

Sterylizacja ciśnieniowa

by mush mush

Subtelna sztuka szybkowarzenia

Autoklawy wykorzystywane są na całym świecie do sterylizacji podłoży mikrobiologicznych, substratów i instrumentów. Czy nie byłoby fajnie mieć autoklaw w domu? Autoklawy są drogie... bardzo drogie. Na szczęście autoklaw to tak naprawdę nic więcej jak tylko wyszukany szybkowar!

Szybkowary są względnie tanie, łatwo dostępne i można je dostać we wszystkich kształtach i rozmiarach. Wszystkie działają jednak na tej samej zasadzie. Szybkowar jest zamkniętym systemem. Ciepło zmienia wodę w parę, która zwiększa ciśnienie. Przy wyższych ciśnieniach wzrasta punkt wrzenia wody. Przy nadciśnieniu 1,0 kg/cm² (1 bar) jest to 121°C i jest to standardowa temperatura sterylizacji.

Zawsze przestrzegaj instrukcji bezpieczeństwa dostarczonej z szybkowarem. Nigdy nie stosuj do niej modyfikacji i korzystaj wyłącznie z oryginalnych części. Nie stosowanie się do tego może prowadzić do eksplozji! Zostałeś ostrzeżony!

Typowy cykl sterylizacyjny

Nie wszystkie szybkowary działają tak samo. Niektóre wymagają by obciążnik umieszczony był na początku, a niektóre nie mają nawet obciążnika tylko sprężynowy regulator ciśnienia. Typowy cykl sterylizacji dla "standardowego" szybkowaru z obciążnikiem przebiega następująco. Dla twojego szybkowaru może być inny!

W szybkowarze umieszczana jest kratka, by sterylizowane przedmioty nie były w bezpośrednim kontakcie z dnem. Jeśli przedmioty są w bezpośrednim kontakcie z dnem szybkowaru mogą się stopić (polipropylen) lub popękać (szkło). Prosta kratka utrzymuje zawartość szybkowaru 1-2 cm od dna i ją chroni.

Do szybkowaru wlewana jest odpowiednia ilość wody, zazwyczaj kilka centymetrów, tak by przykryć dno.

Odpowiednia ilość to tyle, by uchronić szybkowar od działania na sucho, i nie za dużo, by rozgrzanie nie trwało wieki. Szybkowar chodzący na sucho to nieciekawa sytuacja gdyż:

- a) zawartość zostaje zniszczona
- b) zasmrodzi się pomieszczenie
- c) szybkowar musi być wyczyszczony od środka
- d) metal szybkowaru może się wypaczyć.

Gdy ciśnienie/temperatura regulowana jest precyzyjnie, tak że nie wylatuje nadmiar pary, wymagane jest dodanie niezbyt dużej ilości wody. Oczywiście jeśli zawartość sterylizowana jest przez dłuższy czas, powinno dodać się więcej wody. Zazwyczaj wystarcza 3-4 cm wody na dnie, ale może się to różnić w zależności od indywidualnych wymogów szybkowaru/sterylizacji.

Artykuły do sterylizacji umieszczane są w szybkowarze. W przypadku toreb na wierzch kładziona jest kratka.

Kolby, słoiki, torby i narzędzia wkładane są do szybkowaru. Jeśli szybkowar jest wystarczająco wysoki, torby i słoiki można układać piętrowo. Sterylizując torby, na wierzch kładziona jest kratka, by uniemożliwić rozdmajającym się torbom zatkanie od wewnątrz zaworu.

Zamykana jest pokrywa i włączany jest gaz.

Pokrywa jest umieszczana na szybkowarze. Zamyka się go poprzez przekręcenie pokrywy lub dokręcenie nakrętek motylkowych. Obciążnik regulujący ciśnienie nie jest jeszcze nakładany. Można skorzystać z elektrycznej płyty grzewczej lub palnika gazowego. Może być włączony na pełne grzanie, póki nie jest to naprawdę wielki palnik do małego szybkowaru, co mogłoby doprowadzić do popękania szklanych naczyń wewnątrz.

Gdy z zaworu wylatuje ciągły strumień pary nakładany jest obciążnik.

Po pewnym czasie woda w szybkowarze zacznie wrzeć. Z rurki zaworu zacznie wylatywać para. Obciążnik nie jest jeszcze nakładany. Po kilku minutach z zaworu będzie wylatywać nieprzerwanie para i zostanie wydalone całe powietrze znajdujące się w szybkowarze. Stwarza to nasycone parą środowisko. W tym momencie na zawór nakładany jest obciążnik.

Szybkowar zaczyna gromadzić ciśnienie.

Jako że obciążnik blokuje wypływ pary, w szybkowarze zacznie się zwiększać ciśnienie. Zwiększanie ciśnienia odpowiada zwiększaniu temperatury. Jeśli zauważalne jest przeciekanie lub syczenie, gumowy pierścień uszczelniający pokrywę z szybkowarem musi zostać oczyszczony lub wymieniony. Grzanie ustawiane jest tak, by obciążnik powoli się kołysał.

Gdy ciśnienie osiągnie 1 bar obciążnik zostanie uniesiony przez ciśnienie pary. Zmniejszy to ciśnienie i obciążnik znów pójdzie w dół. Temperatura regulowana jest tak, by obciążnik kołysał się i posykiwał, lecz nie występował nadmierny wylot pary. Tak długo jak kołysze się obciążnik, zawartość ma odpowiednią temperaturę.

Po odpowiednim czasie wyłączane jest źródło ciepła.

Czas sterylizacji liczony jest od chwili, gdy szybkowar osiągnie 121°C do momentu wyłączenia źródła ciepła. Szybkowar pozostawiany jest do ostygnięcia póki ciśnienie nie spadnie do zera (oczywiście względnego - tłum.). Gdy osiągnie zero można go otworzyć.

Przedmioty, które mogą być używane, gdy są chłodne można pozostawić w ten sposób. Gdy zawartość ma być wykorzystana w postaci gorącej (na przykład agar), lub gdy szybkowar trzeba ponownie, jak najszybciej wykorzystać, gorącą zawartość można wyjąć. Przed otwarciem szybkowaru zawsze zdejmij najpierw obciążnik, by upewnić się, że ciśnienie spadło do zera.

Szybkowar jest rozładowywany i gotowy jest do kolejnego cyklu.

Gorące przedmioty wyjmowane są z szybkowaru przy pomocy rękawic izolujących od gorąca. Zimne przedmioty mogą być wyjmowane gołą ręką. Uszczelnione torby i słoiki z filtrem mogą być pozostawione do stygnięcia gdziekolwiek. Agar i nie uszczelnione torby pozostawiane są do ostygnięcia w uruchomionej gablocie nadmuchowej lub zaimprovizowanym nakryciu służącym do zaszczepiania.

Sterylicacja uszczelnionych toreb

Wielu ludzi nadal sądzi, że sterylizowanie uszczelnionych toreb z łąką filtracyjną jest niemożliwe. Sterylicują oni substrat w otwartych torbach i zgrzewają je po zaszczepianiu. Sprowadza to wielkie ryzyko wprowadzania do substratu zakażeń.

Osiągaliśmy duże sukcesy sterylizując zgrzane torby z łąką filtracyjną, jednakże jest kilka rzeczy, o których powinieneś wiedzieć:

Torby powiększają się w czasie gotowania, co oznacza że jeśli ich spody znajdują się w wodzie, wypchną ją na zewnątrz szybkowaru przez zawór. Można tego uniknąć umieszczając torby na solidnej kracie. Poziom wody powinien być poniżej kratki. Będzie to oznaczać, że w szybkowarze nie jest zbyt dużo wody. Ciśnienie musi być regulowane precyzyjnie, tak by nie występowało żadne nadmierne wylatywanie pary, gdyż może to spowodować, że szybkowar będzie chodził na sucho.

Jako że rozszerzające się torby mogą również blokować zawór, w celu uniknięcia tego, na ich

wierzch powinna być położona jakaś kratka. Jeśli przez zawór wydostaje się woda, oznacza to, że jest jej w szybkowarze za dużo, i rozszerzające się torby wypychają ją na zewnątrz.

Szybkowar zawsze powinien być załadowany torbami do pełna. Jeśli łączna objętość rozszerzających się toreb jest mniejsza niż objętość szybkowaru to torby pękną. Ponieważ w czasie szybkowarzenia wszystkie torby w pełni się rozszerzają, uchronią się wzajemnie od pęknięcia.

W czasie zgrzewania toreb wypychaj z nich jak najwięcej powietrza. Dzięki temu łatwiej włożyć je do szybkowaru i pozwala to na lepsze gromadzenie się pary. Korzystać trzeba z dobrej zgrzewarki, kiepskie zgrzewy pękną w czasie szybkowarzenia.

Czas sterylizacji toreb wynosi 1,5 - 2,5 godzin, w zależności od ciężaru toreb.

Po sterylizacji torby są wyjmowane i wstrząsane. Wstrząsanie nie zawsze jest możliwe, ponieważ wiele toreb będzie wychodzić z szybkowaru z niewielką ilością powietrza w środku. Nie ma to znaczenia, gdyż w czasie inkubacji torby się nadmą i będzie nimi można łatwo wstrząsnąć.

Ponieważ torby są już uszczelnione, zaszczepianie można wykonać jedynie poprzez wstrzyknięcie płynu. Do zaszczepiania toreb wykorzystywana jest (samonapełniająca się) strzykawka. Miejsce przekłucia przemywane jest namoczoną w alkoholu papierowym ręcznikiem, a następnie przebijane igłą. Płynny zaszczepiacz wstrzykiwany jest w substrat. Otwór zaklepany jest kroplą gorącego kleju z pistoletu na klej.

Po stwardnieniu kleju torbami się wstrząsa (jeśli to możliwe) i inkubuje. Wstrząsanie można przeprowadzić jak tylko torby się nadmą (po niewielkim wzroście grzybni, często po kilku dniach).

Torby są w pełni skolonizowane zazwyczaj po 14 - 20 dniach.

Sterylicacja słoików

Najpierw do szybkowaru wkładana jest kratka, po czym dodawana jest warstwa wody. Jeśli szybkowar na to pozwala słoiki można bez problemu ustawiać piętrowo. Jeśli z jakichś powodów słoiki sterylizowane są bez filtrów nie powinny mieć ciasno dokręconych pokrywek.

Słoików nigdy nie powinno wkładać się bezpośrednio do gorącej wody gdyż mogą popękać. By tego uniknąć, po rozładowaniu pierwszej partii słoików, gorąca woda powinna być wylana i zastąpiona zimną.

Słoiki które tanio można kupić w supermarkecie (zawierające takie przysmaki jak sos jabłkowy lub zieloną fasolkę) mogą być sterylizowane dwa lub trzy razy, po których znacznie większe jest prawdopodobieństwo ich pęknięcia. Są tanie, lecz mogą być niebezpieczne, gdy korzysta się z nich zbyt długo.

Szklane słoiki traktuj z ostrożnością, przenoś je (gdy rozładowujesz i wstrząsas) w grubych rękawicach, które ochronią twe ręce na wypadek pęknięcia.

Czas sterylizacji małych słoików (500 ml) to 45 minut, dla normalnych słoików (720 ml) 60 minut, a dla dużych 90 - 120 minut (w zależności od rozmiaru).

Sterylicacja płynów

Płyny takie jak woda i agar sterylizowane są w butelkach lub kolbach. Jako że agar pieni się w czasie sterylizacji, kolby nigdy nie są napełniane więcej jak w dwóch trzecich. Butelki z wodą mogą być całkowicie wypełnione. Korki butelek lub kolb nigdy nie powinny być mocno dokręcone, lecz zawsze trochę otwarte, co uchroni przed implozją lub eksplozją.

Poniższa tabela może być wykorzystana jako wskaźnik czasów sterylizacji.

rozmiar naczynia (ml)	czas sterylizacji (minuty)
25	20
50	25
100	28
250	31
500	35
1000	40
2000	48
4000	63

Bardzo ważne jest by szybkowar stygł powoli. Gdy temperatura opada zbyt szybko, agar może wykpić z pojemnika, powodując bałagan.

Gdy agar sterylizowany jest zbyt długo, zmienia kolor na ciemny i nie żeluje poprawnie. Cukry zmieniają się w toksyczny dla grzybów karmel. Z tych samych powodów należy zwrócić uwagę, by temperatura nie wzrosła powyżej 121°C.

Sterylicacja innych rzeczy

Przedmioty takie jak skalpel lub pęseta mogą być owijane w folię aluminiową lub zapieczętowane w tyvek'u. Także większość strzykawkę można sterylizować. Również owija się je w alufolię i sterylizuje przez 15 minut. Zapomnij o sterylizowaniu napełnionych strzykawkę, gdyż z szybkowaru wyjdą puste.

—
tłumaczenie: **cjuchu**