ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ

Nr 20 Inżynieria Sanitarna z.1 1960

J. PALUCH i K.M.KOWALSKA

PRÓBY NAD ZASTOSOWANIEM ULTRADŹWIĘKÓW DO ODKAŻANIA WODY

1. Wstęp

Wykorzystanie drgań ultradźwiękowych do odkażania lub wyjaławiania wody jest w Polsce problemem nowym. Jego rozwiązanie jednak może mieć praktyczne znaczenie specjalnie wtedy, gdy potrzebna jest woda mikrobiologicznie czysta, posiadająca nadal swoje pierwotne własności i cechy fizykochemiczne i nie wymagająca pod tym względem korekty lub uzdatnienia.

Technika wytwarzania ultradźwięków, ich cechy i własności, zalety i wady znane są z licznych prac (Bergman 1942, Ueber 1950, Bandrowski 1953, Krasilnikow 1954, Różycki 1954).

Drgania ultradźwiękowe - jak wiadomo - wywołują w cieczy wysokie ciśnienie, duże przyspieszenia cząstek w polu dźwiękowym, co wiąże się ze zjawiskiem kawitacji. Działanie ultradźwięków może się przejawiać w postaci efektów cieplnych lub utleniających. Fale te mają dużą zdolność dyspergowania zawiesin w cieczach, powodują wydzielanie gazów z cieczy oraz sklejanie się cząstek zawieszonych w środowisku gazowym. Wszystkie te zjawiska wpływają na procesy życiowe mikroogranizmów znajdujących się w polu ultradźwięków.

W 1929 r. Harvey i Loomis zaobserwowali, że ultradźwięki są w stanie powodować różnorakie uszkodzenia żywej komórki i tkanki. Od tego czasu fale te znajdują coraz większe zastosowanie w bakteriologii, immunologii i enzymatyce (Haevey i Loomis 1929, Beckwith i Weaver 1936, Stumpf, Green i Smith 1946, Doliwo-Dobrowolski i Kuźniecow 1943, Oster 1947, Kasahara 1953, Hradečna 1956, Rotman 1956, Stellter 1956, Thornley 1955).

O zmiennym uczuleniu na ultradźwięki różnych rodzajów i gatunków drobnoustrojów saprofitycznych i chorobotwórczych donosi szereg autorów. Podają oni dane o ujemnym

wpływie tych fal nawet na niektóre bakterie przetrwalnikujące oraz na komórki odporne na działanie innych czynników fizycznych jak np. laseczki gruźlicy (Elpiner 1950, 1952, 1955, 1958). Ultradźwięki zależnie od czasu ekspozycji mogą u niektórych drobnoustrojów (np. pleśniaki) stymulować lub hamować ich rozwój.

Działanie tych fal na drobnoustroje jest bardzo różnorodne i zależne od struktury i budowy błon komórkowych. Zniszczenie bowiem błony powoduje zupełną desintegrację komórek. Nie mniejsze znaczenie przypisuje się wielkości i formie mikroorganizmów. Stwierdzono jednak, że fale te nie niszczą wszystkich komórek drobnoustrojów. Najbardziej czułe na działanie ultradźwięków okazały się formy nitkowate, mniej czułe są pałeczki, najmniej zaś czułe formy kuliste, szczególnie formy staphylococcus i streptococcus. Jednak fizyczne własności komórek drobnoustrojowych nie mogą być ostatecznym kryterium warunkującym zachowanie się mikroorganizmów w stosunku do ultradźwięków. Jak podaje Ueber (1950) Warnecke przypuszcza, że wpływ ultradźwięków sprowadza się nie tylko do uszkodzenia komórek, ale powstają też zmiany czynnościowe bakterii.

Horton (Elpiner, 1950) uważa, że różnorodny wpływ nadźwiękowienia na bakterie jest spowodowany stopniem hydrofobności mikroorganizmu.

Jak widać więc, wpływ ultradźwięków na organizmy żywe był dotychczas dość szeroko badany. Występujące w organizmach zmiany - jak wynika z tych badań - są spowodowane między innymi wpływami mechanicznymi, chemicznymi, termicznymi oraz elektrycznymi i osmotycznymi.

Literatura omawiająca stosowanie drgań ultradźwiękowych w gospodarce wodnej i ściekowej nie jest zbyt obszerna. Nad tym zagadnieniem pracują m.in. Kulski (1954), Krasilnikow (1954), Falkowska (1956), Tałajewa (1956), Lyon (1951), Horton i Herwood (1951), Hausmann (1952), Grün i Steller (1954), Grün i Pathmann (1956).

Wiadomości o praktycznym wykorzystaniu fal ultradźwiękowych w gospodarce wodnej są jeszcze skąpe, chociaż opublikowano niektóre wstępne wyniki badań nad bakteriobójczym działaniem tych fal na pałeczki okrężnicy w wodzie. Np. Tałajewa (1956) wykazała, że bakteriobójcze działanie ultradźwięków na komórki pałeczki okrężnicy zależy między innymi od odległości od źródła drgań. Natomiast Falkowska (1956) stwierdziła, że ultradźwięki

o natężeniu pola 2 W/cm^2 i częstotliwości 46 kc/sek oraz przy mętności wody dochodzącej do 50 mg/l SiO_2 posiadają działanie bakteriobójcze lepsze niż dawka chloru w ilości 5 mg/l Cl. Równocześnie Kochanowski (1956) przeprowadził laboratoryjne próby zastosowania ultradźwięków do sterylizacji konserw mięsnych.

2. Badania własne

Dla dokładniejszego poznania działania ultradźwięków na komórki bakteryjne przeprowadzono w 1957 roku obserwacje zachowania się czystej kultury bakterii w polu działania tych drgań. Do tego celu posłużono się generatorem ultradźwiękowym znajdującym się w Instytucie Medycyny Pracy w Przemyśle Górniczym i Hutniczym w Zabrzu-Rokitnicy a uprzejmie użyczonym przez Dyrekcję Instytutu. Pozostałe badania bakteriologiczne przeprowadzono w laboratorium Katedry.

Dla badań tych wybrano pałeczkę okrężnicy typu jelitowego (Escherichia coli). Ponieważ chodziło o stwierdzenie przydatności fal ultradźwiękowych do odkażania wody, wydaje się, że kultura ta może dać zupełnie dobry pogląd na to zagadnienie w stosunku do środowiska wodnego.

Z dwudziestoczterogodzinnej, czystej kultury Esch. coli przygotowano cztery rozcieńczenia zawiesiny bakteryjnej w roztworze fizjologicznym soli. Rozcieńczenia te, w przybliżeniu odpowiadające ilości bakterii spotykanych w wodach powierzchniowych, zależnie od stopnia ich zanieczyszczenia, zawierały w 1 ml:

I ok.	15.000	komórek
II ok.	1.500	komórek
III ok.	150	komórek
IV ok.	15	komórek

Z każdego rozcieńczenia sporządzono zawiesiny w czterech powtórzeniach. Dwa z nich przeznaczone dla wysiewów kontrolnych, dwa następne poddawano działaniu generatora ultradźwiękowego.

Generator był wyposażony w trzy wibratory piezokwarcowe o częstościach drgań: 432 kc/sek, 650 kc/sek i 960 kc/sek. Średnie natężenie pola ultradźwiękowego emi-

towane przez wibrator piezokwarcowy wahało się w granicach 1 - 3 W/cm^2 i można było je jakościowo regulować.

Wibrator piezokwarcowy pionowo zawieszony, zanurzony był w akwarium szklanym o wymiarach 50 x 30 x 30 cm, zawierającym olej transformatorowy (rys.1).

Zawiesiny przeznaczone do nadźwiękowienia umieszczano w szklanych, okrągłych kiwetach o pojemności ok. 10 ml, średnicy nieco mniejszej od powierzchni drgającego kwarcu (rys.2). Dwie równoległe ściany kiwety, za poradą Pana Prof. Dr B.Matuły sporządzono z celuloidu o grubości 0,15 mm. Materiał ten, w porównaniu do innych powodował minimalne straty energii ultraakustycznej (Różycki 1954). Kiwety te zanurzono w oleju, w odległości 10 cm od wibratora piezokwarcowego, przy czym celuloidowe ścianki kiwety skierowywano zawsze prostopadle do drgającego kwarcu.

Jak wiadomo, efekt działania pola ultradźwiękowego generatora nastawionego na określoną częstość i promieniującego określone natężenie zależy między innymi od tego, czy pole działa na dany obiekt dopiero po osiągnięciu maksymalnego natężenia, czy też natychmiast po uruchomieniu generatora. W przedstawianych badaniach próby poddawano działaniu pola ultradźwiękowego zawsze po kilkuminutowym rozruchu, gdy pole osiągało maksymalne natężenie.

Poszczególne rozcieńczenia poddawano działaniu ultradźwięków w czasie od 2 do 128 sekund w postępie geometrycznym, przy podanych częstotliwościach drgań (432, 650 i 960 kc/sek). Nadźwiękowione próbki wysiewano na podłoże Endo wg metodyki Państwowego Zakładu Higieny. Tak samo postępowano z nienadźwiękowionymi próbkami kontrolnymi.

Po serii doświadczeń z czystą kulturą Esch. coli w roztworze fizjologicznym soli, dalsze doświadczenia wykonano z zawiesiną tej samej kultury lecz w niechlorowanej wodzie wodociągowej.

Opierając się na wynikach uzyskanych przy nadźwiękowianiu zawiesiny komórek E.coli w roztworze fizjologicznym soli ustalono, że zabicie bakterii występowało już po 16 sek. przy częstotliwości 432 kc/sek. Zastosowano więc tę częstotliwość dla nadźwiękowienia zawiesiny bakteryjnej w wodzie wodociągowej, dla pewności jednak przedłużając dwukrotnie (do 32 sekund) czas nadźwiękowienia.

Na podstawie tych doświadczeń przyjęto warunki do dalszej części pracy, która polegała na poddaniu działaniu ultradźwięków próbek różnych wód powierzchniowych, w celu ustalenia ewentualnych ilościowych zmian jakie mogą zachodzić pod wpływem ultradźwięków w naturalnej mikroflorze bakteryjnej wód powierzchniowych.

Próbki wód powierzchniowych pobrano z trzech różnych zbiorników:

ze zbiornika wodnego w Kozłowej Górze powstałego przez przegrodzenie tamą doliny rzeki Brynicy, i wykorzystywanego dla celów wodociągowych;

z betonowego, przeciwpożarowego zbiornika wodnego znajdującego się w Gliwicach na jednym z placów;

ze zbiornika wód deszczowych i zaskórnych gromadzących się w dole pocegielnianym w pobliżu kopalni "Sośnica" w Gliwicach.

Wszystkie próbki wody pobrano w maju, w południe, z głębokości 0,5 m.
Wody te zbadano, wykonując częściową analizę chemiczną (Just i Hermanowicz, 1955) oraz analizę bakteriologiczną wg norm obowiązujących w PZH (tabl.VIII).

Z każdego zbiornika wód powierzchniowych pobrano próbki do czterech kiwet, z których dwie przeznaczone były do wysiewów kontrolnych a dwie do nadźwiękowienia. Wody powierzchniowe nadźwiękowiano w ten sam sposób jak zawiesiny E.coli. Częstotliwości zastosowanych drgań była taka sama jak przy poprzednich próbach, natomiast czas nadźwiękowiania był dłuższy, i wynosił od 2 do 256 sek, zmieniając się także w postępie geometrycznym.

Próbki kontrolne i nadźwiękowione posiewano na mięsnopeptonowy bulion z żelatyną i taki sam bulion z agarem. Ilość kolonii wyrosłych z 1 ml próbki liczono w pierwszym wypadku po 48 godz. inkubacji w temperaturze $20^{o} \pm 1^{o}$, w drugim wypadku po 24 godz. w temperaturze $37^{o} \pm 1^{o}$. Wykonano także posiewy na podłoże Endo. Oprócz tych hodowli, w celu stwierdzenia ewentualnych ilości drożdży i pleśniaków w wodzie, zastosowano pożywkę składającą się z brzeczki słodowej z dodatkiem 1,5% agaru.

Podany różny czas nadźwiękowienia zastosowano z myślą o ewentualnym praktycznym wykorzystaniu ultradźwięków do odkażania wody. Chodziło także o ustalenie, czy działanie zespołu szeregowo ustawionych promienników ultradźwiękowych, przy szybkości przepływu wody odpowiadającej jednemu z wyżej podanych czasów pozwoli na odkażenie wody przepływającej obok tych promienników.

Podczas nadźwiękowienia trwającego 2 do 128 sekund temperatura oleju, w którym znajdował się piezokwarc, była stała i wynosiła 16°. Przy nadźwiękowianiu przez ok. 4 minuty (256 sek) podnosiła się ona do 26°. Nie stosowano jednak chłodzenia oleju, gdyż temperatura ta w zasadzie nie działa ujemnie na organizmy mezofilne, które w większości występują w wodach powierzchniowych a nawet może być dla nich temperaturą optymalną.

3. Omówienie wyników

Otrzymane wyniki doświadczeń zestawiono w tablicach I - VIII.

Jak widać z tabl.I w pierwszej serii doświadczeń nad nadźwiękowieniem czystych kultur Esch. coli w roztworze fizjologicznym soli, po 2 sekundowym działaniu fal ultraakustycznych częstości 432 kc/sek, ilość bakterii nie zmniejszyła się, lecz odwrotnie, nastąpił jej rozwój we wszystkich rozcieńczeniach. Zwiększenie się ilości bakterii dochodziło do 572 % w stosunku do ilości bakterii w próbie kontrolnej (rozcieńczenie II).

Dłuższy czas działania ultradźwięków wywołał już efekt bakteriobójczy. Po 4 sekundach działania ultradzwięków początkowa liczba bakterii spada od 8 do 62 %, zależnie od stopnia rozcieńczenia kultury. Po 8 sek. działania ultradźwięków stwierdzono niewielki ułamek żywych bakterii jedynie w rozcieńczeniu III i IV tj. w próbkach zawierających ok. 1500 i 15000 bakterii w 1 ml soli fizjologicznej. Po nadźwiękowieniu trwającym 16 sekund w próbie nie pozostawała ani jedna żywa komórka, gdyż na pożywce nie było wzrostu.

Po nadźwiękowieniu kultur drganiami o częstotliwości 650 kc/sek i 960 kc/sek nie wystąpiło już zjawisko stymulacji rozwoju bakterii po 2 sek działaniu. Natomiast pełny efekt bakteriobójczy występował po czasie dwu i trzykrotnie dłuższym niż w poprzednich próbach tj. po 32 sek (tabl.II) i po 64 sek. (tabl.III), zależnie od liczby bakterii w zawiesinie. Przy tym obserwuje się, że w miarę zwiększania się częstotliwości ultradźwięków czas potrzebny do zabicia bakterii przedłuża się. Także czas ten przedłuża się znacznie przy większej zawartości bakterii w zawiesinie, co jest zjawiskiem ogólnie znanym w mikrobiologii.

Zjawisko różnego działania poszczególnych częstotliwości ultradźwięków możnaby wytłumaczyć selektywnym wpływem tych drgań. Elpiner (1950, 1955) podaje, że dla zniszczenia komórki lub całego zespołu mikroorganizmów potrzebna jest ściśle określona intensywność ultradźwięków, powyżej lub poniżej której nie obserwuje się efektu bakteriobójczego, co znajduje także potwierdzenie w przestawionych wynikach. Przyczyna jednak takiego działania nie jest jeszcze wyjaśniona.

Ciekawym wydaje się wspomniane stymulacyjne działanie ultradźwięków o częstotliwości 432 kc/sek na szybkość mnożenia się komórek E.coli. Zaznaczyć należy, że wynik ten uzyskano stosując kilka różnych dodatkowych rozcieńczeń w szeregu dodatkowych powtórzeń.

Podobnego wyniku w dostępnej literaturze nie spotkano. Ale nie spotkano także prac, w których próby nad bakteriobójczym działaniem ultradźwięków przeprowadzono przy tak niskim natężeniu pola ultradźwiękowego.

Zjawisko stymulowania szybkości rozwoju bakterii, a więc tym samym jakby bodźczego działania ultradźwięków, możnaby zatem przypisać niskiemu natężeniu pola. Wniosek taki może mieć swoje uzasadnienie, gdyż w literaturze spotyka się analogiczne obserwacje odnoszące się do wpływu ultradźwięków na tkankę nowotworową (Fiszer 1954, Różycki 1954). Fale ultradźwiękowe, jak stwierdzono, działają na tkankę nowotoworową dwojako - destrukcyjnie i bodźczo. Według tych autorów można się spodziewać możliwości także szybkiego rozrostu tkanki nowotoworowej. Możliwość takiego stymulacyjnego działania na bakterie wydają się potwierdzać również zmiany fizjopatologiczne wywołane wpływem ultradźwięków na organizm ludzki. Stwierdzono bowiem, że pod wpływem ultradźwięków mogą zachodzić zmiany w składzie krwi, polegające na znacznym zwiększeniu liczby leukocytów.

W odniesieniu do bakterii ustalenie kinetyki bodźczego działania ultradźwięków wymaga jeszcze przeprowadzenia dalszych doświadczeń.

Zagadnienie wpływu czasu na efekt bakteriobójczy ultradźwięków zostało obszernie przebadane i opisane (Williams 1930, Bergmann 1942, Ueber 1950, Elpiner 1950, 1955, Falkowska 1956). Według tych autorów główna masa bakterii ginie już po pierwszych 4 - 8 sekundach, a dalsze przedłużenie czasu działania ultradźwięków, nawet do 10 minut, daje słabe zwiększenie efektu bakteriobójczego.

Nasze obserwacje potwierdzają te wyniki. Mianowicie po 4 sekundach w zawiesinie zawierającej około 15000 bakterii w 1 ml pozostało, przy częstotliwości 432 kc/sek, tylko około 60 % żywych bakterii, a całkowite ich zabicie następowało już po 16 sekundach (tabl.I). Podobnie też obserwuje się to przy wyższych częstotliwościach.

Jak widać z wyników nadźwiękowienia czystej kultury Esch. coli w wodzie wodociągowej przy częstotliwościach drgań 432 kc/sek (tabl.IV), pełny efekt bakteriobójczy występuje po 4 sekundach przy pierwotnej ilości około 15 bakt/ml wody, zaś po 8 sek. przy obecności około 150 i 1500 bakt/ml wody, wreszcie po 16 sek przy obecności ok. 15000 bakt/ml wody. Można więc przyjąć, że w wodach powierzchniowych, zawierających przeciętnie w okresie letnim w 1 ml około 1000 bakterii dających wzrost na mięsno-peptonowym agarze (Paluch i wspr. 1956, 1956 a, 1957), czas potrzebny do zabicia bakterii przy pomocy ultradźwięków o częstotliwości 432 kc/sek i średnim natężeniu pola 1 - 3 W/cm^2 powinien wynosić najmniej 16 sekund.

Dlatego też dla nadźwiękowienia próbek naturalnych wód powierzchniowych, jako najkrótszy czas działania ultradźwięków przyjęto 32 sek. Czas taki zastosowano dla otrzymania zupełnie pewnego wyniku bakteriobójczego działania drgań o wysokiej częstotliwości, nie tylko w stosunku do Esch.coli, ale także innych bakterii znajdujących się w tych wodach. Zastosowana częstotliwość drgań wynosiła 432 kc/sek, średnie natężenie pola, jak poprzednio, leżało w granicach 1 - 3 W/cm^2.

Próbka wody ze zbiornika wodnego w Kozłowej Górze wykazała, jak widać z tablicy VI, że ilość bakterii w 1 ml wody na bulionie z żelatyną obniżyła się po nadźwiękowieniu trwającym 32 sekundy z 86 bakterii przed nadźwiękowieniem do 44, tj. o 46%. Na bulionie z agarem otrzymano spadek liczby żywych bakterii o 31%, zaś na brzeczce agarowej o 57 %. Próba na podłożu Endo nie wykazała wzrostu pałeczki okrężnicy po nadźwiękowieniu. Dłuższe działanie ultradźwięków wykazało dalszy spadek liczby pozostających żywych drobnoustrojów, lecz spadek znacznie wolniejszy. Mianowicie na bulionie z żelatyną po 64 sek. pozostało żywych tylko 44%, po 128 sek. - 41%, zaś po 256 sek. - 30% pierwotnej liczby bakterii. Na bulionie z agarem stopień zabicia bakterii był większy, po 64 sek. pozostało żywych 52 %, po 128 sek - 30%, zaś po

256 sek. tylko 4%. Podobne wyniki otrzymano na brzeczce agarowej. Na podłożu Endo nie było wzrostu bakterii, choć próbka kontrolna wykazała obecność 2 bakt. Esch.coli w 1 ml wody.

Efekty nadźwiękowienia próbki wody z przeciwpożarowego zbiornika wodnego (tabl.V) przedstawiają się następująco: liczba bakterii na bulionie z żelatyną obniżyła się z 44 w 1 ml wody przed nadźwiękowieniem do 37 bakterii po 32 sekundach nadźwiękowienia tj. o 19%, zaś po 64 i 128 sek. nadźwiękowienia o 38% a po 256 sek. o 50%. Na bulionie z agarem ze 130 bakterii w 1 ml wody po 32 sek. działaniu fal ultradźwiękowych wyrosło 114 kolonii (88%), po 64 sekundach - 94 kolonie (73%), po 128 sek. - 73 kolonie (56%) i po 256 sekundach - 68 kolonii (53%) a więc spadek liczby bakterii zależnie od czasu nadźwiękowienia wynosił kolejno 12, 27, 44 i 47 %.

Na brzeczce słodowej z agarem z 152 bakterii (próba kontrolna) po 32 sekundach zostało zabitych 57%, po 64 sek. - 61%, po 128 sek. 71%. i po 256 sek. - 75%.

Na podłożu Endo w ogóle nie otrzymano wzrostu bakterii po nadźwiękowieniu, choć próbka kontrolna wykazała obecność 20 pałeczek okrężnicy w 1 ml wody.

W próbce wody pobranej ze zbiornika wód deszczowych i zaskórnych po nadźwiękowianiu przez 32 sek. z 76 bakterii w 1 ml wody na żelatynie (próbka kontrolna) pozostało 64 bakterii (83%), po 64 sek. - 60 bakterii (79%), po 128 sekundach - 41 bakterii (53%) i po 256 sek. - 33 bakterii (32%) a więc spadek liczby żywych bakterii wynosił odpowiednio 17, 21, 47 i 68 %.

Na bulionie z agarem po nadźwiękowieniu wody przez 32 sek. z 201 bakterii w 1 ml wody pozostało 46%, po 64 sek. - 34%, po 128 sek. - 24% i po 256 sek - 17% bakterii.

Na brzeczce słodowej po nadźwiękowieniu przez 32 sek. z 236 bakterii w 1 ml w próbce kontrolnej, liczba drobnoustrojów zmniejszyła się o 17%, po 64 sek. o 36%, po 128 sek. o 56% a po 256 sek. o 67%.

Na podłożu Endo po nadźwiękowieniu nie otrzymano w ogóle wzrostu bakterii, choć próbka kontrolna wykazała 9 bakterii Esch. coli w 1 ml wody.

Wyniki nadźwiękowienia próbek wód powierzchniowych potwierdzają przypuszczenie, że bakteriobójczy efekt ultradźwięków w stosunku do Esch. coli występuje w pełni po 32 sekundowym nadźwiękowianiu przy częstotliwości

432 kc/sek i średnim natężeniu wahającym się w granicach 1 - 3 W/cm^2. Równocześnie z pałeczkami okrężnicy ginie do 50% innych drobnoustrojów stanowiących normalną mikroflorę wody powierzchniowej. Przy dalszym nadźwiękowianiu, dochodzącym do 256 sekund, efekt ten zwiększa się dochodząc do około 80%. Bardzo długie działanie fal ultradźwiękowych (kilkunastominutowe) prawdopodobnie doprowadziłoby do sterylizacji wody; nie miałoby to jednak znaczenia w praktycznym zastosowaniu ultradźwięków ze względu na dynamikę wody, która będąc w swoim ruchu (np. przy doprowadzeniach do sieci wodociągowej) uniemożliwia tak długie nadźwiękowianie jednego punktu. Teoretycznie oczywiście takie przeprowadzenie sterylizacji w razie potrzeby wydaje się możliwe.

Można by wobec tego z dobrym efektem stosować do odkażania wód powierzchniowych piezokwarcowy generator ultradźwiękowy. W tym jednak przypadku należy przeanalizować koszty urządzeń i ich eksploatacji. W Polsce, ze względu na obecny deficyt energetyczny, koszty te z pewnością będą zbyt wysokie. Jednakże w przypadku, gdy nie można zastosować z jakichś przyczyn innych metod odkażania wody, zastosowanie ultradźwięków można w praktyce realizować bezpiecznie. W przyszłości przy ewentualnym zastosowaniu energii jądrowej dla otrzymania ultradźwięków, mogą stać się one jednym z powszechnie stosowanych środków odkażania wody, zapewniających utrzymanie bez zmian cech i właściwości wody surowej.

4. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań nasuwają się następujące wnioski.

Ustalenie częstotliwości, natężenia pola oraz czasu działania ultradźwięków jest sprawą wyjątkowo ważną dla wyniku ich działania bakteriobójczego.

Wydaje się, że jest to możliwe zastosowanie do odkażania wód powierzchniowych piezokwarcowego generatora ultradźwiękowego o częstotliwości drgań 432 kc/sek i średnim natężeniu pola 1 - 3 W/cm^2. Minimalny czas potrzebny do uzyskaniu efektu bakteriobójczego w stosunku do Esch.coli wynosi 32 sekundy. Ponieważ bakteria ta jest bardziej odporna na czynniki niekorzystne niż większość bakterii chorobotwórczych, prawdopodobnie więc te ostatnie zginą jeszcze wcześniej.

Jednocześnie po takim nadźwiękowieniu ginie w wodzie powierzchniowej około 50% bakterii dających wzrost na bulionie z agarem i żelatyną.

Autorzy dziękują Panu Prof. Dr B.Nowakowskiemu Dyrektorowi Instytutu Medycyny Pracy w Przemyśle Górniczym i Hutniczym w Zabrzu-Rokitnicy, za umożliwienie korzystania z generatora ultradźwiękowego. Panu Prof. Dr B.Matule autorzy dziękują za wiele cennych rad i wskazówek udzielonych w czasie wykonywania pracy i opracowywania wyników odnoszących się do strony fizykalnej zagadnienia.

5. LITERATURA

1. BANDROWSKI J. - 1953. Ultradźwięki i ich zastosowanie w chemii i technologii chemicznej. Wiad. chem. 11.
2. BECKWITH T.D. and Weaver C.E. - 1936. Some energy as a lethal agent for yeast and bacteria. J. Bact. 32, 361.
3. BERGMANN L. - 1942. Ultraschall und seine Anwendung in Wissenschaft und Technik. Berlin. Verl. J.Springer.
4. DOLIWO-DOBROWOLSKI C.D. I KUŹNIECOW C.J. - 1943. Baktericidnyje diejstwie ultrazwukowych kolebanji w wodie. Gig. i Sanit. 7, 1.
5. ELPINER J.E. - 1950. Nowoje w uczenji o biołogiczeskom diejstwii ultrazwukowych wołn. Usp.Sowr.Bioł. 1.
6. ELPINER J.E. - 1952. Ultrazwukowyje wołny w mikrobiologii. Mikrobiołogia, XXI, 2, 228.
7. ELPINER J.E. - 1955. O miechanizmie diejstwia ultrazwukowych wołn na mikroorganizmy. Mikrobiologia, XXIV, 3, 371.
8. ELPINER J.E., G.A.DWORKIN 1958. Wlijanije ultrazwukowych wołn na elektrokineticzeskij potencjał kletok. Biofizika, 6, 641.
9. FALKOWSKA L.N. - 1956. Obezzarażiwanije pitiewoj wody ultrazwukowymi kolebaniami. Gig. i Sanit. 1, 76.
10. FISZER B. - 1953. Energia ultradźwiękowa w leczeniu. Materiały z konferencji ultradźwiękowej. W-wa, PWT.

11. GRÜN L., J.STELLER, 1954. Zur Keimabtötung durch Ultraschall. Funk und Ton 8, 6, 333.

12. GRÜN L., F.J. POTHMANN, R.SCHOPNER, J.STELLER, 1956. Ueber die bactericide Wirkung der Kombination von Ultraschall und chemischen Desinfektionsmitteln. Z.Hyg. 5, 289.

13. HARVEY E.N. and LOOMIS A.L. - 1929. The destruction of luminous Bacteria by high frequency sound waves. J.Bact. 17, 373.

14. HORTON J.P., M.P.: HERWOOD 1951. The realtionship of acoustical energy to the lethal effects of ultrasonic vibrations on E.coli. Science 113, 693.

15. HRADEČNA Z. 1956. Lysa bakterii Esch. coli vyvolana filtratem ozvucenych bakterii. Ceskoslov. biol. 4, 241.

16. JUST J., HERMANOWICZ W. - 1955. Fizyczne i chemiczne badanie wody do picia i potrzeb gospodarczych. Warszawa, PZWL.

17. KASAHARA M. - 1953. Effect of ultrasonic wave irradiated water of virus. Ch.Abstr. 47, 9653.

18. KOCHANOWSKI J. - 1956. Próby zastosowania ultradźwięków do sterylizacji mięsa w opakowaniu hermetycznym. Referat wygłoszony na Sesji Naukowej Politechniki Gdańskiej w czerwcu 1956.

19. KRASILNIKOW J. - 1954. Zwukowyje wołny. Moskwa.

20. KULSKI I. - 1954. Chimia i technołogia obrabotki wody. Moskwa.

21. PALUCH J. i wspr.- 1956. Stan bakteriologiczny wody zbiornika wodnego w Kozłowej Górze. Biul. Zakł.Biol. Stawów. PAN 3, 85.

22. PALUCH J. i wspr. - 1956a. Próby określenia dynamiki przemiany materii w wodzie powierzchniowego zbiornika wodnego w Kozłowej Górze. Cz.II. Acta Microbiol. Polonica 5, 49.

23. PALUCH J. i wspr. - 1957. Stan bakteriologiczny wód górnego biegu Wisły i jej dopływów oraz terenu zalewu w Goczałkowicach. Acta Microbiol. Polonica 6, 29.

24. PALUCH J. - 1959. Możliwość stosowania ultradźwięków w gospodarce wodnej i ściekowej. Materiały III. Semin. Akustyki w Olsztynie, w lipcu 1956 r. Poznań.

25. ROTMAN B. - 1956. On the mechanism of sonic lysis of bacteria. J.Bacteriol. 72, 6, 827.

26. ŁAWRYNOWICZ A. - 1948 . Pałeczki okrężnicy. Mikrobiologia lekarska, praca zbiorowa, Warszawa, PZWL.

27. RÓŻYCKI M. - 1954. Ultradźwięki. Warszawa, PWT.

28. RŻEWKIN C.N. - 1956. Ultrazwukowyje wołny i ich biołogiczeskoje wozdiejstwie. Wg Elpinera, 1952

29. STELLTER J., R.SCHOPNER, L.GRÜN. 1956. Weitere Untersuchungen ueber Ultraschallwirkungen. Z.Hyg. u.Infektionskr. 143, 1, 81.

30. TAŁAJEWA G. I LEBIEDIEWA J. - 1956. Opyt izuczenija i wlijanija ultrazwukowych wołn na kiszecznoju pałoczku. Gig.i Sanit. 9, 68.

31. THORNLEY M. - 1955. The influence of ultrasonic waves on biological materials. Techn. Rept. Electr. Res. Assoc. NW/T. 32, 37.

32. UEBER G. - 1950. Biophysical Research Methods. New York, Reinhold Publish. Corporation.

33. WILLIAMS O.B., GAINES W. - 1930. J.Infectious Diseases 47, 485.

34. WOEBER H.F. - 1949. Die ultraschalltherapie. Strahlentherapie, Bd.79, 4, 36.

35. Ujednostajnione metody bakteriologicznego badania wody. - 1934. P.Z.H. Warszawa.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Feststellung der bakterientötenden Wirkung der Ultraschallwellen an im Wasser sich befindenden Keimen, haben wir 280 Proben der Anschallung von Esch. coli als Suspension in physiologischer Salzlösung, ferner im Wasserleitungs- und Oberflächenwasser ausgeführt.

Die Anschallung der untersuchten Proben haben wir mit Hilfe eines Ultraschallgenerators, der mit Piezoquarzwibratoren von einer Frequenz 432, 650 und 960 Kz/Sek. ausgestattet ist, ausgeführt. Die durch die Vibratoren ausgelöste Ultraschallemission war veränderlich von 1 bis 3 W/cm^2.

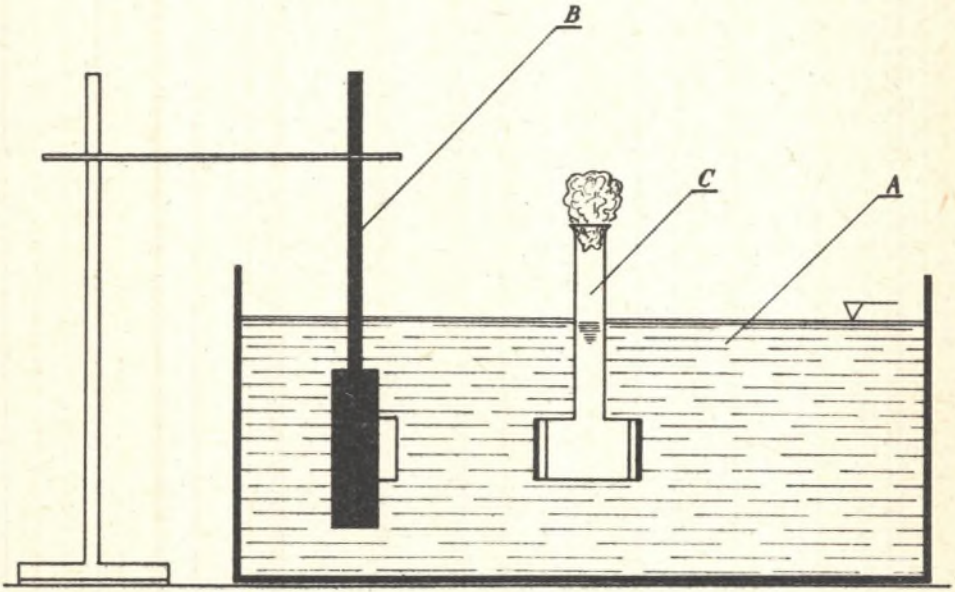
Die Esch. coli Kulturen wurden in physiologischer Salzlösung in Verdünnungen enthaktenden 15, 150, 1500, 15000 Keime/1 ml, während eines Zeitraumes von 2 bis 256 Sekunden (in geometrischer Progression) angeschallt. Jede angeschallte Probe besas eine entsprechende unangeschallte Kontrolprobe.

Der beste bakterienvernichtende Effekt für Esch.coli Suspension in physiologischer Salzlösung bei einer Ultraschallwirkung von einer Frequenz 432 Kz/sek. im Laufe von 16 Sekunden eintritt. Bei höheren Frequenzen erfolgte der bakterienvernichtende Effekt erst nach langerem Anschallen.

Zwecks Feststellung der bakterienvernichtenden Wirkung der Ultraschallwellen an die Mikroflora von Oberflächenwasser haben wir einige Proben angeschalt. Diese Proben haben wir mit demselbem Generator von einer Frequenz 432/Kz/Sek. in der Zeit von 32 bis 256 Sekunden angeschallt.

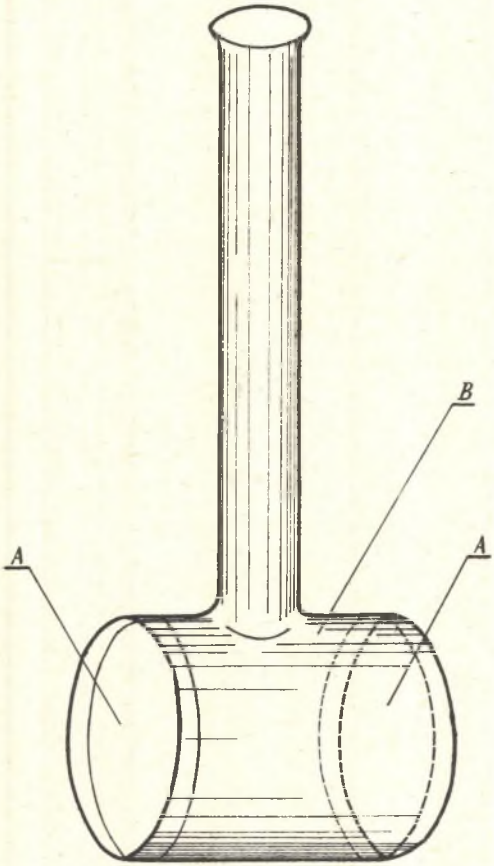
Auf Grund der erhaltenen Resultate kann man feststellen, dass die Wirkung der Ultraschallwellen in den gegebenen Bedingungen am deutlichsten an den im Wasser sich befindenden Keime Esch. coli sich zeigt, die schon nach 32 Sek. Anschallung vernichtet sind. Andere Keime in Oberflächenwasser gingen unter diesen Bedingungen in einer Anzahl von fast 50% zugrunde.

Aus den eben angeführten Versuchen ergibt sich die Folgerund, dass die Ultraschallwellen bei einer Frequenz von 432 Kz/Sek., einem Wirkungsfeld von 1 - 3 W/cm^2 und einer Wirkungsdauer von mindestens 32 Sekunden sich zur Desinfektion von Oberflächenwasser eignen.



Rys. 1. Urządzenie do nadźwiękowiania badanej wody

A - akwarium szklane z olejem transformatorowym, B - wibrator piezokwarcowy, C - kiweta z zawiesiną drobnoustrojów lub badaną wodą



Rys. 2. Kiweta do nadźwiękowań
A - błona celuloidowa, B - szkło

Tabl. I

Wpływ ultradźwięków o częstotliwości 432 kc/sek i natężeniu pola 0,5 - 3 W/cm² na czystą kulturę Escherichia coli

Ilość bakterii na na 1 ml roztworu fizjologicznego soli

Czas nadźwiękowienia w sekundach	Rozcieńczenie I				Rozcieńczenie II				Rozcieńczenie III				Rozcieńczenie IV			
	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%
	I	II			I	II			I	II			I	II		
	Ilość bakterii przed nadźwiękowieniem*)															
	21	16	18	100	138	129	133	100	1452	1492	1472	100	14760	15200	14980	100
	Ilość bakterii po nadźwiękowieniu															
2	69	54	61	345	790	740	765	572,5	5400	5740	5570	360	22050	20900	21875	173
4	1	2	2	7,8	36	40	38	33	720	670	695	47	9800	8700	9150	62
8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0,53	20	18	19	0,135
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
128	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) próby kontrolne

Tabl. II

Wpływ ultradźwięków o częstotliwości 650 kc/sek i natężeniu pola 0,5 - 3 W/cm² na czystą kulturę Escherichia coli

Ilość bakterii na 1 ml roztworu fizjologicznego soli

Czas nadźwiękowienia w sekundach	Rozcieńczenie I				Rozcieńczenie II				Rozcieńczenie III				Rozcieńczenie IV			
	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%
	I	II			I	II			I	II			I	II		
	Ilość bakterii przed nadźwiękowieniem*)															
	17	14	16	100	164	151	158	100	1390	1460	1425	100	14580	14320	14450	100
	Ilość bakterii po nadźwiękowieniu															
2	7	5	6	37,5	72	69	70	45	450	500	475	33	3200	3800	3140	21
4	5	3	4	25	10	14	12	7,1	115	98	106	7,4	2700	2500	2600	17
8	0	0	0	0	2	1	1,5	0,9	49	56	43	3	1300	1250	1275	7
16	0	0	0	0	0	0	0	0	16	20	18	0,3	750	620	685	4,7
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	182	156	169	1,2

*) próby kontrolne

Tabl. III

Wpływ ultradźwięków o częstotliwości 950 kc/sek i natężeniu pola 0,5 - 3 W/cm² na czystą kulturę Escherichia coli

Ilość bakterii na 1 ml roztworu fizjologicznego soli

Czas nadźwiękowienia w sekundach	Rozcieńczenie I				Rozcieńczenie II				Rozcieńczenie III				Rozcieńczenie IV			
	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%
	I	II			I	II			I	II			I	II		
	Ilość bakterii przed nadźwiękowieniem*)															
	18	13	15,5	100	132	145	138,5	100	1480	1520	1500	100	157100	15150	15125	100
	Ilość bakterii po nadźwiękowieniu															
2	10	9	9,5	61	98	102	100	72	929	970	949	63	12100	12450	12275	81
4	4	5	4,5	28	43	50	46,5	31	320	400	360	24	8200	8320	8260	48
16	1	0	0,5	3	7	3	5	3,6	18	21	19,5	1,3	31	40	35,5	0,2
32	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1,5	0,1	5	3	4	0,02

*) próby kontrolne

Tabl. IV

Wpływ ultradźwięków o częstotliwości 432 kc/sek i natężeniu pola 0,5 - 3 W/cm² na zawiesinę Eschericha coli w wodzie wodociągowej

Ilość bakterii na pożywce Endo na 1 ml wody wodociągowej

Czas nadźwiękowienia w sekundach	Rozcieńczenie I				Rozcieńczenie II				Rozcieńczenie III				Rozcieńczenie IV			
	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%
	I	II			I	II			I	II			I	II		
	Ilość bakterii przed nadźwiękowieniem*)															
	14	17	15	100	144	156	150	100	1486	1452	1469	100	15240	15480	15360	100
	Ilość bakterii po nadźwiękowieniu															
2	2	1	1,5	10	56	44	50	33	540	630	585	39	680	755	717	48
4	0	0	0	0	1	0	1	0,33	4	0	2	0,1	19	17	18	0,1
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0,025	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
128	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) próby kontrolne

Wpływ ultradźwięków o częstotliwości 432 kc/sek i natężeniu pola 0,5-3 W/cm² na mikroflorę bakteryjną wody zbiornika przeciwpożarowego
Kolonie liczone na bulionie z żelatyną, bulionie z agarem, brzeczce z agarem, pożywce Endo

Czas nadźwiękowienia w sekundach	Bulion z żelatyną				Bulion z agarem				Brzeczka z agarem				Pożywka wg Endo			
	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%
		II			I	II			I	II			I	II		
	Ilość bakterii przed nadźwiękowieniem *)															
	47	42	44	100	136	125	130	100	148	156	152	100	20	20	20	100
	Ilość bakterii po nadźwiękowieniu															
32	40	34	37	83	112	117	114	88	64	68	66	43	0	0	0	0
64	32	25	28	62	96	92	94	73	58	63	60	39	0	0	0	0
128	30	27	28	62	79	72	73	56	48	41	44	29	0	0	0	0
256	24	20	22	50	71	66	68	53	35	42	38	25	0	0	0	0

*) próby kontrolne

Wpływ ultradźwięków o częstotliwości 432 kc/sek i natężeniu pola 0,5-3 W/cm² na mikroflorę bakteryjną wody zbiornika w Kozłowej Górze
Kolonie liczone na bulionie z żelatyną, bulionie z agarem, brzeczce z agarem, pożywce Endo

Czas nadźwiękowienia w sekundach	Bulion z żelatyną				Bulion z agarem				Brzeczka z agarem				Pożywka wg Endo			
	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%
	I	II			I	II			I	II			I	II		
	Ilość bakterii przed nadźwiękowieniem *)															
	82	91	86	100	56	53	54,4	100	66	62	64	100	2	1	2	100
	Ilość bakterii po nadźwiękowieniu															
32	49	44	46,5	54	42	34	38	69	30	24	27	43	0	0	0	0
64	41	36	38,5	44	30	28	29	52	22	16	19	28	0	0	0	0
128	33	38	35,5	41	15	19	17	30	12	15	13,5	21	0	0	0	0
256	24	28	26	30	6	10	8	14	5	12	8,5	13	0	0	0	0

*) próby kontrolne

Wpływ ultradźwięków o częstotliwości 432 kc/sek i natężeniu pola 0,5 - 3 W/cm² na mikroflorę bakteryjną wody w dole pocegielnianym
Kolonie liczone na bulionie z żelatyną, bulionie z agarem, brzeczce z agarem, pożywce Endo

Czas nadźwiękowienia w sekundach	Bulion z żelatyną				Bulion z agarem				Brzeczka z agarem				Pożywka wg Endo			
	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%	Powtórzenie		średnia	%
	I	II			I	II			I	II			I	II		
	Ilość bakterii przed nadźwiękowieniem *)															
	72	80	76	100	196	205	201	100	240	232	236	100	8	10	9	100
	Ilość bakterii po nadźwiękowieniu															
32	71	58	64	84	101	86	93	46	156	193	194	83	0	0	0	0
64	63	57	60	79	76	64	70	34	157	147	152	64	0	0	0	0
128	42	40	41	53	52	47	49	24	120	112	116	44	0	0	0	0
256	27	21	24	31	40	32	36	17	82	74	78	33	0	0	0	0

*) próby kontrolne

Wyniki analiz chemicznych i bakteriologicznych wód powierzchniowych

Lp.	Oznaczenia	Jednostki	Woda z Kozłowej Góry	Woda ze zbiornika przeciwpoż.	Woda z dołu pocegielnianego
1	Odczyn	pH	7,1	7,2	8,2
2	Twardość ogólna	Sn°	4,76	28	16
3	Zasadowość	mg/l $CaCO_3$	0	245	150
4	Żelazo ogólne	mg/l Fe	0,1	0,9	0
5	Amoniak	mg/l N_{NH_4}	0,08	0,06	0
6	Azotyny	mg/l N_{NO_2}	0,07	0,04	0,006
7	Azotany	mg/l N_{NO_3}	0,07	0,1	0,05
8	Utlenialność	mg/l O_2	4,6	1,4	7,2
9	Ilość bakterii na bulionie z żelatyną	—	86	45	76
10	Ilość bakterii na bulionie z agarem	—	55	130	201
11	Ilość bakterii na brzeczce z agarem	—	64	152	236
12	Ilość bakterii na pożywce wg Endo	—	2	20	9