

MORPHOLOGICAL CHANGES IN METALS USED IN THE MANUFACTURE OF HANDLES FOR BIOLOGICAL CROP PLANTING

G. González^{ab*}, C. Hernández^a, C. Medina^a

^a Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud, sede Aragua. Escuela de Bioanálisis, Aragua, La Morita II, vía Maracay – Turmero. Final Avenida Ruiz Pineda. Código postal 2120, apartado Postal: 4944.

^b Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua (CIADANA)

*Autor de correspondencia: Gilberto González, e-mail: ggonzal@uc.edu.ve. Teléfono: 0243-771.3810.

Recibido: Mayo 2012. Aprobado: Julio 2012.

Publicado: Julio 2012.

ABSTRACT

Metallic handles loops are calibrated instruments used to quantify colonies in microbiological studies. These handles loops are expensive and the most common presentations are those made of platinum wire or nickel – chrome alloys. In order to look for more economic alternatives, it has been proposed the employment of common alloys, in wire presentation with varied diameters. It is important to know how different liquid and flame expositions can affect wire morphology, because it is a determining feature for applicability of certain alloys. In this study, metallic handles loops made of pure metals or alloy wires were used, such as: Fe-Zn, Ni-Cr, Cu and Au. They were used in the microbiological laboratory and sterilized in a flame approximately 500 to 2000 times before using them in the microscopic study. An Scanning Electron Microscope, Hitachi S-2300, was used under the Secondary Electrons (SE) mode with different zooms. Morphological changes were observed on the metallic surfaces of each loop sample and of virgin sample for every wire (not exposed to the flame). Results indicated that morphological modifications are present accordingly to the number of flame sterilizations. Metallic handles loops made of Fe-Zn and Ni-Cr presented the least damage on their surface, followed by those made of Cu, whereas those made of Au suffered the major damage / wear / build up, even though they were the least used.

Keywords: Metallic Handles Loops, Electron.

CAMBIOS MORFOLÓGICOS EN METALES EMPLEADOS EN LA FABRICACIÓN DE ASAS PARA LA SIEMBRA DE CULTIVOS BIOLÓGICOS

RESUMEN

Las asas metálicas son instrumentos calibrados que se emplean en el conteo de colonias en estudios microbiológicos. Estas asas son de elevado costo y comúnmente se fabrican con alambre de platino o aleaciones de níquel-cromo. Con el fin de buscar alternativas más económicas, se ha propuesto el empleo de aleaciones, de fácil obtención, en presentación de alambres con calibres variados. Es importante conocer cómo exposiciones a sustancias y a la llama podrían afectar la morfología de los alambres, porque de ello depende la aplicabilidad de determinadas aleaciones. En este estudio se emplearon asas fabricadas con aleaciones y metales puros, tales como: Fe-Zn, Ni-Cr, Cu y Au. Las cuales fueron utilizadas (esterilizadas a la llama) en el laboratorio microbiológico entre 500 a 2000 veces antes del estudio microscópico. Se empleó un Microscopio Electrónico de Barrido modelo Hitachi S-2300, bajo el modo de Electrones Secundarios (SE) a diferentes aumentos. Se observaron los cambios morfológicos en las superficies metálicas de cada asa junto con una muestra virgen de cada alambre (no expuesto a la llama). Los resultados indicaron que las modificaciones morfológicas varían según el número de esterilizaciones a la llama. Se encontró que las asas de Fe-Zn y Ni-Cr fueron las que presentaron menor daño en su superficie, seguidas de las de Cu, mientras que aquellas de Au fueron las que mayor daño/desgaste/depositos mostraron, a pesar de ser las menos usadas.

Palabras claves: Asas Metálicas, Microscopia Electrónica.

INTRODUCCIÓN

La primera asa metálica de la que se tiene conocimiento fue descrita en 1928 [1], y construida con alambre de platino puro. Las asas calibradas se emplean en el contaje de colonias en cultivos de muestras biológicas [2-4] y en

la actualidad se considera el uso de asas metálicas y plásticas para ese fin. Las mismas se consiguen con un volumen exactamente conocido, en presentaciones de 1, 10 y 50 μ L [3]. Dado el alto costo de importación y de fabricación de asas metálicas de Pt y de Ni-Cr,

actualmente fue estudiada una alternativa sencilla, económica e igualmente eficaz para la fabricación de asas de metales a partir de alambres comerciales disponibles en el mercado nacional, tales como: Fe-Zn, Ni-Cr, Cu y Au [5]. Es necesario evaluar, no solamente la inocuidad de estos metales sobre las células y microorganismos, sino también la durabilidad del instrumento antes de que pierda sus propiedades y/o calibración [6-10]. Con este estudio se intenta evaluar la durabilidad de los alambres propuestos mediante el empleo de una técnica de observación directa de la superficie como lo es la Microscopía Electrónica de Barrido. El propósito principal es observar los cambios morfológicos que sufren las superficies de estas asas metálicas después de haber sido expuestas a largos períodos de uso.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras fueron observadas con un Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), Marca Hitachi, Modelo S-2300, en modo de operación de electrones secundarios (SE). Las muestras, de alambre virgen y de asas con uso, fueron obtenidas de una investigación previa [11], donde las mismas habían sido sometidas a condiciones de trabajo variable, desde 500 a 2000 esterilizaciones a la llama (flameadas). De cada asa recibida, se seleccionaron fragmentos de la zona expuesta a la llama (aro) y de la zona no expuesta o virgen (astil) las cuales fueron colocadas, sin ningún tipo de preparación previa, en portamuestras diferentes, fijadas con cinta adhesiva de carbono.

RESULTADOS

Las muestras (fragmentos del aro, entorchado o liso, expuestos a la llama y del astil virgen no expuesto) fueron fijadas sobre una cinta adhesiva de carbono.

En la Figura 1A se presenta el fragmento correspondiente a la muestra virgen de Cu que forma parte del entorchado, observándose una superficie lisa y sin

acumulación de sedimentos. La Figura 1B muestra una micrografía de la zona entorchada del fragmento expuesto 500 veces a la llama. En esta se observa una acumulación de sedimentos sobre toda la superficie. La Figura 1C es una micrografía de una sección del aro que fue expuesta a la llama. Allí se distinguen irregularidades en la superficie con acumulación de sedimentos y, en algunas zonas, desgaste del metal.

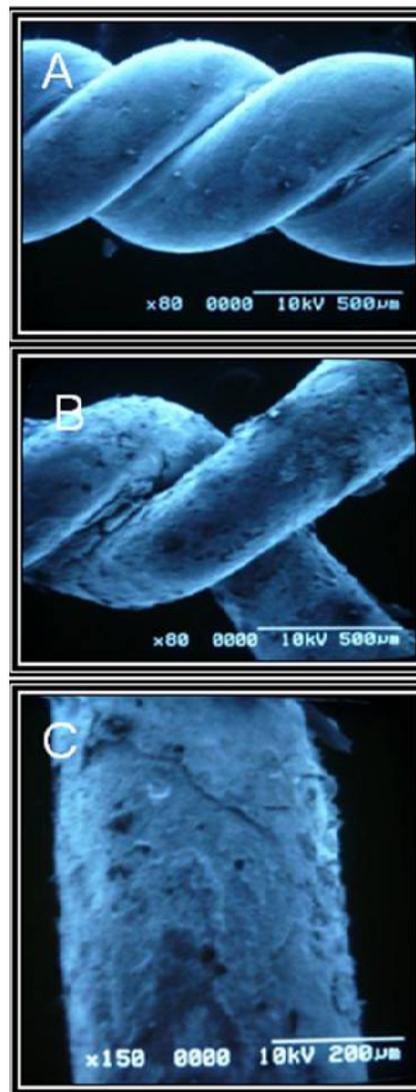


Fig.1. Muestra de Cu. (A) Virgen, 80x; (B) Flameada al menos 500 veces, 80x; (C) Flameada al menos 500 veces, 150x.

La Figura 2A corresponde a la aleación de Ni-Cr en estado virgen. Allí se observa una superficie

perfectamente lisa en toda la zona explorada. Mientras que en la Figura 2B, se presenta un fragmento de la misma aleación, expuesto a la llama sobre las 2000 veces. En este caso se aprecia una gran cantidad de sedimentos en los surcos del entorchado. La Figura 2C es una micrografía de la sección del aro del asa de Ni-Cr. En ésta es evidente la presencia de una irregularidad es el borde externo del alambre, con una superficie relativamente limpia y poca acumulación de sedimentos.

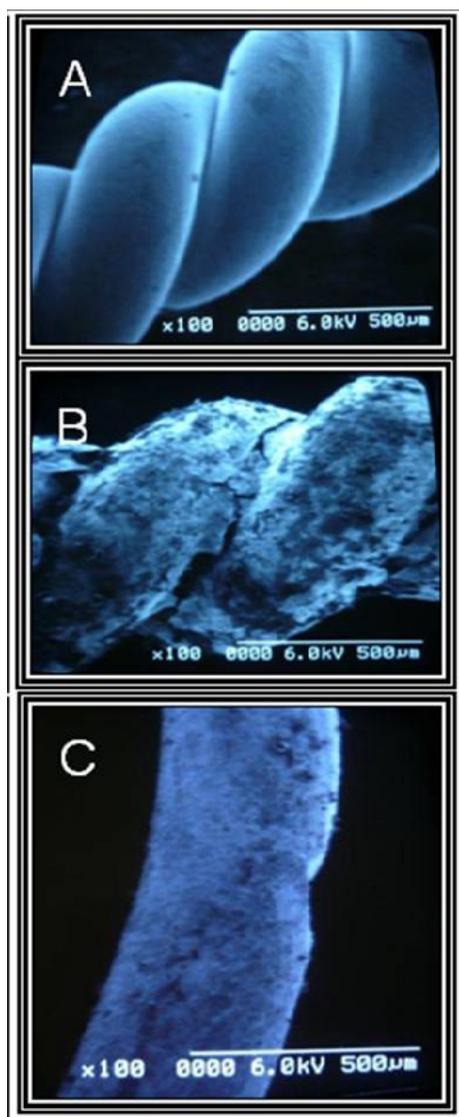


Fig.2. Muestra de Ni-Cr. (A) Virgen, 100x; (B) Flameada al menos 2000 veces, 100x; (C) Flameada al menos 2000 veces, 100x.

La Figura 3A corresponde a la sección virgen de la aleación de Fe-Zn. Allí se evidencia una superficie con muy pocas irregularidades. Mientras que, en la Figura 3B, donde se muestra un fragmento de la superficie del aro, la cual fue expuesta a la llama sobre las 1000 veces, es visible cierta irregularidad de la superficie pero, sin evidenciar daño profundo. Por último, la Figura 3C muestra una sección del aro, de la aleación de Fe-Zn, con una superficie bastante limpia, con poca acumulación de sedimentos y con moderada irregularidad en la zona observada.

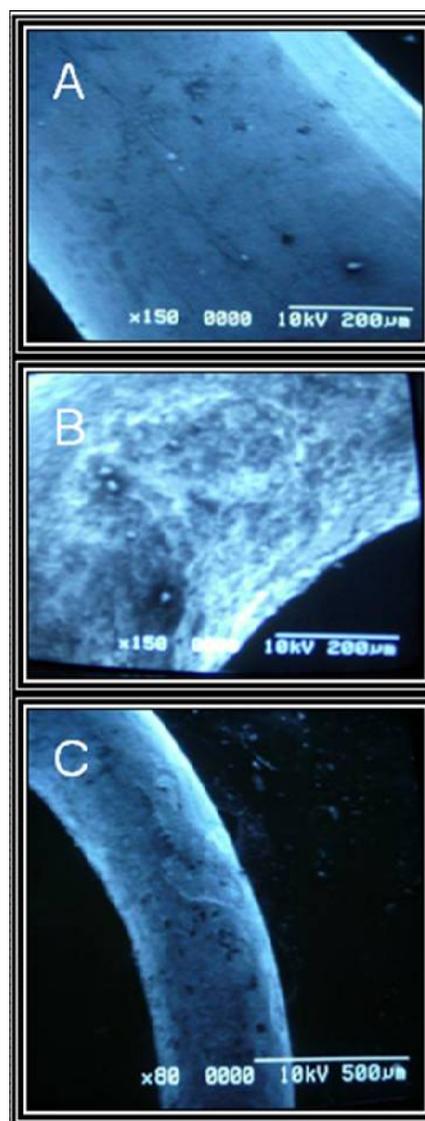


Fig.3. Muestra de Fe-Zn. (A) Virgen, 150x; (B) Flameada al menos 1000 veces, 150x; (C) Flameada al menos 2000 veces, 80x.

La Figura 4A muestra un fragmento virgen del entorchado del asa de Au. En general, se observa una superficie lisa con escasa acumulación de sedimentos. La Figura 4B exhibe la zona de unión entre el aro y el entorchado, expuesta a la llama sobre las 500 flameadas. Aquí se observa una clara deformación en la superficie pero no hay acumulación de sedimentos. En la Figura 4C se observa una zona del aro. En este caso la superficie presenta una notable deformación en toda el área observada.

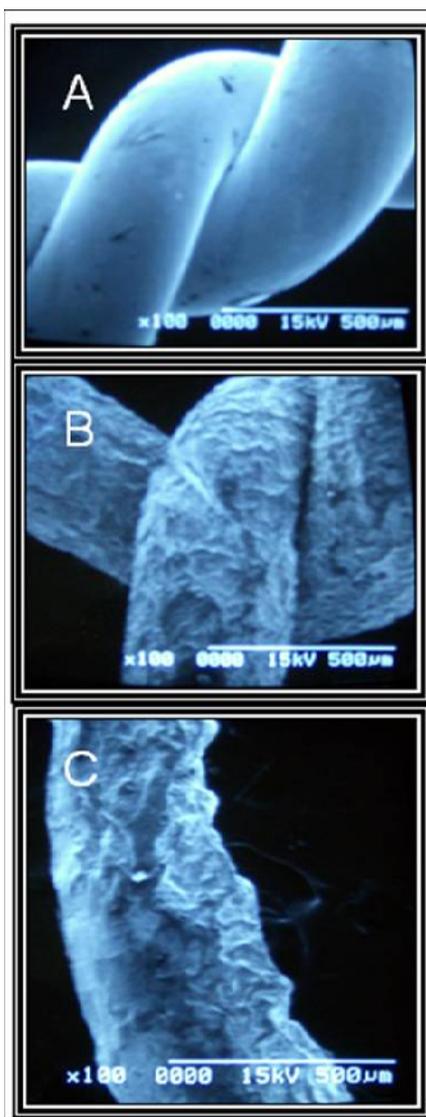


Fig.4. Muestra de Au. (A) Virgen, 100x; (B) Flameada al menos 500 veces, 100x; (C) Flameada al menos 500 veces, 100x

CONCLUSIONES

Las observaciones de las micrografías, de las distintas secciones de las muestras de las asas estudiadas, obtenidas por Microscopía Electrónica de Barrido permiten asegurar que el comportamiento de los alambres varía según el número de esterilizaciones a la llama a las cuales hayan sido sometidos.

El alambre constituido por Fe y Zn, es en realidad una superficie de hierro recubierto con una capa de Zn (hierro galvanizado) la cual le confiere resistencia a la corrosión. El zinc es el recubrimiento metálico más utilizado por su capacidad de sacrificio para proteger la base que lo soporta, que en este caso, es el alambre de hierro [12]. Por esta razón, no es de extrañar que en este trabajo se encontrara que las asas de Fe-Zn sean las que menos cambios morfológicos sufrieran durante su uso rutinario. Estos resultados son comparables con los obtenidos para las asas fabricadas con una aleación de Ni-Cr. Estas aleaciones son muy resistentes a la corrosión y a la oxidación a altas temperaturas [13-14]. Estas asa metálicas de Fe-Zn y Ni-Cr fueron usadas y flameadas en el laboratorio 1000 veces aproximadamente, el cual representa un uso importante para estos instrumentos.

Por otro lado, el grosor del alambre de Fe-Zn obliga a que la extremidad por donde se sujeta (astil) el asa al mango o soporte, sea lisa y no entorchada, a diferencia de las asas fabricadas con alambre de aleación de Ni-Cr, que por ser un alambre más delgado puede ser entorchado para darle mayor dureza. Se observa en los resultados que estos entorchados del astil del asa se convierten en cavidades o depósitos de materia orgánica. Al flamear las asas para su esterilización, los residuos orgánicos forman capas o costras, cambiando así la morfología del aro y posiblemente su capacidad para contener las soluciones a ser sembradas. Si el daño es masivo, lo cual se logra con el uso prolongado de las asas, esto puede ser un factor importante porque apunta a la pérdida de la calibración, además de que se acorta la vida útil del asa.

Las asas de Cu ocupan el tercer lugar en cuanto a cambios morfológicos de los alambres. Estas fueron empleadas unas 500 veces aproximadamente y a pesar del poco uso que se les dio en el laboratorio, en comparación con las anteriores, muestran alta tendencia a la formación de costras y capas residuales de material orgánico sobre su superficie.

Finalmente, las asas de Au resultaron ser las menos adecuadas para ser usadas en la fabricación de estos instrumentos debido a su poca dureza, alta maleabilidad y ductilidad. En este caso se observó el mayor daño/desgaste/depósitos comparando con las anteriores, aun cuando se utilizó muy poco en el laboratorio, esto debido a las propias características metalúrgicas del oro tales como su dureza, maleabilidad, entre otros.

En conclusión, los alambres de Fe-Zn (hierro galvanizado) y aleaciones de Ni-Cr son las mejores alternativas para la fabricación de asas para la siembra de cultivos biológicos por su desempeño además de ser económicas y confiables.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Prof. Olivar Castejón y Prof. Rafael Eduardo Golding de la UCV, por permitir el uso del MEB e instalaciones del CIADANA y la fabricación de las asas analizadas, respectivamente

REFERENCIAS

- [1] Burri, P. (1928). "The quantitative smear-culture: a simple means for the bacteriological examination of milk". *Report of Proceedings World's Dairy Congress*. pp 690-697.
- [2] Albers A.C, Fletcher R.D. (1982). "Simple method for quantitation of viable micoplasma", *Appl Environ Microbiol*. 43(4):958-60.
- [3] Fridomdt-Moller N, Espersen F.(2000). "Evaluation of calibrated 1 and 10 microl loops and dipslide as compared to pipettes for detection of low count bacteriuria in vitro". *APMIS*. 30:525-30.
- [4] Deldari M. (2000). "Designing a new programme for calibration of bacteriological loops". *Clin Microbiol Infect*. 26:903-16.
- [5] Skoog DA.n (1971) Principles of Instrumental Analysis. New York: Holt, Rinehart and Winston, pp. 182-193.
- [6] Jaugen J., Strom O, Ostervold A. (1968). "Bacterial counts in urine. The reliability of the loop technique". *Acta Pathol Microbiol Scand*. 74:391-6.
- [7] Albers, A., Fletcher, C. (1983). Accuracy of calibrated -loop transfer. *Journal of Clinical Microbiology*. 18(31), 40-42.
- [8] Fridomdt, M., Espersen. F. (2000)."Evaluation of caliber 1 and 10 microliter loops and dips as compared to pipettes for low count bacteriuria in vitro" *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 30:525-530.
- [9] Jacobs, J., De Brauwer, E., Cornelissen, I., Drent, M. (2000). "Accuracy and Precision of Quantitative Calibrated Loops in Transfer of Bronchoalveolar Lavage Fluid". *Journal of Clinical Microbiology*, 38(6):2117-2121.
- [10] Figueroa Y., Camero S., Prin J., Réquiz R. (2008). Evaluación de la corrosión inducida por bacteria sulfato reductora en un acero inoxidable 316L. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*. 28(1):60-72.
- [11] Hernandez, C., Herrera D., Lopez P., Duque J., Perez L., Golding R. (2010). Asas metálicas calibradas para microbiólogos: una alternativa de fabricación nacional. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 30:37-42.
- [12] Marder A.R (2000) "The metallurgy of zinc-coated-steel". *Progress in Materials Science* 45(3):191-271.
- [13] Walmsley J.C., Albertsen J.Z., Friis J., Mathiesen R.H. (2010). "The evolution and oxidation of

carbides in an Alloy 601 exposed to long term high temperature corrosion conditions” *Corrosion Science* 52 (12):4001–4010.

- [14] Stella J., Sánchez A., Ruiz A. (2008). “Morfologías de Oxidación a altas temperaturas de una Superaleación sinterizada ni-Al-Cr”. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*. 28(1):18-28.