

Apparecchiatura elettrica sostituyente il becco Bunsen o la lampada ad alcool nelle operazioni di isolamento e di trapianto dei microrganismi

Carlo E. Malan

La recente guerra e l'attuale periodo post-bellico hanno imposto gravi limitazioni alla continuazione delle ricerche microbiologiche anche in quei laboratori cui sono state risparmiate serie distruzioni.

Fra queste limitazioni, non ultima in importanza, è stata la graduale scomparsa dei mezzi di riscaldamento necessari alla effettuazione della semplice, ma indispensabile, sterilizzazione del filo di platino, dell'imboccatura e dei tappi di cotone dei tubi in uso per l'isolamento delle colture di microrganismi.

Soppressa l'erogazione del gas illuminante e diventati introvabili i gas in bombola (« Liquigas »), vi si sopperi con l'alcool denaturato, ma venuto a mancare anche questo, ci si trovò nell'impossibilità non soltanto di continuare gli isolamenti, ma anche di mantenere in vita, rinnovandoli, i preziosi ceppi microbici delle collezioni.

Per superare questa crisi mi sono rivolto all'utilizzazione dell'unica sorgente di energia termica la cui erogazione continuava con discreta regolarità, l'elettricità, realizzando i due apparecchi che qui descrivo ed il cui uso quotidiano si è dimostrato, alla prova, efficace, se pur non tale da sostituire, soprattutto per molteplicità di applicazioni, la classica fiamma del becco Bunsen (1).

FORNETTO PER STERILIZZARE IL FILO DI PLATINO

Ho dovuto scartare l'idea di raggiungere l'arrossamento del filo di platino coll'inserirlo in una resistenza elettrica, di cui avrebbe fatto parte chiudendone il circuito, oltre che per la difficoltà di ottenere dei sicuri, costanti ed immediati contatti, anche perchè, pur raggiungendo la sterilizzazione del tratto di filo arrossato, non avrei ottenuto contemporaneamente quella

(1) Sono debitore al Dott. G. Dallapiccola, Direttore del Laboratorio controlli delle Officine R.I.V., per i consigli e le critiche che resero possibile la prima realizzazione di questi apparecchi. Successivamente è grazie alla competenza del Prof. R. Stratta, al quale sono lieto esprimere i miei ringraziamenti, che i difetti e le manchevolezze del primo modello degli apparecchi, hanno potuto essere eliminati ed il funzionamento degli stessi grandemente migliorato.

della parte del portafili (di vetro o di metallo con impugnatura isolante), che viene normalmente introdotta nel tubo di coltura. D'altra parte, com'è noto, non è necessario che il filo di platino raggiunga i 500° C., di cui è indice il colore «rosso nascente», perché tutti i «germi» (tanto forme vegetative che sporificate di microrganismi) su di esso eventualmente posatisi siano uccisi. A questo scopo basta la breve permanenza ai 250-300° C., se pure è preferibile il calore rosso che libera il filo, carbonizzandoli, di tutti i residui organici. Tale temperatura si può ottenere e mantenere facilmente con un fornello di semplice costruzione e funzionamento, inserito sulla normale rete dell'energia illuminante.

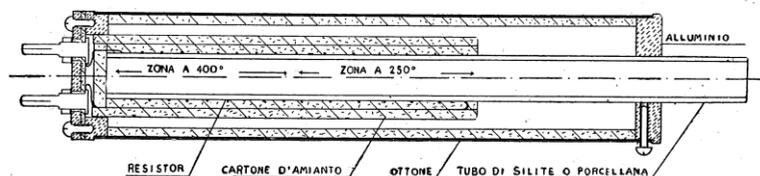
Il fornello realizzato, — rappresentato schematicamente nella fig. 1 ed in assetto di funzionamento nella fig. 3, — consiste essenzialmente di due tubi coassiali, l'uno, (di silite o di porcellana), di minor diametro, ma di maggior lunghezza, inserito nell'altro (di ottone) al fondo del quale è appoggiato con una estremità, mentre ne fuoriesce con l'altra.

Il tubo interno è circondato, per due terzi circa della sua lunghezza, da una resistenza elettrica le cui spire, molto ravvicinate al fondo del tubo, si diradano verso l'imboccatura. Al passaggio della corrente la temperatura raggiungerà i 400° C. circa verso il fondo del tubo (ove troverà posto il filo di platino), mentre il riscaldamento sarà più moderato (sui 250° C.) nel tratto mediano del tubo stesso sede della testa del portafili.

Un rivestimento coibente attorno alla resistenza ed un altro che tappezza l'interno del tubo di ottone, lasciano fra di loro un'intercapedine intesa a ridurre la dispersione del calore.

La lunghezza del fornello è calcolata in modo che il filo di platino, montato sul classico portafili di alluminio con impugnatura protetta da ebanite, occupi la zona dei 400° C., mentre la testa e la metà della parte metallica del portafili stesso (quella che dev'essere sterile perchè entra nel tubo di coltura) si trovano nella zona dei 250° C. L'impugnatura del portafilo fuoriesce quasi interamente dal tubo di «silite» e rimane pertanto sempre a bassa temperatura.

Il fornello, sostenuto da quattro piedini, è tenuto in posizione orizzontale ad 8 cm. dal banco di lavoro, posizione che si è dimostrata la più pratica per l'introduzione e l'estrazione del portafili e che, contemporaneamente, presenta il vantaggio di non esporre l'imboccatura del tubo riscaldante alla caduta dei germi atmosferici.



RESISTOR NI Cr O,5 LUNGHEZZA 105 cm. V. 20 A. 2,5 ca 50-W

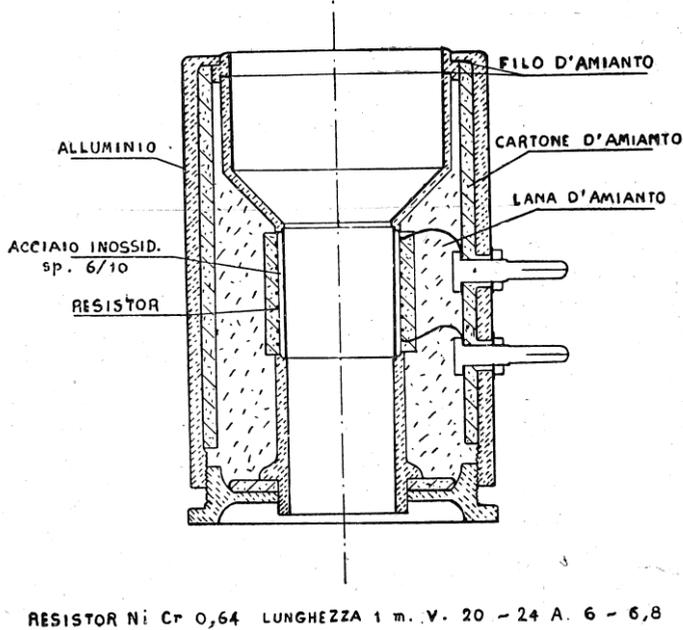
SCALA 1:2

Fig. 1. - Schema del fornello per sterilizzare il filo di platino.

FORNETTO PER LA STERILIZZAZIONE DELL'IMBOCCATURA E DEL TAPPO DI COTONE DEL TUBO DI COLTURA

La realizzazione di questo apparecchio presentava difficoltà maggiori che non quella del precedente. Lo scopo che volevo raggiungere era di portare ad una temperatura di 200° C. circa l'interno del quarto superiore del tubo di coltura (1), quello contenente il tappo di cotone, e di sterilizzare contemporaneamente l'imboccatura della provetta e, per un'altezza non superiore ad un centimetro, la parte del cotone del tappo sporgente dalla provetta stessa.

Per ottenere il leggero imbrunimento della zona del tappo sotto vetro, indice che la temperatura interna si aggira attorno ai 200° C., occorre applicare esternamente una temperatura almeno doppia, mentre invece per



SCALA 1:2

Fig. 2 - Schema del fornello per la sterilizzazione dell'imboccatura e del tappo di cotone del tubo di coltura.

(1) L'apparecchio è stato costruito per sterilizzare tubi di 20-25 mm. di diametro, in uso in questo Istituto per le colture di micromiceti, il cui rinnovo interessava in modo particolare.

la sterilizzazione dell'orlo del tubo e della superficie esterna della massa di cotone sporgente, bastava una temperatura non superiore ai 200° ad evitare la carbonizzazione del cotone.

La soluzione adottata è quella, schematizzata nella fig. 2, di infilare il tubo di coltura in un cilindro metallico, un certo tratto del quale è occupato da un anello di acciaio inossidabile (1) di altezza uguale al tratto di tubo di coltura nel cui interno si vuole raggiungere la temperatura di 200° C. Un avvolgimento di resistenze attorno all'anello di acciaio inossidabile ne porta la temperatura ai 500-600° C., sufficiente per imbrunire in poco più di 30 secondi la porzione del tappo sotto vetro. Si è poi visto che il riscaldamento prodotto da questo anello è tale che per conduzione termica la parte imbutiforme sovrastante il cilindro riscaldante, e nella quale si alloggia la parte del tappo libero dal tubo, raggiunge una temperatura capace di uccidere i germi depositatisi alla superficie del cotone.

Tutto l'apparecchio è sostenuto (come appare dalla fig. 3) da due orecchioni che ne permettono l'inclinazione sul cavalletto di sostegno, su cui è montato ad una altezza che consente al tubo di coltura introdotto di mantenere la posizione corretta nei rapporti dell'anello riscaldante e del tratto di tubo nel cui interno si vuole raggiungere la massima temperatura. Tutto l'apparecchio è smontabile col solo svitamento dell'anello inferiore di modo che ogni parte ne è facilmente accessibile per eventuali sostituzioni di resistenze (2).

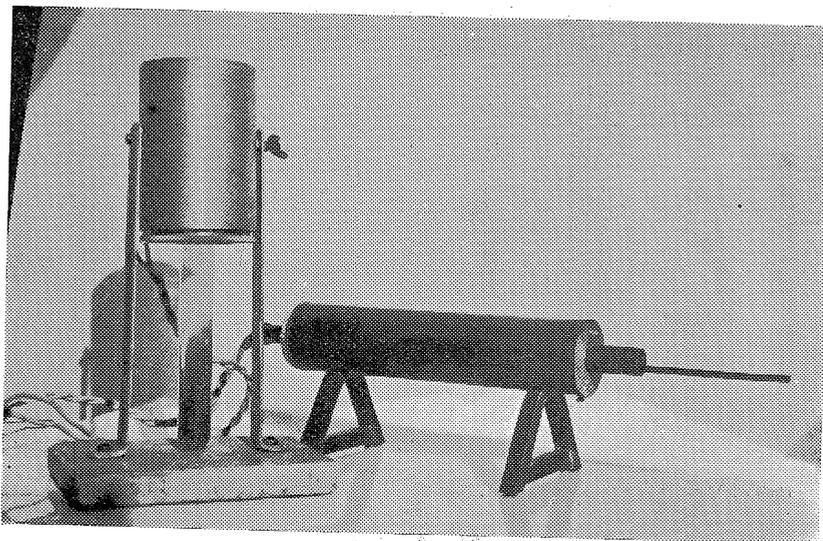


Fig. 3 - Aspetto dei fornetti in funzione con portafilo e tubo di coltura inseriti.

(1) In un primo tempo fu costruito in bronzo di alluminio, in seguito, per suggerimento del Prof. Stratta, sostituito da acciaio inossidabile che ha dato risultati migliori perchè ha potuto essere fortemente assottigliato senza perdita di inalterabilità.

(2) Accorgimento costruttivo dovuto al prof. Stratta.

FUNZIONAMENTO

Il primo modello degli apparecchi era stato dotato, per maggior semplicità, di resistenze capaci di funzionare con l'inserimento diretto sulla rete a 125 volt, ma la resistenza adatta a tale tensione era molto sottile e, malgrado si fosse impiegato materiale di ottima qualità (filo al Ni-Cr « Heräus » fuso e trafilato nel vuoto, del diam. di 0,16 mm.), bruciava troppo facilmente. Nel modello definitivo qui descritto, per ottenere una temperatura di regime più costante e una maggior durata delle resistenze, mi sono indotto ad alimentare gli apparecchi con 20-24 volt, ottenuti con un piccolo trasformatore, di circa 200 Watt, con prese su 120-160-220 volt, sacrificando così leggermente la velocità di riscaldamento ed il costo della costruzione.

Gli apparecchi raggiungono ora la temperatura di regime dopo 5-10 minuti dalla chiusura del circuito e la mantengono pressochè inalterata tutta la giornata. Un mezzo minuto di permanenza del tubo di coltura e del filo di platino nei rispettivi fornetti è sufficiente per ottenere la sterilizzazione dei punti voluti del filo di platino, nel primo caso, della testa metallica del portafili, nel secondo.

CONCLUSIONE

Come già ho fatto rilevare, questi apparecchi non sostituiscono in tutto e per tutto la fiamma del becco Bunsen, perchè questa si presta al « *flambage* » di recipienti e strumenti senza limitazioni di forme e di dimensioni, mentre i fornetti sono necessariamente costruiti per tubi di dimensioni variabili solo entro limiti di pochi millimetri e per uno strumento, il filo di platino, che forzatamente deve avere un portamanico di lunghezza leggermente superiore a quello del tubo riscaldante per potervelo collocare in posizione giusta e facilmente estrarlo.

Tuttavia l'apparecchiatura descritta ha dato, e dà, ottimi risultati nel rinnovo in serie di colture: per sicurezza di sterilizzazione, semplicità di manovra, rapidità e soprattutto grande regolarità di riscaldamento.

RIASSUNTO

Sono descritti due fornetti elettrici per sterilizzare: l'uno il filo di platino e l'estremità del relativo portafili, l'altro l'imboccatura del tubo di coltura e la parte del tappo di cotone impegnato nel tubo stesso, ideati per sostituire la fiamma del becco Bunsen o della lampada ad alcool nelle operazioni di isolamento e di trapianto dei microrganismi.

L'apparecchiatura dà buoni risultati —specie nei trapianti in serie— per la rapidità, la regolarità e la sicurezza della sterilizzazione, ma non può sostituire in tutto la fiamma, poichè, mentre questa consente la sterilizzazione di oggetti e recipienti di ogni forma e dimensione, i fornetti servono soltanto per gli oggetti per i quali furono costruiti od altri similari.

SUMMARY

The Author describes two little electrical ovens, intended to surrogate the flame, the one in the sterilisation of the platinum inoculating-needle and the part of the respective handle immediately adjoining the needle itself, the other in the sterilisation of the mouth and the cotton plug of culture tubes.

Both devices give good results in the daily practice of isolation and series-transfers of microorganisms, for the rapidity, regularity and efficiency of the sterilisation, but, being constructed to sterilize particular objects, they can't completely substitute the flame, which is efficient in the sterilisation of the mouth and the cotton plug of culture tubes.

(Pervenuto in redazione il 30-6-47).