



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **1 061 288**

⑫ Número de solicitud: U 200502251

⑮ Int. Cl.7: **A01G 13/00**

⑫

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

⑫ Fecha de presentación: **14.10.2005**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.01.2006**

⑰ Solicitante/s: **Universidad de Murcia  
Campus Universitario de Espinardo  
30100 Espinardo, Murcia, ES**

⑱ Inventor/es: **Gómez López, Pedro;  
Río Conesa, José Antonio del;  
Ortuño Tomás, Ana María y  
González Baidez, Ana**

⑲ Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

⑳ Título: **Tapón para extracción de gases producidos *in vitro*.**

ES 1 061 288 U

## DESCRIPCIÓN

Tapón para extracción de gases producidos *in vitro*.

### Campo de la invención

La presente invención se refiere a un tapón para la extracción de gases o compuestos volátiles producidos por material vegetal cultivado *in vitro*, para su colocación en tubos de ensayo y permitir el análisis de los gases producidos por el material vegetal introducido en dichos tubos de ensayo.

Más concretamente se trata de un tapón específico que permite analizar la bioproducción de gases en plántulas cultivadas *in vitro* o en frutos conservados. Su aplicación se extiende a numerosas áreas como la fisiología vegetal, agricultura, tecnología de los alimentos, farmacia,... y en general cualquier análisis de gases en biotecnología.

### Estado de la técnica

El sector de la técnica al que pertenece la invención es el de análisis de gases en laboratorio, en especial el análisis de gases producidos por material vegetal.

Para este análisis es necesario un tapón de tubo de ensayo que permita tapar la parte superior de un tubo de cultivo *in vitro* donde se haya cultivado una plántula, semilla o cualquier otro material vegetal, que necesite de un intercambio gaseoso ( $O_2/CO_2$ ) con el exterior, pero con la particularidad de que no sea contaminado con agentes externos.

Hasta el momento, los tubos de cultivo *in vitro*, han sido tapados con tapones de algodón y gasa o de polipropileno, los cuales cierran herméticamente el recipiente (no permitiendo estos últimos la entrada de oxígeno, con el fin de evitar contaminaciones) o incluso con tapones Sero-Tap (comercializados por la empresa J.P. Selecta S.A. establecida en Abrera (España)), que sí permiten el intercambio gaseoso pero no la posibilidad de extraer los gases producidos por el material vegetal.

En el caso de desear analizar estos gases, o bien se retira el tapón con lo que se pierde una gran cantidad de gas y se introduce aire del ambiente en el tubo de ensayo diluyendo y contaminando el resto de gases por lo que el resultado del análisis es erróneo, o se procede a la rotura del tapón mediante una aguja o semejante para extraer el gas, haciendo que el tapón pierda la hermeticidad y pueda ser contaminado el cultivo. En este segundo caso se ha de cambiar el tapón, existiendo un riesgo aún mayor de contaminación.

Una solución contra la contaminación es directamente descartar ese tubo de ensayo, realizando los siguientes análisis sobre otras muestras de cultivo para observar la evolución a lo largo del tiempo, lo que resulta en menor fiabilidad de los resultados, y en la necesidad de una mayor cantidad de muestras, incrementando el precio del ensayo.

Un segundo ejemplo de tapón es el presente en los documentos ES 1002152 y ES 0206329, cuyos tapones consisten en piezas troncocónicas o cilíndricas deformables. Estos tapones presentan los mismos problemas.

### Descripción de la invención

La presente invención se refiere a un tapón de tubo de ensayo que permite la extracción de gases bioproducidos en su interior para su análisis. Este tapón soluciona los problemas debidos a la extracción de gases

del tubo de ensayo, permitiendo que se analice parte de ellos sin perderse el resto ni arriesgar a la contaminación del cultivo introducido en el tubo de ensayo, y facilitando el estudio de los gases o compuestos volátiles generados a lo largo del tiempo.

Una vez extraídos los gases se pueden analizar por distintas técnicas como, por ejemplo, por cromatografía de gases.

El tapón comprende un cuerpo cilíndrico o troncocónico de materia plástica, donde se realiza un orificio pasante entre las dos bases o superficies planas del cuerpo. Este orificio está taponado por una válvula que dispone de una membrana elástica.

Dicha membrana elástica, realizada en un material como, por ejemplo, goma o silicona, presenta la propiedad de recuperar la hermeticidad tras ser atravesada por una aguja hipodérmica o semejante.

El tapón comprende además un capilar que atraviesa completamente dicho tapón, y posee una primera boca interna al tubo de ensayo (cuando el tapón está dispuesto en un tubo de ensayo) y una boca externa.

El capilar presenta un codo por encima de la superficie superior del tapón, de forma que la boca externa queda orientada sensiblemente hacia abajo, evitando la contaminación con microorganismos, como bacterias, hongos,... presentes en el ambiente.

Este capilar ofrece la ventaja de permitir el intercambio de  $O_2/CO_2$  entre el tubo de ensayo y el exterior, y además permite que no se acumulen los gases producidos por el cultivo, lo que sería altamente perjudicial para dicho cultivo, y provocaría su repentina senescencia.

Además, esta ventilación permite obtener en cada momento el valor real del gas o compuesto volátil producido en ese instante.

### Descripción de los dibujos

Para una mejor comprensión de la invención, se incluyen las siguientes figuras:

Figura 1: Vista general de un tubo de ensayo conteniendo el tapón de la invención.

Figura 2: Vista general del tapón.

Figura 3: Sección longitudinal del tapón.

### Descripción de un modo de realización

A continuación se pasa a describir de manera breve un modo de realización de la invención, como ejemplo ilustrativo y no limitativo de ésta.

Como se puede observar en las Figuras 1, 2 y 3, la invención comprende un tapón (1) para un tubo de ensayo (2) que contiene un espécimen de materia (7) biotecnológica, la cual puede ser de cualquier tipo que genere algún tipo de gas.

El tapón (1) está formado a partir de un cuerpo (4) del tapón (1) realizado en un material elástico. Este cuerpo (4) tiene una forma general cilíndrica o troncocónica de diámetro ligeramente superior al diámetro del tubo de ensayo (2) que cerrará. De esta forma al introducirse el tapón (1) en el tubo de ensayo (2), se habrá de forzar ligeramente al cuerpo (4) del tapón (1) y se asegurará la hermeticidad al tender el cuerpo (4) a recuperar el diámetro inicial.

Dado que los tubos de ensayo (2) están normalizados, igualmente lo estarán los diámetros de los tapones (1).

En el cuerpo (4) está realizado un orificio (8) pasante entre las dos caras planas. Este orificio (8) puede, o no, estar alineado con el eje del cuerpo (4), pero en todo caso no se situará demasiado cercano de un borde de dicho cuerpo (4) para que no afecte al con-

tacto entre el cuerpo (4) y el tubo de ensayo (2).

La boca superior del orificio (8) se tapa con una válvula (5) que comprende un septum o membrana (6), por ejemplo realizada en goma o silicona, la cual puede ser perforada por una aguja de jeringa en caso de desear obtener una muestra del gas presente en el tubo de ensayo, volviendo la membrana (6) a recuperar la estanqueidad una vez retirada la aguja. Este tipo de válvulas (5) es conocido en el estado de la técnica, por lo que no se describirá en mayor detalle.

Un capilar (3) de forma acodada atraviesa longitudinalmente el cuerpo (4) permitiendo el intercambio de gases entre el interior del tubo de ensayo (2) y el exterior, sin permitir la contaminación de la materia (7). Para ello una boca externa (9) de dicho capi-

lar (3), situada por fuera del tubo de ensayo (2), está orientada sensiblemente hacia abajo.

Como ejemplo de aplicación del tapón (1) de la invención, se puede mencionar la medición de la tasa de bioproducción de etileno (una fitohormona de naturaleza gaseosa, producida en situaciones de estrés) en plántulas cultivadas *in vitro*. Para ello, se cultiva dicho material vegetal por la técnica de cultivo *in vitro*, y los tubos de ensayo (2) de cultivo son tapados con los tapones (1) de la invención. Estos tapones (1) permiten que las plántulas no mueran por asfixia, y proporcionan la posibilidad de extraer cuantas muestras sean necesarias para su cuantificación, a lo largo del tiempo de su cultivo, a través de la membrana (6), evitando la contaminación microbiológica.

# REIVINDICACIONES

1. Tapón para extracción de gases producidos *in vitro*, del tipo que cierra un tubo de ensayo (2) mediante un tapón (1) formado por un cuerpo (4) de tapón (1) cilíndrico o troncocónico de materia plástica, **caracterizado** porque el cuerpo (4) presenta:

un orificio (8) pasante entre sus dos superficies planas, en cuya boca superior dispo-

ne de una válvula (5) que comprende una membrana (6) elástica; y

un capilar (3) acodado que atraviesa longitudinalmente el cuerpo (4), con una boca del capilar (3) interna al tubo de ensayo (2) y una boca externa (9) a dicho tubo de ensayo (2), y cuya boca externa (9) está orientada de forma sensiblemente hacia abajo.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

