – Hende, W.R. (1978): Effectes of particle shape and orientation on propagation of sound in suspensions. *Journal of the Acoustical Society of America*, Vol. 63, Issue 4, pp. 1074-1080.
2. Ahmed, F. I. K. – Russel, C. (1975): Synergism between ultrasonic waves and hydrogen peroxide in the killing of microorganisms. *J. Appl. Bacteriol.* Vol. 39., pp. 31. - 40.
3. Airy, G.B. (1845): *Enciclopedia Metropolitana*. London, Vol. 5. In.: Rooney, J.A. (1988): Other Nonlinear Acoustic Phenomena. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Phisical, and Biological Effets*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 65-92.
4. Allegra, J.R. – Hawley, S.A. (1972): Attenuation of sound in suspensions and emulsions: theory and experiments. *Journal of the Acoustical Society of America*, Vol. 51, Issue 5, Part 2, pp. 1545-1564.
5. Alliger, H. (1975): Ultrasonic disruption. *Am. Lab.* Vol. 10., pp. 75-85.
6. Apfel, R. (1970): *Acoust. Soc. Am.* Vol. 48. p. 1179. In.: Atchley, A.A. – Crum, L.A. (1988): *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics*. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Phisical, and Biological Effets*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
7. Apfel, R. (1981): in *Ultrasonics*. Ed. Edmonds, P., Academic Press, New York, 1981, Vol. 19, Ch. 7, pp. 355-441.
8. Apfel, R. E. (1986): *Acoustic cavitation*. *Meth Exp Phys.*, Vol. 19, pp. 355-441.
9. Atchley, A.A. (1984): Ph.D. Dissertation, The University of Mississippi, Oxford. In.: Atchley, A. A. – Crump, L. A. (1988): *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics*. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Phisical, and Biological Effets*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
10. Atchley, A. A. – Crump, L. A. (1988): *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics*. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Phisical, and Biological Effets*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 1-63.
11. Babick, F. – Hinze, F. – Ripperger, S. (2000): Dependence of ultrasonic attenuation

- on the material properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol172, Issues 1-3, pp. 33-46.
12. Barnett, S. B. – Miller, M. W. – Cox, C. – Carstensen, E. L. (1988): Increased sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells exposed to high intensity pulsed ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 14, pp. 397-403.
 13. Benes, E. - Grösschl, M. - Handl, B. – Trampler, F. Nowotny, H. (1998): Das europäische TMR-Netzwerk „Ultrasonic Separation of Suspended Particles” Proc. Joint Symposium AAA and ÖPG TC Acoustics, Graz, Austria, 14. - 15. 1998, p 2, Austrian Acoustic Association and TC Acoustic of the Austrian Physical Society.
 14. Bezzubov, A. D. – Garlinszkaja, E. I. – Fridman, V. M. (1967): Ultrahang felhasználása az élelmiszeriparban. Budapest p. 27., 29., 94., 106.
 15. Bíró, I. (1976): Mikrobiológiai Gyakorlatok. ATE Mezőgazdaságtudományi Kar, Tejgazdaságtani és Mikrobiológiai Tanszék. p.: 64.
 16. Bjerknes, V. F. K. (1906): *Fields of Force*. Columbia University Press, New York.
 17. Blackshear, P. L. – Blackshear, G. L. (1987): Mechanical hemolysis. In: Skalak, R. – Chien, S. eds. *Handbook of bioengineering*. New York: McGraw-Hill, pp. 15.1-15.9.
 18. Blake, F.G. (1948): *The Onset of Cavitation in Liquids*, Tech. Memo No. 12, Harvard Acoustic Laboratory, Cambridge.
 19. Bleaney, B. I. – Blackburn, P. - Kirkley, J. (1972): *Br. J. Radiol.* 45, 354.
 20. Bondy, C. – Söllner, K. (1935): *Trans. Farad. Soc.* 31, pp. 835-842.
 21. Brayman, A. A. – Miller, M. W. (1992): Bubble cycling and standing waves in ultrasonic cell lysis. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 18., pp. 411-420.
 22. Brayman, A. A. – Miller, M. W. (1993): Cell density dependence of the ultrasonic degassing of fixed erythrocyte suspensions. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 19., pp. 243-252.
 23. Brayman, A. A. – Azadniv, M. – Miller, M. W. – Chen, X. (1994): Bubble recycling and ultrasonic cell lysis in a stationary exposure vessel. *J. Acoust. Soc. Am.* Vol. 96. pp. 627-633.
 24. Carstensen, E.L. – Schwann, H.P. (1959): Acoustic Properties of Hemoglobin Solutions. *J. Acoust. Soc. Amer.* Vol. 31, p. 305.
 25. Carstensen, E.I. – Becroft, S.A. – Law, W.K. – Barbee, D.B. (1981): *J. Acoust. Soc.*

- Am. Vol. 70, p. 302.
26. Carstensen, E. L. – Kelly, P. – Chrunch, C. C. – Brayman, A. A. – Child, S. Z. – Raeman, C. H. – Schery, L. (1993): Lysis of erythrocytes by exposure to CW ultrasound. *Ultrasound Med Biol.*, Vol. 19, pp. 147-165.
 27. Chapman, I. V. (1974): *Br. J. Radiol.* 47, 411.
 28. Church, C. C. – Flynn, H. G. – Miller, M. W. – Sacks, P. G. (1982): *Ultrasound Med Biol.* 8, 299.
 29. Church, C. C. – Miller, M. W. (1983): The kinetics and mechanics of ultrasonically-induced cell lysis produced by non-trapped bubbles in a rotating culture tube. *Ultrasound Med Biol.*, Vol. 9, pp. 385-393.
 30. Ciccolini, L. – Taillandier, P. – Wilhem, A. M. – Delmas, H. – Strehaiano, P. (1997): Low frequenc thermo-ultrasonication of *Saccharomyces cerevisiae* suspensions: effect temperature and of ultrasonic power. *Chemical Engineering Journal.* Vol. 65., Issue. 2., pp. 145-149.
 31. Coakley, W. T. (1997): Ultrasonic separations in analitical biotechnology. *Trends in Biotechnology*, Vol. 15, Issue 12, pp. 506-511.
 32. Coakley, W. T. – Hawkes, J. J. – Sobanski, M. A. – Cousins, C. M. – Spengler, J. (2000): Analytical scale ultrasonic standing wave manipulation of cells and microparticles. *Ultrasonics*, Vol. 38, Issues 1-8, pp. 638-641.
 33. Connolly, W. – Fox, F. (1954): *Acoust. Soc. Am.* Vol. 26. p. 843. In.: Atchley, A.A. – Crum, L.A. (1988): *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics*. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Phisical, and Biological Effets*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
 34. Connolly, C. C. (1969): Ph.D. Thesis, University of London.
 35. Crum, L. (1979): *Nature (London)*, Vol. 278. p. 148. In.: Atchley, A.A. – Crum, L.A. (1988): *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics*. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Phisical, and Biological Effets*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
 36. Crum, L. A. (1980): *J. Acoust. Soc. Am.* 68, 203.
 37. Davis, J. G. (1949): *Dairyman* 66., p. 321.

38. Deák, T. (1997): Élelmiszeripari Mikrobiológia. Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Tartósítói Kar. pp.: 51-57.
39. Deng, C. X. – Quihong, X. – Apfel, R. E. – Holland, C. K. (1996): In vitro measurements of inertial cavitation thresholds in human blood. *Ultrasound in Medicine and Biology*, Vol. 22, Issue 7, pp. 939-948.
40. Dinno, M. A. – Crum, L. A. – Wu, J. (1989): The effect of therapeutic ultrasound on electrophysiological parameters of frog skin. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 15., pp. 461-470.
41. Dinno, M. A. – Al-Karmi, A. M. – Stoltz, D. A. – Matthews, J. C. – Crum, L. A. (1993): Effect of free radical scavengers on changes in ion conductance during exposure to therapeutic ultrasound. *Membr. Biochem.* Vol. 10., pp. 237-247.
42. Doida, Y. – Brayman, A. A. – Miller, M. W. (1992): Ultrasound-induced *in vitro* cell lysis: node-antinode interactions. *J. Ultrasound Med.* Vol. 11., pp. 413 - 417.
43. Dolganowa, N. – Karitskaya, S. – Crekhtunova, V. – Lubovschina, T. (1994): Ultrasonic stimulation of *chlorella* population growth. *Acta Ichthyol. Piscat.* Vol. 24(2). pp. 165-170.
44. Dooley, D. A. – Sacks, P. G. – Miller, M. W. (1984): Production of thimine base damage in ultrasound exposed EMT6 mouse mammary sarcoma cells. *Radiat. Res.* Vol. 97., pp. 71-86.
45. Dunn, F. – Edmonds, P.D. – Fry, W.J. (1969): Absorption and Dispersion of Ultrasound in Biological Media. In Schwann, H.P. (1969): *Biological Engineering*. McGraw.Hill Book Co., New York, Chapt. 3, pp. 203-332.
46. Dvorak, V. (1876): *Poggendorf's Ann.* 157, 42.
47. Dyson, M. (1985): in „Biological Effects of Ultrasound”, *Clinics in diagnostic ultrasound*, Nyborg, W. I. – Ziskin, M. C., Eds., Churchill Livingstone, New York, 1985, Vol. 16, PP. 121-133.
48. Earnshaw, R. G. – Appleyard, J. – Hurst, R. M. (1995): Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *Int. J. Food Microbiol.*, Vol. 28., pp. 197-217.
49. Eckart, C. (1948): *Phys. Rev.* 73, p.68.
50. Ellwart, J. W. – Brettel, H. – Kober, L. O. (1988): Cell membrane damage by

- ultrasound at different cell concentrations. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 14., pp. 43-50.
51. Esche, R. (1952): 2 AB. *Acustica*, p.208. In.: Fry, F. J. (1978): *Ultrasound: Its Applications in Medicine and Biology*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam-Oxford-New York.
 52. Fábry, Gy. (1995): *Élelmiszer-ipari eljárások és berendezések*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp.: 268-430.
 53. Fay, R. (1931): *J. Acoust. Soc. Am.* Vol. 3. p. 222. In.: Rooney, J.A. (1988): Other Nonlinear Acoustic Phenomena. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 65-92.
 54. Feindt, W. (1951): Über die Ultraschallempfindlichkeit des *Paramecium caudatum*. *Strahlentherapie* 84., pp.: 611-614.
 55. Flynn, H. G. (1964): in *Physical Acoustics*, Vol. 1B, ed., Mason, W. P. Academic Press, New York, pp 57-172.
 56. Flynn, H. G. (1982): *J. Acoust. Soc. Am.* 72, 1926.
 57. Foldy, L.L. (1945): Multiple Scattering of Waves: General Theory of Isotropic Scattering by Randomly Distributed Scatterers. *Phys. Rev.* Vol. 67, p.197.
 58. Fox, F. – Herzfeld, K. J. (1954): *Acoust. Soc. Am.* Vol. 26. p. 984. In.: Atchley, A.A. – Crum, L.A. (1988): *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics*. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
 59. Förster, F. - Holste A. (1937): Zur biologischen Wirkung von Ultraschall. *Naturw.* 25., pp.: 11-12.
 60. Frizzel, L.A. (1988): Biological Effects of Acoustical Cavitation. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 287-301.
 61. Fry, F. J. (1978): *Ultrasound: Its Applications in Medicine and Biology*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam-Oxford-New York.
 62. Fu, Y-K. – Miller, M. W. – Lange, C. S. – Griffiths, T. D. – Kaufman, G. E. (1980): Ultrasound letality to synchronous and asynchronous Chinese hamster V-79 cells. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 6., pp. 39-46.

63. Ginzburg, A. Sz. (1980): Teplofiziceszkije harakterisztiki pisevüh produktov. Pisevaja Pormüslennoszty, Moszkva.
64. Gor'kov, L. P. (1962): Soc. Phys. Dokl. 6, 773.
65. Gould, R. K.^a – Coakley, W. T. – Grundy, M. A. (1992): Uppersound pressure limits on particle concentration in fields of ultrasonic standing-wave at megahertz frequencies. Ultrasonics, Vol. 30, Issue 4, pp. 239-244.
66. Gröschl, M. (1998): Ultrasonic separation of suspended particles. II. Design and operation of separation devices. Acustica – Acta Acustica, Vol 84, Issue 4, pp. 632-642.
67. Gröschl, M. – Trampler, F. – Benes, E. – Nowotny, H. (1999): Analysis os composite resonators for ultrasonic micromanipulation and separation. Acustica – acta acustica 85, Supplement 1, p. S92, as well as in Journal of Acoustical Society of America Vol. 105, p. 1018, February 1999.
68. Gupta, S.^a – Feke, D.L.^a – Manas-Zloczover, I.^b (1995): Fractionation of mixed particulate solids according to compressibility using ultrasonic standing wave fields. Chemical engineering Science, Vol. 50, Issue 20, pp. 3275-3284.
69. Gülham, A. - Beylich, A. E. (1987): Untersuchungen zur Dynamik von Geblasen. Acustica, 63, 276.
70. Handl, B. – Gröschl, M. – Trampler, F. – Benes, E. – Woodside, S. M. – Piret, J. M. (1998): Particle trajectories in a drifting resonance field separation device. Proc. 16th Int. Congress on Acoustics and 135th Meeting Acoustical Society of America, Seattle/USA (20. – 26.61998) Vol. III, ISBN 1-56396-817-7, (1998) pp. 1957-1958.
71. Harwey, W. – Dyson, M. – Pond, J. B. (1975): in „Proc. 2nd European Congress on Ultrasonics in Medicine”, Kazner, E. – de Vlieger, M. – Muller, H. R. – McCready, V. R. Eds., Excerpta Medica, Amsterdam, 1975, Excerpta Medica International Congress Series No. 363., p. 10.
72. Hawkes, J. J. – Limaye, M. S. – Coakley, W. T. (1997): Filtration of bacteria and yeast by ultrasound enhanced sedimentation. Journal of Applied Microbiology, Vol. 82, Issue 1. pp. 39-47.
73. Hawkes, J. J. – Barrow, D. A. – Coakley, W. T. (1998^a): Microparticle manipulation in millimetre scale ultrasonic standing wave chambers. Ultrasonics, Vol. 36, Issue 9,

- pp. 925-931.
74. Hawkes, J. J. – Cefai, J. J. – Barrow, D. A. – Coakley, W. T. – Briarty, L. G. (1998^b): Ultrasonic manipulation of particles in microgravity. *J. Rhys. D: Appl. Phys.* Vol. 31, pp. 1673-1680.
 75. Hawley, S. A. – Kessler, L. W. – Dunn, F. (1965): Ultrasonic Absorption in Aqueous Solutions of High.Molecular-Weight Polisaccharydes. *J. Soc. Amer.* Vol. 38. p. 521.
 76. Hibberd, D.J.^a – Robinson, B.H.^b – Robins, M.M.^a (1999): Ultrasonic characterisation of colloidal dispersions: detection of flocculation and adsorbed layers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Vol. 12 Issues 3-6, pp. 359-371.
 77. Hill, C.R. – Chivers, R.C. – Huggins, R.W. – Nicolas, D. (1978): Scattering of Ultrasound by Human Tissue. In.: Fry, F. J. (1978): *Ultrasound: Its Applications in Medicine and Biology*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam-Oxford-New York, pp. 441-493.
 78. Horbenko, I. G. (1977): *Ultrahang a gépiparban*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest. p. 186.
 79. Hrazdira, I. – Skorpikova, J. – Dolnikova, M. –Janicsh, R. – Mornstein, V. (1998): The combined effect of ultrasound and cytostatic treatment on the cytoskeleton of HeLa cells. *Folia Biol*, 44 (Suppl.): S 14.
 80. Hua, I. – Thompson, J. E. (2000): Inactivation of *Escherichia coli* by sonication at discrete ultrasonic frequencies. *Water Research*, Vol. 34, Issue 15, pp. 3888-3893.
 81. Hughes, D. E. (1961): *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.*, 3. p. 405.
 82. Hughes, D. E. – Nyborg, W. L. (1962): Cell disruption by ultrasound. *Science*. Vol. 138., pp. 108-144.
 83. Hurst, R. M. – Betts, G. D. – Earnshaw, R. G. (1995): The antimicrobial effect of power ultrasound. R&D Report No. 4, Chipping Campden, Glos.
 84. Inoue, M. – Crunch, C. C. – Brayman, A. – Miller, M. W. Malcuit, M. S. (1989): Confirmation of the protective effect of cysteamine in *in vitro* ultrasound exposures. *Ultrasonics*. Vol. 27., pp. 362-369.
 85. Johnson, D.A.^a – Feke, D.L.^a (1995): Methodology for fractionating suspended particles using ultrasonic standing wave and divided flow fields. *Separations Technology*, Vol. 5, Issue 4. pp. 251-258.

86. Kardos, E. – Szenes E. (1972): Konzervipari zsebkönyv. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. pp.: 22-28.
87. Kaufman, G. E. – Miller, M. W. – Griffiths, T. D. – Clalrino, V. (1977): Ultrasound Med. Biol. 3, 21.
88. Kaufman, G. E. (1985): Mutagenicity of ultrasound in cultured mammalian cells. Ultrasound Med. Biol. Vol. 11., pp. 497-501.
89. Kessler, L.W. – Dunn, F. (1969): Ultrasonic Investigation of the Conformal Changes of Bovine Serum Albumin in Aqueous Solutions. J. Phys. Chem. Vol. 73, p. 4256.
90. Kim, A. – Pavlovic, S. – Schnitzler, R. M. – Woeber, K. H. (1971): First Nat. Rumanian Conf. On Biophysics, Bucharest, p. 69.
91. Kondo, T. – Gamson, J. – Mitchell, J. B. – Riesz, P. (1988): Free radical formation and cell lysis induced by ultrasound in the presence of different rare gases. Int. J. Radiat. Biol. Vol. 54., pp. 995-962.
92. Kozuka, T.^a – Tuziuti, T. - Mitome, H. - Fukuda, T. (1998): Control of a standing wave field using a line-focused transducer for two-dimensional manipulation of particles. Japanese Journal of Applied Physics, Part 1. Volume 37, Issue 5B, pp. 2974-2978.
93. Kuttruff, H. (1991): Ultrasonics Fundamentals and Applications. Elsevier Applied Science, London and New York.
94. Lakatos, E. – Lőrincz, A. – Neményi, M. (2002): Az ultrahangos sejtroncsolás fizikai kritériumainak meghatározás a folyékony élelmiszerek csíraszám csökkentésével kapcsolatban. Élelmezési Ipar. LVI. Évfolyam 2002. No. 7. pp. 203-206.
95. Lang, J. – Cerf, R. (1969): Absorption Ultrasonore dans des Solutions c/Acide Desoxyribonucleique: Etude de la Denaturation Alcaline. J. Chim. Phys. Vol. 66. p. 81.
96. Langenberg, K.J. (1985): Abbildung und Identifikation von Materialfehlern mit Ultraschall. Fortschr. D. Akustik (I). S. 127. DAGA 85: DPG-GmbH, Bad Honnef.
97. Lauterborn, W. (1974): in Finite-Amplitude Wave Effects in Fluids, Ed., Bjorno, L. IPC Science and Technology Press, Ltd., Guildford, Surrey, England, pp. 195-202.
98. Lauterborn, W. - Bolle, H. (1975): Experimental investigations of cavitation bubble collapse in the neighbourhood of a solid boundary. J. Fluid Mech. 72, 391.

99. Lee, B. H. – Kermasha, S. – Baker, B. E. (1989): Thermal ultrasonic and ultraviolet inactivation of *salmonella* in thin films of aqueous media and chocolate. Food Microbiol. Vol. 6., pp. 143-152.
100. Li, G. C. – Hahn, G. M. – Tolmach, L. J. (1977^a): Cellular inactivation by ultrasound. Nature. Vol. 267. p. 163.
101. Li, G. C. – Hahn, G.M. – Tolmach, L.J. – Shiv, E. – Pounds, D. (1977^b): Radiat. Res. Vol. 70, p- 691. In.: ter Haar, G.R. (1988): Biological Effects of Ultrasound in Clinical Applications. In Suslick, S. K. (1988): Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 305-319.
102. Liebeskind, D. – Bases, R. – Elequin, F. – Neubrot, S. – Leifer, R. – Goldberg, R. – Koenigsberg, M. (1979): Diagnostic ultrasound: effects on the DNA and growth patterns of animals cells. Radiology. Vol. 131, pp. 177-184.
103. Lillard, H. S. (1993): Bactericidal effect of chlorine on attached Salmonellae with and without sonification. J. Food Protect. Vol. 56., No. 8., pp. 716-717.
104. Limate, M. S. – Coakley, W. T. (1998): Clarification of small volume microbial suspensions in an ultrasonic standing wave. Journal of Applied Microbiology. Vol. 84., Issue. 6., pp. 1035-1042.
105. Loverock, P. – ter Haar, G. (1991): Synergism between hyperthermia, ultrasound and gamma irradiation. Ultrasound Med. Biol. Vol. 17., pp. 607-612.
106. Lőrincz A. – Neményi M. (2001^a): Az ultrahang hatása folyadékban szuszpendált pékélesztő csíraszámának változására. MTA-AMB Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2001. január 23-24. No. 25. p. 14.
107. Lőrincz, A. - Neményi, M. (2001^b): Cell decrease by ultrasonic effect on yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) suspension and the limit concentration of cavitation. 2001. augusztus 28-30. Physical Methods In Agriculture, Prága
108. Lőrincz, A. – Neményi, M. (2002^a): Akusztikai kavitáció kialakulásának koncentrációfüggése szuszpenziókban. Élelmiszerfizikai közlemények. (in print)
109. Lőrincz, A. – Neményi, M. (2002^b): Az in vitro sejtfeltárás hatékonyságát befolyásoló fizikai tényezők (1. rész). Laboratóriumi Információs Magazin, Biofizika rovat. XI. évfolyam, No. 2. pp. 36-38.
110. Lőrincz, A. – Neményi, M. (2002^c): Az in vitro sejtfeltárás hatékonyságát

- befolyásoló fizikai tényezők (1. rész). Laboratóriumi Információs Magazin, Biofizika rovat. XI. évfolyam, No. 2. pp. 36-38.
- 111.Lőrincz, A. – Neményi, M. (2002^d): Ultrahangtér fizikai minőségének befolyása a besugárzás miatt kialakult mechanikai hullámjelenségekre folyadékokban, valamint az ebből következő biológiai és fizikai hatások értékelése. MTA-AMB Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2002. január 20-21. Vol. 2. pp. 150-154.
- 112.Lőrincz, A. – Neményi, M. (2002^e): A sejtkoncentráció-akusztikus jelenség - sejtleletképeség változás kölcsönhatásának vizsgálata ultrahangtérben. V. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia. A Szegedi Tudományegyetem Szegedi Élelmiszeripari Főiskolai Kara és az MTA Szegedi Területi Bizottsága, Agrárműszaki Szakbizottsága rendezésében. 2002. október 24–25. pp. 99-100. Teljes anyag megjelent CD lemezen. 6 SZTE-SZÉF ISBN 963482577X.
- 113.Lőrincz, A. – Neményi, M. (2002^f): Assesement of the effectiveness of ultrasonic cell disruption by acoustic phenomena as a function of the suspension concentration. 32nd Annual Ultrasonic Industry Association Symposium. October 21 – 23. 2002, The Helmsley Hotel, New York, NY. Medical Session.
- 114.Lőrincz, A. (2003^a): Effectiveness of ultrasonic cell disruption as a function of the suspension concentration. Acta Alimentaria (megjelenik: 2004. június, 33. évfolyam. 2. szám)
- 115.Lőrincz, A. (2003^b): Az aktív ultrahang alkalmazása napjainkban (2. rész). Laboratóriumi Információs Magazin, Biofizika rovat. XII. évfolyam., No. 6. pp. 28-33.
- 116.Lőrincz, A. – Neményi, M. (2003^a): Examination of the concentration dependence of acoustical phenomenon in water based suspensions. Acta Agronomica Ovariensis. Vol. 45. No. 1. pp. 85-96.
- 117.Lőrincz, A. – Neményi, M. (2003^b): Appreciation of an complex ultrasound system according to survival cell count. Hungarian Agricultural Engineering. Vol. 16. pp. 32-34.
- 118.Lőrincz, A. – Neményi, M. – Lakatos, E. (2003^a): A magas intenzitású ultrahang sejtroncsoló hatásának alakulása a besugárzott anygtól függő akusztikai jelenségek mellett. MTA-AMB Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2003. január 21-22.

No. 27. p. 79.

- 119.Lőrincz, A.– Neményi, M. – Lakatos, E. (2003^b): A szelektív sejtbiológiai kezelések ultrahangos megvalósítása (The selective cellbiological treatments by ultrasound) Műszaki Kémiai Napok, Veszprém, 2003. április 16-18. pp. 260-261.
- 120.Lőrincz, A. (2004^a): Az aktív ultrahang alkalmazása napjainkban (3. rész). Laboratóriumi Információs Magazin, Biofizika rovat. XIII. évfolyam., No. 1. pp. 50-55.
- 121.Lőrincz, A. (2004^b): Mesterséges látás sejtanalitikai alkalmazása. MTA-AMB Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2004. január 20-21. No. 28. p. 14. ISBN 963 611 406 4
- 122.Macintosh, I. J. C. – Davey, D. A. (1970): Chromosome aberrations induced by an ultrasonic fetal pulse detector. *Br. Med. J.*, Vol. 4, pp. 92-93.
- 123.Maeda, K. – Murao, F. (1977): in „Ultrasound in Medicine”, White, D. N. – Brown, R. E., Eds., Plenum Press, New York, 1977, Vol. 3B, p. 2045.
- 124.Mandralis, Z. I. – Feke, D. L. (1993): Continuous suspension fractionation using acoustic and divided-flow fields. *Chemical Engineering Science*. Vol. 48., Issue. 23., pp. 3897-3905.
- 125.Mason, T. – Newman, A. – Sukhvinder, P. – Charter, C. (1994): Sound solution. *World Water Environ. Eng.* (April), p. 16.
- 126.Mason, T. J. – Paniwnyk, L. - Lorimer, J. P. (1996): The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*. Vol. 3., Issue. 3., pp. S253-S260.
- 127.McClements, D. J. (1995): Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science&Technology*. Vol. 6., Issue 9., pp. 293-299.
- 128.Mikio, S. – Dazhong, W. – Kyiohi, I. – Kimihiro, S. (1994): Effects of ultrasonic irradiation on production of fermented milk with *Lactobacillus delbrueckii*. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 1. Issue 2. pp. S107-S110.
- 129.Miles, C.A. – Morley, M.J. – Hudson, W.R. – Mackey, B.M. (1995): Principles of separating micro-organisms from suspensions using ultrasound. *Journal of Applied Bacteriology*, Vol. 78, Issue 1, pp. 47-54.
- 130.Miller, D. L. (1987): A review of the ultrasonic bioeffectiveness of microsonation, gas-body activation, and related cavitation-like phenomena. *Ultrasound Med Biol.*

- Vol. 13, pp. 443-470.
131. Miller, D. L. – Williams, A. R. (1989): Bubble cycling as an explanation of the promotion of ultrasonic cavitation in a rotating tube exposure system. *Ultrasound Med Biol.*, Vol. 15, pp. 641-648.
132. Miller, D. L. – Thomas, R. M. – Frazier, M. E. (1991): Ultrasonic cavitation indirectly induces single strand breaks in DNA of viable cells *in vitro* by the action of residual hydrogen peroxide. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 17, pp. 729-735.
133. Miller, D. L. – Thomas, R. M. (1993): Frequency dependence of cavitation activity in a rotating tube exposure system compared to the mechanical index. *J. Acoust. Soc. Am.* Vol. 93., pp. 3475-3480.
134. Miller, D. L. – Thomas, R. M. (1994): Cavitation dosimetry: estimates for single bubbles in rotating-tube exposure system. *Ultrasound in Med & Biol.*, Vol. 20, pp. 197-193.
135. Miller, D. L. – Thomas, R. M. – Buschbom, R. L. (1995): Comet Assay reveals DNA strand breaks induced by ultrasonic cavitation *in vitro*. *Ultrasound Med Biol.*, Vol. 21, pp. 841- 848.
136. Miller, M. W. – Miller, D. L. – Brayman, A. A (1996): A review of *in vitro* bioeffects of inertial ultrasonic cavitation from a mechanistic perspective. *Ultrasound in Medicine and Biology*, Vol. 22, Issue 9, pp. 1131-1154.
137. Miller, D. L. – Bao, S. – Gies, R. A. – Thrall, B. D. (1999): Ultrasonic enhancement of gene transfection in murine melanoma tumors. *Ultrasound in Medicine and Biology*, Vol. 25, Issue 9, pp. 1425-1430.
138. Mitome, H. (1998): The mechanism of generation of acoustic streaming. *Electronics and Communications in Japan, Part 3.* Vol. 81, Issue 10, pp.1-8.
139. Morton, K. I. – ter Haar, G. R. – Stratford, I. J. – Hill, C. R. (1982): *Br. J. Cancer.* 45, Suppl. V, 147. In.: ter Haar, G.R. (1988): *Biological Effects of Ultrasound in Clinical Applications.* In Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects.* VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 305-319.
140. Moser, M. – Pálmai, Gy. (1992): *A környezetvédelem alapjai.* Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest. p. 382.
141. Muir, T.G. – Carstensen, E.L. (1980): *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 6. p. 345. In.:

- Rooney, J.A. (1988): Other Nonlinear Acoustic Phenomena. In.: Suslick, S. K. (1988): Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 65-92.
142. Neis U., Tiehm A. (1999) Ultrasound in waste water and sludge treatment. In: Tiehm A. and Neis U. (eds.) Technical University of Hamburg-Harburg Reports on Sanitary Engineering **25**: Ultrasound in Environmental Engineering. pp. 39-61. (ISSN 0724-0783; ISBN 3-930400-23-5)
143. Neményi, M. – Lőrincz, A. (2001^a): Cell concentration decreasing with ultrasonic effect of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) suspension. Műszaki Kémiai Napok, Veszprém, 2001. április 24-26. p. 254.
144. Neményi, M. – Lőrincz, A. (2001^b): Cell (*Saccharomyces cerevisiae*) disruption with ultrasound treatment. In: Institute of agricultural, food and environmental engineering. Conference für Leben und Überleben, Internationaler Kongress, Wien, Universität für Bodenkultur, 2001. november 18-21. p. 192.
145. Neményi, M. – Lőrincz, A. (2002^a): Ultrahang akusztikai jelenségeinek koncentrációfüggése és ennek hatása a sejtroncsolásra. Élelmiszerfizikai közlemények. (elfogadva, megjelenés alatt)
146. Neményi, M. – Lőrincz, A. (2002^b): Komplex ultrahangrendszer értékelése a besugárzás miatt kialakult mikroorganizmus-csírászám csökkentő hatás alapján. MTA-AMB Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2002. január 20-21. Vol. 2. pp. 145-149.
147. Neményi, M. – Lőrincz, A. (2002^c): Különböző típusú szuszpendált szemcsék tulajdonságainak hatása az ultrahangos kavitációra. Műszaki Kémiai Napok, Veszprém, 2002. április 16-18. pp. 260-261.
148. Neményi, M. – Lőrincz, A. (2002^d): Az ultrahang sejtbilógiai hatásainak elemzése a hangtér fizikai paramétereinek függvényében. XXXII. Membrán-Transzport Konferencia. A Romhányi György Alapítvány, A Magyar Élettani Társaság Membránbiológiai Szakosztály és a Magyar Biofizikai Társaság közös rendezvénye. Sümeg, 2002. május 21-24. p. 33.
149. Neményi, M. – Lőrincz, A. (2002^e): Ultrahangtérben kialakuló sejtroncsoló hatás értékelése a szelektív biológiai hatások tükrében. XXIX. Óvári Tudományos Napok,

- Mosonmagyaróvár, 2002. október 3-4. p. 111.
150. Neményi, M. – Kacz, K. – Kovács, A. J. – Stépán, Zs. – Lőrincz, A. (2002): Agro- és élelmiszerfizikai kutatások a Nyugat-Magyarországi Egyetem Agrárműszaki, Élelmiszeripari és Környezettechnikai Intézetében. EU Konform mezőgazdaság és élelmiszerbiztonság. Tudományos Tanácskozás, Debrecen, 2002. szeptember 23. pp. 307-320.
151. Neményi, M. – Lőrincz, A. – Lakatos, E. (2003): Az ultrahangsugár fizikai paramétereinek változása a besugárzott anyagban. MTA-AMB Kutatási - Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2003. január 21-22. No. 27. p. 55.
152. Neppiras, E. A. - Parrot, J. (1965): Fifth International Congress on Acoustics, Liege, Paper D51.
153. Neppiras, E. A. (1969): J. Acoust. Soc. Amer. Vol. 46, p. 587. In.: Fry, F. J. (1978): Ultrasound: Its Applications in Medicine and Biology. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam-Oxford-New York.
154. Neppiras, E. A. (1980): Ultrasonics, Vol. 18. p. 201. In.: Frizzel, L.A. (1988): Biological Effects of Acoustical Cavitation. In.: Suslick, S. K. (1988): Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
155. Nyborg W. L. – Miller D. L. - Gershoy, A. (1974): Proceedings of Seventh Rochester International Conference on Environmental Toxicity, Plenum Publishing Co, New York.
156. Ordonez, J. A. – Sanz, B. – Hernandez, P. E. – Lopez-Lorenzo, P. (1984): A note on the effect of combined ultrasonic and heat treatments on the survival of thermotolerant *Streptococci*. J. Appl. Bacteriol. Vol. 56., pp. 175-177.
157. Petin, V. G. – Komarov, V. P. – Skvortzov, V. G. (1980): Combined action of ultrasound and ionizing radiation on yeast cells. Radiation and Environmental Biophysics. Vol. 18., Issue. 1., pp. 45-55.
158. Petin, V. G. – Zhurakovskaya, G. P. – Komarova, L. N. (1999): Mathematical description of combined action of ultrasound and hyperthermia on yeast cells. Ultrasonics. Vol. 37., Issue. 1., pp. 79-83.
159. Post, E. J. (1953): J. Acoust. Soc. Am. 25, 55.

160. Povey, M. J. W. – McClements, D. J. (1988): Ultrasonics in food engineering. Part I: Introduction and experimental methods. *Journal of Food Engineering*. Vol. 8., Issue 4., pp. 217-245.
161. Prise, K. M. – Davies, S. - Michael, B. D. (1989): Cell killing and DNA damage in Chinese hamster V79 cells treated with hydrogen peroxide. *Int. J. Radiat. Biol.* Vol. 55., pp. 583-592.
162. Radel, S. - McLoughlin, A. J. – Walsh, P. – Gherardini, L. – Doblhoff-Dier, O. – Benes, E. (1999a): Application of low intensity ultrasonic wave fields to manipulate and direct the immobilisation/bio-encapsulation of yeast cells. Oral presentation, to be published in *Proc. Of the Eight International Workshop on Bioencapsulation*, Trondheim, Norway, September 13th – 15th, 1999.
163. Radel, S. - McLoughlin, A. J. – Gherardini, L. – Doblhoff-Dier, O. – Benes, E. – Connel, C. O. – Cregg, B. – Cotel, D. C. – Benes, E. (1999b): Morphology and viability of *Saccharomyces cerevisiae* in suspension stressed with ultrasonic plane waves. Oral presentation, to be published in *Proc. of the 23rd Annual Symposium of the Microscopy Society of Ireland*, Belfast, August 3st – September 2nd, 1999.
164. Raso, J. – Condon, S. – Sala Trepat, F. J. (1994): Mano-thermosonication: a new method of food preservation? In: *Food Preservation by Combined Processes*. Final report for FLAIR Concerted Action No. 7 Subgroup B.
165. Raso, J. – Pagan, R. – Condon, S. – Sala, F.J. (1998): Influence of temperature and pressure on the lethality of ultrasound. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 64, Issue2, pp. 465-471.
166. Rayleigh (1892): On the Influence of Obstacles Arranged in Rectangular Order on the Properties on the Medium. *Phil. Mag.* Vol. 34, p. 481.
167. Rayleigh, (1902): *Phil. Mag.* 3, 338.
168. Riesz, P. – Kondo, T. (1992): Free radical formation induced by ultrasound and its biological implications. *Free Rad. Biol. Med.* Vol. 13, pp. 247-270.
169. Rooney, A. J. (1970): *Science*. 169. p. 869.
170. Rooney, J.A. (1988): Other Nonlinear Acoustic Phenomena. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 65-92.

171. Rubleson, G. R. – Murray, T. M. – Pollard, M. (1975): Appl. Microbiol. P. 340.
172. Rudenko, O.V. – Soluyan, S.I. (1977): Theoretical Foundations of Nonlinear Acoustics. Plenum Press, New York. In.: Rooney, J.A. (1988): Other Nonlinear Acoustic Phenomena. In.: Suslick, S. K. (1988): Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 65-92.
173. Saad, A. H. – Williams, A. R. (1985): Possible mechanisms for the agitation-induced enhancement of acoustic cavitation *in vitro*. J. Acoust. Soc. Am. Vol. 78., pp. 429-434.
174. Sanz, P. – Palacios, P. – Lopez, P. – Ordonez, J. A. (1985): Effect of ultrasonic waves on the heat resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. In: Dring, G. J. – Ellars, D. J. – Gould, G. W. (editors) Fundamental and Applied Aspects of Bacterial Spores, Academic Press, New York, pp. 251-259.
175. Riera-Franco de Sarabia, E. – Gallego-Gonzalez, J.A. – Rodríguez-Corral, G. – Elvira-Segura, L. González-Gómez, I. (2000): Application of high-power ultrasound to enhance fluid/solid particle separation processes. Ultrasonics, Vol. 38, Issues 1-8, pp. 642-646.
176. Sayan, P.a – Ulrich, J.b (2002): The effect of particle size and suspension density on the measurement of ultrasonic velocity in aqueous solutions. Chemical Engineering and Processing, Vol. 41, Issue 3, pp. 281-287.
177. Schmitt, O. – Hall, S. E. – Uhlmayer, B. (1930): The mechanism of the lethal effect of ultrasonic radiation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 27., pp.: 626-628.
178. Schnett-Abraham, I, - Trommer, E. – Levetzow, R. (1992): Ultrasonics in sterilisation sinks. Applications of ultrasonics on equipment for cleaning and disinfection of knives at the workplace in slaughter and meat cutting plants. Fleiswirtschaft. Vol. 72., No. 6., pp. 864-867.
179. Schnitzler, R. M. (1973): Interactions of Ultrasound and Biological Tissues. DHEW Publication (FDA) 73-8008, BRH/DBE 73-1 p. 69.
180. Sirotyuk, M. (1970): Sov. Phys. Acoust. Vol. 16. p. 237. In.: Atchley, A.A. – Crum, L.A. (1988): Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics. In.: Suslick, S. K. (1988): Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.

181. Smedsgaard, J. (1997): Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures. *Journal of Chromatography A*. Vol. 760. Issue. 2. pp. 264-270.
182. Strasberg, M. (1959): *J. Acoust. Soc. Am.* Vol 31. p. 163. In.: Atchley, A.A. – Crum, L.A. (1988): *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics*. In.: Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
183. Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
184. Szakály, S. (2001): *Tejgazdaságtan*. Dinasztia Kiadó, Budapest.
185. Tar, F. (1982): *Ultrahangfizika. Kohó- és Gépipari Továbbképző és Módszertani Intézet*, Budapest.
186. Tarleton, E.S. (1992): The role of Field-assisted techniques in solid/liquid separation. *Filtration and Separation*, Vol. 29, Issue 3, pp. 246-252.
187. Tarnóczy, T. (1962): *Akusztika*. Akadémiai Kiadó, Budapest. p.13.
188. Tarnóczy, T. (1963): *Ultrahangok*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest. p.271.
189. ter Haar, G. R. – Dyson, M. – Smith, S. P. (1979): *Ultrasound Med. Biol.* 5, 167.
190. ter Haar, G. R. – Straford, I. J. – Hill, C. R. (1980): *Br. J. Radiol.* 53, 784.
191. ter Haar, G.R. (1988): *Biological Effects of Ultrasound in Clinical Applications*. In Suslick, S. K. (1988): *Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 305-319.
192. Thacker, J. (1973): An approach the mechanism of killing cells in suspension by ultrasound. *Biochem. Biophys. Acta.* 304, p. 240.
193. Thacker, J. (1974): *Brit. J. Radiol.* 47, p.130.
194. Tiehm, A. (1999): Combination of ultrasound and biodegradation: enhanced bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons. in: Tiehm A., and Neis U. (eds.): *Technical University of Hamburg-Harburg Reports on Sanitary Engineering 25: Ultrasound in Environmental Engineering*. pp. 167-180. (ISSN 0724-0783; ISBN 3-930400-23-5)
195. Tiehm, A.^a – Nickel, K. – Zellhorn, M. – Neis, U. (2001): Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. *Water Research*, Vol 35,

Issue 8, pp. 2003-2009.

196. Tolt, T.L.^a – Feke, D.^b (1993): Separation of dispersed phases from liquids in acoustically driven chambers. *Chemical Engineering Science*, Vol. 48, Issue 3. pp. 527-540.
197. Veit, I. (1977): *Műszaki Akusztika*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest. p.: 169.
198. Verall, R. E. – Sehgal, C. M. (1988): Sonoluminescence. In: Suslick, K. S. ed. (1988): *Ultrasound. Its chemical, physical and biological effects*. New York: VCH, pp. 227-286.
199. Veress, E. – Vincze, J. (1977): The haemolysing action of ultrasound on erythrocytes. *Acustica*. Vol. 36., pp. 100-103.
200. Villamiel, M, - Jong, P. (2000): Inactivation *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase® Soy Broth and the total bacteria in milk by continuous-flow ultrasonic treatment and conventional heating. *Journal of Food Engineering*. Vol. 45., Issue. 3., pp. 171-179.
201. Walsh, P. – Radel, S. - McLoughlin, A. J. –Gherardini, L. – Benes, E. (1999): Evaluation of the effect of immobilisation techniques and low intensity ultrasonic waves on brewer's yeast cells. Poster presentation, to be published in Proc. of the Ninth European Congress on Biotechnology, Brussels, July 11th – 15th, 1999.
202. Watmough, D. J. – Dendy, P. P. – Eastwood, L. M. – Gregory, D. W. – Gordon, F. C. A. (1977): *Ultrasound Med. Biol.* 3, 2205.
203. Watmough, D. J. – Quan, K. M. – Shiran, M. B. (1990): Possible explanation for the unexpected absence of gross biological damage to membranes of cells insonated in suspension and in surface culture in chambers exposed to standing and progressive wave fields. *Ultrasonics*. Vol. 28., pp. 142-148.
204. Westervelt, P. J. (1951): *J. Acoust. Soc. Am.* 23, 312.
205. Wedlock, D.J. – McConaghy, C.J. – Hawksworth, S. (1993): Automation of ultrasound velocity scanning for concentrated dispersions. *Colloids and Surfaces A*:

- Physiochemical and Engineering Aspects, Vol 77, Issue 1, pp. 49-54.
206. Whithworth, G. – Coakley, W. T. (1992): Particle column formation in a stationary ultrasonic field. Journal of the Acoustical Society of America. Vol. 91., Issue. 1., pp. 79-85.
207. Williams, A. R. – O’Brian, W. D. – Coller, J. R. – Coller, B. S. (1976): Ultrasound in Medicine and Biology. 2. pp.:113.
208. L 03.00-1 szabvány a peptonvíz elkészítéséhez
209. ÉTI-ML-SOP-VU-FM-01-A/2 ref.: L06.00-18 szabvány az élősejtszám meghatározásra
210. SOP-03-1/3 és ÉTI-ML-SOP-03 szabvány a Plate-Count Agar elkészítéséhez

I. MELLÉKLET

ELECTRICAL CHARACTERISTICS

(Circuit of Figure 1, GND = 0V, V₊ = 0V, V₋ = 5V, V₊ = 5V, V_{ADJ} = V_{ADJ} = V_{REF} = V_{REF} = 0V, C₁ = 100pF, R_{IN} = 25kΩ, R_L = 1kΩ, C_L = 20pF, T_A = T_{MIN} to T_{MAX}, unless otherwise noted. Typical values are at T_A = +25°C.)

PARAMETER	SYMBOL	CONDITIONS	MIN	TYP	MAX	UNITS
FREQUENCY CHARACTERISTICS						
Maximum Operating Frequency	F _o	15pF ± 15pF, I _{IN} = 500μA	20.0	40.0		MHz
Frequency Programming Current	I _{IN}	V _{ADJ} = 0V	2.50		3.00	μA
		V _{ADJ} = -3V	1.25		3.75	μA
I/N Offset Voltage	V _{IN}			±1.0	±2.0	mV
Frequency Temperature Coefficient	ΔF _o /°C	V _{ADJ} = 0V		500		ppm/°C
	F _o /°C	V _{ADJ} = -3V		200		ppm/°C
Frequency Power Supply Rejection	$\frac{\Delta V_{OUT}}{\Delta V_{IN}}$	V ₋ = 5V, V ₊ = 4.75V to 5.25V		±0.4	±2.00	%/V
	$\frac{\Delta V_{OUT}}{\Delta V_{IN}}$	V ₊ = 5V, V ₋ = 4.75V to 5.25V		±0.2	±1.00	%/V
OUTPUT AMPLIFIER (applies to all waveforms)						
Output Peak-to-Peak Symmetry	V _{OUT}			±4		mV
Output Resistance	R _{OUT}			0.1	0.2	Ω
Output Short-Circuit Current	I _{OUT}	Short circuit to GND		40		mA
SQUARE-WAVE OUTPUT (R_L = 100Ω)						
Amplitude	V _{OUT}		1.9	2.0	2.1	V _{IN}
Rise Time	t _r	10% to 90%		12		ns
Fall Time	t _f	90% to 10%		12		ns
Duty Cycle	dc	V _{ADJ} = 0V, dc = 10μs x 100%	47	50	53	%
TRIANGLE-WAVE OUTPUT (R_L = 100Ω)						
Amplitude	V _{OUT}		1.9	2.0	2.1	V _{IN}
Nonlinearity	dc	F _o = 100kHz, 5% to 95%		0.5		%
Duty Cycle	dc	V _{ADJ} = 0V (Note 1)	47	50	53	%
SINE-WAVE OUTPUT (R_L = 100Ω)						
Amplitude	V _{OUT}	Duty cycle adjusted to 50%	1.9	2.0	2.1	V _{IN}
Total Harmonic Distortion	THD	Duty cycle unadjusted		0.75		%
				1.50		%

1. Ábra: A „MAXIM038” nagyfrekvenciás chip elektronikai karakterisztikája

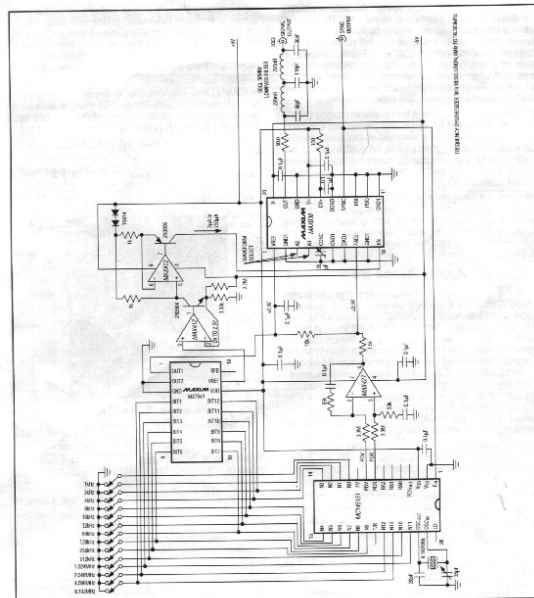
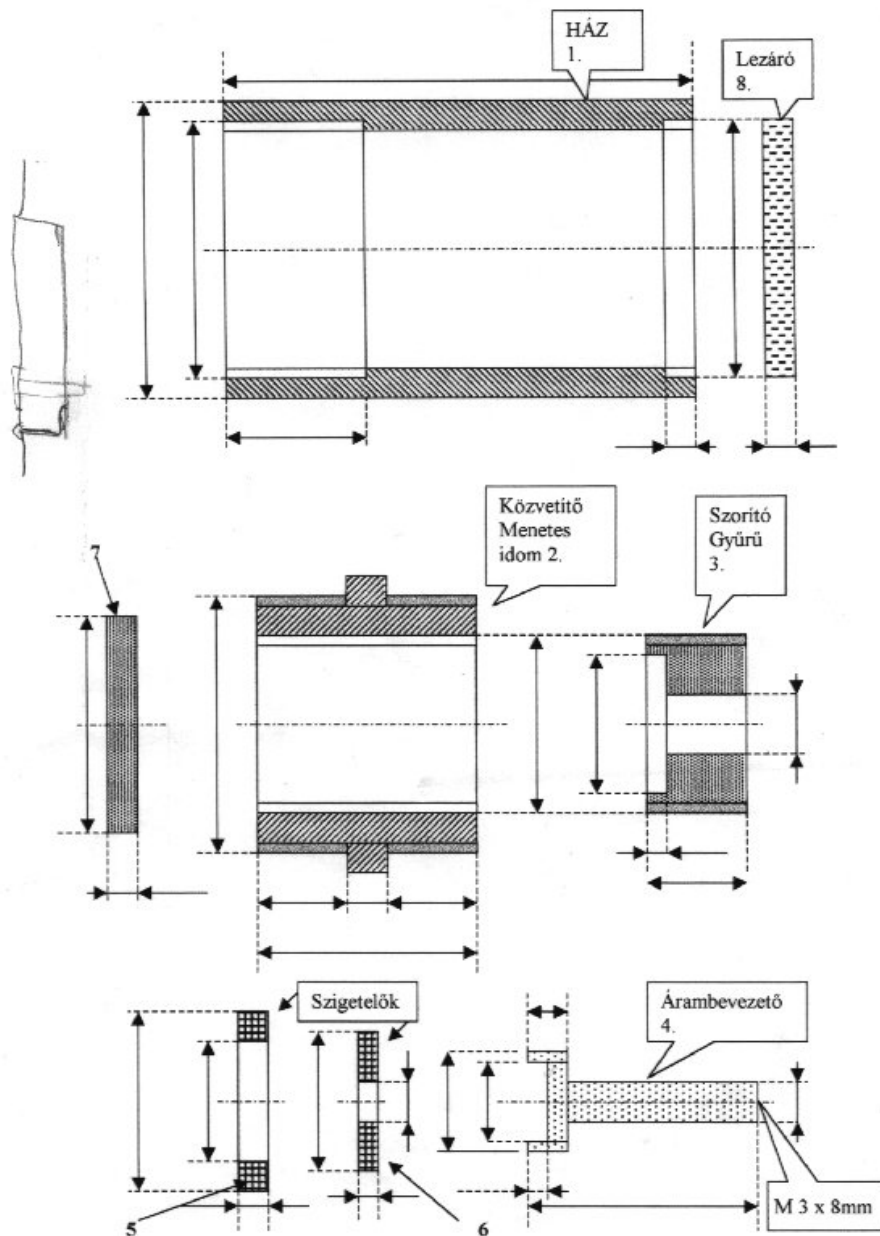
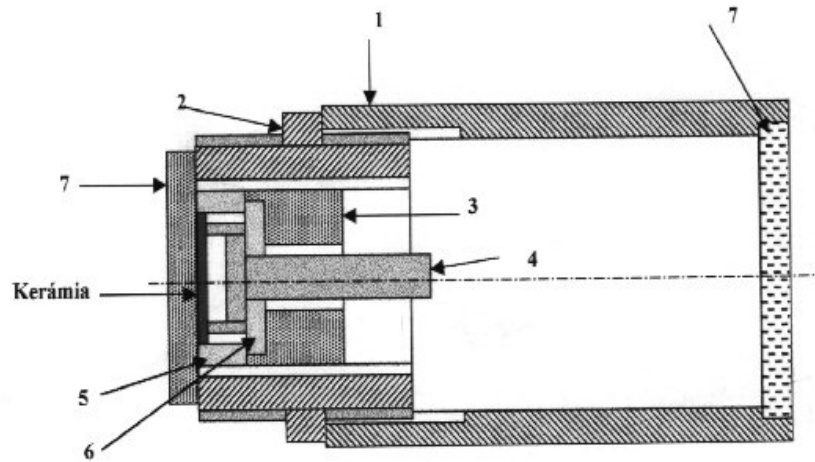


Figure 6. Crystal-Controlled, Digitally Programmed Frequency Synthesizer—8kHz to 16MHz with 1kHz Resolution

2. Ábra: a jelgenerátor kapcsolási rajza

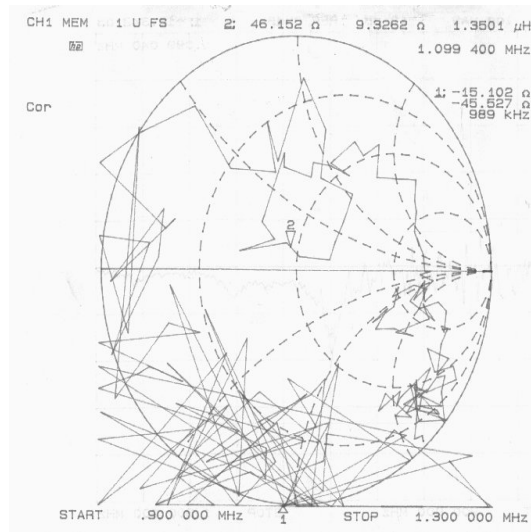


3. Ábra: Az ultrahang sugárzófej gyártási tervrajza

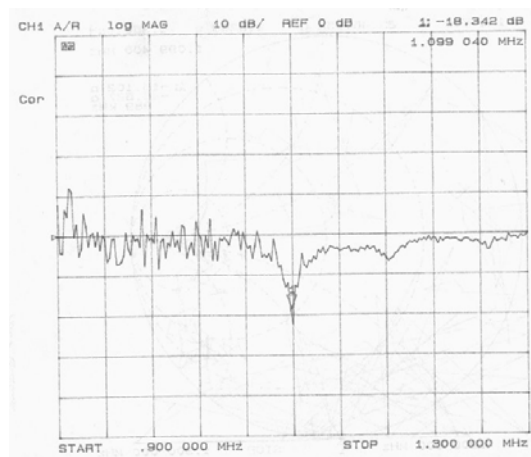


4. Ábra: Az ultrahang sugárzófej összeépített tervrajza
(1. Külső burkolat, 2. Külső rögzítő gyűrű, 3. Belső rögzítő gyűrű, 4. Belső elektro-akusztikai csatoló, 5. Teflongyűrű, 6. Teflontárcsa, 7. Külső elektro-akusztikai csatoló)

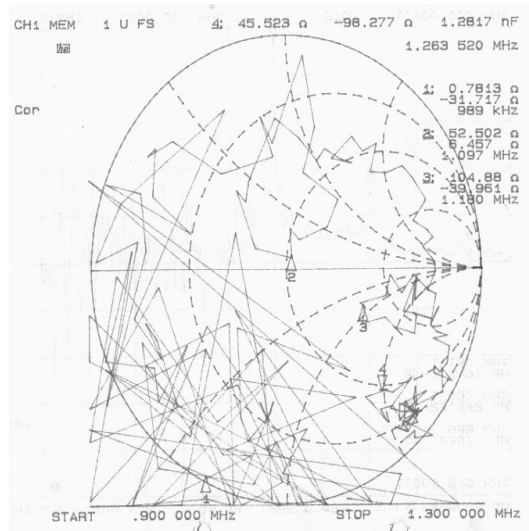
II. MELLÉKLET



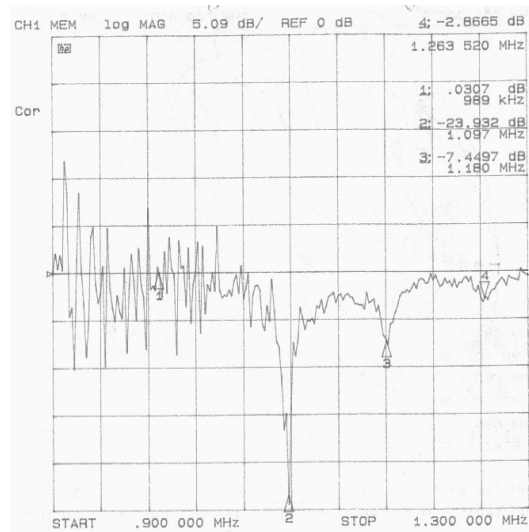
1. Ábra: Smith-diagram az ólom-cirkonát piezokerámiáról



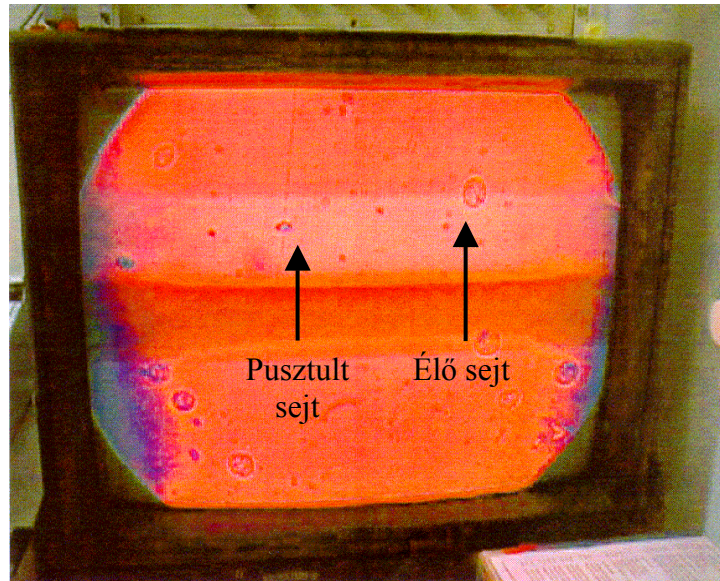
2. Ábra: A kerámia rezonanciái



3. Ábra: A kezelőedény Smith-diagramja

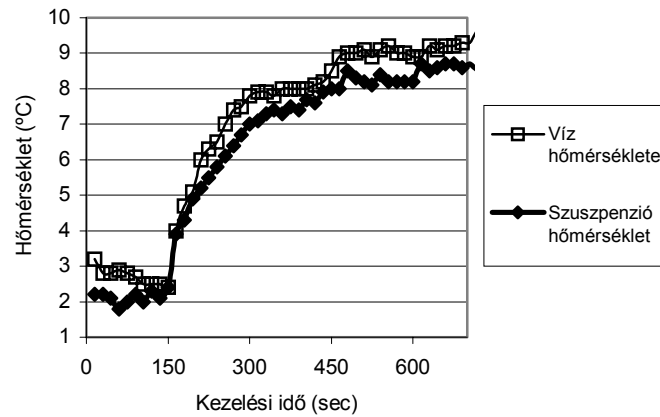


4. Ábra: A kezelőedény rezonancia-frekvenciái

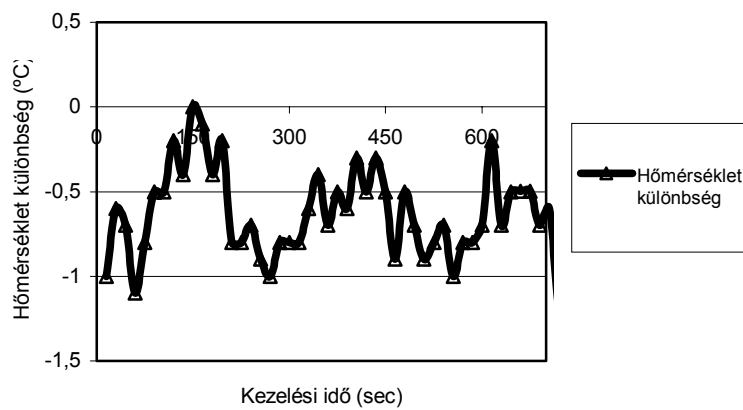


5. Ábra: Az álszín kódoló által közvetített kép a sejtek túléléséről

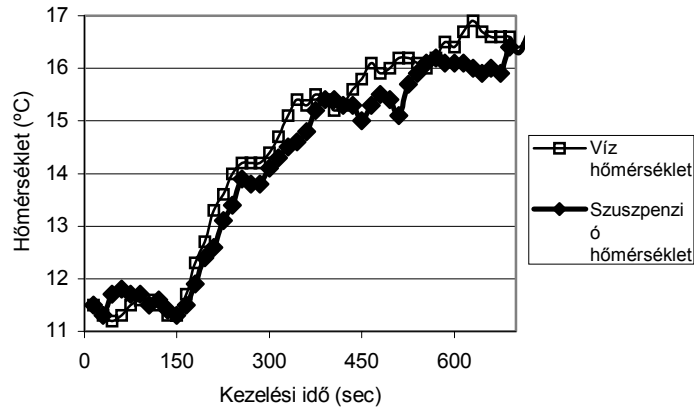
III.A. MELLÉKLET



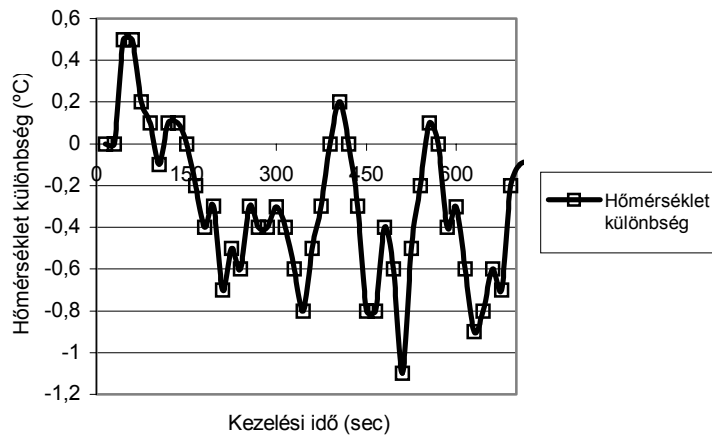
1.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 1°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



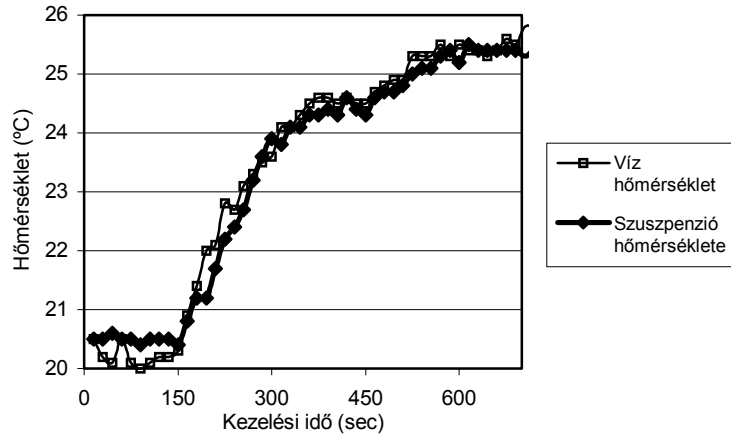
1.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 1°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



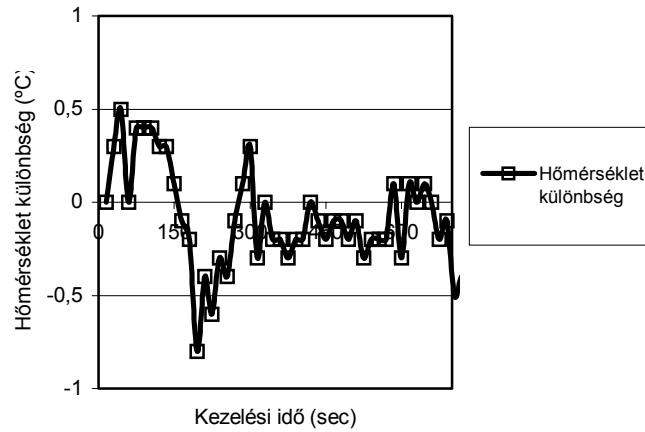
2.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 10°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



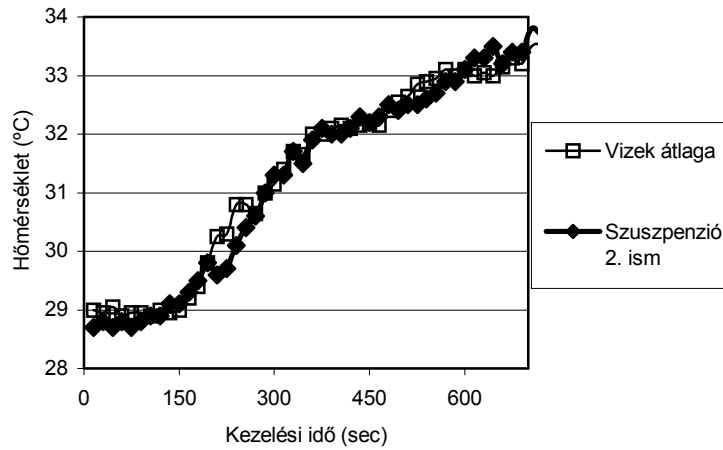
2.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 10°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



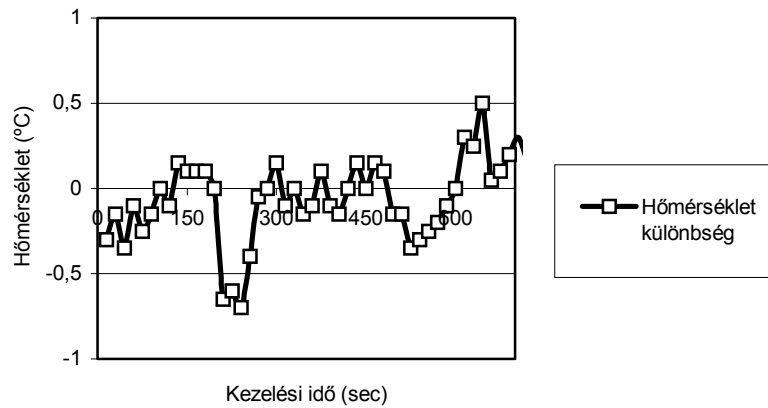
3.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



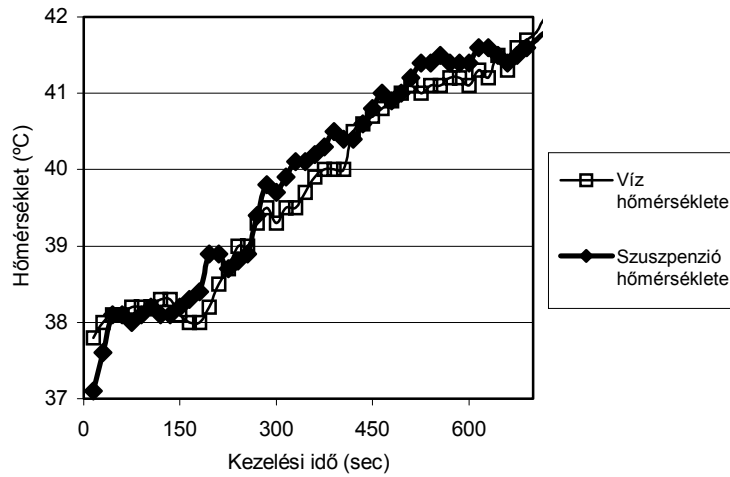
3.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



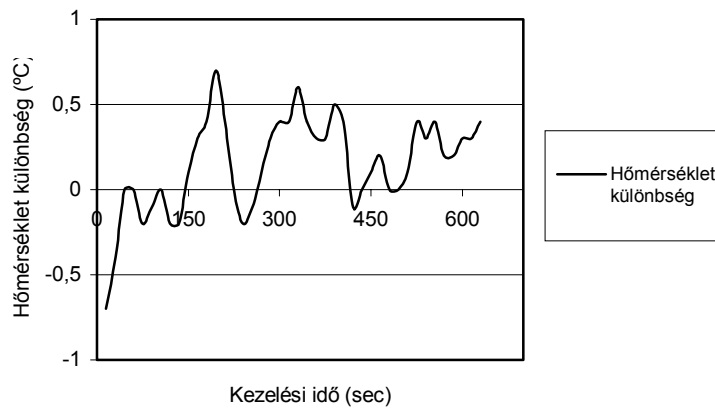
4.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 30°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



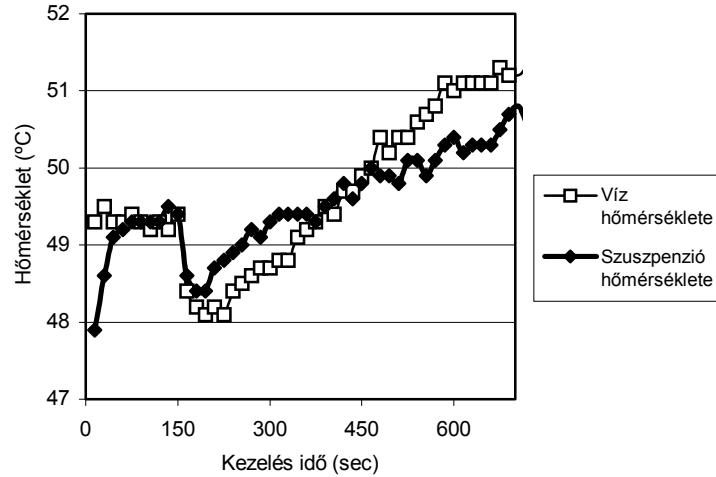
4.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 30°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



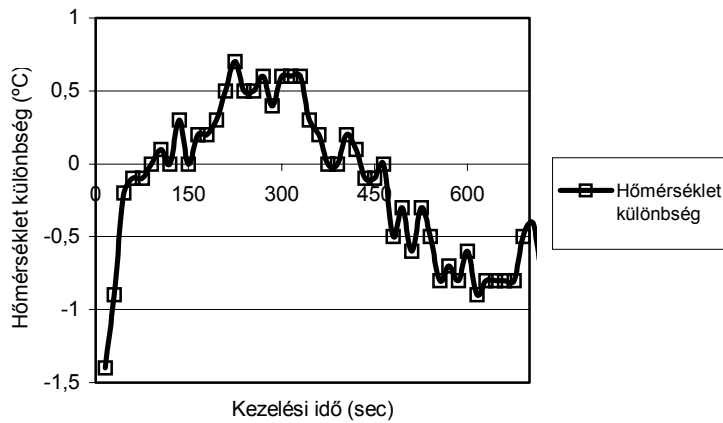
5.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 40°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



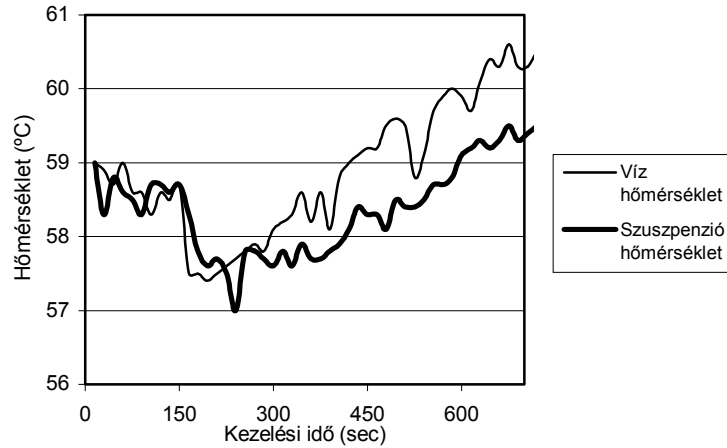
5.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 40°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



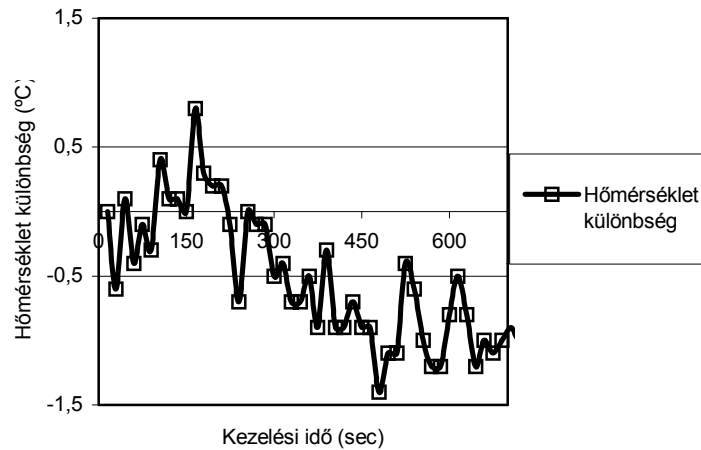
6.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 50°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



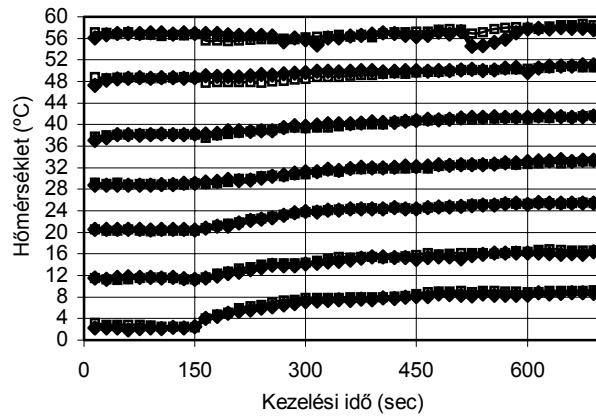
6.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 50°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



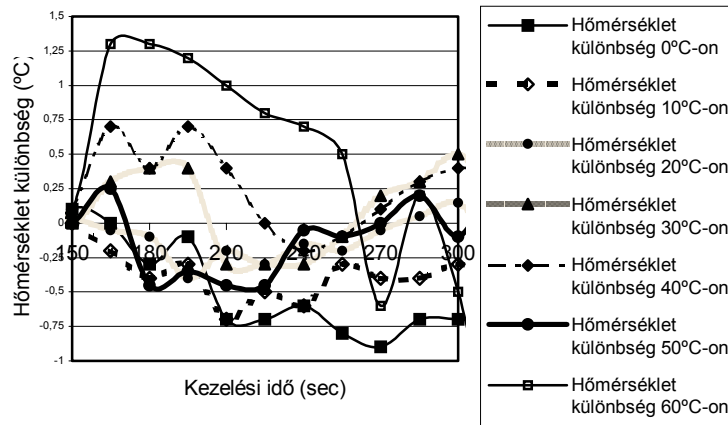
7.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 60°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



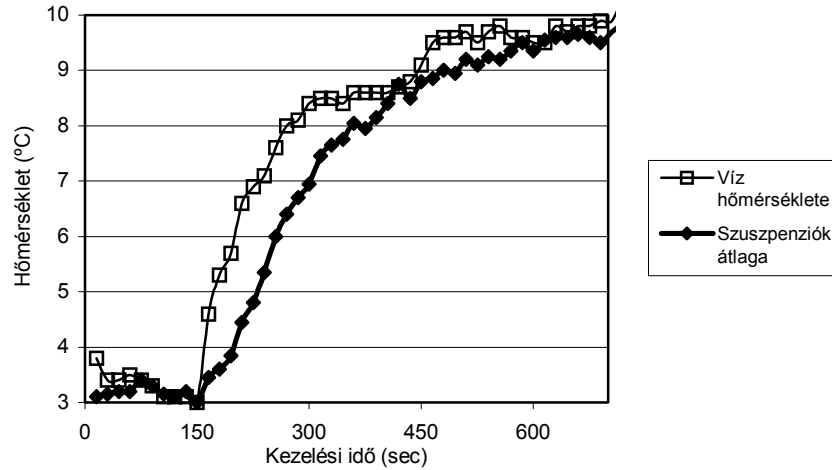
7.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 60°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



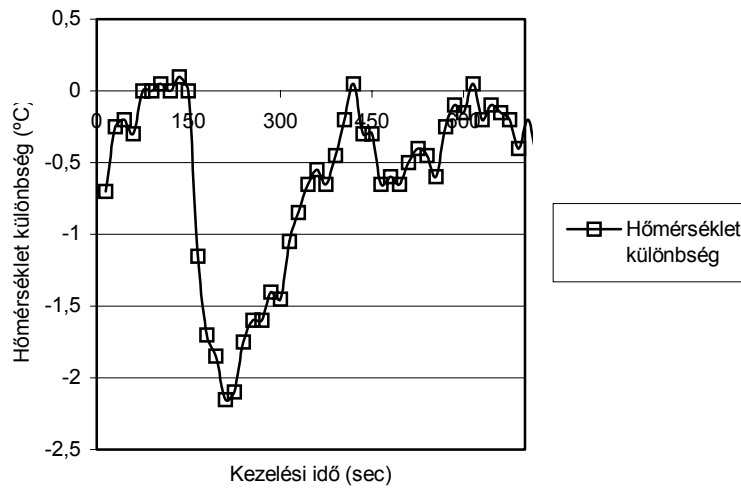
8.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékleteinek (szono-termogramjainak) alakulásai $1\text{-}60^\circ\text{C}$ -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $1\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



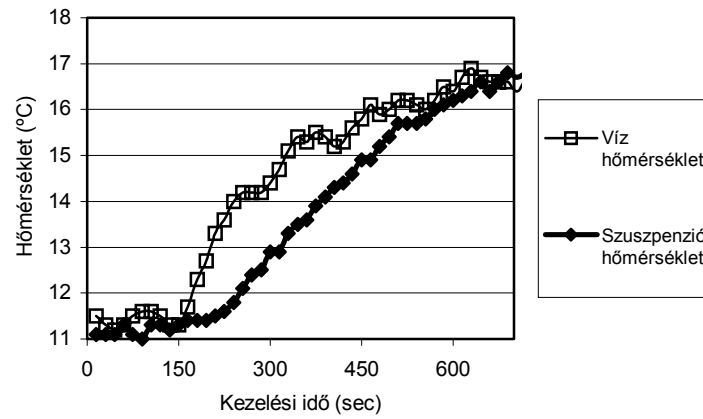
8.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, $1\text{-}60^\circ\text{C}$ -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $1\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbségei (differenciál szono-termogramjai)



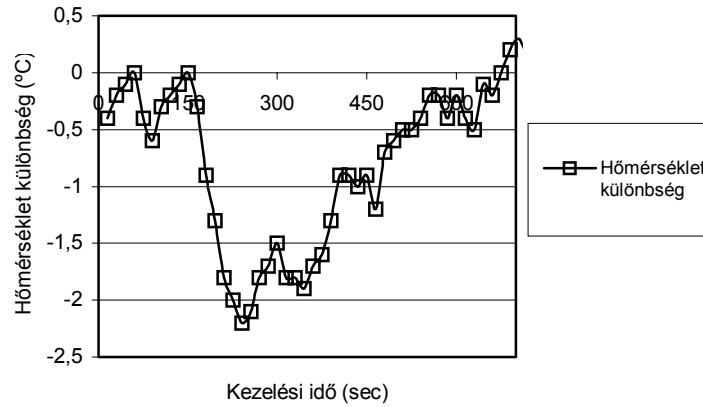
9.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 1°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációnál



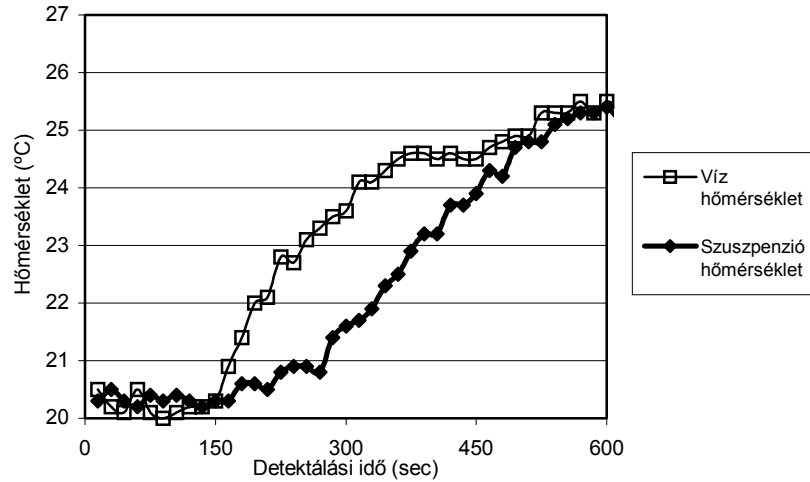
9.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 1°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



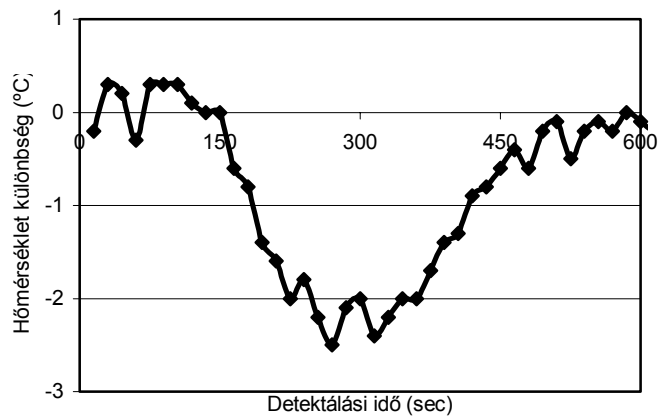
10.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 10°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



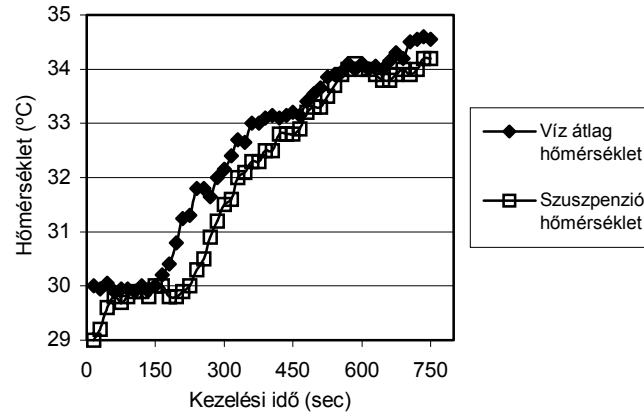
10.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 10°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



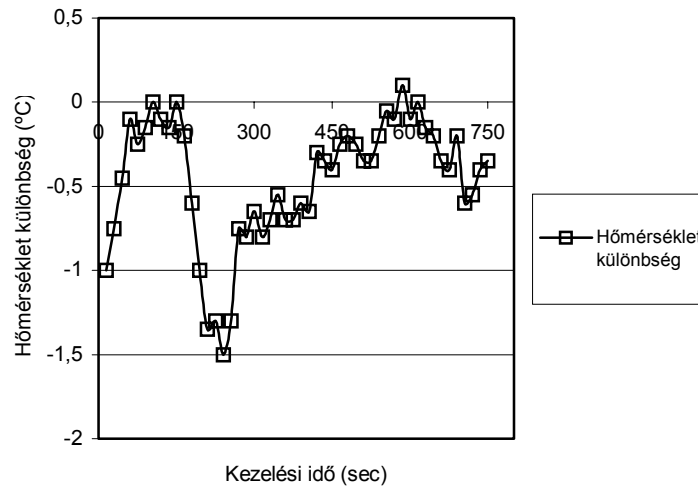
11.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



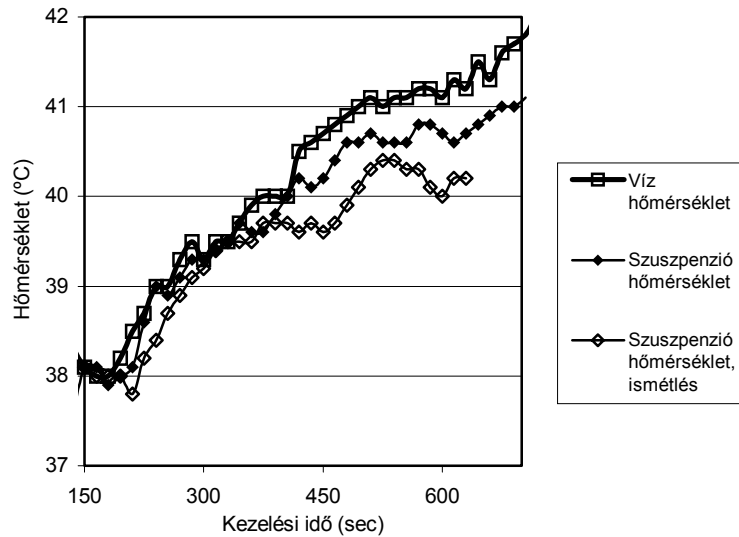
11.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



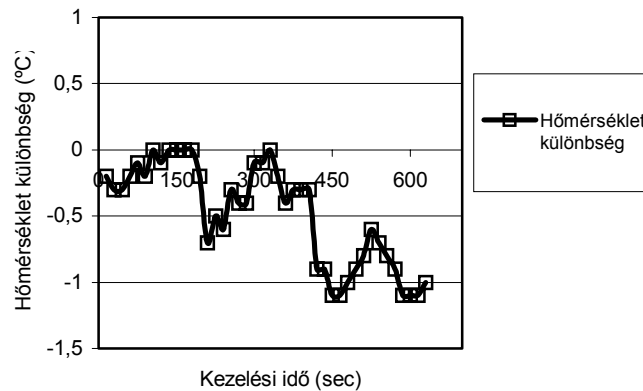
12.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 30°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



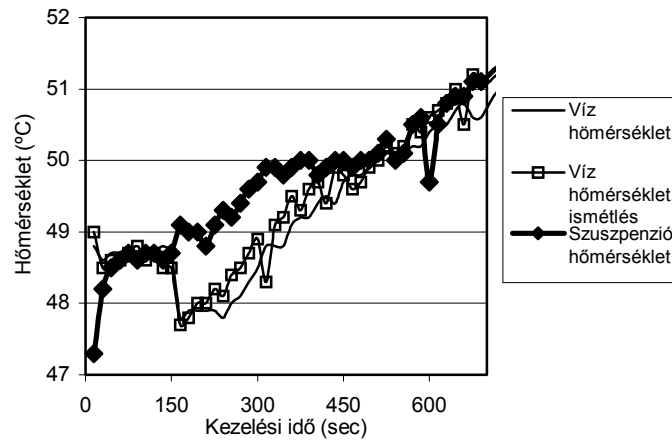
12.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 30°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



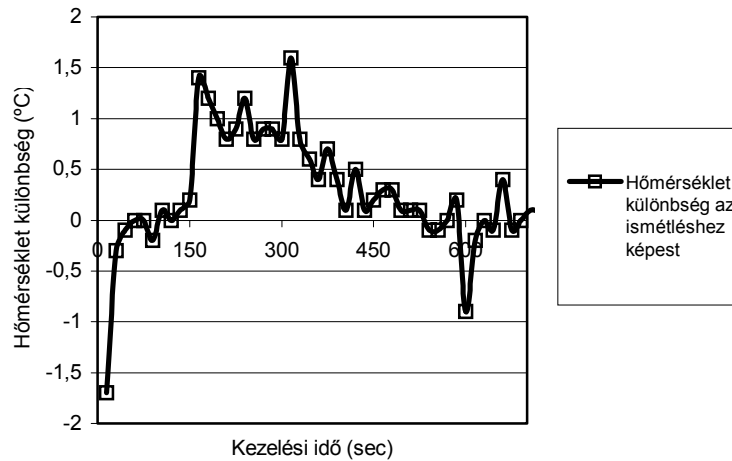
13.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 40°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



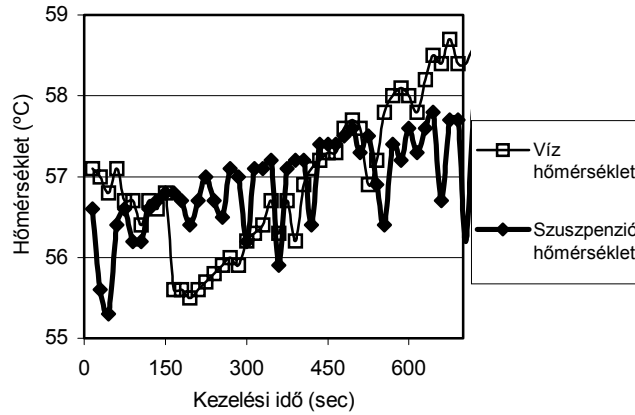
13.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 40°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



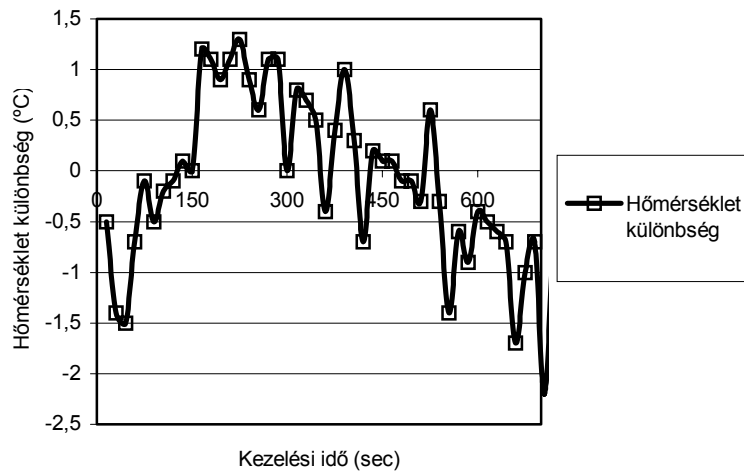
14.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 50°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációnál, a víz vizsgálatának ismétlésével



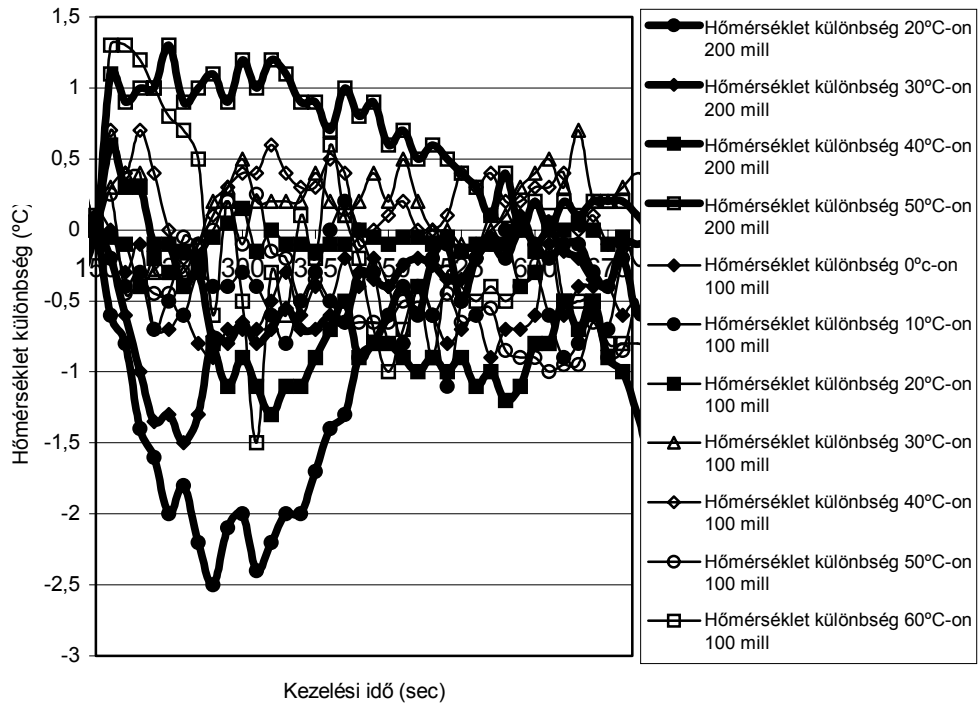
14.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 50°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz ismétlések átlagainak, kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



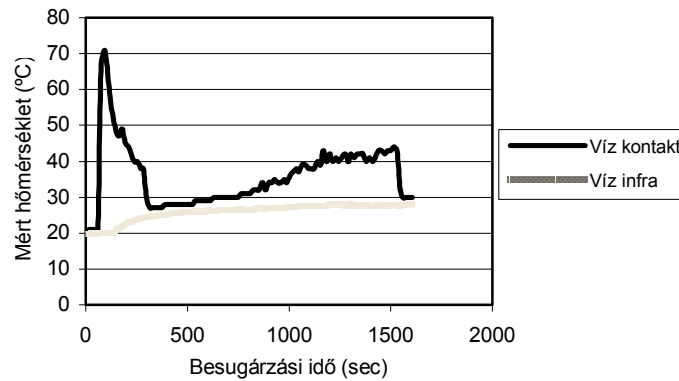
15.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 60°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



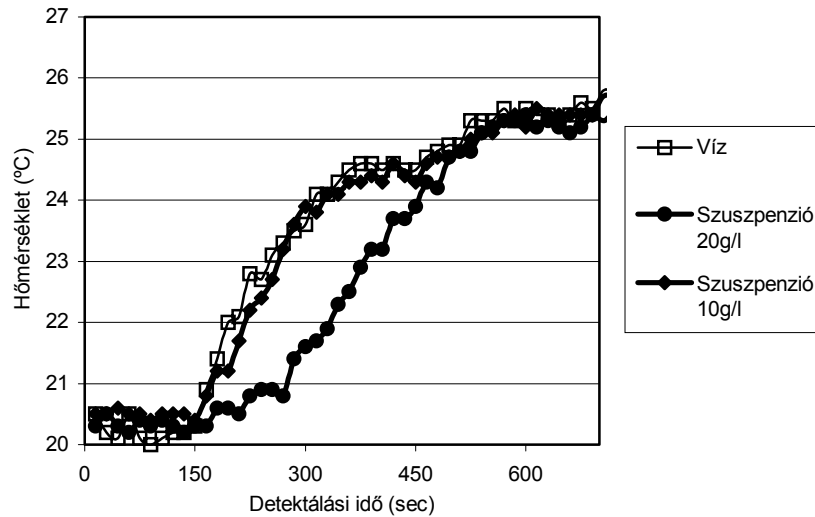
15.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 60°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



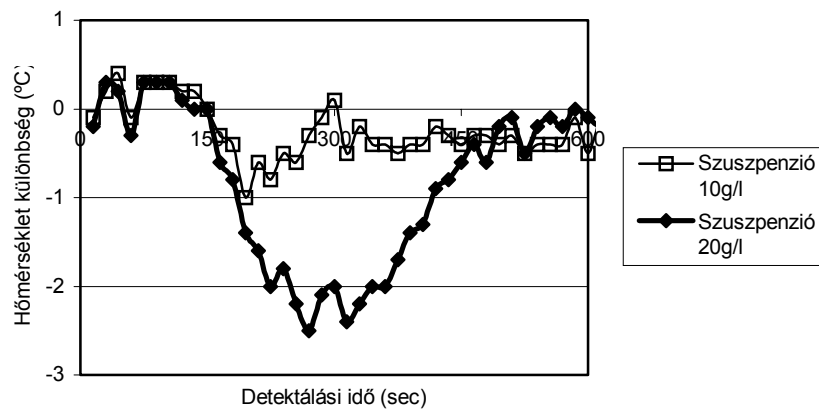
16. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ ultrahang teljesítménnyel kezelt 1-60°C-os vízköpeny hőmérséklet melletti egyes összetartozó szuszpenziók és vizek hőmérséklet különbségeinek alakulásai, egybevetett nézetben



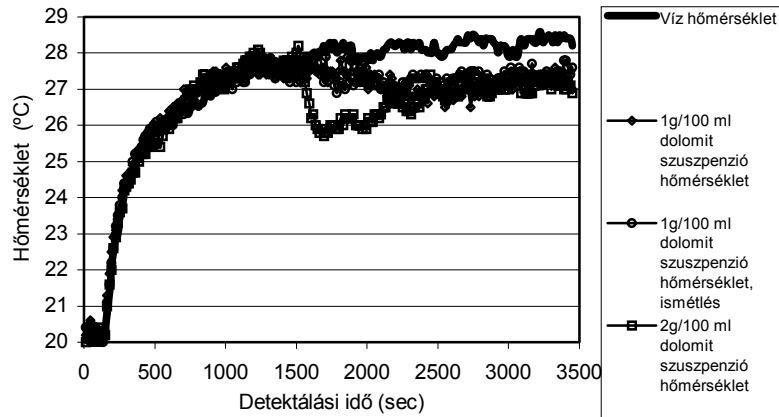
17. Ábra: Kontakt és infra hőmérővel mért hőmérsékleti értékek tiszta víz esetében, $9\text{W}/\text{cm}^2$ ultrahang teljesítménnyel történő kezelés folyamán



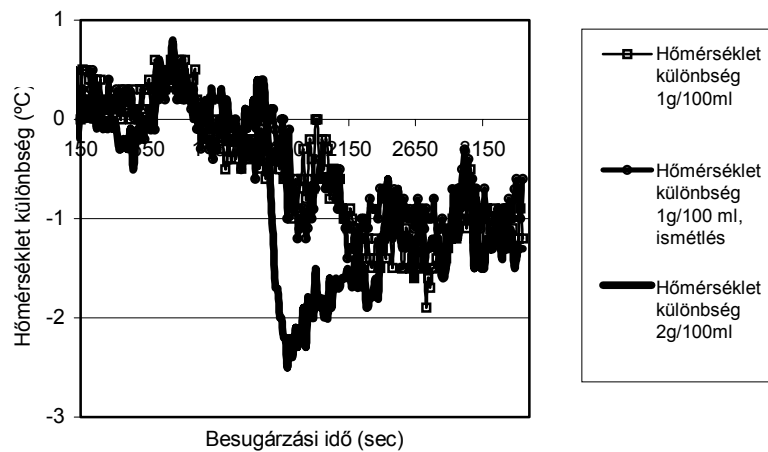
18.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ élesztő szuszpenzió koncentrációjánál



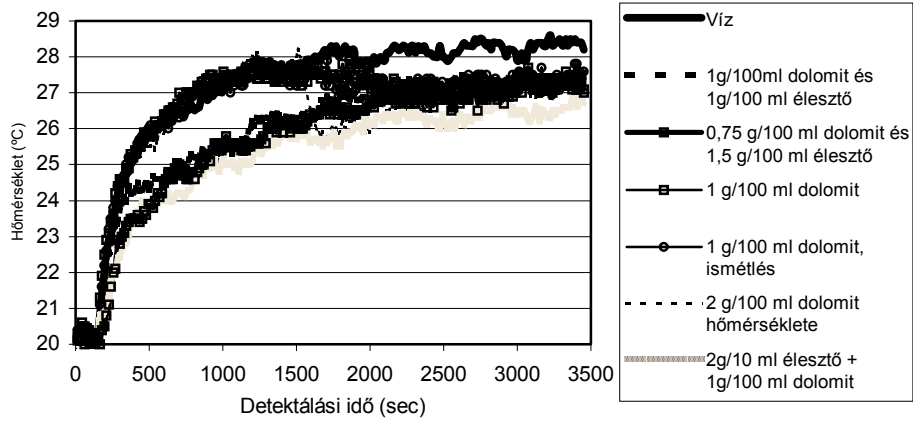
18.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú élesztő szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



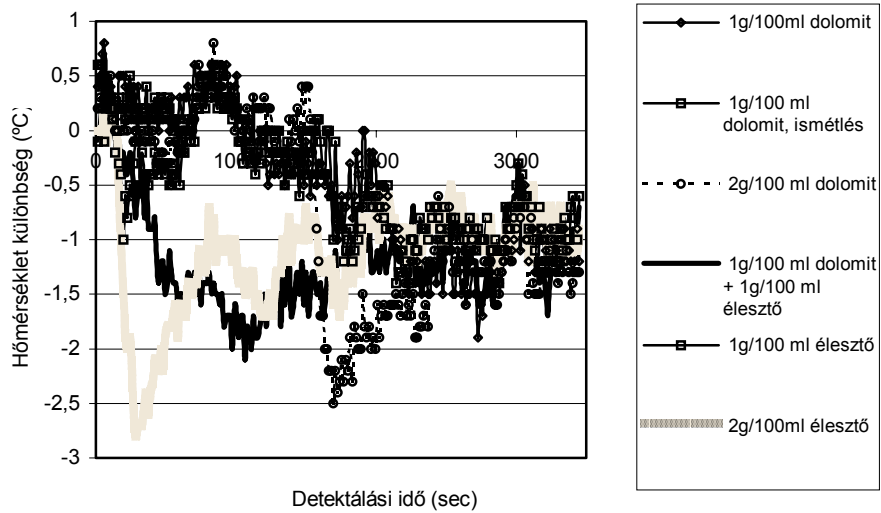
19.A. Ábra: $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel kezelt víz és dolomit szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett, 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ szuszpenzió koncentrációnál



19.B. Ábra: A $9\text{W}/\text{cm}^2$ teljesítménnyel, 20°C -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt 1 és $2\text{g}/100\text{ml}$ koncentrációjú dolomit szuszpenzió és víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbsége (differenciál szono-termogramja)



20.A. Ábra: $9W/cm^2$ teljesítménnyel kezelt tiszta víz, dolomit és élesztő szuszpenzió hőmérsékletének (szono-termogramjainak) alakulása $20^\circ C$ -os vízköpeny hőmérséklet mellett, különböző szuszpenzió koncentrációk között.



20.B. Ábra: A $9W/cm^2$ teljesítménnyel, $20^\circ C$ -os vízköpeny hőmérséklet mellett kezelt különböző koncentrációjú dolomit és élesztő szuszpenziók és tiszta víz kezelés alatti hőmérsékleteinek különbségei (differenciál szono-termogramjai)

III.B. MELLÉKLET

I, HŐTANI EGYENLETEK (FÁBRY, 1995)

$$C = (Q / m \Delta t) \quad [1.]$$

$$Q = C m \Delta t \text{ [W]} \quad [2.]$$

$$Q = \alpha F \Delta t \tau \quad [3.]$$

$$C m \Delta t = \alpha F \Delta t \tau \quad [4.]$$

$$\Delta t = Q / \alpha F \tau = Q / C m \quad [5.]$$

$$\tau = ((C m) / (\alpha F)) \quad [6.]$$

II. HANGTANI EGYENLET (SUSLICK, 1988)

$$dT/dt = (2 \alpha I) / \rho C_m v \quad [8.]$$

VESZTESÉG A HŰTŐKÖPENYEN (FÁBRY, 1995)

$$q = ((2 \pi L (t_b - t_a) \lambda) / (2,3 \lg (d_a / d_b))) \quad [9.]$$

Q	= másodpercenként ultrahanggal bevitt energia	34,2	[J]
q	= hővezetéssel a hőcserélő falon átment hőáram (számítandó)		[J/s], [W]
m	= tömeg ($\rho * v * 1000$)	0,025	[kg]
v	= térfogat	25	[cm ³]
Δt	= hőmérséklet különbség	(számítandó)	[K]
τ	= idő	(számítandó)	[sec]
F	= felület	0,00038	[m ²]
T	= kezelési idő	0-600	[sec]
α_a	= Abszorpciós koefficiens	0,05	[Np / cm * MHz]
α	= forrásban lévő víz hőátadási tényezője	15000	[W/ m ² * K]
I	= Alkalmazott hangintenzitás	9	[W / cm ²]
ρ	= sűrűség	1	[g / cm ³]
C_m	= fajhő	4,186	[J / g * K]
C	= fajhő	4186	[kJ/kg*K]
L	= folyadékoszlop magassága a hőcserélőben	0,0265	[m]
t_b	= hőcserélőben lévő anyag hőmérséklete	(számítandó)	[K]
t_a	= hőcserélőben lévő anyag hőmérséklete	293	[K]
λ	= üveg hővezetési tényezője	1,2	[W/mK], [J/msK]

III. B. MELLÉKLET

d_a	= a hőcserélő cső külső átmérője	0,031	[m]
d_b	= a hőcserélő cső belső átmérője	0,03	[m]

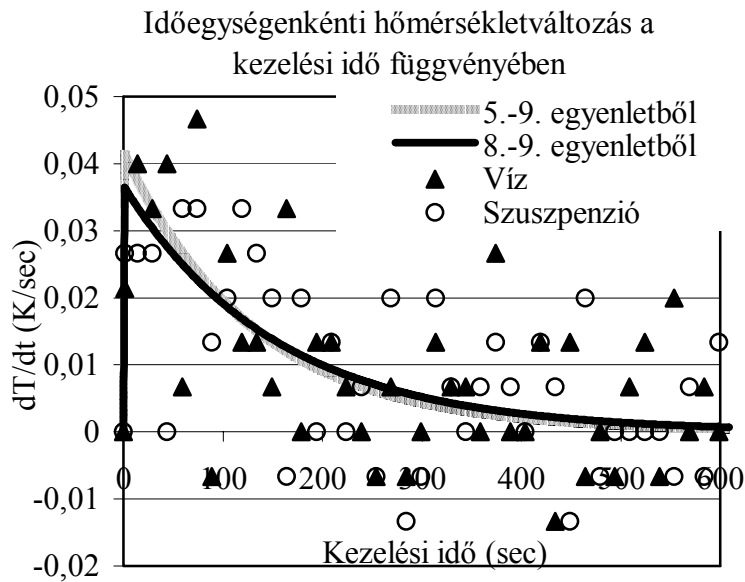
[6.] egyenletből $\tau = (4186 \cdot 0,025) / (0,00038 \cdot 1900) = \underline{18,35}$ [s]

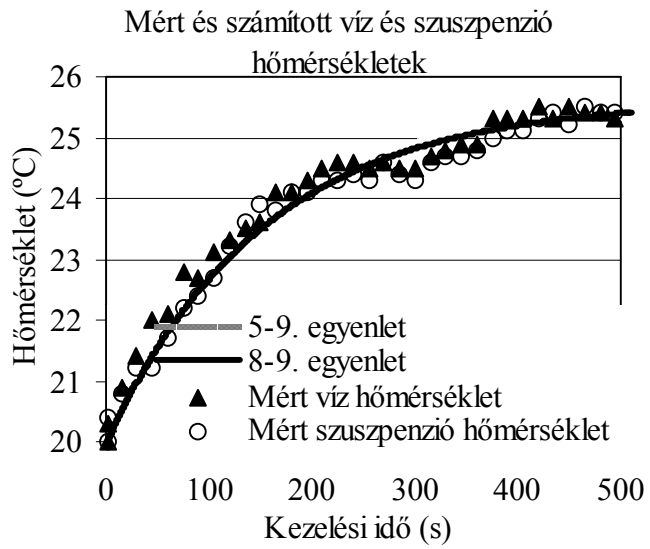
[5.] egyenletből $\Delta t = 34,2 / 15000 \cdot 0,00038 \cdot 18,35 = 34,2 / 4186 \cdot 0,025 = \underline{0,32}$ [K]

[8.] egyenletből $dT/dt = (2 \cdot 0,05 \cdot 1,117 \cdot 34,2) / 1 \cdot 4,186 \cdot 25 = \underline{0,036}$ [K/s]

[9.] egyenletből $q = ((2 \cdot \pi \cdot L \cdot (\Delta t) \cdot 1,3) / (\ln(0,031/0,03)))$ [J/s];
[W]

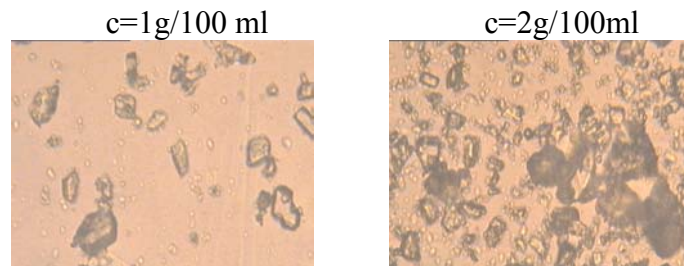
Az 9. egyenletnél a Δt helyére az előző másodpercre számított kumulált hőmérsékletkülönbséget helyettesítettük, majd a q , J/s értékét levontuk az aktuális másodpercre vonatkoztatott 8. egyenletben lévő I , J/scm² és az 5. egyenletben lévő Q , J értékéből.



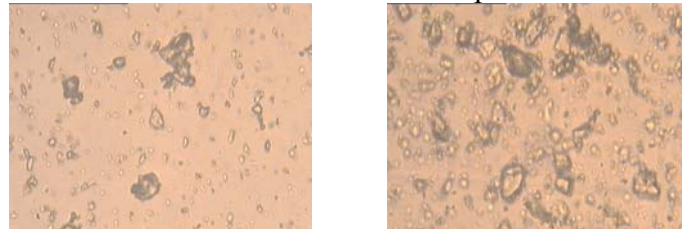


IV. MELLÉKLET

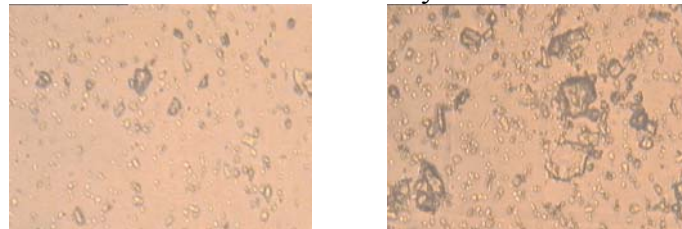
A 25 ml 1g/100 ml és a 2g/100 ml koncentrációjú dolomit szuszpenzió, 20°C-os vízköpeny hőmérséklet és 9W/cm² ultrahang teljesítménnyel történt kezelésének eredménye a kiinduló állapottól a végső 3450 másodperces, kezelés utáni állapotig.



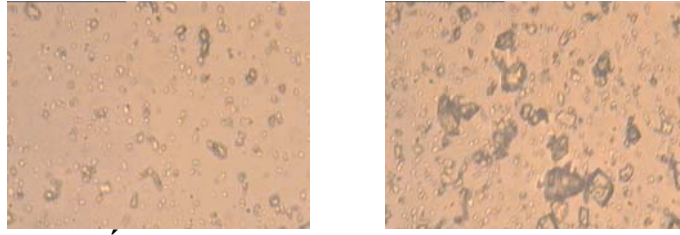
1. Ábra: Kiinduló állapot



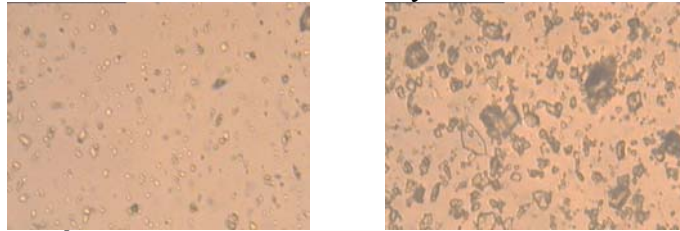
2. Ábra: Kezelés eredménye 375 sec után



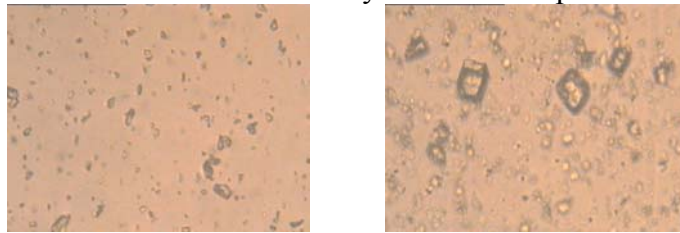
3. ábra: Kezelés eredménye 750 sec után



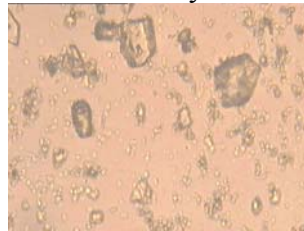
4. Ábra: Kezelés eredménye 1125 sec után



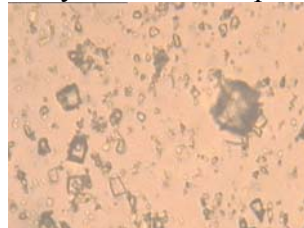
5. Ábra: Kezelés eredménye 1500 másodperc után



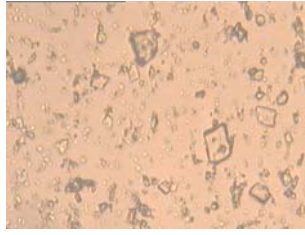
6. ábra: Kezelés eredménye 1800 másodperc után



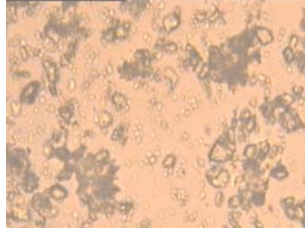
7. ábra: Kezelés eredménye 2175 másodperc után 2g/100ml esetén



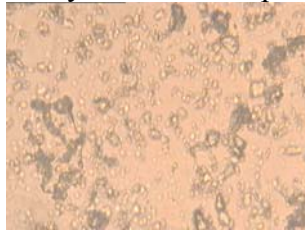
8. ábra: Kezelés eredménye 2550 másodperc után 2g/100ml esetén



9. ábra: Kezelés eredménye 2925 másodperc után 2g/100ml esetén



10. ábra: Kezelés eredménye 3300 másodperc után 2g/100ml esetén



11. ábra: Kezelés eredménye 3450 másodperc után 2g/100ml esetén

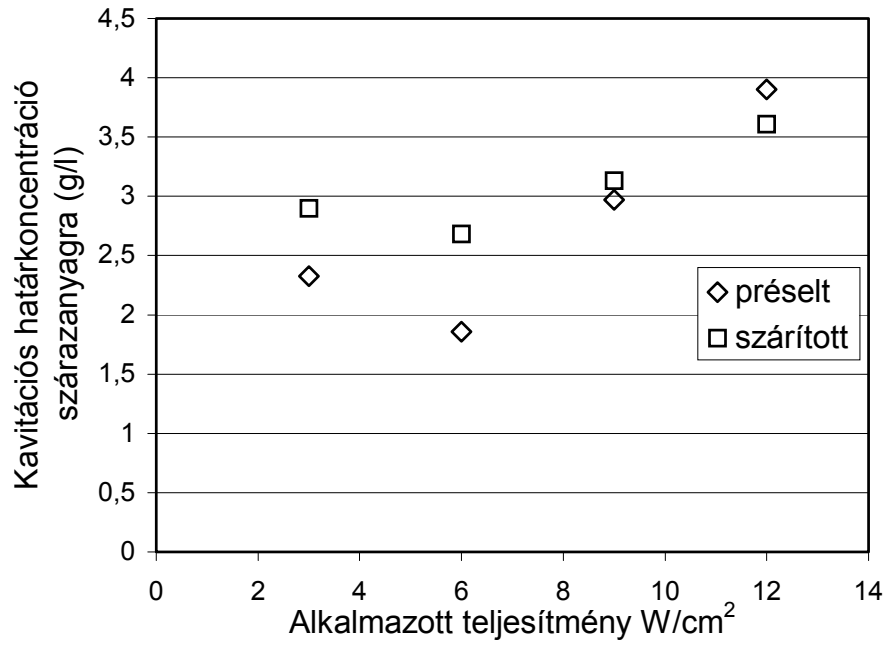
V. MELLÉKLET

1. Táblázat: Kavitációs határkoncentrációk, 4 ismétlésből

KHK (g/l)	Kezelési teljesítmény (W/cm ²)				
	0	3	6	9	12
Szárított élesztő					
1. Ismétlés	-	2,28	2,64	3,72	4,48
2. Ismétlés	-	2,00	2,72	3,24	4,36
3. Ismétlés	-	2,16	2,52	3,52	4,28
4. Ismétlés	-	2,20	2,68	3,32	4,68
Ismétlések átlaga	-	2,16	2,64	3,45	4,45
SzD1%=0,34					
Szórás	-	0,12	0,09	0,22	0,17
Kiegészítő vizsgálatból	-	2,00	2,50	3,20	4,20
Préselt élesztő					
1. Ismétlés	-	9,36	10,44	11,04	12,40
2. Ismétlés	-	9,60	9,64	10,88	12,48
3. Ismétlés	-	9,44	10,12	10,32	12,84
4. Ismétlés	-	8,88	10,32	10,96	12,24
Ismétlések átlaga	-	9,32	10,13	10,80	12,49
SzD1%=0,80					
Szórás	-	0,31	0,35	0,33	0,25
Kiegészítő vizsgálatból	-	9,12	9,88	10,76	12,08
Dolomit liszt					
1. Ismétlés	-	1,04	1,92	3,28	5,28
2. Ismétlés	-	1,12	1,80	3,12	5,52
3. Ismétlés	-	1,08	1,84	3,36	5,20
4. Ismétlés	-	1,12	1,96	3,20	5,60
Ismétlések átlaga	-	1,09	1,88	3,24	5,40
SzD1%=0,28					
Szórás	-	0,04	0,07	0,10	0,19
Kiegészítő vizsgálatból	-	0,88	1,80	2,92	5,12

2. Táblázat: Visszakavitálási, vagy kavitáció kialakulási időpillanatok KHK*1,5 esetén, 4 ismétlésből

Kezelési teljesítmény (W/cm ²) VKI (sec)	3	6	9	12
Szárított élesztő				
1. Ismétlés	46	45	45	42
2. Ismétlés	47	47	46	45
3. Ismétlés	45	41	42	46
4. Ismétlés	50	39	47	43
Ismétlések átlaga	47	43	45	44
Ismétlések szórása	2,16	3,65	2,16	1,83
Préselt élesztő				
1. Ismétlés	-	-	-	-
2. Ismétlés	-	-	-	-
3. Ismétlés	-	-	-	-
4. Ismétlés	-	-	-	-
Ismétlések átlaga	-	-	-	-
Dolomit liszt				
1. Ismétlés	733	768	787	787
2. Ismétlés	764	741	763	790
3. Ismétlés	745	711	791	786
4. Ismétlés	763	738	773	802
Ismétlések átlaga	751,25	739,5	778,5	791,25
	SzD1%=39,51			
Ismétlések szórása	14,97	23,30	12,90	7,37



1. **Ábra:** Préselt és liofilizált élesztőgomba kavitációs határkoncentrációi szárazanyagra

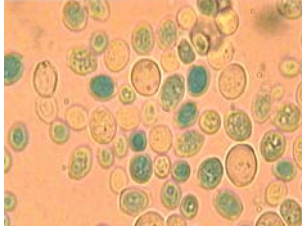
VI. MELLÉKLET

A *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba kiindulási sejtkoncentráció függő sejtpusztulási dinamikájának fényképsorozatai, egy ismétlés és minden időponthoz tartozó egy-egy látótér bemutatásának esetében, KHK, KHK*1,5, KHK*1,7, KHK*2,2 és KHK*3 koncentrációk mellett.

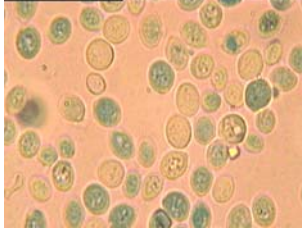
VI/1. C=KHK, t=20°C, P=9W/cm²



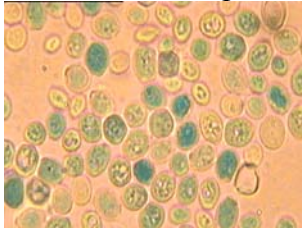
1. **Ábra:** Kezelés előtti állapot



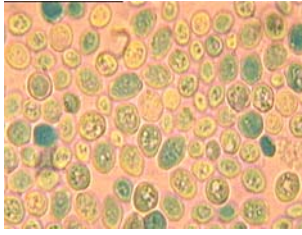
2. **Ábra:** A kezelés 15. másodpercében vett minta



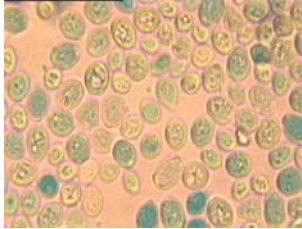
3. **Ábra:** A kezelés 30. másodpercében vett minta



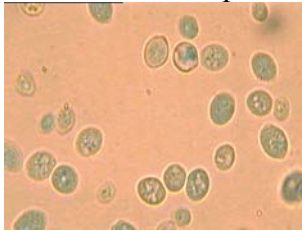
4. **Ábra:** A kezelés 45. másodpercében vett minta



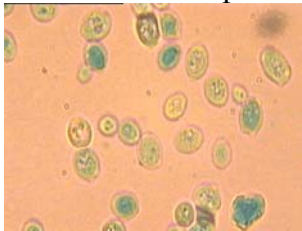
5. Ábra: A kezelés 60. másodpercében vett minta



6. Ábra: A kezelés 75. másodpercében vett minta



7. Ábra: A kezelés 90. másodpercében vett minta



8. Ábra: A kezelés 120. másodpercében vett minta

VI/2. $C=KHK*1,5$, $T=20^{\circ}C$, $P=9W/cm^2$



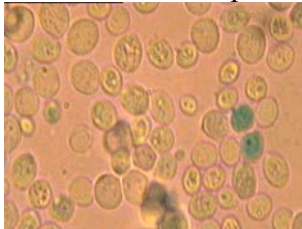
9. Ábra: A kiinduló állapot



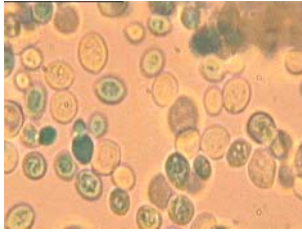
10. Ábra: A 15. másodpercben vett minta



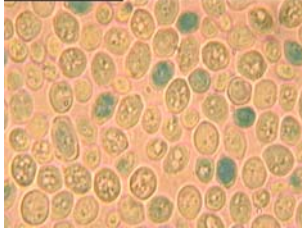
11. Ábra: A kezelés 30. másodpercében vett minta



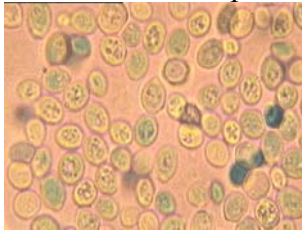
12. Ábra: A 45. másodpercben vett minta



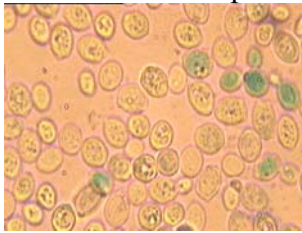
13. Ábra: A kezelés 60. másodpercében vett minta



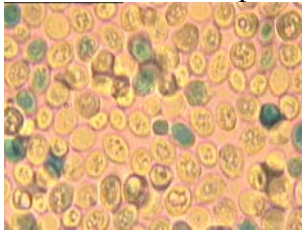
14. Ábra: A kezelés 75. másodpercében vett minta



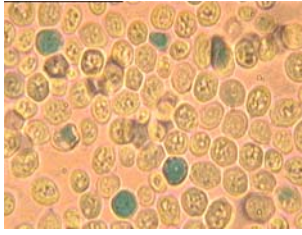
15. Ábra: A kezelés 90. másodpercében vett minta



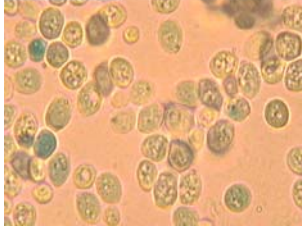
16. Ábra: A kezelés 105. másodpercében vett minta



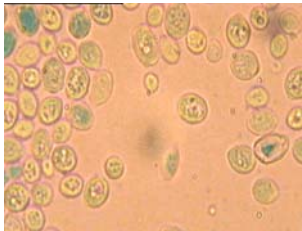
17. Ábra: A kezelés 120. másodpercében vett minta



18. Ábra: A kezelés 135. másodpercében vett minta

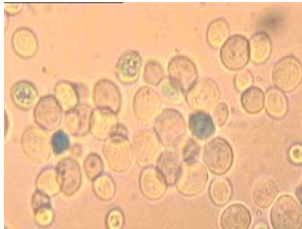


19. Ábra: A kezelés 150. másodpercében vett minta

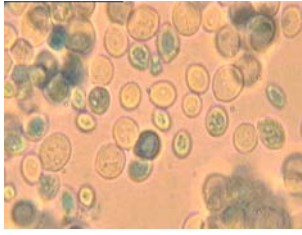


20. Ábra: A kezelés 240. másodpercében vett minta

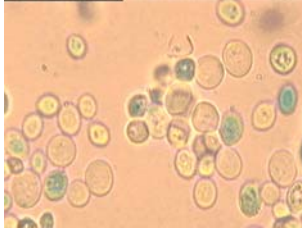
VI/3. C=KHK*1,7, T=20°C, P=9W/cm²



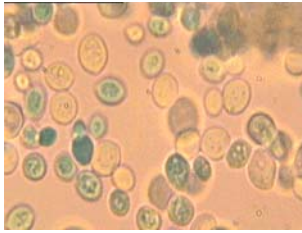
21. Ábra: Kiinduló állapot



22. Ábra: A kezelés 15. másodperce



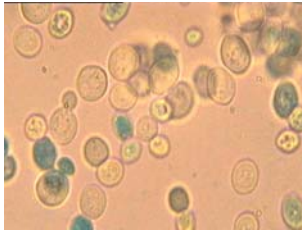
23. Ábra: A kezelés 30. másodperce



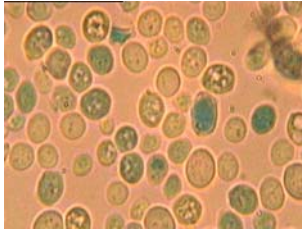
24. Ábra: A kezelés 45. másodperce



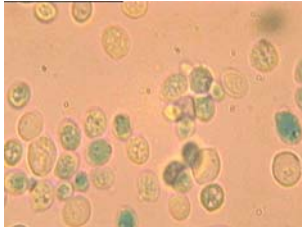
25. Ábra: A kezelés 60. másodperce



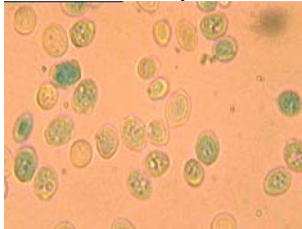
26. Ábra: A kezelés 75. másodperce



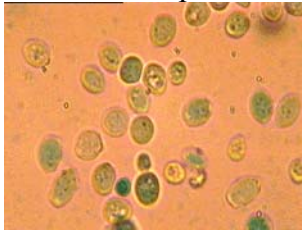
27. Ábra: A kavitáció beindul, 90. másodpercben vett minta



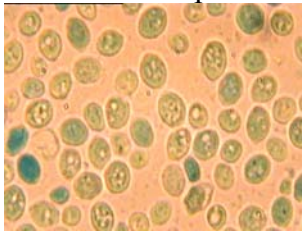
28. Ábra: 105. másodpercben vett minta



29. Ábra: 120. másodpercben vett minta

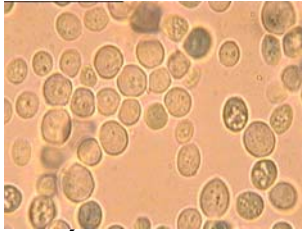


30. Ábra: A 135. másodpercben vett minta

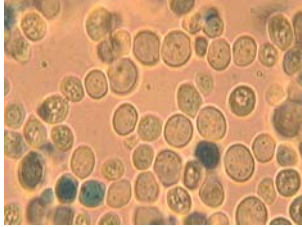


31. Ábra: A 195. másodpercben vett minta

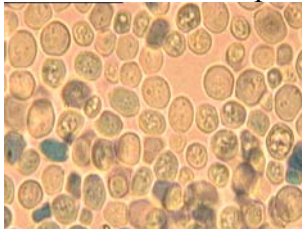
VI/4. $C=KHK*2,2$, $T=20^{\circ}C$, $P=9 W/cm^2$



32. Ábra: Kinduló állapot



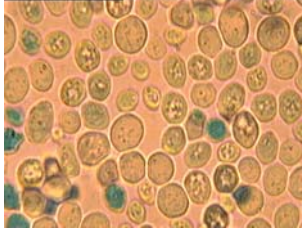
33. Ábra: A kezelés 30. másodpercében vett minta



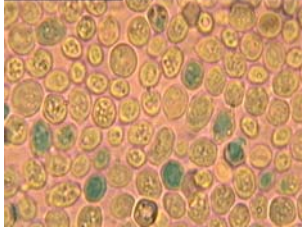
34. Ábra: A kezelés 60. másodpercében vett minta



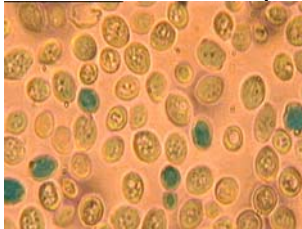
35. Ábra: A kezelés 90. másodpercében vett minta



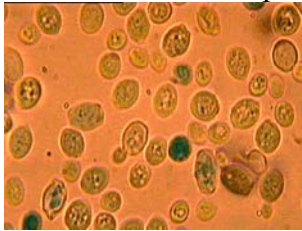
36. Ábra: A kavitáció kezdete, a 120 másodpercben vett minta



37. Ábra: A kezelés 150. másodpercében vett minta



38. Ábra: A kezelés 200. másodpercében vett minta

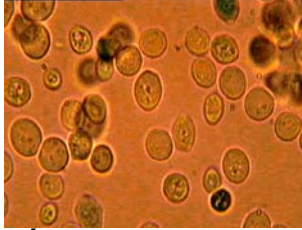


39. Ábra: A kezelés 280. másodpercében vett minta



40. Ábra: A kezelés 360. másodpercében vett minta

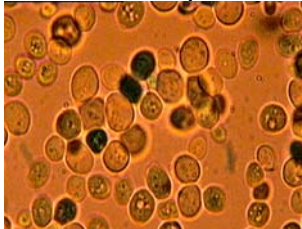
VI/5. C=KHK*2,2, T=20°C, P=9W/cm²



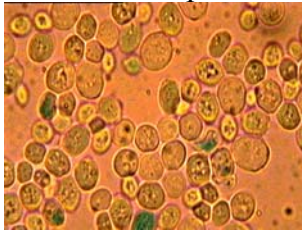
41. **Ábra:** Kiindulási állapot



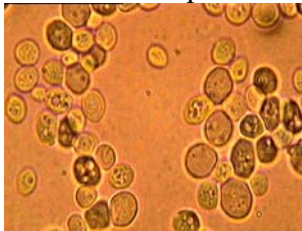
42. **Ábra:** A 30. másodpercben vett minta



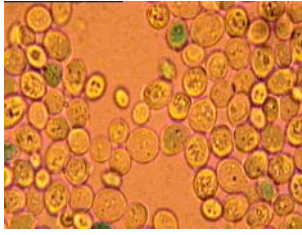
43. **Ábra:** A 60. másodpercben vett minta



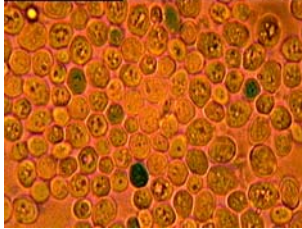
44. **Ábra:** A 90. másodpercben vett minta



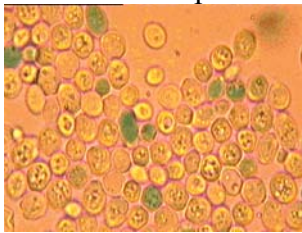
45. **Ábra:** A 120. másodpercben vett minta



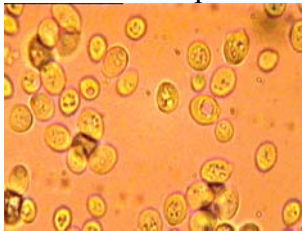
46. Ábra: A 135. másodpercben vett minta



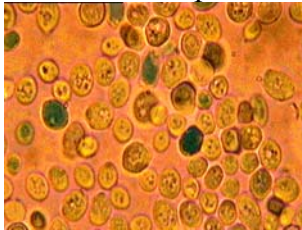
47. Ábra: A 180. másodpercben vett minta



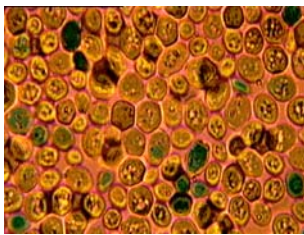
48. Ábra: A 210. másodpercben vett minta



49. Ábra: A 240. másodpercben vett minta



50. Ábra: A 270. másodpercben vett minta



51. Ábra: A 360. másodpercben vett minta

VII. MELLÉKLET

1. Táblázat: Az immerziós objektív alatt látható sejtszámok különböző teljesítményeknél az idő függvényében

			7,5W/cm ²	9,6W/cm ²	10,5W/cm ²	12W/cm ²				
Kiinduló sejtszám			2,54*10 ⁷	2,464*10 ⁷	3,275*10 ⁷	2,819*10 ⁷				
kezelési idő (perc)	kezelési idő (sec)	Eff. kezelési idő (sec)	relatív élő sejtszám	abszolút élő sejtszám	relatív élő sejtszám	abszolút élő sejtszám	relatív élő sejtszám	abszolút élő sejtszám	relatív élő sejtszám	abszolút élő sejtszám
0	0	0	100	2,09*10 ⁷	100	2*10 ⁷	100	2,272*10 ⁷	100	2,272*10 ⁷
15	900	8,47	65,21	1,363*10 ⁷	63,63	1,272*10 ⁷	66,66	1,818*10 ⁷	56	1,272*10 ⁷
30	1800	16,95	56,552	1,181*10 ⁷	50	1*10 ⁷	40	1,09*10 ⁷	44	1*10 ⁷
60	3600	33,91	52,17	1,09*10 ⁷	40,9	8,181*10 ⁶	20	5,45*10 ⁶	16	3,636*10 ⁶
105	6300	59,34	39,13	8,18*10 ⁶	22,72	4,545*10 ⁶	10	2,727*10 ⁶	8	1,818*10 ⁶
165	9900	93,77	32,6	6,818*10 ⁶	13,63	2,727*10 ⁶	6,66	1,818*10 ⁶	4	9,09*10 ⁵
250	15000	141,3	21,73	4,545*10 ⁶	3,63	7,27*10 ⁵	2	5,45*10 ⁵	0,8	1,81*10 ⁵
265	15900	149,78	19,56	4,09*10 ⁶	2,27	4,54*10 ⁵	0	0	0	0
285	17100	161,08	17,39	3,636*10 ⁶	0,9	1,81*10 ⁵				
405	24300	228,8	1,7	3,636*10 ⁵	0	0				
420	25200	237,4	0	0						

2. Táblázat: A számított tizedelési és pusztulási sebesség értékek

	7,5W/cm ²	9,6W/cm ²	10,5W/cm ²	12W/cm ²
N ₀	2,09*10 ⁷	2*10 ⁷	2,272*10 ⁷	2,272*10 ⁷
N _t	3,636*10 ⁶	2,72*10 ⁶	2,72*10 ⁶	1,81*10 ⁵
t _{0 (eff)}	0	0	0	0
t _{t (eff)}	161,08	93,77	59,34	59,34
lgN ₀	7,32	7,3	7,435	7,356
lgN _t	6,55	6,435	6,435	6,25
D _{eff (sec)}	209,36	108,42	59,34	53,65
lgD _{eff (sec)}	2,32	2,03	1,77	1,729
k	0,011	0,02124	0,03881	0,04292

3. Táblázat: 2,07W/cm² teljesítménnyel kezelt *Saccharomyces cerevisiae* abszolút és relatív sejtszám értékei különböző kiinduló csíraszám mellett

Perc Kiinduló sejtszám	Perc																									
	0	10	20	25	30	32	40	42	46	60	75	80	87	91	126	140	176	190	210	240	310	340				
0,422*10 ⁷ /ml	3,4	2,0	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,4	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0						
0,63*10 ⁷ /ml	5,3	2,8	2,1	2,0	1,9	1,7	1,6	1,5	1,4	1,4	1,3	1,2	1,1	0,9	0,7	0,6	0,5	0,4	0,4	0,2	0,1	0				
1,227*10 ⁷ /ml	10	5,9	4,8	3,7	3,4	3,4	3,2	3,0	2,8	2,5	2,3	2,1	1,8	1,5	1,2	0,9	0,6	0,3	0,1	0,0						
2,472*10 ⁷ /ml	20	12,8	10,1	8,0	6,8	5,8	4,8	4,0	3,7	3,0	2,7	2,6	2,3	2,0	1,3	1,0	0,6	0,2	0,0							
0,422*10 ⁷ /ml	100	60,0	41,5	38,6	35,8	33,0	30,0	27,0	24,0	21,0	18,0	16,0	13,0	11,0	6,0	4,0	2,0	1,0	0,5	0,0						
0,63*10 ⁷ /ml	100	53,0	40,5	38,1	36,0	33,2	31,0	28,8	27,4	26,1	24,4	22,7	21,0	17,2	13,3	11,7	10,0	8,4	6,7	4,2	1,8	0,0				
1,227*10 ⁷ /ml	100	58,5	47,6	36,7	34,2	33,8	32,3	29,9	27,6	25,3	23,0	20,7	17,5	14,7	11,7	8,8	5,9	2,9	1,5	0,0						
2,472*10 ⁷ /ml	100	64,0	50,5	40,0	34,0	29,0	24,0	20,0	18,5	15,0	13,5	13,0	11,5	10,0	6,3	4,8	3,0	1,2	0,0							

4. Táblázat: 2,7W/cm² teljesítménnyel kezelt *Saccharomyces cerevisiae* abszolút és relatív sejtszám értékei különböző kiinduló csíraszám mellett

Perc Kiinduló sejtszám	Perc											
	0	4	9	15	20	25	30	36	49	58	64	69
0,455*10 ⁷ /ml	3,75	1,41	1,3	1,15	0,913	0,7	0,64	0,35	0,031	0		
0,648*10 ⁷ /ml	5,25	2,6	2,1	1,6	1,1	0,91	0,56	0,37	0,14	0,06	0,01	
1,39*10 ⁷ /ml	11,2	4,1	2,5	2,1	2	1,77	1,6	1,06	0,4	0,05	0	
2,412*10 ⁷ /ml	20	19,4	13,2	11,1	9,2	7,45	6,72	5,54	2,32	0,55	0,1	0
0,455*10 ⁷ /ml	100,00	37,60	34,67	30,67	24,35	18,67	17,07	9,33	0,83	0,00		
0,648*10 ⁷ /ml	100,00	49,52	40,00	30,48	20,95	17,33	10,67	7,05	2,67	1,14	0,19	0,00
1,39*10 ⁷ /ml	100,00	36,61	22,32	18,75	17,86	15,80	14,29	9,46	3,57	0,45	0,00	
2,412*10 ⁷ /ml	100,00	97,00	66,00	55,50	46,00	37,25	33,60	27,70	11,60	2,75	0,50	0,00

5. Táblázat: Számított tizedelési „D” időintervallumok és pusztulási sebesség értékek

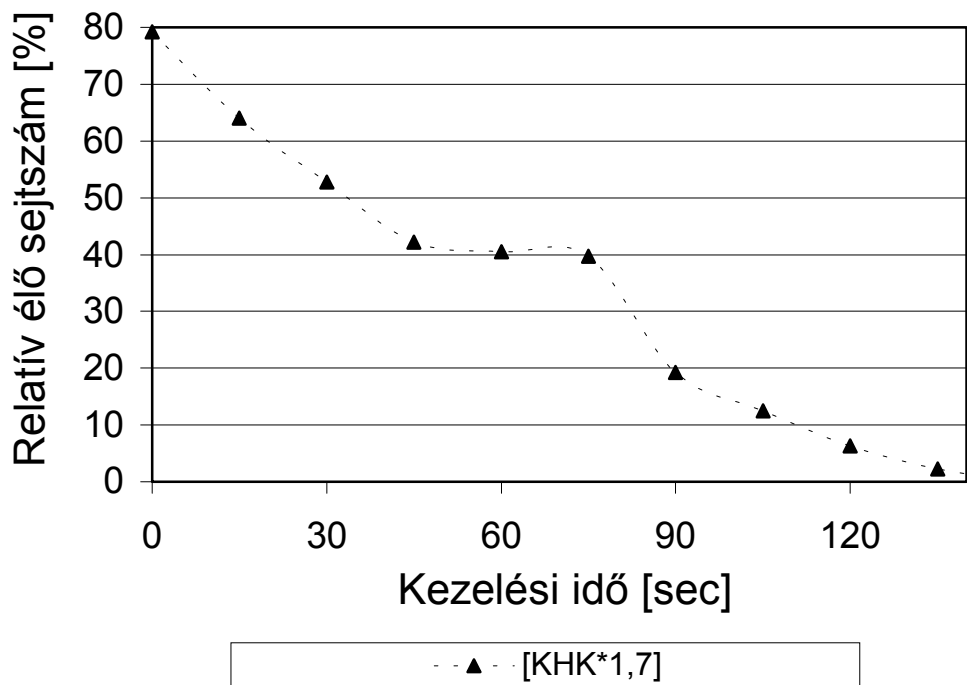
Kiinduló sejtszám	2,07 W/cm ²				2,7 W/cm ²			
	0,422*10 ⁷ /ml	0,63*10 ⁷ /ml	1,227*10 ⁷ /ml	2,472*10 ⁷ /ml	0,455*10 ⁷ /ml	0,648*10 ⁷ /ml	1,39*10 ⁷ /ml	2,412*10 ⁷ /ml
N ₀	3,4*10 ⁵	5,25*10 ⁵	1*10 ⁷	2*10 ⁷	3,75*10 ⁵	5,25*10 ⁵	1,12*10 ⁷	2*10 ⁷
N _t	4*10 ⁵	5*10 ⁵	9*10 ⁵	2*10 ⁵	3,5*10 ⁵	5,6*10 ⁵	1,06*10 ⁵	2,32*10 ⁵
t ₀	0	0	0	0	0	0	0	0
t _t	91	176	140	91	36	30	36	49
lgN ₀	6,5314	6,72	7	7,3	6,57	6,72	7,04	7,3
lgN _t	4,23	4,97	5,16	4,38	5,54	5,74	6,02	6,36
D (min)	100,1	158,1	133,7	91	34,9	30,64	35,33	52,2
k	0,02352	0,01456	0,01722	0,0253	0,0658	0,07516	0,06517	0,0441

7. Táblázat: Az egyes kísérletek különböző jelenségszakaszainak túlélési dinamikái kerültek ábrázolásra, 4 ismétlésből

Koncentráció	[KHK]			[KHK*1,5]			[KHK*1,7]			[KHK*2,2]					[KHK*3]
Akusztikai jelenség	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.
N (Kiinduló sejtszám)	1,79*10 ⁷			2,688*10 ⁷			3,046*10 ⁷			3,94*10 ⁷			5,37*10 ⁷		
N ₀	-	-	1,43*10 ⁷	2,16*10 ⁷	1,37*10 ⁷	1,34*10 ⁷	2,41*10 ⁷	1,28*10 ⁷	1,21*10 ⁷	3,15*10 ⁷	1,21*10 ⁷	1,04*10 ⁷	4,27*10 ⁷	1,15*10 ⁷	8,76*10 ⁶
N _t	-	-	1,79*10 ⁵	1,37*10 ⁷	1,34*10 ⁷	1,68*10 ⁶	1,28*10 ⁷	1,21*10 ⁷	1,98*10 ⁶	1,21*10 ⁷	1,04*10 ⁷	1,47*10 ⁶	1,15*10 ⁷	8,76*10 ⁶	1,88*10 ⁶
lgN ₀	-	-	7,15	7,33	7,13	7,12	7,38	7,1	7,08	7,49	7,08	7,01	7,63	7,06	6,94
lgN _t	-	-	5,25	7,13	7,12	6,22	7,1	7,08	6,29	7,08	7,01	6,16	7,06	6,94	6,27
t ₀	-	-	0	0	30	45	0	45	75	0	60	120	0	75	180
t _t	-	-	75	30	45	90	45	75	120	60	120	200	75	180	280
D	-	-	39,4	150,0	1505,	50,07	161,0	1500,	57,14	146,4	857,4	94,17	131,6	875,6	149,2
k	-	-	0,05	0,015	0,015	0,045	0,014	0,001	0,040	0,015	0,002	0,024	0,017	0,002	0,015

8. Táblázat: *Pseudomonas aeruginosa* tizedelési időintervallum értékei, illetve a kiszámításukhoz figyelembevett adatok

Teljesítmény	9W/cm ²					6W/cm ²	
N ₀ (*10 ⁷)	5,4	2,79	2,4	2,06	1,24	5,6	1,41
N _t (*10 ⁷)	0,972	1,32	0,63	0,76	1	1,91	0,7
lgN ₀	7,73	7,44	7,38	7,31	7,09	7,74	7,14
lgN _t	6,98	7,12	6,79	6,88	7	7,28	6,8
t ₀ (sec)	0	0	0	0	0	0	0
t _t (sec)	900	900	900	900	900	900	900
D _(sec)	1205	2822	1531	2113	10056	1968	2656
TDT _(D*10)	12050	28220	15310	21130	100560	19680	26560
lg D	3,08	3,45	3,18	3,32	4	3,29	3,42
k	0,00191	0,00081	0,0015	0,00109	0,000229	0,00117	0,00086



1. **Ábra:** Relatív élősejtszám alakulása manuális vizsgálatból, KHK*1,7 esetén (4 ismétlés)

9. Táblázat: Az akusztikai jelenségek elhanyagolásával a 4.6. fejezetből kapott D, TDT és lgD értékek

Cfu/ml	$1,79 \cdot 10^7$	$2,68 \cdot 10^7$	$3,04 \cdot 10^7$	$3,94 \cdot 10^7$	$5,37 \cdot 10^7$
g/l	3,2	4,8	5,44	7,04	9,6
N_0	$1,43 \cdot 10^7$	$2,16 \cdot 10^7$	$2,41 \cdot 10^7$	$3,15 \cdot 10^7$	$4,27 \cdot 10^7$
N_t	$1,79 \cdot 10^5$	$1,68 \cdot 10^5$	$1,98 \cdot 10^5$	$1,47 \cdot 10^5$	$1,88 \cdot 10^5$
t_0	0	0	0	0	0
t_t	75	90	120	200	280
lg N_0	7,15	7,33	7,38	7,49	7,63
lg N_t	5,25	6,22	6,29	6,16	6,27
D (sec)	39,48	81,12	110,29	150,52	207,47
k	0,058	0,0283	0,0208	0,0153	0,0111
lg D	1,59	1,909	2,042	2,177	2,316
TDT	2,59	2,909	3,042	3,177	3,316