प्रयोग 1 जीवाणु पोष तैयार करना

इकाई की रूपरेखा

1.1 प्रस्तावना
उद्देश्य
1.2 प्रयोग
सिद्धांत
वांछित सामग्री (उपकरण/मशीनरी/औजार तथा रसायन/सामग्री)
प्रक्रिया
पर्यवेक्षण
परिणाम
1.3 सावधानियां

1.1 प्रस्तावना

सूक्ष्मजीवों को अपने जीवन का अस्तित्व बनाए रखने के लिए अन्य सभी जीवित जीवों की भांति, कुछ मूल पोषक तत्वों और भौतिक घटकों की आवश्यकता होती है। तथापि, उनकी विशिष्ट आवश्यकताओं में बहुत भिन्नता होती है। प्रयोगशाला में सूक्ष्मजैविक कोशिकाओं की पोषण संबंधी आवश्यकताओं की पूर्ति विभिन्न प्रकार के माध्यमों से की जाती है, जो उनकी पहचान करने या उनकी उपस्थिति का पता लगाने के लिए भी अत्यंत आवश्यक हैं। खाद्य में विकृति का मूल्यांकन तथा जीवाणु, खमीर और फफूंदी के पहचान हेतु प्रयुक्त होने वाले सूक्ष्मजैविक माध्यम का वर्णन इस अध्याय में किया गया है।

उद्देश्य

इस प्रयोग के अध्ययन एवं निष्पादन के बाद आप निम्न कार्य कर सकेंगेः

- यह जान सकेंगे कि सूक्ष्मजीव सर्वव्याप्त प्रकृति के होते हैं तथा उन्हें प्रजातियों के अनुसार अलग–थलग नहीं किया जा सकता है। ये अनेक अन्य कोशिका किस्मों के मिश्रण के रूप में विद्यमान रहते हैं; और
- विभिन्न प्रकार के ऐसे माध्यम तैयार करना सीख सकेंगे जो पृथक कोलोनियां सृजित करने के लिए सूक्ष्मजीवों के किसी विशिष्ट वंश के लिए उपयुक्त होते हैं।

1.2 प्रयोग

1.2.1 सिद्धांत

विभिन्न प्रकार के सूक्ष्मजीवों की पहचान, उनकी गणना तथा उनके पृथक्करण के लिए अनेक विशेष उद्देश्य वाले माध्यमों की आवश्यकता होती है। इसे ध्यान में रखते हुए सूक्ष्मजीव वैज्ञानिकों ने ऐसे अनेक माध्यम तैयार किए हैं जो उनके कार्यों के आधार पर निम्नलिखित वर्गों में वर्गीकृत किए जा सकते हैं :

क) चयनशील माध्यम

ये माध्यम ऐसे पोषक तत्व प्रदान करते हैं जो किसी विशेष जीवाणु की वृद्धि और प्रमुखता को बढ़ाने में सहायक होते हैं, लेकिन किसी अन्य प्रकार के ऐसे जीव को बढ़ाने में सहायक नहीं होते हैं जो वहां उपस्थित हो (यहां तक कि अन्य जीवाणु की वृद्धि को निरुद्ध कर सकते हैं)। उदाहरण के लिए जिस माध्यम में सेल्यूलोज का

एकमात्र स्रोत कार्बन होता है उसका चयन ऐसे सेल्यूलोज–उपयोग करने वाले जीवों की वृद्धि को समृद्ध बनाने के लिए किया जाता है, जिन्हें मृदा के उस नमूने में मिलाया जा सकता है जिसमें अनेक प्रकार के जीवाणु होते हैं।

ख) विभेदनशील माध्यम

कुछ अभिकर्मक या पूरक जब संवर्धन या कल्चर माध्यम में मिलाए जाते हैं तो वे विभिन्न प्रकार के सूक्ष्मजीवों को विभेदित कर देते हैं। उदाहरण के लिए यदि सूक्ष्मजीवों के किसी मिश्रण को एगर माध्यम युक्त रक्त (रक्त एगर) से टीकाकृत किया जाता है तो कुछ जीवाणु रक्त की लाल रक्त कोशिकाओं को नष्ट कर देते हैं, जबकि कुछ अन्य जीवाणु ऐसा नहीं करते हैं। इस प्रकार एक ही माध्यम में हीमोलिटिक और गैर–हीमोलिटिक जीवाणुओं के बीच भेद किया जा सकता है।

1.2.2 वांछित सामग्री (उपकरण/मशीनरी/औजार एवं रसायन/सामग्री)

- ऑटोक्लेव (सुवाह्य)
- तुला
- हीटिंग मैंटल/वाटर बाथ
- pH मीटर
- पार्श्व (स्तरीय) वायु प्रवाह
- हलित्र या स्टिरर
- पिपेट
- आसुत जल
- माध्यम (पोषक एगर, आलू डेक्सट्रोज़ एगर, वॉयलेट रेड बाइल एगर, प्लेट काउंट एगर)
- परखनलियां या टैस्ट ट्यूब
- बीकर
- रुई की डाटें
- pH पेपर
- नपना सिलिण्डर

1.2.3 प्रक्रिया

सूक्ष्मजैविक संवर्धन तैयार करने में सामान्यतः निम्नलिखित चरण सम्मिलित हैं:

1. निर्जलीकृत आधार माध्यम की उचित मात्रा अथवा प्रयुक्त होने वाले घटकों को उचित अनुपात में सावधानीपूर्वक तौलें और इन्हें आसुत जल की उपयुक्त मात्रा में घोलें तथा गर्म करें। माध्यमों की संरचना अनुबंध 1 में दी गई है।

2. माध्यम का pH ज्ञात करें और यदि आवश्यक हो तो तनु अम्ल या क्षार के साथ इसे समायोजित करें।

3. यदि ठोस माध्यम वांछित हो तो एगर (1.5–2%) मिलाएं और एगर को घोलने के लिए माध्यम को उबालें।

4. माध्यम को नलिकाओं या फ्लास्कों में डालें। प्रत्येक पात्र में डाले गए माध्यम की मात्रा सीमित होनी चाहिए और किसी भी स्थिति में माध्यम का आयतन पात्र की ऊपरी सतह से 2.5 सें.मी. से ऊपर नहीं होना चाहिए।

5. ऑटोक्लेव में 121^0 से. पर 15 मिनट तक ऑटोक्लेव करें। कुछ ऐसे माध्यम जो ताप संवेदी होते हैं (अथवा विशिष्ट घटक), छनन (निस्यन्दन) द्वारा निर्जर्मीकृत किए जाते हैं।

1.2.4 पर्यवेक्षण

pH मीटर या रंग संकेतक घोलों का उपयोग करते हुए pH नोट करें। अगली प्रयोगशाला कक्षा में संदूषण नोट करें, ताकि यह सुनिश्चित हो सके कि उचित निर्जर्मीकरण हुआ है। यदि किसी फ्लास्क में संदूषण हुआ हो तो उसकी सामग्री को हटा दें तथा फ्लास्क को विसंदूषणकारक घोल से धोएं।

1.2.5 परिणाम

इस प्रयोग को करने के बाद आप देखेंगे कि जीवाणुओं की वृद्धि के लिए उपयुक्त माध्यम पोषक एगर (pH 6.8-7-0) अथवा प्लेट काउंट एगर (pH 7.0) होता है, जबकि यीस्ट (खमीर) और फफूंद के लिए यह आलू डेक्सट्रोज एगर (pH 5.6) तथा माल्ट एगर (pH 5.4) होता है।

1.3 सावधानियां

- माध्यम का pH पूर्णतः शुद्ध रूप में समायोजित करें, ताकि सूक्ष्मजीवों की वृद्धि के लिए अनुकूल स्थितियां उपलब्ध हो सकें। निर्जर्मीकरण और संभावित ब्राउनिंग क्रिया के दौरान माध्यम का pH परवर्तित हो सकता है, अतः यह आवश्यक है कि माध्यम तैयार करने में अनुशंसित समय और तापमान ही रखे जाएं व इन्हें अनुशंसित सीधा से अधिक न रखा जाए।

- माध्यम की इतनी मात्रा तैयार करें कि यदि उसे भंडारित किया जाता है तो वाष्पन के द्वारा होने वाली नमी की क्षति होने से पूर्व उसे प्रयुक्त कर लिया जाएगा।

- भंडारण के दौरान फ्लास्कों और नलिकाओं में उपस्थित माध्यम से जल के अतिरिक्त वाष्पन और संदूषण से बचने के लिए ऑटोक्लेव करने से पूर्व फ्लास्कों या नलिकाओं के मुख पर ऐलुमिनियम की पन्नी या प्लास्टिक लगा देनी चाहिए और रबड़ बैंड से हल्का बांध देना चाहिए। ऐलुमिनियम की पन्नी या प्लास्टिक लगाते समय यह ध्यान रखें कि वायु निकलने की व्यवस्था बनी रहे, जिससे पात्र दबाव के कारण फटे या फूटे नहीं।

- ऑटोक्लेव में आवश्यकता से अधिक सामग्री न भरें, ताकि वायु निष्कासन तथा ऊष्मन की दर अत्यंत धीमी न हो जाए। ऑटोक्लेव में 121^0 से. (15 psi) तापमान धीरे–धीरे सृजित होना चाहिए, लेकिन यह वायु निष्कासन क्रिया आरंभ होने के 10 मिनट के अंदर हो जाना चाहिए।

- फ्लास्क अथवा परख नलियों को कागज़ से लिपटी रुई की डाट लगा देनी चाहिए।

- निर्जर्मीकरण के पश्चात ऑटोक्लेव में दबाव धीरे–धीरे कम करना चाहिए (इसमें कम से कम 15 मिनट लगने चाहिए) क्योंकि इस अवस्था में द्रव वातावरणीय दबाव पर अपने क्वथनांक पर होते हैं, अतः खौलती हुई अवस्था में होते हैं। यदि दबाव शीघ्रता से कम कर दिया जाता है तो द्रव खौलकर पात्र से बाहर आ सकता है।

- प्रयुक्त की गई प्लेटों, पिपेटों, नलिकाओं आदि को निरंतर 121^0 से. पर 30 मिनट तक ऑटोक्लेविंग द्वारा विसंदूषित किया जाना चाहिए।

- माध्यमों को $2–8^0$ से. तापमान पर सूखे और धूल रहित क्षेत्र में भंडारित करना चाहिए तथा इसे सूर्य के प्रकाश के सीधे सम्पर्क में नहीं आने देना चाहिए।