

МОЩНАЯ УЛЬТРАЗВУКОВАЯ УСТАНОВКА ДЛЯ ОЗВУЧИВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

И. В. Скардс

Описывается мощная ультразвуковая установка для облучения биологических препаратов в ампулах и специальные меры, принятые в электрических и акустических частях установки для обеспечения постоянства интенсивности ультразвука в облучаемом образце.

В настоящее время ультразвуковое облучение все шире и шире используется в самых разнообразных областях науки и техники. Большие перспективы имеет использование ультразвука в биологии и в особенности в микробиологии. В исследованиях, проведенных за последние годы, накопился значительный материал, свидетельствующий о возможности применения ультразвука в некоторых областях промышленности для стерилизации, для экстрагирования находящихся в клетках биологически активных веществ, из которых многие могут быть использованы в производстве витаминов, вакцинных препаратов, ферментов и т. п. Отмечено также, что в определенных условиях озвучивания удастся добиться направленного изменения некоторых свойств микроорганизмов, имеющих значение в технической микробиологии. В связи с этим возникает необходимость создания такой ультразвуковой аппаратуры, которая обеспечивала бы возможность изучения механизма воздействия ультразвука с учетом всего многообразия этого воздействия.

Нельзя не отметить, что используемые в настоящее время конструкции ультразвуковой аппаратуры имеют существенные недостатки, мешающие получению однородных и повторяющихся результатов и ограничивающие возможности использования этой аппаратуры в микробиологии и в других областях науки и техники. Имея в виду устранить некоторые из этих недостатков, мы считали необходимым сконструировать ультразвуковую аппаратуру, которая отвечала бы следующим основным требованиям:

1) установка должна быть снабжена охладительной системой с приспособлением для поддержания определенной температуры озвучиваемого объекта;

2) установка должна быть сконструирована так, чтобы интенсивность ультразвука, воздействующего на озвучиваемый объект, была стабильной;

3) необходимо специальное приспособление для контроля возникающей в озвучиваемом субстрате кавитации.

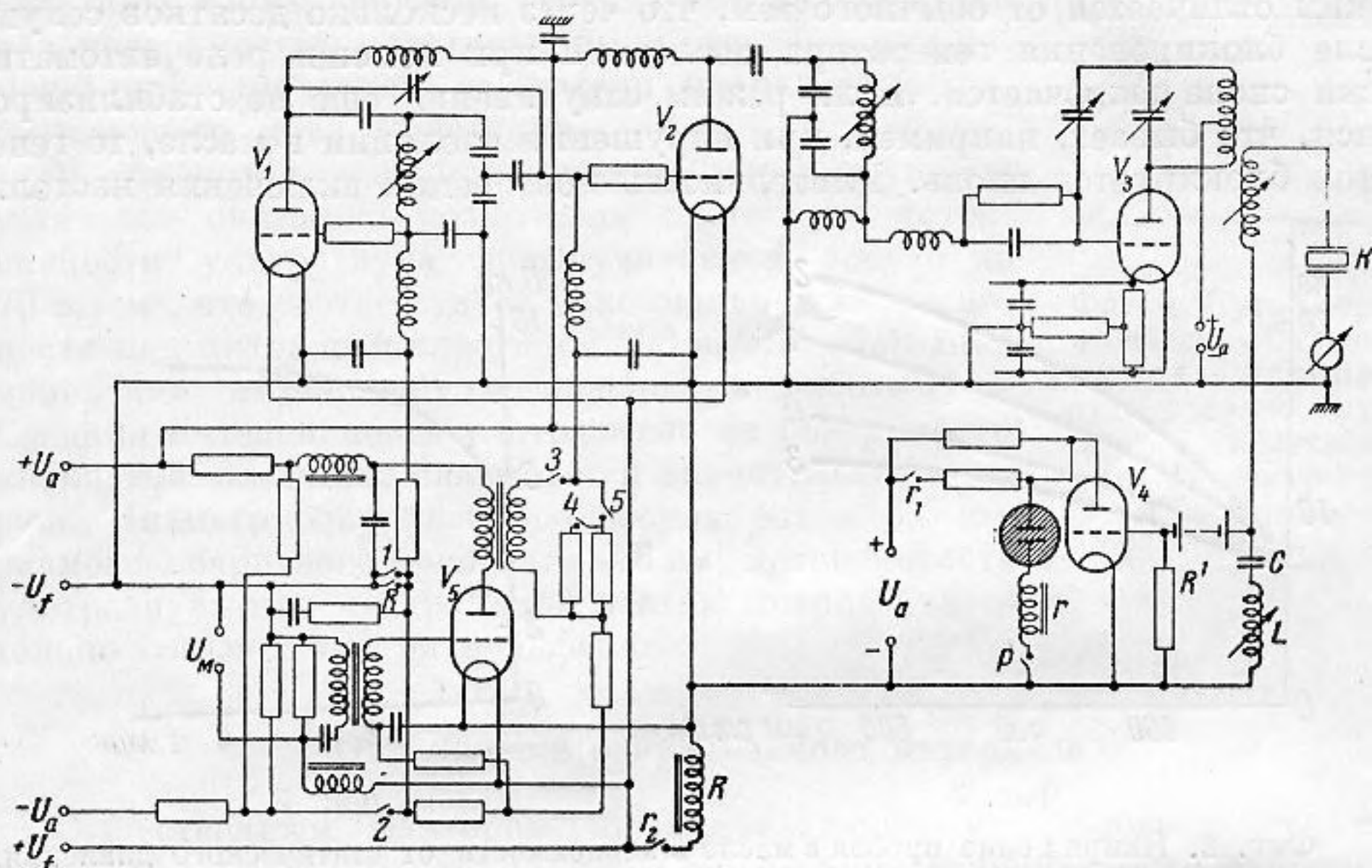
В качестве излучателя ультразвука в конструируемой аппаратуре применена кварцевая пластина. В литературе имеются указания, согласно которым при помощи кварцевых пластин удается получить ультразвук весьма большой интенсивности. Так, например, Селман и Вилкин [8], погружая кварцевую пластину в очищенное трансформаторное масло, получали ультразвук с интенсивностью до 55 вт/см^2 . Такая интенсивность ультразвука вполне достаточна для подавляющего большинства работ с микробиологическими объектами [1, 4].

При конструировании ультразвуковой установки, которая отвечала бы указанным выше основным требованиям, пришлось столкнуться с рядом побочных вопросов, которые необходимо было разрешить для достижения поставленной цели.

Получение интенсивного ультразвука

Для питания кварцевого излучателя используется высокочастотный генератор, схема которого приведена на фиг. 1.

Генератор состоит из трех каскадов, что дает возможность получать стабильную частоту. При помощи дополнительного устройства генератор



Фиг. 1. Принципиальная схема высокочастотного генератора:

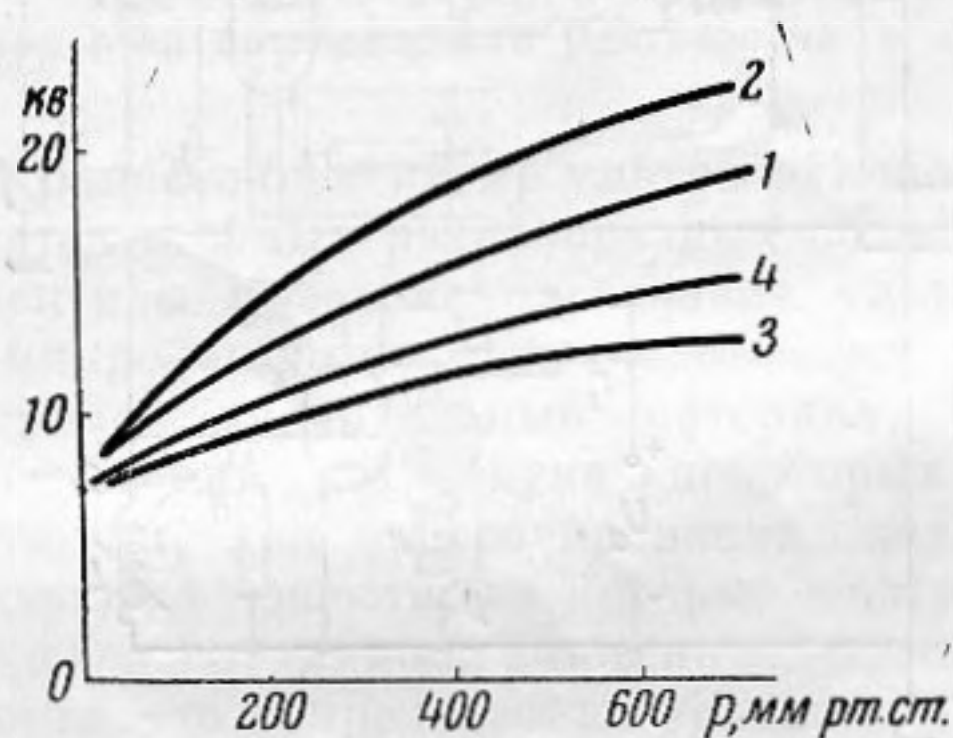
V_1 — осциллятор, V_2 — буферный каскад, V_3 — оконечный каскад, V_4 — автоматика, V_5 — модулятор, K — излучатель; 1, 2, 3, 4, 5 — контакты, модулированные колебания — замкнуты контакты 3, 4, 5, r_2 , R , немодулированные колебания — замкнуты контакты 5, 2, r_2 , R

автоматически выключается при электрическом пробое в масле. Такой пробой сопровождается развитием значительных количеств тепла, что может привести к повреждению кристалла; кроме того, при высокой температуре происходит окисление масла. Автоматическая установка в случае пробоя выключает высокочастотный генератор путем блокировки сетки лампы каскада возбуждителя и притом столь быстро, что кристалл полностью предохраняется от повреждения, а масло от загрязнения.

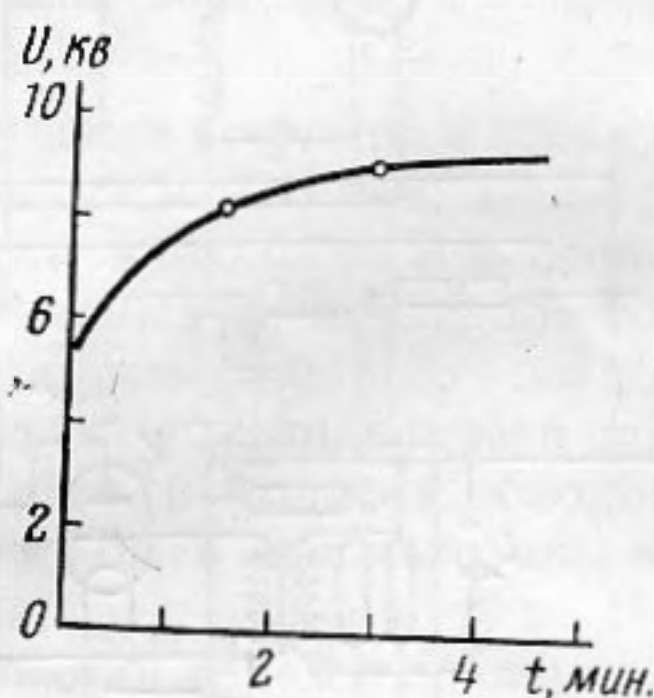
Действие автоматической блокировки заключается в следующем: к цепи кварцевого излучателя последовательно подключена батарея сухих элементов напряжением 150 в; при нарушении изоляции масла в цепи кварца возникает постоянный ток, который, проходя через сопротивление $R^1-50 \text{ M}\Omega$, создает падение напряжения; это напряжение приводится на сетку вспомогательной электронной лампы. Для того чтобы на сетку этой лампы не воздействовало высокочастотное напряжение, питающее ультразвуковой излучатель, параллельно сетке лампы включен последовательный резонансный контур, настроенный на основную частоту ультразвука. Этот контур состоит из вариометра L и конденсатора C ; замена конденсатором недопустима, так как при этом необходимо было бы применить конденсатор сравнительно большой емкости, в связи с чем увеличилась бы постоянная времени и снизилась бы чувствительность автоматической блокировки. При возникновении отрицательного напряжения на сетке вспомогательной лампы ее анодный ток уменьшается,

напряжение на аноде возрастает и зажигается неоновая лампа, показанная на схеме. Падение напряжения в катодной цепи неоновой лампы блокирует каскад возбуждения, и одновременно реле сигнализирует о повреждении изоляции.

Следует отметить, что блокировка действует также и при резком изменении тока, питающего ультразвуковой излучатель. Такие резкие изменения тока могут возникать при отрыве озвучиваемого субстрата от кварцевой пластины или от дна озвучиваемого сосуда. При этом на последовательном резонансном контуре образуются напряжения, достаточные для загорания вспомогательной лампы. Поэтому блокирующее устройство построено так, чтобы оно могло работать в двух режимах. Вторым режимом отличается от обычного тем, что через несколько десятков секунд после блокирования генератора последний при помощи реле автоматически снова включается. Если режим озвучивания еще не стабилизировался, что бывает, например, при нарушении изоляции в масле, то генератор блокируется вновь. Длительность повторения включения настоль-



Фиг. 2



Фиг. 3

Фиг. 2. Напряжение пробоя в масле в зависимости от статического давления:

1 — без воздействия ультразвука в фазе понижения давления (при отсасывании), 2 — без воздействия ультразвука в фазе повышения давления, 3 — при воздействии ультразвука в фазе понижения статического давления, 4 — при воздействии ультразвука в фазе повышения давления. 1 и 2 — при частоте 387 кгц, соответствующей резонансу кварцевой пластинки, 3 и 4 — при 420 кгц

Фиг. 3. Напряжение пробоя в масле в зависимости от времени дегазирования

ко мала, что даже при многократном срабатывании блокировки не происходит загрязнения масла и кристалл не повреждается. Для ограничения числа включений и выключений можно использовать счетную схему; после определенного числа импульсов счетное устройство выключает генератор окончательно.

Гарден, Андерсен [6] и др., считая, что максимальная получаемая интенсивность ультразвука ограничивается диэлектрической прочностью трансформаторного масла, полагают, что эта максимальная интенсивность может быть легко повышена до некоторого предела при удлинении пути разряда, т. е. при расположении краев электродов на некотором расстоянии от краев кварцевого кристалла. Однако в то же время следует отметить, что авторы, получившие наибольшие интенсивности ультразвука, помещали края электродов сравнительно близко от краев кристалла.

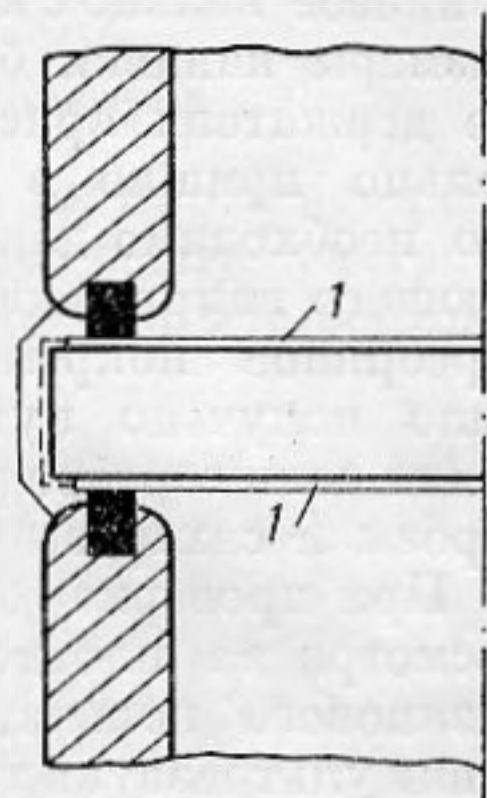
Повидимому, диэлектрическая прочность трансформаторного масла во время воздействия ультразвука понижается. На фиг. 2 показано напряжение пробоя масла для диффузионного насоса в зависимости от статического давления с воздействием ультразвука и без воздействия ультразвука. Из кривых видно, что при воздействии ультразвука напряжение пробоя значительно уменьшается.

В обезгаженном масле напряжение пробоя значительно повышается; это видно из фиг. 3, на которой изображено напряжение пробоя в зави-

симости от времени дегазирования масла. Исследование показало, что понижение диэлектрической устойчивости масла под воздействием ультразвука определяется возникновением кавитации, причем разряд происходит не между обкладками кристалла, а между электродами (фиг. 4), несмотря на то, что геометрический путь разряда оказывается более длинным.

В свете сказанного понятно, почему Сельману и Вилкину удалось добиться сравнительно высокой интенсивности ультразвука при установке кварцевой пластины таким образом, что масло, находящееся над поверхностью пластины, было отделено при помощи цилиндрического держателя кварца от масла, омывающего края кристалла.

В сконструированной нами ультразвуковой установке оказалось возможным достигнуть интенсивности ультразвука в озвучиваемом сосуде до 70 вт/см^2 , что соответствует максимальной интенсивности над кварцевой пластиной 100 вт/см^2 . Методика измерения интенсивности описана в работе [10]. Средняя интенсивность ультразвука на поверхности кварцевой пластины оказывается значительно меньшей. Диаметр озвучиваемого сосуда равен 3,5 см, диаметр кварцевого кристалла — 6 см; интенсивность ультразвука над центральной частью кварца значительно больше, чем на периферии.



Фиг. 4. Путь разряда в масле. Сплошная линия — истинный путь разряда, пунктир — кратчайший путь, 1 — посеребренные поверхности кварца

Охлаждение озвучиваемого материала

Существенным фактором, ограничивающим использование ультразвука в микробиологии, является нагревание озвучиваемого субстрата. В связи с этим возникла необходимость обратить серьезное внимание на создание наиболее целесообразной системы охлаждения озвучиваемого объекта.

Система, при которой охлаждение осуществляется маслом, даже при применении специального циркуляционного насоса, неудовлетворительна [11, 9].

Предлагаемая Полоцким и Гемпшем конструкция, при которой озвучиваемый субстрат помещается в сосуд с ненастроенными двойными стенками, между которыми протекает охлаждающая вода, не могла быть нами использована, так как при такой системе охлаждения возникают затруднения при стабилизации интенсивности ультразвука.

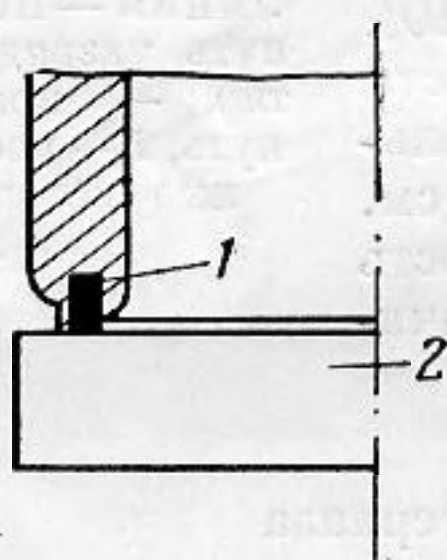
В литературе описаны также конструкции с настроенными стенками, разделяющими пространство, в котором помещен кварцевый кристалл от водяной бани. Мы не могли воспользоваться также и конструкцией, при которой между настроенной пластиной и поверхностью излучающего кварца находится слой трансформаторного масла. В этом случае масло подвергается воздействию интенсивного ультразвука, в связи с чем затруднительно предупредить возникновение кавитации в масле, вредной с точки зрения сохранения диэлектрической прочности масла в ультразвуковом поле. Мы отказались и от конструкции, при которой настроенная пластина непосредственно приклеивается к кварцу, так как лучшее охлаждение кристалла осуществляется при конструкции, рекомендованной Самселем, Фетром и Генри.

В этой конструкции поверхность кварца открывается непосредственно в водяную баню, которая геометрически изолирована от трансформаторного масла при помощи неопренового кольца; при этом на-

пряжение к внешней обкладке кварца подводится через раствор соли в воде.

В нашей конструкции вместо неопренового было использовано алюминиевое кольцо с выточенной канавкой для резиновой прокладки (фиг. 5). Размеры канавки были подобраны с таким расчетом, чтобы при монтаже держателя кристалла резина зажималась в канавке и алюминиевое кольцо пришло в контакт с посеребренной поверхностью кристалла, что необходимо для подводки питающего напряжения. Однородное серебряное покрытие кристалла было получено путем восстановления соли серебра раствором декстрозы и сахарозы [9].

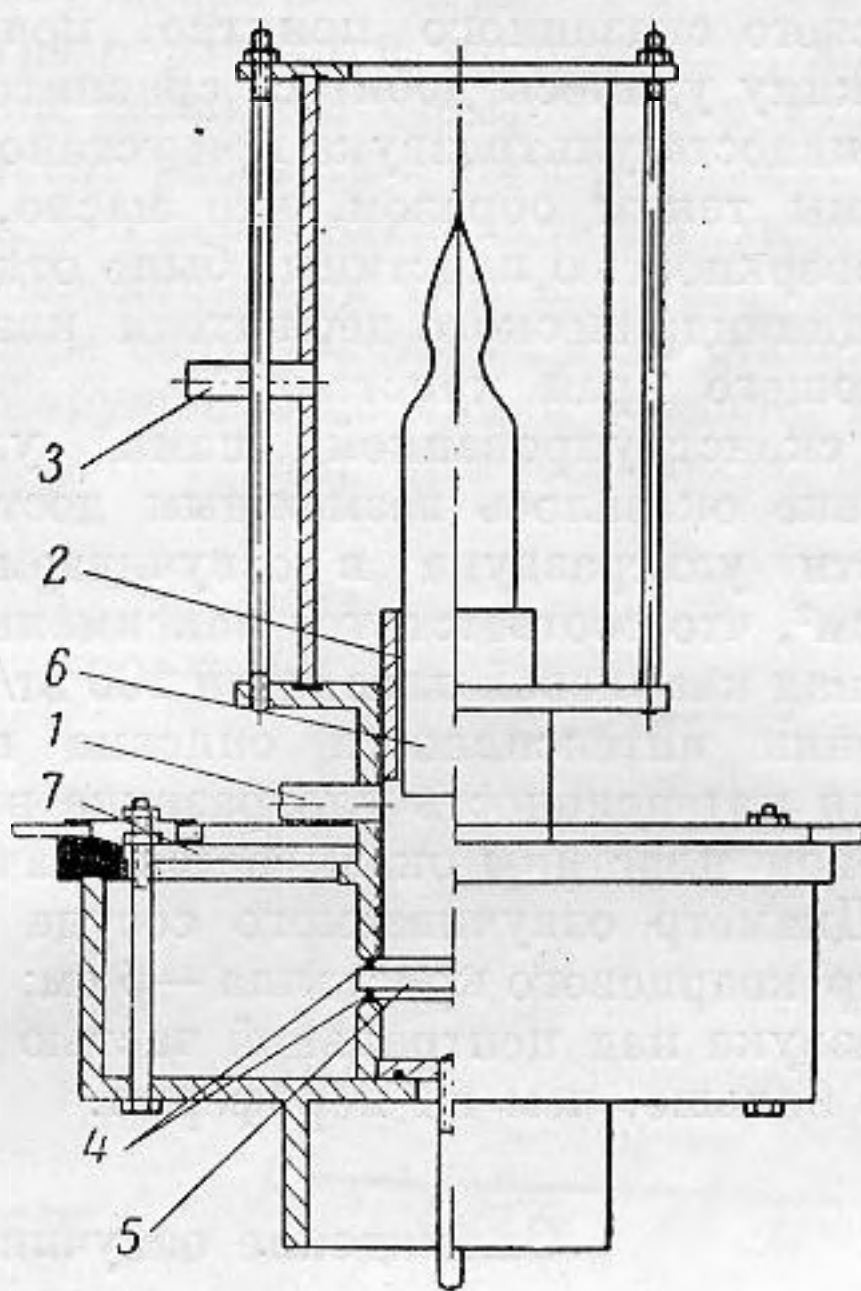
При проверке оказалось, что, несмотря на плотное прилегание резинового кольца, при воздействии ультразвука трансформаторное масло просачивалось в воду. Это явление наблюдалось даже при



Фиг. 5

Фиг. 5. Конструкция держателя кристалла с резиновой прокладкой:

1 — резиновая прокладка, 2 — кварцевый кристалл



Фиг. 6

Фиг. 6. Схема ультразвукового генератора:

1 — вход для охлаждающей жидкости, 2 — щель для протекания охлаждающей жидкости, 3 — место для выхода охлаждающей жидкости, 4 — свинцовые прокладки, 5 — кварцевая пластина, 6 — озвучиваемый сосуд, 7 — металлический диск для закрепления электродов кварца

небольшом избытке давления со стороны воды, что заставляет думать о наличии специфического всасывающего эффекта. Наилучшим материалом для изготовления уплотнительного кольца оказался свинец, который впаивался в канавку, а затем отшлифовывался. При применении свинцового уплотняющего кольца просасывание масла в воду не происходило. Со временем свинцовые прокладки под воздействием ультразвука абразируются, поэтому в конструкции применен стальной диск, который дает упругое закрепление кристалла.

В конструкции, рекомендованной фирмой «Цейс», озвучиваемый материал помещается в сосуд с настроенным дном. Однако, как это было признано на конференции немецких производителей ультразвуковой аппаратуры [4], охлаждение озвучиваемого материала в таком сосуде оказывается несовершенным. Поэтому мы сочли более целесообразным помещать озвучиваемый материал в тонкостенную плоскодонную стеклянную ампулу, которая укрепляется в специальном держателе таким образом, чтобы между стенками ампулы и держателем оставалась узкая щель, обтекаемая быстрым потоком воды. На фиг. 6 показана целиком конструкция устройства для облучения с держателем кварца, ампулой и охлажда-

ющей системой. При применении такого держателя температура озвучиваемого материала даже при мощностях ультразвука до 1 квт не превышала более чем на 5° температуру воды охладителя.

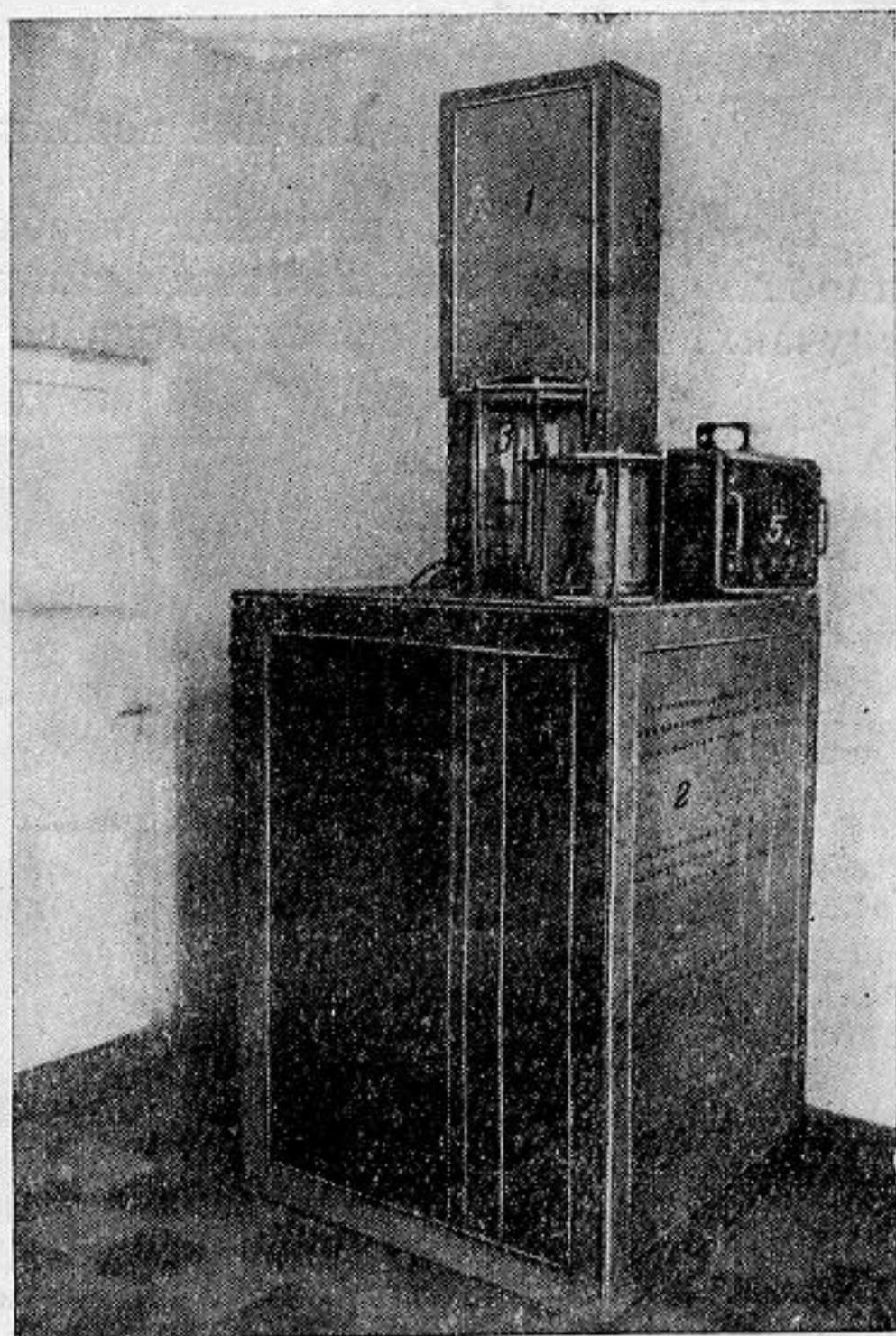
Получение стабильной интенсивности ультразвука

Используя для помещения озвучиваемого материала сосуд с ненастроенным дном, необходимо учитывать изменение интенсивности ультразвука в озвучиваемом субстрате в зависимости от расстояния дна сосуда от кварцевого кристалла или изменения скорости распространения звука в охлаждающей среде.

Следует отметить, что в опытах, в которых необходимо подавлять кавитацию в контактной среде, устройство находится под колпаком (фиг. 7); поэтому точное определение расстояния между кварцем и дном сосуда с озвучиваемым материалом затруднительно по техническим причинам. Указанное обстоятельство заставило нас сконструировать устройство таким образом, чтобы интенсивность ультразвука в сосуде с озвучиваемым материалом не изменялась в зависимости от расстояния дна сосуда от кварцевого кристалла. Для этого сопротивление излучателя было согласовано с суммой внутреннего сопротивления высокочастотного генератора и сопротивления, обусловленного потерями в подвеске кварца и в масле (см. [10]). Для достижения стабильности электродвижущей силы высокочастотного генератора последний питается от стабилизированных источников напряжения.

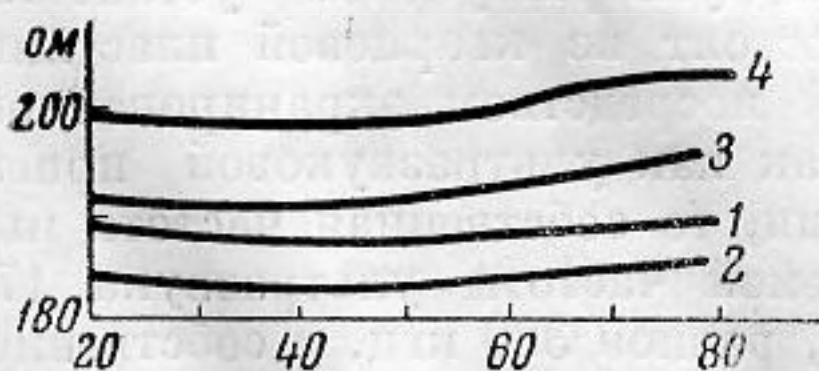
Для стабилизации интенсивности ультразвука необходимо, чтобы потери в креплении кристалла во время работы не изменялись. На

фиг. 8 показано активное сопротивление излучателя в зависимости от температуры, причем частота питающего тока — 320 кгц — отличается от резонансной частоты квар-



Фиг. 7. Общий вид ультразвукового генератора:

1 — задающий и буферные каскады высокочастотного генератора, 2 — оконечный каскад генератора в эоночастотного тока, 3 — колпак, под которым установлен ультразвуковой излучатель для дегазации воды, 4 — колпак, под которым установлен циркуляционный насос для охлаждающей воды, 5 — пересчетный прибор, входящий в состав автоматики выключения тока при пробое в масле



Фиг. 8. Активное сопротивление излучателя в зависимости от температуры:

1 — для масла диффузионного насоса, 2 — для трансформаторного масла (обе при напряжении 5 кв), 3 — для трансформаторного масла при напряжении 7 кв, 4 — то же при 10 кв

цевой пластины, равной 387 кгц. Кривые получены на основании опытов с двумя типами масел — с обычным трансформаторным маслом и высокомолекулярным маслом, употребляемым для диффузионного насоса. Преи-

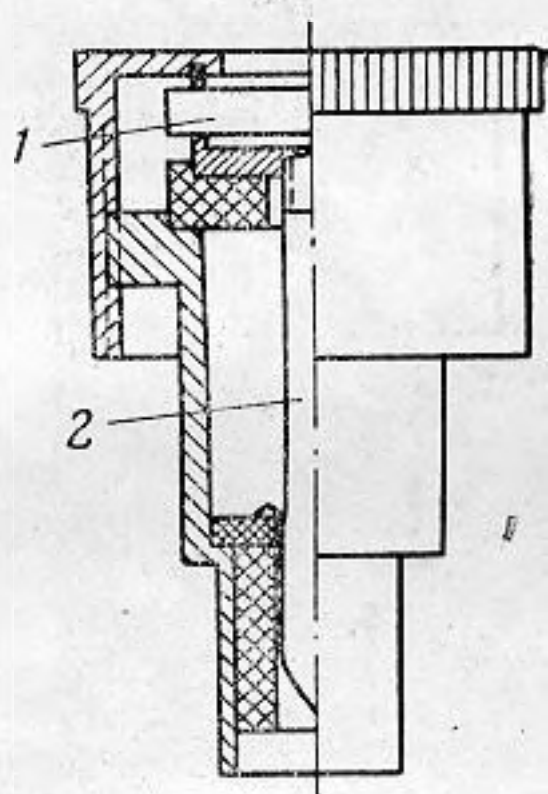
мущество второго согласно указаниям Бухгольца [2] заключается в том, что оно после дегазирования значительно медленнее насыщается газом.

Как видно из кривых, сопротивление при обоих типах масел изменяется в зависимости от температуры лишь незначительно. Однако в зависимости от силы тока сопротивление при трансформаторном масле изменялось приблизительно на 15%, а при диффузионном масле обнаруженные изменения не выходили за пределы возможных ошибок измерения.

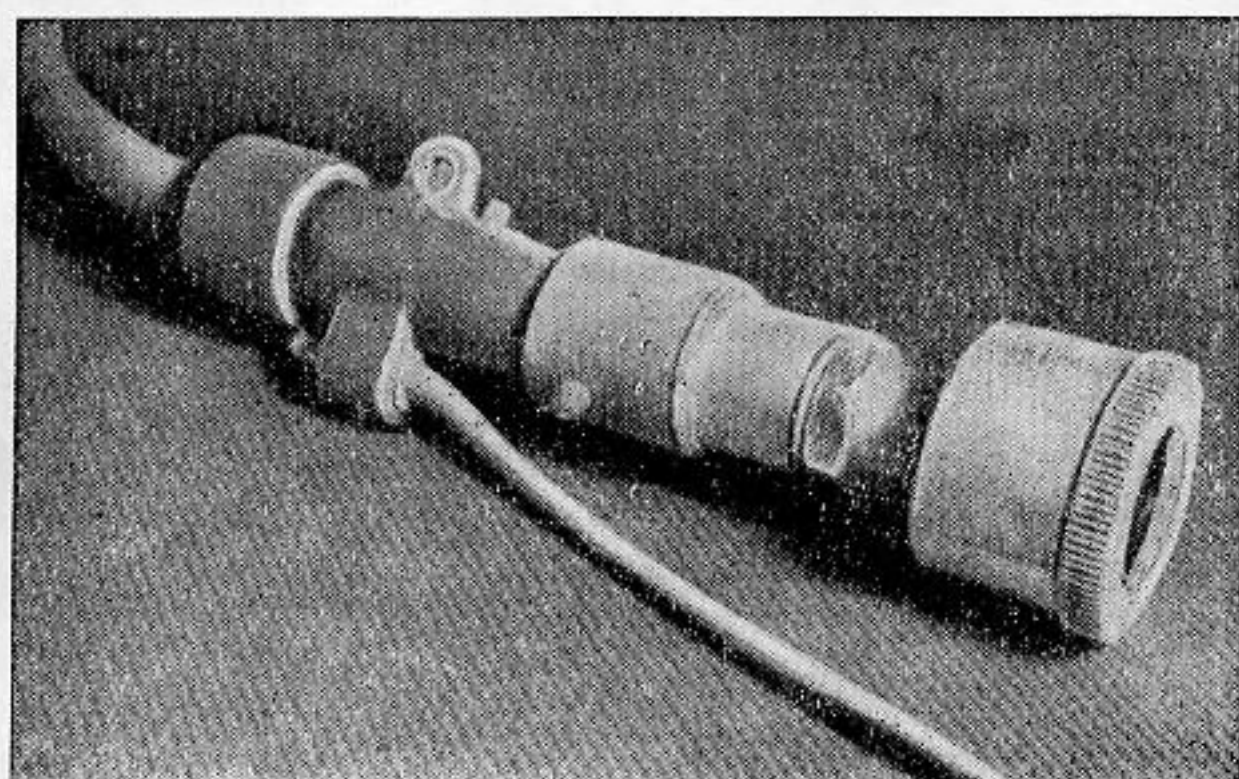
К недостаткам при использовании диффузионного масла относится, однако, то, что после электрических пробоев эквивалентное сопротивление заметно возрастает.

Определение возникновения кавитации

В работах с ультразвуком необходимо иметь возможность контролировать возникновение кавитации в озвучиваемом объекте. В некоторых случаях, например, если проводится попытка добиться стимуляции жиз-



Фиг. 9



Фиг. 10

Фиг. 9. Схема ультразвукового приемника: 1 — кварцевый кристалл, 2 — привод напряжения

Фиг. 10. Общий вид ультразвукового микрофона

ненных функций микроорганизмов, озвучивание следует производить при подавлении кавитации, что достигается дегазированием озвучиваемой взвеси. Для извлечения биологически активных веществ из бактериальных тел кавитация должна происходить в клетках бактерий; с этой целью озвучиваемая взвесь бактерий также подвергается обезгаживанию. Для успешного выполнения таких, а также многих других работ оператор должен следить за образованием кавитации.

Это осуществляется при помощи ультразвукового приемника, являющегося необходимой принадлежностью ультразвуковой установки. Ультразвуковой приемник (фиг. 9,10) состоит из кварцевой пластины, помещенной в держателе и соединенной посредством экранированного кабеля с обычным радиоприемником. Так как ультразвуковой приемник построен для обнаружения кавитации, то собственная частота пьезокварца должна быть выше используемой частоты ультразвука [7]. Так, например, при частоте ультразвука, равной 380 кгц, и собственной частоте звукоприемника 500 кгц радиоприемник настраивается на частоту 500 кгц. При появлении кавитации в радиоприемнике возникает шум.

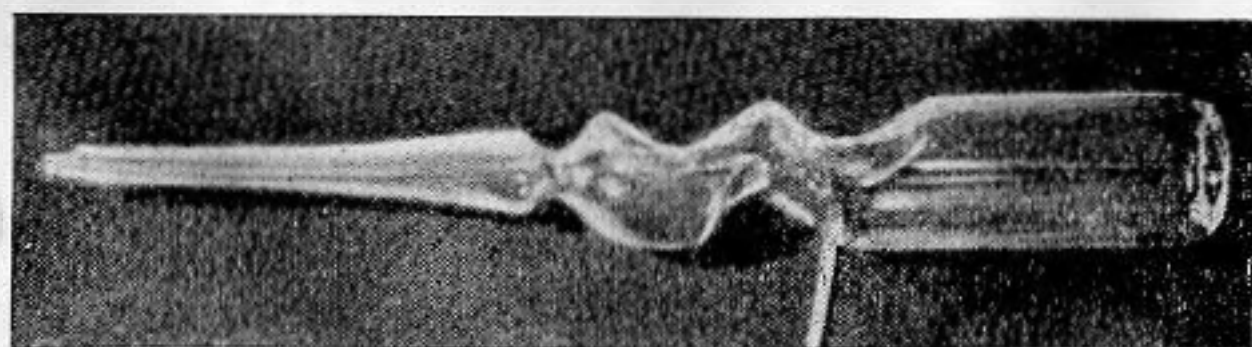
При определении возникновения кавитации в озвучиваемом субстрате акустическим методом необходимо подавлять кавитацию в контакт-

ной жидкости между кварцевым кристаллом и озвучиваемым сосудом. В связи с этим были проведены опыты в целях определения порога образования кавитации в воде и в масле, а также в некоторых других жидкостях в зависимости от времени обезгаживания. Обезгаживание производилось при давлении, равном давлению кипения соответствующей исследуемой жидкости. Для того чтобы ускорить обезгаживание, соответствующий субстрат подвергался воздействию ультразвука с интенсивностью 4 вт/см^2 . Полученные результаты представлены в виде кривых на фиг. 11.

После восьмиминутного обезгаживания воды при интенсивности 26 вт/см^2 кавитации больше не наблюдалось. Для того чтобы при интенсивности 26 вт/см^2 не наступила кавитация, масло надо было обезгаживать в течение 30 мин. Больших интенсивностей ультразвука в опытах не применялось, так как при дальнейшем увеличении интенсивности ультразвука не удалось полностью предотвратить образование фонтана в исследуемой жидкости. Той же причиной объясняется, почему бензин и бензол оказываются сравнительно мало устойчивыми в отношении кавитации; благодаря меньшему поверхностному натяжению фонтан образуется легче.

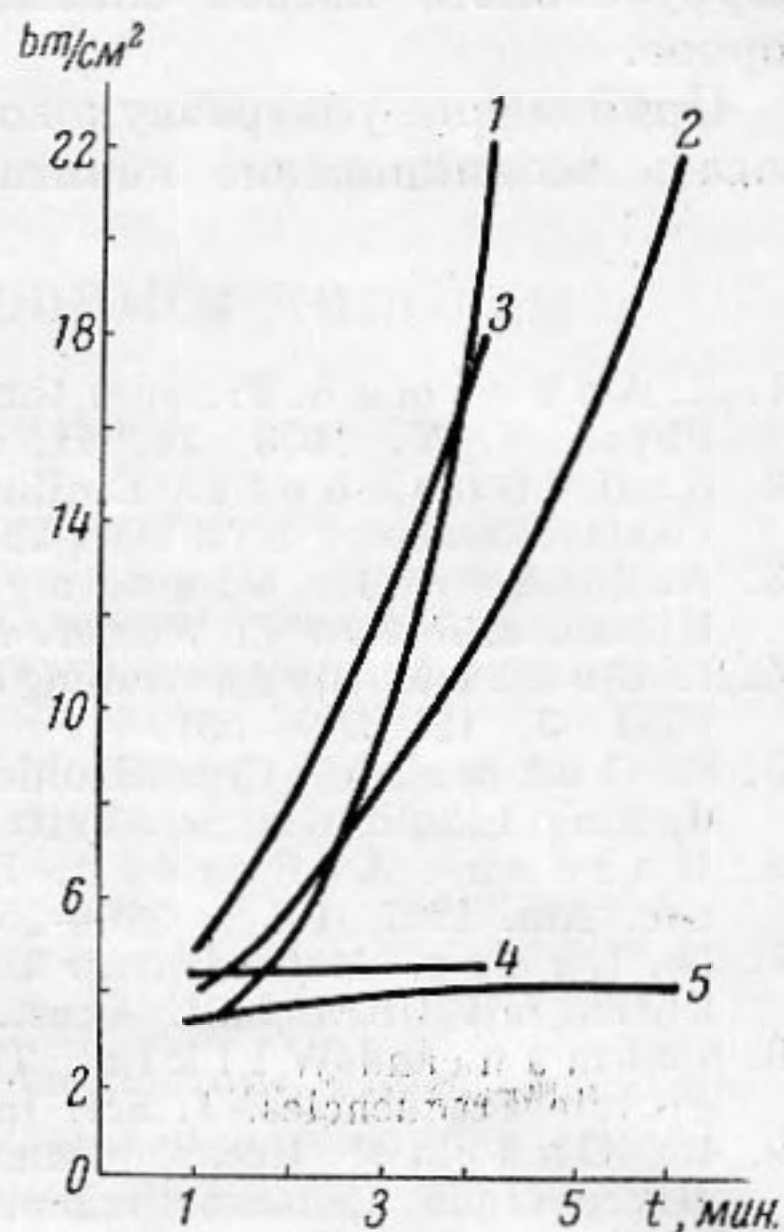
Опыты показали, что масло при интенсивностях ультразвука, используемых в биологии, в смысле подавления кавитации оказывается менее подходящей контактной средой, чем вода. Наилучшей контактной средой с этой точки зрения оказывается 17% раствор этилового спирта в воде. Эта звукопроводящая жидкость представляет интерес еще и потому, что не обладает температурным коэффициентом звуковой скорости [3].

Исследованием порога кавитации в двукратно дистиллированной воде, помещенной в специальную изогнутую амплитуду (фиг. 12), устраняющую образование фонтана, было установлено, что определяемый акустическим методом порог кавитации совпадает с порогом, определяемым по образованию химически активных веществ [9].



Фиг. 12. Изображение ампулы, устраивающей образование фонтана в озвучиваемом субстрате

При помощи описанной ультразвуковой аппаратуры удалось получить максимальную интенсивность ультразвука над кварцевым кристаллом до 100 вт/см^2 . Даже при самых высоких интенсивностях ультразвука темпе-



Фиг. 11. Интенсивность ультразвука, при которой наступает кавитация, в зависимости от времени обезгаживания. Длительность наблюдения — 10 сек. Температура во время обезгаживания — 22°C . Определение порога кавитации производилось при атмосферном давлении:

1 — для 17% раствора этилового спирта в воде, 2 — для чистой воды, 3 — для автомобильного бензина, 4 — для криоскопического бензола, 5 — для трансформаторного масла

ратура озвучиваемой жидкости не превышала более чем на 5° температуру воды охладителя.

Для получения ультразвука со стабильной интенсивностью масло для диффузионного насоса оказывается более пригодным, чем трансформаторное.

Применение ультразвукового приемника дало возможность контролировать возникновение кавитации в озвучиваемом субстрате.

ЛИТЕРАТУРА

1. E. A s k e r m a n. Pressure thresholds for biologically active cavitation. *J. Appl. Phys.*, N. Y. 1953, 24, 11, 1371—1373.
2. H. H. B u c h h o l z. Einfluss des Gasgehaltes auf das dielektrische Verhalten von Isolieroelen, *ETZ Ausgabe A. J.* 1954, 22, 763—768.
3. A. E c k a r d t, L i n d i n g, K. N i e t z s c h e. Zur Homogenisierung von Ultraschallfeldern in Wasser. *Ann. Phys.*, 1953, 12, 4—6, 237—239.
4. R. G o e b e l. Die Anwendung des Ultraschalls in der Biologie. *Nachrichtentechnik*, 1953, 3, 12, 549—551.
5. F. G u t m a n n. Crystalholder Permitting Direct Supersonic Irradiation of Conducting Liquids. *J. Sci. Instr.* 1947, 24, 276—277.
6. H a r d e n, A n d e r s e n, E p s t e i n, High Intensity Ultrasonics. *J. Acoust. Soc. Am.* 1947, 19, 1, 248—253.
7. Th. L a n g e. Methoden zur Untersuchung der Schwingungskavitation in Flüssigkeiten mit Ultraschall. *Akust. Beihefte*, 1952, 2, 75—82.
8. S e l m a n and W i l k i n. The Production of high Intensity ultrasonics et Megacycle Frequencies. *J. Sci. Instr.* 1949, 26, 7, 229—231.
9. И. С к а р д е. Исследования механизма действия ультразвука на бактерии. Диссертация, Сельскохозяйственная академия Латвийской ССР, Рига, 1955.
10. И. С к а р д е. Получение ультразвукового излучения постоянной интенсивности при озвучивании в сосуде с ненастроенным дном. *Акуст. журн.*, 1955, 1, 3, 274—285.
11. V. L o r a s i c und C e l j u s k a. Die Gewinnung einiger Antigene mittels Ultraschall. *Schweiz. Ztschr. f. allg. Path und Bakteriol.* 1952, 15, 322—331.

Институт микробиологии
АН Латвийской ССР
Рига

Поступила в редакцию
19 февраля 1955 г.