

# Ultrazvuková sterilace biofilmu na nanovláknenných površích

Petr Schovanec <petr.schovanec@tul.cz>, Petr Schovanec

Práce se zaměřuje na modifikaci ultrazvukového vlnění s proměnnou časovou smyčkou a frekvencí. V práci se popisuje metodika a zařízení s cílem sterilace biofilmu na citlivých tj. nanovláknenných površích, a i pro eliminaci nežádoucích doprovodných jevů biologické kontaminace jako je pění.

**Klíčová slova:** ultrazvuk, bakterie, biofilm, až 5 klíčových slov oddělených čárkami

## Úvod

Bakterie v suspenzi jsou často formovány do vloček, zatímco bakterie na povrchu vytvářejí biofilm. V obou případech jsou buňky obklopeny tzv. extracelulárními polymerními látkami, které zajišťují vysokou míru ochrany před chemickými nebo termálními účinky sterilace.

Mikroorganismy se postupem času stávají odolné vůči současným dezinfekčním technikám zahrnujícím biocidy, ultrafialové světlo, tepelné ošetření nebo dokonce i vůči antibiotikům.

Ultrazvuk je schopen dezintegrovat bakteriální vločky tj. biofilm a inaktivovat bakteriální buňky, a to prostřednictvím součinnosti řady fyzikálních, mechanických a chemických účinků vyplývajících z akustické kavitace, tj. (vysoký gradient tlaku v podobě rázové vlny a lokálního silového účinku).

Velká výhoda využití ultrazvuku spočívá v absenci dalších chemických látek, které je jinak nutno do systému přidávat. Jedná se například při čištění pitné vody, aplikace na lidské tělo aj. Povrch je sterilován fyzikálně mechanickým způsobem a při vhodném nastavení pracovních frekvencí a intenzit se jedná o velmi šetrnou metodu pro nanovláknenné nebo jinak citlivé povrchy.

Vhodným nastavením frekvence a energie ultrazvuku lze dosáhnout cílené aplikace léčiv, narušení stěn živých buněk nebo řízené eliminace bakterií [1,2].

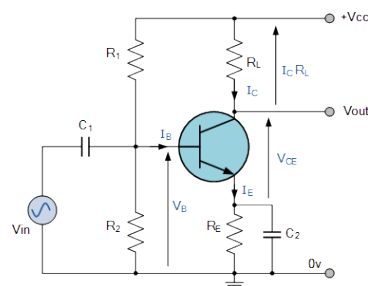
Aplikace ultrazvuku v biotechnologických aplikacích má potenciál pro využití jako například sterilace a čištění filtračních membrán, v anaerobních digestorech, při fermentaci atd. [3,4].

## Metodika

Trend výzkumu směřuje k optimalizaci základních součástí ultrazvukového systému, tj. vývoj tvaru

sonotrody, zdroje vlnění neboli aktuátoru, což může být piezoprvek nebo membrána, ale také elektronické části, tj. generátoru funkcí pro skládané funkce nebo časově proměnné funkce či zesilovače signálu, vždy s ohledem na požadovaný efekt. Fyzikální podstatou je vyvolání akustické vlny, která způsobí lokální nárůst rychlosti v kapalině tj. (gradient rychlosti), který je provázen lokální změnou tlaku, která se navenek projeví tvorbou kavitující bublinky. Bublinka velmi rychle imploduje a kolabuje směrem k blízkému povrchu, tento efekt je provázen rázovou vlnou. Takto vyvolaný mechanický účinek na povrch dosahuje až 18kPa [5]. Jedná se o tlak dostatečně velký k rozrušení buněčných struktur. Ultrazvukové vlny pronikají do hlubších struktur, proto tento jev může probíhat uvnitř porézních, vláknenných materiálů.

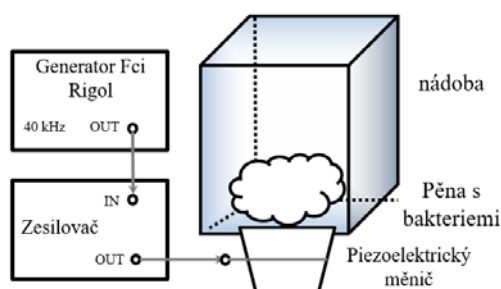
Na následujícím obrázku je vidět schematické zapojení nízkofrekvenčního výkonového zesilovače KMD3886, při kmitočtové charakteristice 10Hz až 100kHz. Zesilovač umožňuje 60krát zesílit vstupní signál, který je přiveden z generátoru funkcí.



Obrázek 1: Schematické zapojení zesilovače.

Na druhém obrázku je uvedeno zapojení celého experimentu. Pomocí generátoru funkcí se generuje signál o frekvenci 40kHz, který se zesiluje pomocí sestaveného zesilovače. Tento zesílený signálem budí ultrazvukový piezoelektrický vibrační měnič při výkonu

50W. Piezoelektrický měnič se připevnil na dno nádoby, do které se vkládají bakterie či pěna.

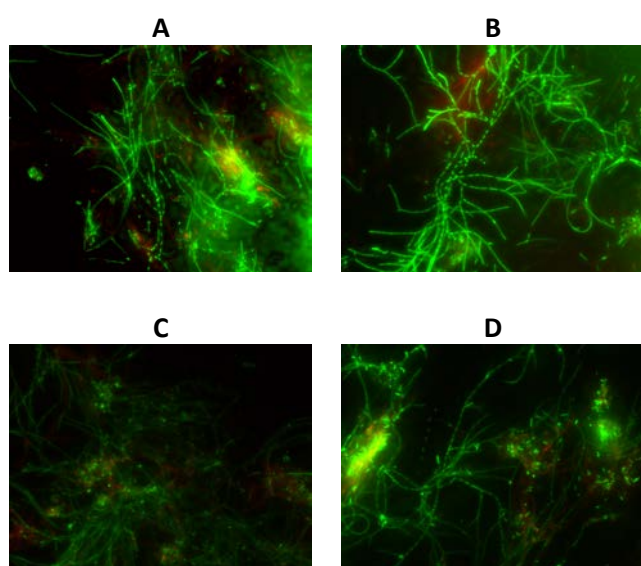


Obrázek 2: Schematické zapojení.

## Výsledky a diskuze

Při působení signálu o frekvenci o 40kHz, tj. rezonanční frekvenci piezoelektrického měniče, nedocházelo ke kavitačnímu efektu. Při delším časovém působení na bakterie jsme ověřili názor [6], že dochází i k nárůstu bakterií. Pro eliminaci bakterií je dle [7] důležitá přítomnost kavitačního efektu a tudíž využití frekvence buď 20 kHz, nebo v řádu jednotek MHz.

Na obrázku 3 jsou uvedeny snímky z mikroskopu, kde živé bakterie jsou zvýrazněny zeleně a mrtvé bakterie červeně. Na snímku A je vidět počáteční vzorek bez působení ultrazvuku. Na snímku B je zachycen vzorek bakterií, který byl odebrán po 2 minutách působení ultrazvuku. Další vzorek byl odebrán po 5 minutách a je zobrazen na snímku C. Na posledním snímku D jsou vidět živé bakterie po působení ultrazvuku po 20 minutách. Na všechny vzorky s bakteriemi působil ultrazvuk o frekvenci 40kHz.



Obrázek 3: Snímky z mikroskopu.

## Závěr

Tímto experimentem jsme ověřili teorii, že bakterie nelze eliminovat pomocí ultrazvukových vln bez kavitačního efektu. Následné úpravy v experimentu budou spočívat ve změně frekvence, při které se bude snáze vytvářet kavitační efekt. To je i důvod proč se v ultrazvukových čističkách využívá frekvence 40kHz a vyšší, aby nedocházelo k poškození nádob v ultrazvukových čističkách. Při těchto frekvencích nevzniká dostatečně silný kavitační efekt.

## Poděkování

Tato práce byla podpořena z projektu Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2020.

## Reference

- [1] IZADIFAR, Z., et al. *Mechanical and biological effects of ultrasound: A review of present knowledge*. *Ultrasound in Med. & Biol.*, 43 (6), 1085-1104, 2017. ISSN 0301-5629.
- [2] ASHOKKUMAR, M. *The characterization of acoustic cavitation bubbles – An overview*. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18, 864-872, 2011. ISSN 1350-4177.
- [3] KHMELEV, V.N., et al. *Ultrasonic Device for Foam Destruction*. In 2007 8th Siberian Russian Workshop and Tutorial on Electron Devices and Materials, pp. 252–254., 2007.
- [4] LEONELLI, C., MASON, T.J. *Microwave and ultrasonic processing: Now a realistic option for industry*. *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 49, 885–900., 2010.
- [5] HELLMAN, A.N., et al. *Biophysical response to pulsed laser microbeam-induced cell lysis and molecular delivery*. *J. Biophoton.* 1 (1), 24-35., 2008. ISSN 1864-0648.
- [6] PITT, W. G., & ROSS, S. A. (2003). *Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth*. *Biotechnology progress*, 19(3), 1038–1044. <https://doi.org/10.1021/bp0340685>
- [7] Joyce E, Al-Hashimi A, Mason TJ. *Assessing the effect of different ultrasonic frequencies on bacterial viability using flow cytometry*. *J Appl Microbiol.* 110(4): 862-870; 2011. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.04923.x