Saturated and unsaturated fatty acid:- (Structure, Property and classification)

वसीय अम्ल (Fatty acid) सामान्यतः carboxylic acid हैं जिनमें लंबा aliphatic chain पाया जाता है। जो कि संतृप्त (saturated) या असंतृप्त (unsaturated) होते हैं।

* प्रकृति में पाये जाने वाले अधिकतर Fatty acid में एक अशाखित (unbranched) कार्बन श्रृंखला होती है जिसमें C की संख्या 4 से 28 होता है।
* वसीय अम्ल (Fatty) acid सामान्यतः कोशिका का मुख्य संरचनात्मक अवयव है एवं साथ ही साथ जन्तु (animal) के ऊर्जा का स्त्रोत (source of energy) है।

वसीय अम्ल (Fatty acid) को सामान्यतः दो भागों में बांटा जाता है।

Saturated Fatty acid :- ये ऐसे वसीय अम्ल हैं जिनमें C श्रृंखला के मध्य दोहरा बंध (double bond) नहीं पाया जाता। इसका सामान्य सूत्र $CH_3(CH_2)_nCOOH$ होता है। जहाँ n का मान 4 से 28 तक होता है।
प्रकृति में बहुतायत में पाये जाने वाले Fatty acid के अंतर्गत Palmitic acid (C_{16}) एवं stearic acid (C_{18}) आते हैं।

Example

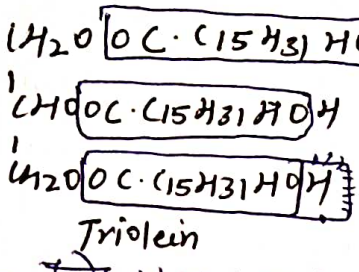
Caprylic acid:	$CH_3(CH_2)_6COOH$	8:0
Capric acid:	$CH_3(CH_2)_8COOH$	10:0
Lauric acid	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	12:0
myristic acid	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	14:0
palmitic acid	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	16:0
stearic acid	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	18:0
Archidic acid	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	20:0
Behenic acid	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$	22:0
Lignoceric acid	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	24:0
cerotic acid	$CH_3(CH_2)_{24}COOH$	26:0

* संतृप्त वसीय अम्ल कमरे के तापक्रम (Room Temprature) में ठोस (Solid) होते हैं।

Unsaturated Fatty acid :- इस वसीय अम्ल में एक या अधिक दोहरा बंध (C=C) पाया जाता है। जिसके कारण ये cis या trans रूपों में पाये जाते हैं।
cis fa-chain में double bond से जुड़े हुए हाइड्रोजन श्रृंखला के समान दिशा में होते हैं।

Chemical Property :-

Hydrolysis : ~~क्षार जैसे NaOH एवं KOH के~~ धात्विक अम्ल, क्षार या एन्जाइम जैसे Lipase या अन्य के द्वारा जलअपघटन के द्वारा glycerol एवं संगत (constituent) fatty acid बनाते हैं।

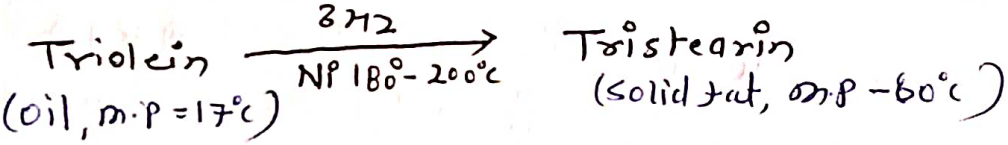


$$\begin{matrix} CH_2OOC\cdot C_{15}H_{31} \\ | \\ CHOOC\cdot C_{15}H_{31} \\ | \\ CH_2OOC\cdot C_{15}H_{31} \end{matrix} + 3H_2O \xrightarrow{\text{Lipase}} \begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{matrix} + 3C_{15}H_{31}COOH$$

Triolein → Glycerol + Palmitic acid

क्षार जैसे NaOH या KOH के द्वारा जलअपघटन (Hydrolysis) के द्वारा fatty acid के सोडियम या पोटेशियम लवण बनाते हैं जिन्हें साबुन (soap) कहा जाता है एवं यह प्रक्रिया साबुनीकरण (saponification) कहलाती है।

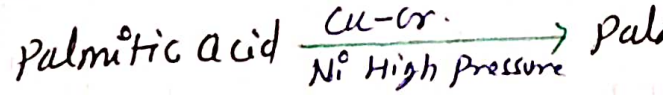
Hydrogenation :- उच्च ताप, दाब एवं Ni उत्प्रेरक की उपस्थिति में असंतृप्त वसीय अम्ल (तेल (oil)) ठोस वसा (solid fat) में परिवर्तित हो जाते हैं। यह प्रक्रिया से वनस्पति घी बनता है।



$$\text{Triolein} \xrightarrow[\text{Ni } 180^\circ - 200^\circ C]{3H_2} \text{Tristearin}$$

(oil, m.p = 17°C) (solid fat, m.p − 60°C)

Hydrogenolysis : कापर-क्रोमियम (Cu-Cr) उत्प्रेरक की उपस्थिति में उच्च दाब पर वसीय अम्ल का अपघटन हो जाता है एवं Glycerol एवं लंबी श्रृंखला युक्त aliphatic alcohol बनाते हैं।



$$\text{Palmitic acid} \xrightarrow[\text{Ni High Pressure}]{Cu-Cr} \text{Palmityl alcohol} + \text{Glycerol}$$

Halogenation :- जब असंतृप्त वसीय अम्ल को हैलोजन जैसे आयोडीन (I_2) या क्लोरीन (Cl) से क्रिया कराया जाता है तब इनका हैलोजीनीकरण हो जाता है। जो असंतृप्तता की पहचान कराता है।

Reaction with alcohol :- fatty acid alcohol के साथ क्रिया कर एस्टर (ester) बनाते हैं।

3 Fatty acid + Glycerol → Triacyl glycerol.

Rancidity : यह वह अवस्था है जिसमें fat में दुर्गंध (bad smell) आने लगता है। यह सामान्यतः असंतृप्त वसीय अम्ल में पाया जाता है जिसका मुख्य कारण autooxidation है। इस प्रक्रिया में धातु आयन मदद करते हैं।

Co-enzyme and Co-factor :- सामान्यतः enzyme, Protein से मिलकर बनें होते हैं। परंतु कई enzyme में non-Protein भाग उपस्थित होता है जो enzyme की क्रियाशीलता के लिये आवश्यक होता है। इस प्रकार के enzyme का प्रोटीन वाला भाग apoenzyme कहलाता है जबकि non-Protein भाग co-factor कहलाता है। यह cofactor धातु आयन (metal ion) या कार्बनिक अणु (organic molecules) हो सकता है। जब यह कार्बनिक अणु (organic molecules) के रूप में होता है तब उसे co-enzyme कहते हैं। apoenzyme और co-factor युक्त पूर्ण enzyme को holoenzyme कहते हैं।

Enzyme जिसमें metal ion co-factor के रूप में उपस्थित होता है जैसे Mg^{+2}, Fe^{+2}, Fe^{+3}, K^{+} etc. इसमें यह metal ion, क्रियाकारक (substrate) और एन्जाइम को जोड़ने हेतु उत्प्रेरित ~~बिन्दु~~ केन्द्र (catalytic centre) की तरह कार्य करते हैं। वह enzyme जिसमें metal ion cofactor के रूप में उपस्थित होता है metaloensyme कहलाता है।

e.g- Phosphotransferase (Mg^{+2} as a metal cofactor)
Cytochrome (Fe^{+2} as a metal cofactor), catalase (Fe^{+3} as a metal co-factor)

Co-ensyme जो कि complex-organic molecules होता है के अंतर्गत विटामिन आते हैं। यदि co-enzyme enzyme अणु से तीव्रता से बंधा होता है तब उसे Procthetic group कहा जाता है।

कुछ महत्वपूर्ण co-enzyme के अंतर्गत Nicotinamide उत्पन्न, flavin adenine dinucleotide (FAD) derivatives आते हैं।

Classification of co-enzyme :-

(a) हाइड्रोजन संवाहक को एन्जाइम (Hydrogen-carrying co-enzyme)

ये co-enzyme हाइड्रोजन का स्थानांतरण करते हैं इसके उदाहरण निम्न हैं :-

(i) Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) तथा nicotinamide adenine dinucleotide Phosphate (NADP)

दोनों ही को एन्जाइम निकोटिनामाइड, राइबोस और एडिनोसिन फास्फेट के संयोजन से बनें होते हैं

ये co-enzyme अभिक्रियाओं में हाइड्रोजन (H+) का स्थानान्तरण करते हैं।

(ii) फ्लेविन मोनो-न्युक्लियोटाइड (FMN) :- यह पौधो में जन्तुओं एवं कीटों में पाया जाता है। इसमें प्रकाश उत्पन्न एवं Mg^{+2} तथा ATP की उपस्थिती में संदीप्ति (Luminescence) की क्रिया होती है। कुछ कीट जैसे- फोटिनस पाइरोलिस (Photinus Pyrolis) में इस यौगिक के कारण संदीप्ति की क्रिया होती है।

(iii) फ्लेविन एडिनिन डाइन्यूक्लियोटाइड (FAD) :- FAD को-एन्जाइम FMN और ATP की क्रिया से संश्लेषित होता है। डिहाइड्रोजिनेस (dehydrogenase) के साथ FMN अथवा ATP को-एन्जाइम सबस्ट्रेटों का अपचयन करते हैं। कुछ FAD को-एन्जाइमों में मालिब्डेनम (Mo), लौह (Fe) तथा ताम्र (Cu) रहते हैं।

पालक में ग्लाइकोलिक अम्ल आक्सीडेज (Glycolic acid oxidase) पाया जाता है जो FAD की सहायता से ग्लाइकोलेट (Glycolate) को ग्लाइऑक्सिलेट (Glyoxylate) में परिवर्तित करता है।

$$\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ COOH \end{array} \xrightarrow{FAD} \begin{array}{c} CHO \\ | \\ COOH \end{array}$$

Glycolate   glyoxalic acid

(iv) लिपोइक अम्ल (Lipoic acid) :- यह को-एन्जाइम लैक्टिक अम्ल जीवाणु (lactic acid bacteria) और पौधों में पाया जाता है।
यह पाइरुविक अम्ल (Pyruvic acid) का अपचयन करता है जिससे CO_2 मुक्त होता है। इस अभिक्रिया में यह पाइरुविक अम्ल से एसिटाइल समूह को को-एन्जाइम A (Coenzyme-A) में ~~बदल देता है~~ स्थानांतरित करता है जिससे एसिटाइल को-एन्जाइम A (Acetyl CoA) बनता है।

(v) विटामिन सी या ऐस्कार्बिक अम्ल (Vitamin C or Ascorbic acid) :-
यह एक शक्तिशाली अपचायक होता है, जो आक्सीडेशन रिडक्शन क्रियाओं में भाग लेता है।

(vi) ग्लूटाथियॉन (Glutathion)

को-एन्जाइम क्यू या यूबिक्विनोन (Co-enzyme Q or Ubiquinone):-

श्वसन श्रृंखला (Respiratory chain) में फ्लेवोप्रोटीन (Flavoprotein) के साइटोक्रोम बी के बंधन में एक अतिरिक्त वाहक पाया जाता है जिसे Co-enzyme Q या Ubiquinone कहा जाता है। यह माइटोकान्ड्रिया में वायुवीय (aerobic) अवस्था में आक्सीकृत (oxidised) क्विनोन के रूप में एवं अवायुवीय (anaerobic) अवस्था में अपचयित (Reduced) क्विनोन के रूप में पाया जाता है। इसकी संरचना विटामिन K या विटामिन E से समानता रखती है। Coenzyme Q श्वसन का चलनशील घटक (mobile component) होता है और यह अपचायकों को एकत्रित कर साइटोक्रोम पर पहुंचाता है।

(2.) फोलिक अम्ल या कोएन्जाइम एफ (CoenzymeF):-

यह उन एन्जाइम के लिये आवश्यक है जो एक कार्बन खण्ड को स्थानांतरित करते हैं।

Acyl group carrier: यह एन्जाइम ट्रान्स एसिटाइलेशन क्रिया में भाग लेता है। उदा० कोएन्जाइम A (Co-enzyme A)

थायमिन पाइरोफॉस्फेट (TPP):- यह को एन्जाइम विटामिन वर्ग का यौगिक है। इसे को-कार्बोक्सिलेज (Co-carboxylase) भी कहते हैं। यीस्ट में स्थित यह को-एन्जाइम ऐसी क्रियाओं में भाग लेता है जिसमें कार्बन निर्मित या विखण्डित होता है।

यीस्ट में स्थित कोकार्बोक्सिलेज एन्जाइम द्वारा ग्लिसरल्डिहाइड फास्फेट के अवायुवीय अपघटन में पाइरुविक अम्ल के कार्बोक्सिल समूह (-COOH) के साथ क्रिया कर पाइरुविक अम्ल से ऐसिटल्डिहाइड और कार्बनडाईऑक्साइड (CO_2) बनाते हैं।

(5) अमीनों समूह वाहक (Amino group Carriers) – यह अमीनों अम्ल के रूपांतरण (Transformation) में भाग लेता है। उदा० पाइरीडॉक्सल फॉस्फेट (Pyridoxal Phosphate)

(6) बायोटिन या CO_2 वाहक (Biotin or CO_2 Carrier) – यह कार्बोक्सिलेशन क्रियाओं में भाग लेता है।

Co-Enzyme and their role

सामान्यतः enzyme पूर्णतः Protein से मिलकर बने होते हैं, परन्तु कई एन्जाइम में non-Protein भाग भी पाया जाता है जो कि एन्जाइम की क्रियाशीलता के लिए आवश्यक होता है। इस enzyme का प्रोटीन वाला भाग apo-enzyme और non-Protein वाला भाग co-factor कहलाता है।

→ यह non protein भाग धातु आयन या कार्बनिक अणु (coenzyme) हो सकते हैं। cofactor और apoenzyme से बना पूर्ण enzyme Holoenzyme कहलाता है।

→ co-factor के रूप में metal ion जैसे Mg^{+2}, Fe^{+2}, Fe^{+3}, K^{+} आदि पाये जाते हैं। ऐसे enzyme जिसमें धातु आयन cofactor के रूप में पाया जाता है कभी-कभी metaloenzyme कहा जाता है।

उदा० Phosphotransferase : जिसमें Mg^{+2} धातु-cofactor के रूप में पाया जाता है।

– Cytochrome में Fe^{+2} और catalase में Fe^{+3} metal ion के रूप में पाया जाता है।

→ यदि co-enzyme, enzyme से बहुत अधिक तीव्रता से बंधा तब इसे Prosthetic group कहा जाता है।
NAD एवं FAD उदाहरण।

Classification of co-enzyme: इन्हे मुख्यतः दो भागों में बांटा जाता है:-

(a) Hydrogen Carrying :-

(i) Nicotamide adenine dinucleotide Phosphate ($NADP^{+}$)
(ii) Flavin mononucleotide (FMN)
(iii) Flavin adenine Dinucleotide (FAD)
(iv) Lipoic acid
(v) co-enzyme Q.

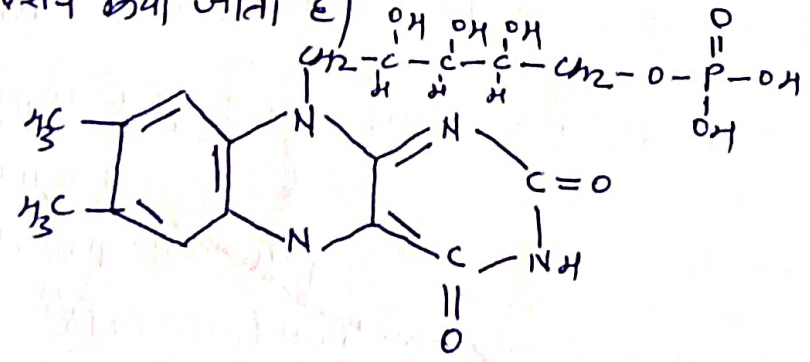
(b) Other than Hydrogen group carrying co-enzyme.

– Thiamine Pyrophosphate (TPP), Coenzyme A (co-enzyme A), Folate co-enzyme, Pyridoxal Phosphate, Adenosine phosphate, Lipoic acid, cobalamine, Biotin.

कई co-enzyme, vitamin B व Adenosine monophosphate (AMP) के व्युत्पन्न हैं। विभिन्न B vitamin कई co-enzyme के भाग होते हैं। ये हैं :-

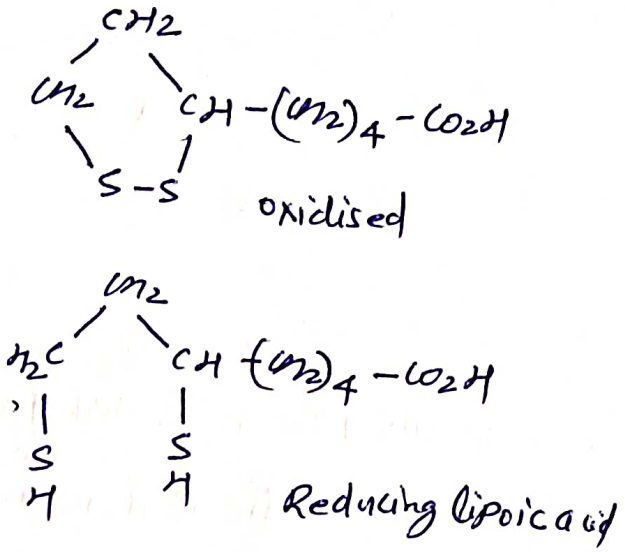
(i) Nicotinamide
(ii) Thiamine
(iii) Riboflavin
(iv) Pantothenic acid
(v) Folic acid.
(vi) Cobalamine.

Flavin mononucleotide :- ये पीले यौगिक दूध पेशी और अण्डे में पाये जाते हैं, FMN पौधों में भी पाया जाता है, यह कवक में अधिक मात्रा में पाया जाता है, एरेमोथिसियम एशबी (Eremothisium ashbi) नामक कवक में इतनी प्रचुर मात्रा में रहता है कि कभी-कभी उनके कवक माइसीलियम में यह रवादार अवस्था में देखा जाता है। इसमें प्रकाश उत्सर्जन और मैग्नीशियम तथा ATP की उपस्थिति में संदीप्ति (luminescence) की अभिक्रिया होती है। कुछ कीट उदा० फोटिनस पाइरोलिस (Photinus Pyrolis) में इस यौगिक के कारण संदीप्ति की क्रिया का प्रदर्शन किया जाता है।



Riboflavin Phosphate (FMN)

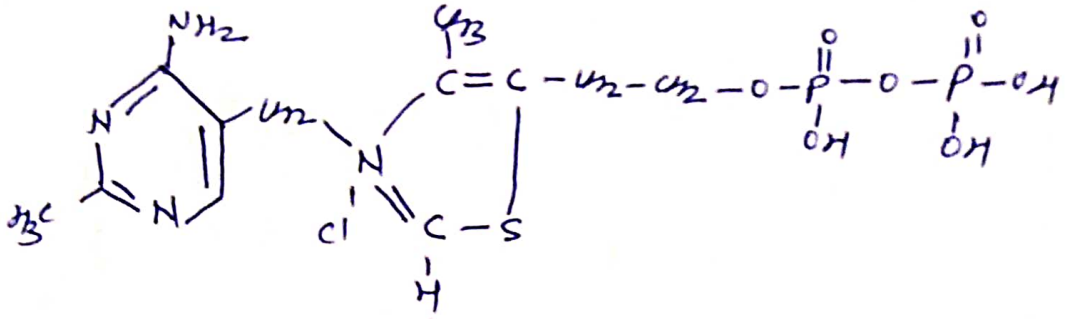
Lipoic Acid :- यह को-एन्जाइम, लैक्टिक अम्ल जीवाणु (Lactic acid bacteria) में पाया जाता है। यह पौधों में भी पाया जाता है। इसकी रासायनिक संरचना में सल्फर के दो परमाणु पाये जाते हैं।



Lipoic acid

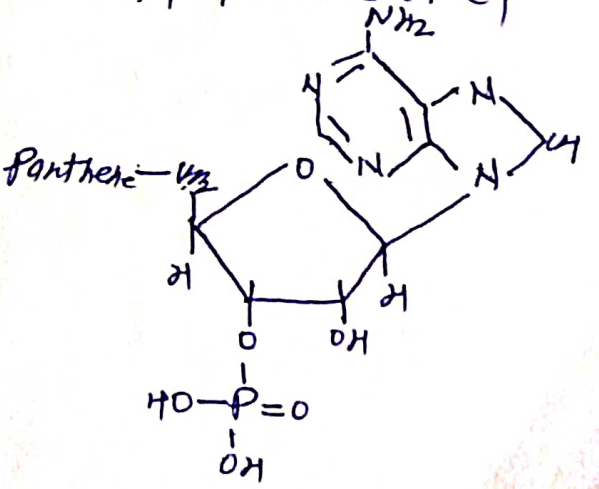
Co-enzyme Q :- श्वसन श्रंखला (Respiratory chain) में Flavoprotein के cytochrome के बंधन में एक अतिरिक्त वाहक पाया जाता है। इस पदार्थ को Co-enzyme Q या Ubiquinone नाम दिया गया है। यह माइटोकॉण्ड्रिया में वायुवीय (aerobic) अवस्था में उपचयित (oxidised) क्यूनोन के रूप में पाया जाता है, तथा अवायवीय अवस्था में अपचयित क्वीनोन के रूप में पाया जाता है। इसकी संरचना विटामिन K तथा विटामिन E से मिलती है। को-एन्जाइम Q श्वसन श्रंखला का गतिशील घटक होता है जो अपचायकों को एकत्रित कर साइटोक्रोम तक पहुंचाता है।

थायेमीन पायरोफॉस्फेट (TPP) :- यह विटामिन वर्ग का यौगिक है। इसको Co-Carboxylase भी कहते हैं। यीस्ट में स्थित Co-Carboxylase एन्जाइम द्वारा Glyceraldehyde Phosphate के अवायवीय अपघटन में Pyruvic Acid के Carboxylic समूह के साथ क्रिया करते हैं जिससे Pyruvic acid से acetaldehyde और CO_2 निकलता है। इसके अणु में एक पिरिमिडिन और एक थायोजोल वलय पाया जाता है।

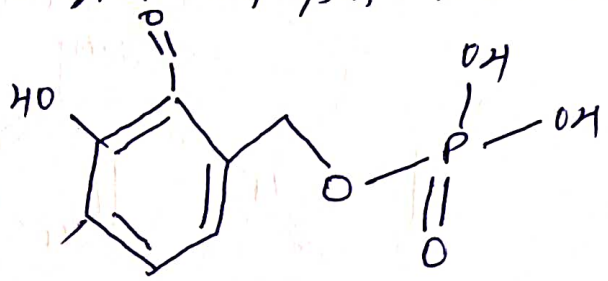


Thiamine Pyrophosphate (TPP), Carboxylase

Co-enzyme A :- यह एसिटाइल समूह के साथ संयोजित होकर वसा का संश्लेषण करता है। वसा में एक राइबोस, एक एडिनिन और एक पैंटोथेनिक अम्ल के संयोजन से एक सह-एन्जाइम अणु की संरचना हुई है। यह भी वसीय अम्लों के आक्सीकरण और T.C.A चक्र में महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। इसे सामान्यतः CoA, CoASH या HS CoA के द्वारा प्रदर्शित करते हैं। CoA जिसमें acetyl समूह उपस्थित होता है Acetyl CoA कहलाता है जो कोलेस्ट्रॉल और कीटोन के संश्लेषण में भाग लेता है।

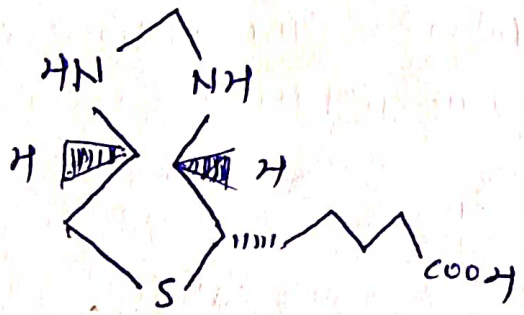


Pyridoxal Phosphate :- यह कई enzyme में Prothestic group की तरह पाया जाता है, जो कि Vitamin B_6 का सक्रिय रूप है, अति तीन रूपों में पाया जाता है :- Pyridoxal, Pyridoxamine, व Pyridoxine, यह अमीनो अम्ल के metabolism में महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। जो Transamination deamination व decarboxylation की क्रिया में भाग लेता है।



Pyridoxal Phosphate

Biotin :- इसे सामान्यतः Vitamin B_7 या विटामिन H या CoA-R कहा जाता है जो fatty acid अति ग्लूकोज के निर्माण में महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। साथ ही साथ यह Carbohydrate तथा अति Protein के metabolism मे महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। Biotin जल में घुलनशील है, बायोटिन स्वस्थ बाल अति त्वचा के लिए जिम्मेदार है।



PURE CULTURE

* किसी पोषक माध्यम (nutrient media) में सूक्ष्मजीव की वृद्धि (growth) कल्चर कहलाता है। प्रयोगशाला में सूक्ष्मजीवों की वृद्धि के लिये उचित वातावरणीय परिस्थिती और उचित पोषक तत्व युक्त पोषक माध्यम की आवश्यकता होती है।
जब एक पोषक माध्यम में सूक्ष्मजीवों से एक से अधिक प्रजाति वृद्धि करती है तब उनका व्यवहार भिन्न-भिन्न होता है। अतः ~~किसी~~ सूक्ष्म जीव के किसी प्रजाति के कल्चर गुणों के अध्ययन से उस सूक्ष्मजीव की पहचान की जा सकती है।

सामान्यतः हवा, मिट्टी और जल में विभिन्न प्रकार के सूक्ष्म-जीव पाये जाते हैं। एक विशेष पर्यावरणीय परिस्थिति में एक विशेष प्रकार के सूक्ष्मजीव (micro-organisms) पाये जाते हैं। जो कि अन्य पर्यावरणीय परिस्थितियों के सूक्ष्मजीवों की प्रजाति से भिन्नता प्रदर्शित करते हैं। अतः जब मिट्टी, हवा एवं जल से प्राप्त सेंपल (sample) को जब पोषक माध्यम (nutrient medium) में उगाया जाता है तब अनेक तरह के सूक्ष्मजीव एक साथ वृद्धि करते हैं। इस प्रकार की वृद्धि मिश्रित संवर्ध (mixed culture) कहलाती है। मिश्रित संवर्ध से किसी विशेष सूक्ष्मजीव का अध्ययन करना होता है उसे शुद्ध संवर्ध (Pure culture) के रूप में प्राप्त किया जाता है शुद्ध संवर्ध प्राप्त करने की प्रथम विश्वसनीय पद्धति का विकास रॉबर्ट कोच (Robert Koch) के द्वारा 1881 में किया गया। इसका बाद इस पद्धति में उपयुक्त परिवर्तन करके अनेक नई पद्धतियाँ विकसित की जा चुकी है। जो निम्न है:-

① **Streak Plate Method** : इसमें प्लेटिनम या नाइक्रोम के लूप (loop) की सहायता से solid media के सतह पर कल्चर के बहुत कम मात्रा को धारी बनाया (streak) किया जाता है। streak करने से कल्चर तनु होता जाता है। इसके पश्चात प्लेट को इन्क्यूबेटर (incubater) में 24 घण्टे के लिये रखा जाता है। प्रत्येक कोशिका विभाजित होकर अलग कालोनी बनाती है।

② **Spread Plate Method**: इस विधि में सर्वप्रथम ~~क्रमिक तनुकरण~~ सेंपल (sample) या कल्चर (cultur) के एक निश्चित मात्रा का क्रमिक तनुकरण (serial dilution) किया जाता है। अब एक निश्चित तनुता के 1 ml. विलयन को solid media के सतह में स्थानांतरित किया जाता है। अब विसंक्रमित मुड़े ग्लास रॉड ~~की सहायता से~~ (L saped glass rod) की सहायता से इसे माध्यम के सतह पर फैलाया जाता है। अब प्लेट को रातभर एक निश्चित तापमान पर इन्क्यूबेटर (incubater) में रखा जाता है। सूक्ष्मजीव की कोशिका ~~विभाजन~~ गुणन के पश्चात कालोनी का निर्माण करती है।

③ **Pour Plate Method**: इस विधि में एक निश्चित तनुता के सेंपल ~~को~~ (culture) को तरल अगार माध्यम में मिलाया जाता है। सर्वप्रथम एक निश्चित तनुता के कल्चर के 1 ml. मात्रा को विसंक्रमित पीपेट की सहायता से पेट्री प्लेट (Petriplate) में स्थानांतरित किया जाता है, अब उसमें ~~अगार~~ तरल अगार (liquid agar) माध्यम डालकर मिश्रित किया जाता है और उसे ठोस (solid) होने के लिये रख दिया जाता है। अब प्लेट को इन्क्यूबेटर (incubater) में ~~रख~~ रातभर (Overnight) रख दिया जाता है। सूक्ष्मजीव की कालोनी प्राप्त होती है।

(4) **Serial dilution Techniques**: वे बॅक्टिरीया जिनका वियोजन (isolation) विधि के द्वारा संभव नही है, उसे क्रमिक तनुकरण विधि (serial dilution techniques) से वियोजित (isolate) किया जाता है। इस विधि में सेंपल के एक ज्ञात ~~मात्रा~~ को (10ml या 10g) को विआसुत जल (distilled water) के एक निश्चित मात्रा (90ml) में मिलाया जाता है और आयतन को 100ml कर लिया जाता है। अब इस विलयन के 1ml को 9ml distilled water में स्थानांतरित किया जाता है जिससे 10^{-1} तनुता का विलयन प्राप्त होता है। अब इस 10^{-1} तनुता के विलयन के 1ml मात्रा को 9ml distilled water में स्थानांतरित किया जाता है जिससे 10^{-2} तनुता का विलयन प्राप्त होता है, इस प्रक्रिया को क्रमानुसार दोहराकर 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}.... आदि तनुता के विलयन तैयार कर लिये जाते हैं।

अब विभिन्न तनुता वाले विलयन के 1ml मात्रा को पिपेट की सहायता से भिन्न भिन्न पेट्री प्लेट (Petriplate) में स्थानांतरित कर दिया जाता है, अब उसमें ~~तरल माध्यम~~ तरल अगार मिडिया का 15 ml मात्रा डाला जाता है। अब प्लेट में सेंपल और मिडिया को मिश्रित कर solid होने के लिए रख दिया जाता है। अब रात भर (24 घंटे) के लिये प्लेट को इन्क्यूबेटर (incubator) में नियत ताप पर रख देते हैं। प्लेट में कालोनी विकसित हो जाती है। जिसके निरीक्षण से ज्ञात होता है कि कम तनुता वाले विलयन में कालोनी की संख्या अधिक तनुता वाले विलयन में उपस्थित कालोनी की संख्या से कम है।

10^{-2} से 10^{-5} तनुता के विलयन का ~~अध्ययन~~ उपयोग कवक के अध्ययन, 10^{-3} से 10^{-6} तनुता का ~~बॅक्टिरीया~~ एक्टिनोमाइसिटीस एवं 10^{-4} से 10^{-7} तनुता के विलयन का उपयोग बॅक्टिरीया के अध्ययन में किया जाता है।

अब निम्न सूत्र की सहायता से 1 ग्राम या 1 मि०ली० में उपस्थित कोशिका की संख्या की गणना कर ली जाती है।

$$\text{No of cells/ml or g} = \frac{\text{Number of colonies in Plate} \times \text{dilution factor}}{\text{Dry weight of soil}}$$

(5) **Single cell Technique:** शुद्ध संवर्धन (Pure culture) प्राप्त करने की यह एक अच्छी तकनीक है। इस विधि में सूक्ष्मजीवों के निलंबन (Suspension) के एक बूंद (drop) को गुहिका स्लाइड (cavity slide) में रखते हैं। अब माइक्रोपिपेट की सहायता से निलंबन का एक कोशिका लेकर इसे संवर्धन माध्यम में संरोपित कर देते हैं। इनकी वृद्धि से शुद्ध संवर्धन (Pure culture) प्राप्त होता है।

(6) **Spore - Plating Techniques:-** यह तकनीक कवकों (fungi) के संवर्धन के लिये विशेष रूप से लाभदायक है। इस विधि में इनाकुलेटिंग निडिल (inoculating neede) को कवक बीजाणुओं (fungal spores) के संपर्क में लाते हैं। ऐसा करने से कवक के बीजाणु Spores इनाकुलेटिंग निडिल (innoculating needle) में चिपक जाते हैं। अब निडिल को ठोस संवर्धन माध्यम (solid culture media) के संपर्क लाया जाता है जिससे स्पोर ठोस माध्यम के सतह में स्थानांतरित हो जाते हैं, 2-3 दिन में माध्यम के ऊपर सूक्ष्मजीव की विभिन्न कॉलोनी दिखाई देती है।

चूंकि सूक्ष्मजीव संवर्धन माध्यम से लगातार पोषक तत्व अवशोषित करते रहते हैं, जिससे कुछ समय पश्चात संवर्धन माध्यम में पोषक तत्व समाप्त हो जाते हैं। इस स्थिति में शुद्ध संवर्धन (Pure culture) को नये संवर्धन माध्यम में स्थानांतरित करने की आवश्यकता होती है यह विधि उपसंवर्धन (Subculturing) कहलाती है।

CULTURE MEDIA FOR GROWTH OF MICRO-ORGANISM

कल्चर मिडिया (culture media) रसायन (chemicals) ~~और~~ से मिलकर बना होता है जो सूक्ष्मजीवों के वृद्धि के लिये पोषक तत्व प्रदान करता है। सूक्ष्मजीव कल्चर मिडिया के पोषक तत्वों को अपने भोजन के रूप में इस्तेमाल में लाते हैं। और उनमें वृद्धि होती है।

Characteristics of medium: पोषक माध्यम में सभी पोषक तत्व पर्याप्त मात्रा में उपस्थित होनें चाहिए। उसका PH मान सूक्ष्मजीव के लिये उपयुक्त होना चाहिए। इस्तेमाल के पूर्व उसे विसंक्रमित (sterilized) कर लेना चाहिए।

Types of media: मिडिया संगतता (consistancy) और रासायनिक संघटन (chemical composition) के आधार पर भिन्न-भिन्न होते हैं।

(A) On consistency:-

Solid media: solid media बनाने के लिये सामान्यतः अगार (agar) का इस्तेमाल किया जाता है। जो कि लाल शैवाल (Red algae) के जेनेरा Pterocladia और Geledium से प्राप्त जाता है, जो कि रासायनिक रूप से पालीसैकेराइड है। Agar की मुख्य विशेषता है कि यह 45°C से अधिक तापमान पर तरल (liquid) के रूप में रहता है और 37°C पर ठोस (solid) हो जाता है।

Advantage of solid media:- solid media के निम्न विशेषताएँ है।

(a) कालोनी के गुणों की सहायता से बैक्टिरीया की पहचान की जा सकती है।

(b) मिश्रित बैक्टेरिया को अलग किया जा सकता है। अतः इसका इस्तेमाल सूक्ष्मजीव के प्योर कल्चर विधि (Pure culture techn... में किया जाता है।

• Liquid media: यह तरल माध्यम होता है।
इसमें मिश्रित सूक्ष्मजीव (mixed micro-organism) अलग नहीं किए जा सकते।

(B) On chemical composition:

(a) synthetic or chemically defined medium:
इसे ज्ञात संघटन वाले रसायनों ~~को~~ मिलाकर बनाया जाता है। उदा० Czapek Dox medium

(b) semi-synthetic or undefined medium:
ऐसा माध्यम जिसका रासायनिक संघटन पूर्णतः ज्ञात नहीं होता।
उदा० Potato Dextrose Agar (PDA), ~~Macconkey~~ MacConkey Agar medium

ROUTINE LABORATORY MEDIA: सामान्यतः प्रयोगशाला में निम्न semisynthetic media इस्तेमाल में लाये जाते हैं।

(a) Basal media:- इसके अंतर्गत वे मीडिया आते हैं जिनमें वह न्यूनतम पोषक तत्व (nutrients) होते हैं जो कि कालोनी निर्माण के लिये ~~सहायक~~ आवश्यक होता है
इसे minimal media भी कहा जाता है।
इसमें सामान्यतः

* एक कार्बन सोर्स (source) ~~आ~~ जैसे ग्लूकोस (Glucose) उपस्थित होता है।
* विभिन्न लवण (salts) जो कि बैक्टिरीया के स्पीशीज पर निर्भर करते हैं। यह लवण आवश्यक तत्व जैसे मैग्नीशियम, नाइट्रोजन, फास्फोरस, और सल्फर प्रदान करता है जो कि बैक्टिरीया द्वारा प्रोटिन और न्यूक्लिक अम्लों के निर्माण में सहायक है।
* जल (water)

~~उदाहरण~~ Example: Nutrient Broth, Nutrient agar और Peptone water.

Composition of nutrient agar medium

(For 1 Litre) Beef extract = 3.0 gram (mineral & carbohydrate source)

Peptone = 5.0 gram (Protein & Nitrogen source)

Nacl = 5.0 gram (Electrolyte)

Agar = 1.5 gram (solidifying agent)

Distilled water = 1.0 Litre

PH = 7.0.

(b) Enriched Media : इसमें ऐसा पोषक तत्व डाला जाता है जो कि सूक्ष्मजीव के बड़े समूह की वृद्धि में ~~लिये~~ सहायक होता है। इसमें medium में सामान्यतः रक्त (blood), सीरम (serum) या अण्डा (egg) डाला जाता है।

Example: Blood Agar.
Chocolate Agar.

~~Composition of Blood Agar.~~

- ~~Infusion from beef heart = 500g.~~
- ~~Tryptose = 10.0g.~~
- ~~Sodium chloride = 5.0g.~~
- ~~Agar = 15.0g.~~
- ~~D/W = 1000ml.~~

Blood Agar.

Infusion from beef Heart - 500g.
Tryptose - 10.0g.
Sodium chloride - 5.0g.
Agar. - 15g.
D/W - 1000.0ml.

Example :
⇒ Blood Agar.
⇒ Chocolate Agar

(c) Selective Media : यह मिडिया अनावश्यक बैक्टिरीया के वृद्धि को रोककर एक विशेष प्रकार के बैक्टिरीया के वृद्धि में सहायक होता है।
उदाहरण के लिये यदि सूक्ष्मजीव किसी एन्टीबायोटिक के प्रति प्रतिरोधकता प्रदर्शित करता है जैसे- एम्पीसीलिन या ~~टेट्रासाइक्लिन~~ टेट्रासाइक्लिन तब इस एन्टीबायोटिक को माध्यम में डाला जा सकता है, जिससे वे सभी ~~बैक्टीरिया~~ बैक्टिरीया में वृद्धि नही होगी जो इन एन्टीबायोटिक के प्रति संवेदी होंगें।

Example of selective media:

(B) Enriched media :- इसमें media में सामान्यतः रक्त (blood), सीरम (serum) या अंडा (egg) डाला जाता है।

- Eosine methylene blue (EMB) → यह coliform के लिये selective media है।
- MacConkey ~~MacConkey~~ Agar :- selective for Gram Negative bacteria.
- Manitol salt Agar (M.S.A) – selective for Gram +ve bacteria.

MacConkey's agar (PH - 7.1)

Peptone	20.0g.
Nacl	5.0g.
Bile salt	1.5g.
Lactose	10.0g.
Neutral red solutn	10.0ml.
Crystal violet	0.001g.
Agar	13.5g.
D/W	1000ml.

Composition of EMB media

* Peptone	: 10g.
* Lactose	: 5.0g.
* Dipotassium hydrogen phosphate	: 2.0g.
* Eosin Y	: 0.4g.
* Methylene blue	: 0.065g.
* Agar	: 15.0g.
* Distilled water	: 1000ml.
* PH.	: 7.2

EMB (Eosin methylene blue) Agar Gram -ve rod (enteric) के लिये selective media है। Lactose को किण्वन (Lactose fermenting) bacteria की colony रंगीन (coloured) दिखाई देती है। अतः यह Gram +ve bacteria को select करता है।

Indicator (Differential) media: इस media का

इस्तेमाल एक ही माध्यम में वृद्धि करने वाले एक प्रकार के सूक्ष्मजीव को दूसरे से भिन्न पहचान करने में किया जाता है। इसके लिये सूचक जैसे- neutral red, phenol red, eosin y या methylene blue इस्तेमाल में लाये जाते हैं।

* एक विशिष्ट सूक्ष्मजीव सूचक के रंग को परिवर्तित कर देता है अतः इस सूक्ष्मजीव को आसानी से पहचाना जा सकता है।

* Example: Blood Agar.
  MacConkey Agar.

Composition of Blood Agar.

• Infusion from beaf heart	:	500.0 g.
• Tryptose	:	10.0 g.
• sodium chloride	:	5.0 g.
• Agar	:	15.0 g.
• Distilled water	:	1000.0 ml.
• PH	:	7.3.

Blood agar में जब ~~बै~~ बैक्टिरीया वृद्धि करते हैं तब ये अपनी कालोनी के चारों ओर के रक्त कोशिकाओं (Blood cells) को हीमोलाइसिस (haemolysis) कर देते हैं, जबकि कुछ ~~bac~~ बैक्टिरीया में हीमोलाइटिक की क्षमता नहीं पायी जाती। रक्त के हीमोलाइसिस की क्षमता के आधार पर ~~बैक्टिरीया~~ बैक्टिरीया को विभाजित किया जाता है।

α - haemolysis — Greenish zone formed around coloney due to formation of biliverdin — Ex- Viridans streptococcus

β - haemolysis — Clear zone, complete haemolysis — Ex- streptococcus Pyoge.

γ - haemolysis — No haemolysis.

Transport media :- इस मिडिया का इस्तेमाल तब किया जाता है जब स्पेसीमेन (Specimen) को संग्रहण (collection) के तुरंत बाद कल्चर (culture) नहीं किया जा सकता।

इसमें निम्न गुण होता है :-

* इसमें स्पेसीमेन का अल्पायी संग्रहण करके प्रयोगशाला में लाया जाता है।
* स्पेसीमेन में सभी सूक्ष्मजीवों की संख्या में परिवर्तन किये बिना उसे जीवित अवस्था में बचाए रखा जाता है।
* इसमें केवल बफर और लवण (salt) उपस्थित होता है।
* इसमें कार्बन, नाइट्रोजन और कार्बनिक वृद्धि कारक (Organic growth factor) अनुपस्थित होता है अतः यह सूक्ष्मजीव के गुणन को रोकता है।

उदाहरण :- इसके उदाहरण निम्न है :-

Thioglycolate broth :- इसका इस्तेमाल anaerobic बैक्टीरिया के लिये किया जाता है।

Stuart transport media :- इसमें अपचायक और चारकोल उपस्थित होता है। यह अगार जेल के रूप में इस्तेमाल में लाया जाता है अपचायक आक्सीकरण को रोकता है जबकि चारकोल पोषण देता है।

वेंकटरमन-रामकृष्णन मिडिया :- इसका इस्तेमाल Vibrio cholerae के लिये किया जाता है।

Condition and Media for growth of micro-organisms :-

किसी भी जीव ~~की वृद्धि~~ ~~अर्थात्~~ सभी कोशिकाओं या संख्या में ~~क्रमबद्ध~~ बढ़ोतरी (increase) वृद्धि (growth) कहलाती है। वृद्धि में कोशिका विभाजन (cell division) होता है और कोशिका की संख्या में बढ़ोतरी होती है। सूक्ष्मजीव विशेषतः बैक्टीरिया की संख्या में आदर्श परिस्थिति में तीव्रता से बढ़ोतरी होती है। बैक्टीरिया में वृद्धि (growth) द्विगुणन (binary fission) के द्वारा होता है। जिसमें एक कोशिका विभाजित होकर दो कोशिका बनाता है। इस तरह उसमें ज्यामितीय ~~वृद्धि~~ वृद्धि ~~के~~ (Geometric Progression) देखी जाती है।

1 → 2 → 4 → 8 → 16 → 32....

किसी कोशिका या जीव संख्या को अपने से दुगुना (double) होने में जो समयान्तराल लगता है वह पीढ़ी काल (Generation time) कहलाता है। भिन्न-भिन्न ~~जीवों~~ सूक्ष्मजीवों के लिये generation time का मान भिन्न-भिन्न होता है। कुछ जीवों के लिये यह 15 मिनट जबकि अन्य के लिये यह कई घण्टे हो सकता है।

किसी एक सूक्ष्मजीव के लिये भी generation time का मान भी स्थायी नहीं होता है और जो माध्यम के पोषक तत्व और और भौतिक कारकों पर निर्भर करता है।

GENERATION TIME FOR CERTAIN SPECIES OF BACTERIA

Bacterium	Medium	Temprature	Generation Time (minutes)
Bacillus subtilis	Broth	37°C	25
Ba. stearothermophilus	Broth	60°C	8
Escherichia coli	Broth	37°C	20
"	Milk	37°C	12
Staphylococcus aureus	Broth	37°C	30
Streptococcus lacti	Milk	37°C	26
Mycobacterium tuberculis	Synthetic	37°C	800-900
Nitrobacter agilis	Synthetic	27°C	1200.

Filteration: इस प्रक्रिया का इस्तेमाल द्रव (liquid) और गैस (Gases) के विसंक्रमण में बहुतायत में किया जाता है।

* ऊष्मा (heat) से कल्चर मिडिया में उपस्थित सीरम (serum), एन्जाइम, टाक्सिन (toxins) और एन्टीबायोटिक (antibiotics) नष्ट हो जाते हैं। अतः ~~इस~~ इन्हें फिल्टरेशन (filteration) के द्वारा विसंक्रमित किया जाता है।

* यदि फिल्टर बैक्टेरिया को अलग कर देगा तो वह निश्चित ही अन्य बड़े सूक्ष्मजीवों को अलग कर देगा। अतः कई

• फिल्टर आजकल इन उद्देश्यों के लिये इस्तेमाल में लाये जाते हैं। जिसके कुछ उदाहरण निम्न हैं।

* Porcelain filters : यह जलीय एल्युमिनियम सिलिकेट (hydrous aluminium silicate) या केयोलीन (kaolin) से बना होता है। यह फिल्टर 0.65 μ से 15 μ छिद्र (Pore) के बनाये जाते हैं।

* Diatomaceous filter : यह सफेद सिलिकायुक्त चूर्ण होता है जो डायटम्स के अवशेष से बने होते हैं और जिसे ~~किसलगुर (keisel~~ किसलगुर (kieselguhr) कहा जाता है। ~~इसे~~ डायटोमेशियस अर्थ (diatomaceous erth), एस्बेस्टास और कार्बनिक पदार्थ जैसे प्लास्टर ऑफ पेरिस को भिन्न-भिन्न मात्रा में मिलाकर बनाया जाता है।

* इस फिल्टर की महत्वपूर्ण विशेषता यह है कि यह उच्च ताप (1000-2000°c) और उच्च दाब सहन कर सकता है।

* Fritted-glass filter

* Asbestos filter

* Ultrafilter आदि।

Sterilization, disinfection and decontamination :-

Sterilization :- सभी जीवित रूपों (microbial life) सूक्ष्म जीवों के जिसमें एण्डोस्पोर्स भी ~~शामिल~~ शामिल है को नष्ट करना sterilization कहलाता है।

Disinfection :- सभी रोगजनक (pathogenic) सूक्ष्मजीवों को निर्जीव वस्तु (inanimate object) के सतह जिसमें एण्डोस्पोर्स शामिल नहीं है से हटाना अर्थात् सूक्ष्मजीव के संक्रमण को कम करना Disinfection कहलाता है।

Antisepsis :- रसायनों के प्रयोग से जीवित उत्तकों (living tissue) में संक्रमण को रोकना antisepsis कहलाता है।

Decontamination :- ऐसी क्रिया (activity) जो ~~कि~~ ~~संक्रमण~~ सूक्ष्मजीवों के संक्रमण को रोके Decontamination कहलाता है।

Chemical

Chemical factors For sterilization : कई रासायनिक पदार्थ सूक्ष्मजीवों को नष्ट कर देते हैं अतः इनका इस्तेमाल विजर्मीकारक के रूप में किया जाता है। कुछ रसायन जो कि सूक्ष्मजीव के वृद्धि को रोक देते हैं या इन्हें पूर्णतः नष्ट कर देते हैं निम्न हैं :-

Acids and Alkalines :- सूक्ष्मजीव एक नियत अम्लीय और क्षारीय माध्यम में वृद्धि प्रदर्शित करते हैं। एसिड का विजर्मीकारक प्रभाव उसके H^+ आयन के कारण होता है। अधिकतर मिनरल अम्ल (HCl, H_2SO_4, HNO_3, H_3PO_4) आदि हाइड्रोजन आयन जनित्र की तरह कार्य करते हैं, परंतु कुछ एसिड जैसे बेंजोइक एसिड, एसिटिक एसिड, सैलिसिलिक एसिड, सल्फ्यूरस एसिड जो कि दुर्बल आयनित होते हैं वे भी घातक (toxic) प्रभाव उत्पन्न करते हैं। जिसका मुख्य कारण रसायन का प्रभाव या अविघटित अणु होता है।

* क्षार का विजर्मीकारक प्रभाव उसके वियोजन और हाइड्रॉक्सील (OH^-) आयन के उत्पादन पर निर्भर करता है। ($NaOH$, KOH, आदि)। परंतु इसके कुछ अपवाद भी हैं। उदाहरणस्वरूप $Ba(OH)_2$, KOH की तुलना में कम वियोजित होता है परंतु यह अधिक विषैला (toxic) होता है। इसका मुख्य कारण Ba^{++} आयन है जो बहुत विषैला (toxic) होता है।

सामान्यतः H^+ आयन OH^- आयन की अपेक्षा अधिक विषैला (toxic) होता है। प्रबल अम्ल और क्षार विशेषतः उपयोगी नहीं होते क्यों कि ये क्षयकारी (corrosive) होते हैं।

Halogens :- क्लोरिन, आयोडीन, ब्रोमीन और फ्लोरिन अपने मुक्त अवस्था एवं यौगिक रूपों में तीव्र विजर्मीकारक होते हैं। इनमें से ब्रोमीन और आयोडीन प्रयोगिक रूप से इस्तेमाल में लाये जाते हैं क्यों कि क्लोरीन और ब्रोमीन तकलीफ उत्पन्न करते हैं।

इसमें से क्लोरीन सबसे अधिक इस्तेमाल में लाया जाने वाला विसंक्रामक है। जिसे गैस या विभिन्न रासायनिक रूपों में इस्तेमाल में लाया जाता है। क्लोरीन गैस का इस्तेमाल municiple water supply और sewage disposal में plant में विसंक्रामक के रूप में इस्तेमाल में लाया जाता है।

* इसे पीने के पानी में 0.1 से 1 ppm मात्रा इस्तेमाल में लाया जाता है।

* क्लोरिन के यौगिकों ~~जैसे~~ ~~का~~ ~~इस्तेमाल~~ ~~बहुत~~ ~~सुविधा~~ का इस्तेमाल बहुत सुविधाजनक होता है अतः ये घरेलू उपयोग में लाये जाते हैं।

* Calcium hypochloride ($Ca(OCl)_2$) और सोडियम हाइपोक्लोराईड ($NaClO$) का इस्तेमाल डेयरी उपकरणों और रेस्टोरेंट में ~~खाद्य~~ ~~का~~ खाद्य बर्तनों को धोने में किया जाता है।

आयोडिन बहुत ही पुराना एवं प्रभावकारी विसंक्रामक (disinfectant) ~~का~~ पदार्थ है। टींचर आयोडीन (2% I_2, 2% KI in 90% ethanol) का इस्तेमाल घरों में घाव, और कटने, छिलने में विसंक्रामक (disinfectant) की तरह इस्तेमाल में लाया जाता है।

आयोडिन सतह उत्प्रेरक कारक (surface active agent) के साथ मिलकर आयोडोफोर (Iodophore) बनाता है। यह रंगहीन और गंधहीन होता है, जब इसे जल के साथ तनु किया जाता है तब यह धीरे-धीरे आयोडिन को मुक्त करता है साथ ही साथ यह विलयन के प्रच्छन्नभाव को भी कम करता है।

आयोडीन के विजर्मीकारक प्रभाव का मुख्य कारण यह है कि वह प्रोटीन और एन्जाइम से जुड़कर उसे निष्क्रिय कर देता है।

Heavy metals: बहुत से भारी धातु स्वयं या निश्चित रासायनिक यौगिकों के रूपों में विसंक्रामक होते हैं। इसमें मुख्यतः मर्करी, सिल्वर और कापर हैं। इनकी बहुत कम सांद्रता भी सूक्ष्मजीवों को नष्ट करने में सहायक है।

मर्करी : इसके मुख्य यौगिक जो विसंक्रामक के रूप में उपयोग
Mercury: में लाये जाते हैं निम्न हैं:

Mercuric chloride, Mercurous chloride, Mercuric oxide, Ammoniated mercury, Merthiolate, metaphen, mercurochrome.

सिल्वर: ये बैक्टीरिया और कवक के विरुद्ध इस्तेमाल में लाये जाते हैं। यह आवश्यक ~~जैविक~~ मेटाबोलाइट और (SH-) समूह युक्त एन्जाइम की क्रिया को रोक देता है।

Silver: इसके मुख्य यौगिक Silver nitrate, Argyrol collargol हैं जो ~~वि~~ विसंक्रामक के रूप में इस्तेमाल में लाये जाते हैं।

सिल्वर नाइट्रेट का इस्तेमाल बच्चों के जन्म के समय gonnococcal संक्रमण को रोकने के लिए आंखों में किया जाता है। ये यौगिक प्रोटीन से जुड़ जाते हैं।

Copper : कापर के यौगिक के रूप में मुख्यतः Copper sulphate इस्तेमाल में लाया जाता है। ~~इसे~~ इसका बोरडेक्स चूर्ण (Bordeaux mixture) के रूप में बगीचे में छिड़काव किया जाता है।

* साथ ही साथ कापर सल्फेट का इस्तेमाल स्वीमिंग पूल और तालाबों में शैवाल (Algae) की वृद्धि को रोकने में किया जाता है।

Detergent: ऐसे यौगिक जो कि सतह की सफाई में इस्तेमाल में लाये जाते हैं ~~इन्हें~~ डिटर्जेंट (detergent) कहलाते हैं। उदाहरणत: साबुन साबुन वसा और सोडियम या पोटेशियम हाइड्रॉक्साइड को उबालकर तैयार किए जाते हैं। साबुन कुछ Streptococci ~~और~~ जैसे Streptococcus pneumoniae और spirochetes जैसे - Treponema pallidum के विरुद्ध हानिकारक होते हैं।

रासायनिक रूप से डिटर्जेंट तीन प्रकार के होते हैं:-

1. Anionic detergent :- वे जो आयनन पर ऋणायन देते हैं।
   - (a) $(R\cdot COO)^{-}Na^{+}$ — soap
   - (b) $(R\cdot SO_3)^{-}Na^{+}$ — sodium lauryl sulphate.
2. cationic detergent :- वे जो आयनन पर धनायन देते हैं।
   - (a) $(R-N(CH_3)_3)^{+}Cl^{-}$ — Quaternary ammonium compound
3. Non-ionic detergent - वे जो आयनित नहीं होते।

cationic detergent अधिक प्रभावी होता है और जो Gram ~~+ve~~ -Ve bacteria के लिये हानिकारक होते हैं। साथ ये fungi और रोगकारक Protozoa के लिए भी हानिकारक होते हैं।

ये डिटर्जेंट कोशिका भित्ती और कोशिका झिल्ली को नष्ट कर देते हैं। साथ ही ये एन्जाइम को निष्क्रीय और प्रोटीन को नष्ट कर देते हैं।

Gaseous sterilization :- ऐसे पदार्थ जो कि ~~द्रव और ताप~~ ~~के~~ द्रवीय विलयन और ताप के द्वारा ~~नष्ट~~ नहीं विसंक्रमित नहीं किए जा सकते, इनके लिये गैस (gases) का इस्तेमाल किया जाता है। इस्तेमाल में लाये जाने वाले मुख्य गैसें - Formaldehyde, ethylene-oxide, Sulphur dioxide और Chlorine हैं।

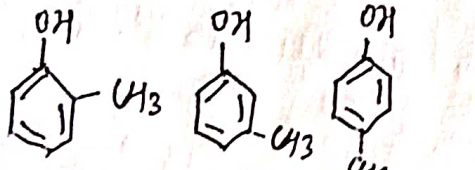
फार्मेल्डिहाइड का जलीय विलयन फार्मेलिन कहलाता है जिसमें 37-40% formaldehyde होता है। यह वही कोशिका और स्पोर दोनों को नष्ट कर देता है। यह प्रबल अपचायक है जो एन्जाइम और अन्य कोशिकीय अंगों को निष्क्रिय (inactive) कर देता है।

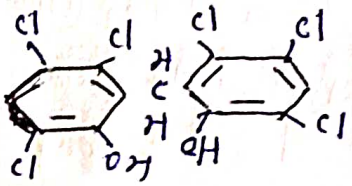
एथिलिन ऑक्साइड $(CH_2)O$ 10.8°C के तापक्रम के नीचे तरल रूप में जबकि इससे अधिक तापमान पर गैसीय रूप में पाया जाता है। शुद्ध रूप में यह जहरीला (toxic) और बहुत अधिक ज्वलनशील होता है, अतः इसे CO_2 या फ्रीयॉन के साथ मिलाया जाता है। 10% ethylene oxide और 90% CO_2 का मिश्रण Carboxide कहलाता है। जिसका इस्तेमाल बैक्टिरीया, कवक, और वायरस को नष्ट करने में किया जाता है।

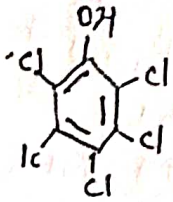
Nitrogendioxide: यह बहुतायत में बैक्टिरीया, कवक और स्पोर को नष्ट करने में इस्तेमाल में लाया जाता है। यह DNA के फास्फेट बैक बोन को नष्ट कर देता है। अतः इसकी बहुत कम सान्द्रता ही प्रभावी होती है।

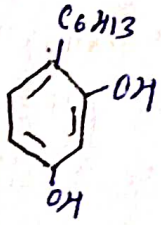
Ozone: इसका इस्तेमाल उद्योगों में जल और वायु को विसंक्रमित करने में किया जाता है। ओजोन प्रबल आक्सीकारक है अतः यह कोशिका के विभिन्न कोशिकांगों को नष्ट कर देता है।

henol and its derivatives :- सर्वप्रथम 1867 में जोसेफ लिस्टर (Joseph lister) नामक वैज्ञानिक ने फीनाल और उसके व्युत्पन्न का इस्तेमाल किया और एन्टीसेप्टिक सर्जरी (antiseptic surgery) की विधि दी। आजकल फीनॉल की अपेक्षा उसके व्युत्पन्न ज्यादा उपयोग लाये जाते हैं। क्यों कि फिनॉल के व्युत्पन्न फीनॉल की अपेक्षा सस्ता और ज्यादा प्रभावशाली है। लाइसॉल एक महत्वपूर्ण विसंक्रामक है। Lysol एक व्यापारिक उत्पाद है जिसमें क्रिसॉल पाया जाता है। Hexylresorcinol का गलिसरिन और जल के साथ विलयन का इस्तेमाल माउथवाश (mouthwash) और खांसी के सिरप (cough serup) बनाने में किया जाता है।
हेक्साक्लोरोफिन (hexachlorophene) का इस्तेमाल कई साबुन (soaps), तेल और क्रीम में किया जाता है जो कि त्वचा (skin) के सूक्ष्म-जीवों को नष्ट करते हैं। यह फिनालिक पदार्थ ~~कोशिका सूक्ष्म~~ कोशिका झिल्ली को नष्ट कर देता है।









Alcohols: एथिल अल्कोहॉल और आइसोप्रोपिल अल्कोहॉल बहुतायत में उपयोग होने वाले विसंक्रामक है। मेथिल अल्कोहॉल बहुत जहरीला होता है अतः इसका इस्तेमाल नहीं किया जाता है। अल्कोहॉल लिपिड का स्कंदन (coagulation) कर देता है और लिपिड को घोल देता है। साथ ही साथ यह झिल्ली-कारक भी है।

* अल्कोहॉल का अधिक सांद्रता (95-100%) cell से जल को लगभग पूरा निकाल देता है, जिससे सूक्ष्मजीव नष्ट नहीं होते बल्कि निष्क्रिय हो जाते है। अतः 70% अल्कोहल का इस्तेमाल किया जाता है।

* अल्कोहॉल त्वचा (skin) के सूक्ष्मजीवों को नष्ट करने, इंजेक्शन के पहले, और थर्मामीटर को इस्तेमाल के पहले विसंक्रमित करने एवं सतह विसंक्रमण (surface sterilization में इस्तेमाल लाया जाता है।

Dyes: कई प्रकार के इस्तेमाल बैक्टिरिया के वृद्धि को रोकने के लिये किया जाता है। ये Gram -ve बैक्टिरीया की अपेक्षा Gram +ve बैक्टिरीया को नष्ट करने में अधिक प्रभावी है।

Brilliant green, malachite green, crystal violet और basic fuchsin का इस्तेमाल Gram +ve बैक्टिरीया की वृद्धि को रोकने के लिये कल्चर मिडिया में ~~इस्तेमाल~~ किया जाता है। अतः ये Gram +ve बैक्टिरीया के आइसोलेशन में सहायक है। सामान्यतः क्षारीय रंजक (basic dye) ~~जैसे: ...~~ कोशिका के अम्लीय पदार्थ जैसे न्युक्लिक अम्ल (nucleic acid) से जुड़ जाते है। और लवण (salt) का निर्माण करते है।

Methods of of studying micro-organism: Origin of microbes, microscopy, Pure culture techniques, sterilization, Aseptic techniques, isolation of pure culture, conditions and media for growth of microbiology in laboratory.

Microscopy-

सूक्ष्मजीव वैज्ञानिकों के लिये सूक्ष्मदर्शी एक महत्वपूर्ण साधन (Tools) है। यह आवर्धन (magnification) प्रदान करता है जिससे कि सूक्ष्म संरचना जो कि सामान्य आंखों से देखा नहीं जा सकता उसे सूक्ष्मदर्शी की सहायता से आसानी से देखा जा सकता है। ~~सूक्ष्~~ आजकल जिस सूक्ष्मदर्शी का इस्तेमाल किया जाता है वे आवर्धन का एक बहुत बड़ा परास (Range) प्रदान करता है। जो कि कुछ सौ गुना (500X) से लेकर दो हजार गुना (20,000X) तक होता है।

आवर्धन की विधि के आधार पर दो प्रकार के सूक्ष्मदर्शी इस्तेमाल में लाये जाते हैं :-

*(a) प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी (Optical microscope) में प्रकाशीय लैंस (optical lenses) और प्रकाशीय तरंग (Light waves) का इस्तेमाल किया जाता है। इसके अंतर्गत निम्न सूक्ष्मदर्शी आते हैं:-

(i) Bright field
(ii) Dark field
(iii) Ultraviolet
(iv) Fluorescence और
(v) Phase contrast microscope.

* (b) इलेक्ट्रान माइक्रोस्कोप (electron microscope) में इलेक्ट्रो मैग्नेटिक लेंस (electro magnetic lense) और इलेक्ट्रान बीम (electron beam) का इस्तेमाल आवर्धन प्राप्त करने के लिए किया जाता है।

1. BRIGHT-FIELD MICROSCOPY : यह सूक्ष्मदर्शी 1590 में हालैण्ड के वैज्ञानिक Hans और Zacharias Janseen के सिद्धांत पर आधारित है। इसमें कंडेंसर (condensor) के द्वारा प्रकाश के शंकु (cone of light) को निरीक्षण किये जाने वाले वस्तु (specimen) पर केन्द्रित (focus) किया जाता है। इस सूक्ष्मदर्शी में सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र (microscopic field) चमकीला दिखाई देता है, जबकि वस्तु (specimen) काला (dark) दिखाई देता है।

* यह सूक्ष्मदर्शी लेंस के दो सेट का बना होता है। लेंस जो वस्तु (specimen) के पास होता है, आब्जेक्टिव लेंस (objective lense) कहलाता है। लेंस का दूसरा सेट आईपीस (eyepiece) कहलाता है। eyepiece, आब्जेक्टिव (objective) द्वारा बनाये तस्वीर को पुनः आवर्धित करता है। अतः आंखो द्वारा दिखाई देने वाला तस्वीर (image) दोनों लेंस तन्त्र (lense system) के द्वारा आवर्धन का योग होता है।

Resolving Power : दो वस्तुओं की न्यूनतम दूरी जो कि लेंस तन्त्र के द्वारा विश्लेषित किया जा सकता है। सूक्ष्मदर्शी का विभेदन क्षमता (Resolving Power) कहलाता है। इसे सूक्ष्मदर्शी के द्वारा दो बिंदुओं को अलग करने की क्षमता से भी समझा जा सकता है। उदा० मानव आंख की विभेदन क्षमता (Resolving Power) 0.25 mm है। अर्थात् दो बिन्दु (dots) जो 0.25 mm की दूरी में रखे हो मानव आंख द्वारा अलग-अलग पहचाना जा सकता है। यदि यह दूरी 0.25 m.m. से कम होगा तब केवल एक बिन्दु (dot) दिखाई देगा।

माइक्रोस्कोप का विभेदन क्षमता (Ressolving Power) दो कारकों (factors) पर निर्भर करता है।

(i) उपयोग किये जाने वाले प्रकाश के तरंगदैर्घ्य (wavelength)

(ii) आब्जेक्टिव लेंस (Objective lense) की प्रकाश संग्रहण क्षमता।

इसका निर्धारण न्यूमेरिकल एपरचर (numerical aperture) के द्वारा होता है।

$$\text{Resolving Power (R.P.)} = \frac{\text{wavelength of light}}{2 \times N.A.} \quad -(1)$$

अतः दृश्य प्रकाश के तरंगदैर्घ्य का मान जितना कम होगा विभेदन क्षमता (Resolving Power) उतनी अधिक होगी।

Angular aperture : आब्जेक्टिव लेंस (objective lense) का एंगुलर एपर्चर (angular aperture). प्रकाशीय कोन की सबसे विचलित किरण जो objective lense में प्रवेश करता के बीच का कोण है। वह ~~वे~~ किरण जिसके ~~angul~~ विचलन का मान angular aperture के आधे से अधिक हो लेंस में प्रवेश नहीं कर सकता।

Numerical aperture : वह अधिकतम परास जिसके अंतर्गत किसी निश्चित angular aperture वाले lense में विचलित किरण प्रवेश करता है उस लेंस का Numerical aperture कहलाता है। इसका मान angular apperture का आधा होता है जिसके परिमाण को sin value से प्रदर्शित किया जाता है।

angular apperture के आधे ~~मान~~ के sine value को जब माध्यम के अपवर्तनांक से गुणा किया जाता है तब Numerical aperture प्राप्त होता है।

$$\text{अतः} \quad N.A = n \sin\theta \quad -(2)$$

अतः ~~आवर्धन~~ विभेदन क्षमता को निम्न समीकरण से प्रदर्शित किया जा सकता है।

$$\text{Resolving Power (R.P.)} = \frac{\lambda}{2 \times n \sin\theta} \quad \text{—(3)}$$

OIL IMMERSION: जब सूखा पदार्थ (dry object) इस्तेमाल में लाया जाता है तब object और objective lense के मध्य वायु (air) उपस्थित रहता है। वायु का अपवर्तनांक 1.00 होता है। किरण जिसका प्रकाशीय अक्ष से विचलन angular aperture के आधे से अधिक होता है वह objective में प्रवेश नहीं कर सकता अतः वह लुप्त हो जाता है। जब वायु के स्थान पर तेल (oil) का इस्तेमाल किया जाता है तब oil का अपवर्तनांक 1.5 होने के कारण अधिकतर विचलित किरण objective lense में प्रवेश करने लगता है और objective के numerical aperture का मान बढ़ जाता है। और जिससे Resolving Power का मान भी बढ़ जाता है।

DARK FIELD MICROSCOPE → इस प्रकाश के सूक्ष्मदर्शी में माइक्रोस्कोपिक क्षेत्र काला (dark) दिखाई देता है जिसमें वस्तु (object) चमकीला दिखाई देता है।

इसके लिये एक विशेष प्रकार का कंडेंसर (condenser) इस्तेमाल में लाया जाता है। इसे एब्ब कंडेंसर (Abbe condenser) कहा जाता है।

यह Abbe condenser दर्पण से आने वाले किरण ~~के~~ पुंज के केन्द्रीय किरण (central rays) को रोकता है।

डार्क फिल्ड माइक्रोस्कोप का इस्तेमाल उन सूक्ष्मजीवों को देखने में किया जाता है जो आसानी से स्टेन (stain) नहीं किये जा सकते।

ULTRA VIOLET MICROSCOPY :- इस माइक्रोस्कोप में ऐसे लेंस का इस्तेमाल किया जाता है जो पराबैंगनी किरण (तरंगदैर्ध्य 200 से 350 nm) को अपवर्तित और परावर्तित करता है। इस माइक्रोस्कोप की विभेदन क्षमता (Resolving Power) अधिक होता है। चूंकि मानव आंख पराबैंगनी किरण के लिये संवेदी नहीं होता अतः तस्वीर को फोटोग्राफ में देखा जाता है।

FLUORESCENCE MICROSCOPY :- आपतित किरण से भिन्न तरंगदैर्ध्य के किरण का उत्सर्जन (emission), प्रतिदीप्ति माइक्रोस्कोप (~~Fluorescence Mic~~ (Fluorescence) कहलाता है। उदा० के तौर पर वस्तु (object) पराबैंगनी किरण के कम तरंगदैर्ध्य के किरण को अवशोषित करता है और अधिक तरंगदैर्ध्य के दृश्य प्रकाश को उत्सर्जित करता है। वस्तु इस ~~कि~~ प्रक्रिया में स्वतः उद्दीप्त होता है और वह काले पृष्ठ में चमकीला दिखाई देता है। माइक्रोस्कोपिक अध्ययन में सूक्ष्मजीवों को प्रदीप्त रंजक (fluorescent dye) से रंगा जाता है और नीले प्रकाश में देखा जाता है। जिससे नीला प्रकाश अवशोषित कर लिया जाता है और हरा प्रकाश उत्सर्जित होता है।

इस माइक्रोस्कोप में प्रकाश स्रोत (light source) के रूप में मर्करी लैम्प का इस्तेमाल किया जाता है।
इसमें दो फिल्टर इस्तेमाल में लाये जाते हैं। एक उत्तेजक फिल्टर (exiter filter) जो केवल नीले प्रकाश को पदार्थ (Specimen) में प्रसारित करता है जबकि अन्य रंग को रोक देता है। जबकि दूसरा बेरियर फिल्टर (Barrier filter) जो कि नीले प्रकाश को रोक देता है और उत्पन्न प्रकाश (या अन्य प्रकाश जो कि ~~प्रदीपक~~ प्रदीप्तकपदार्थ से निकलता है) को गुजरने देता है और आंख में पहुंचता है।

कुछ उपयुक्त प्रदीप्तक (fluorescence) निम्न हैं : एक्रीडीन ऑरेंज (acridine orange), एक्रीडीन येलो (Acridine yellow), acriflavin auramine O, fluorescence titan yellow G, rhencine A, etc.।

Phase contrast microscopy : फेज कान्ट्रास्ट माइक्रोस्कोपी (Phase contrast) ~~microscopy~~ का सिद्धांत फ्रीज जरनाईक (Fritz Zernike) द्वारा दिया गया जिन्हें 1953 में ऑप्टिक शास्त्र के नोबल पुरस्कार से नवाजा गया। इस सिद्धांत के अनुसार ~~प्रकाश~~ प्रकाशविकिरण (light wave) का आवृत्ति और आयाम (amplitude) में परिवर्तित गुण प्रदर्शित करते हैं। ~~मानव आंख~~ जब दो प्रकाश तरंग जिसका आयाम (amplitude) और आवृत्ति (frequency) समान होता है परंतु इसका फेज (Phases) भिन्न होता है तब मानव आंख इस घटना को महसूस नहीं कर पाता।
फेज कान्ट्रास्ट माइक्रोस्कोप (Phase contrast microscope) एक सामान्य माइक्रोस्कोप की तरह होता है परंतु इसके साथ दो अतिरिक्त प्लेट लगा होता है, जिसे annular diaphragm और ~~फेज~~ Phase shifting Plate कहा जाता है।

Annular diaphragm केवल प्रकाश के एक किरण (a ray of light) को कंडेसर से होकर गुजरने देता है। और जो आब्जेक्ट (object) में प्रवेश करता है। इसमें objective lence के कोकल प्लेन में Phase shifting plate को रखा जाता है। इस डिस्क में एक रिंग होता है जो प्रकाशीय डाईइलेक्ट्रिक पदार्थ (optical dielectric material) का बना होता है। इस रिंग प्रकाश (light) के फेज (Phase) को परिवर्तित कर देता है।

इ प्रकाश के फेज में परिवर्तन होने से व्यतिकरण (interference) का प्रभाव उत्पन्न होता है। जिससे कान्ट्रास्ट (contrast) उत्पन्न होता है। जिसके परिणाम स्वरूप ऐसे कोशिका जिन्हे स्टेन नही किया जा सकता के विभिन्न कोशिकांगों को भी आसानी से देखा जा सकता है।

Preservation and maintanace of Pure Culture:

शुद्ध कल्चर ऐसा कल्चर है जो कि एक स्पोर या कोशिका से प्राप्त होता है। शुद्ध कल्चर प्राप्त करने के पश्चात इसका भविष्य में इस्तेमाल हेतु इसे संरक्षित करना आवश्यक होता है। इसके लिए कई विधियाँ इस्तेमाल में लायी जाती हैं।

→ शुद्ध कल्चर को लम्बे समय तक बिना जेनेटिक परिवर्तन के लंबे समय तक जीवित रखना शुद्ध कल्चर का संरक्षण (Preservation) कहलाता है।

→ संरक्षण का मुख्य उद्देश्य कोशिका विभाजन को रोकना है जिससे सूक्ष्मजीव में वृद्धि रुक जाये या कम से कम इसकी वृद्धि की दर कम हो जाये।

→ परिरक्षण में इस बात का ध्यान रखा जाता है कि जहरीला (toxic) रसायन का जमाव न हो जिससे सूक्ष्मजीव की जीविता बनी रहे।

→ सूक्ष्मजीव कल्चर के परिरक्षण की विधियाँ (methods of Preservation of microbial culture):-

परिरक्षण की विधियाँ मुख्यतः दो प्रकार की होती हैं:

1. अल्प अन्तराल विधियाँ (short term methods)
2. वृहद अंतराल विधियां (Long term methods)

1. **short term methods** :- अल्प अन्तराल विधियों का इस्तेमाल कल्चर को अल्प समय तक परिरक्षित रखने में किया जाता है। इसके लिए सामान्यतः निम्न विधियाँ इस्तेमाल में लायी जाती हैं।

(a) **ताजे माध्यम में बारंबार स्थानांतरण (Periodic transfer to fresh media)**

इस विधि में शुद्ध कल्चर के स्टॉक को एक नियमित समया-ताल के पश्चात नये संवर्धन माध्यम में स्थानांतरित किया जाता है।

→ सामान्यतः सूक्ष्मजीव माध्यम जैसे न्युट्रेन्ट अगार माध्यम में कुछ हफ्तो या महिने तक जीवित रहते हैं।

→ इस विधि की सबसे बड़ी विशेषता है कि यह सामान्य विधि है और इसमें किसी विशेष उपकरण की आवश्यकता नही होती है। साथ ही कल्चर की पुनः प्राप्ति आसान होती है।

→ इस विधि की ~~कमि~~ ~~खामि~~ खामी यह है कि स्थानांतरण के परिणामस्वरूप म्युटेंट स्ट्रेन उत्पन्न हो जाते है और स्ट्रेन के लक्षण में परिवर्तन होता है, साथ ही संदूषण की संभावना बढ़ जाती है।

ⓑ * ग्लिसरॉल के प्रयोग से ~~स्टो~~ स्टोर कल्चर का परिरक्षण (Preservation of Bacteria using Glycerol)

→ इस विधि में 15% ग्लिसरॉल के इस्तेमाल से जीवाणु को जमाया (frozen) जाता है।

→ इस विधि में ग्लिसरॉल को 30% तक तनु किया जाता है अब ग्लिसरॉल और पोषक तरल माध्यम ~~को~~ (nutrient broth) ~~को~~ के समान मात्रा को आपस में मिलाया जाता है, और ट्यूब में डाला जाता है और −10°C पर जमाया जाता है।

→ अलग-अलग सूक्ष्म जीव कि इस विधि में जीविता (viability) भिन्न-भिन्न होती है।

जैसे E. coli − 5 month, Haemophilus influenzae 4 month, Neisseria meningitidis − 6 हफ्ते, और Neisseria gonorrhoeae − 3 हफ्ते।

ⓒ * सुखाने की विधि द्वारा स्टोर कल्चर का परिरक्षण (Storage by Drying method):-

→ कुछ सूक्ष्मजीव (microbes) के स्पोर्स जो कि शीतलन (freeze) के प्रति संवेदी होते हैं सुखाने की विधी द्वारा परिरक्षित किए जाते हैं।

→ सुखाने की विधि (Drying) में अलग-अलग विधियाँ इस्तेमाल में लायी जाती हैं।

* ~~पेपर~~ पेपर डिस्क (Paper disc) :- इसमें जीवाणु के एक मोटे घोल को एक मोटे सोखता पेपर (Absorbent Paper) के ~~विजर्मिकृत~~ विजर्मिकृत डिस्क में रखा जाता है, जिसे ~~निर्वात~~ ~~फास्फोरस पराक्साइड~~ निर्वात में फॉस्फोरस परॉक्साइड के ऊपर ~~निर्वात~~ में सुखाया जाता है।

* जिलेटिन डिस्क (Gelatin disc): इसमें बेक्टिरीया के घोल (suspension) के बूंद को जिलेटिन में विजर्मिकृत प्लास्टिक पेट्रीप्लेट में रखा जाता और जिसे निर्वात में फास्फोरस पेण्टॉक्साइड के ऊपर सुखाया जाता है।

* L-drying → जीवाणु को एक छोटे ट्यूब (Ampoules) में निर्वात पंप एवं डेसिकेटर के इस्तेमाल से द्रव अवस्था में सुखाया जाता है, तापक्रम को नियंत्रित करने के लिए वॉटरबॉथ इस्तेमाल में लाया जाता है।

इस विधि में शीतलन (freezing) के बिना सूक्ष्मजीव का घोल (microbial suspension) निर्वात में द्रव अवस्था में सुखाता (drying) है।

* इन विधियों के अलावा सूक्ष्मजीवों को निर्वात में $CaCl_2$ के ऊपर भी सुखाया जाता है और शीतलक (refrigerator) में संग्रहित किया जाता है। इस विधि में सूक्ष्मजीव लंबे समय तक परिरक्षित रहते हैं।

(d) * ~~शीतलक में~~ शीतलन द्वारा संग्रहण (storage by Refrigeration):-

→ यदि तापक्रम को 4°C पर नियंत्रित रखा जाये तब कल्चर मिडियम को शीतलक या शीतलक रूम में सफलतापूर्वक संग्रहित किया जा सकता है।

→ इस तापक्रम परास में सूक्ष्मजीव की जैविक क्रिया धीमी हो जाती है और केवल बहुत कम मात्रा में पोषकतत्व उपयोग में लाया जाता है।

→ इस विधि का इस्तेमाल लंबे समय तक नही किया जा सकता क्यों कि टॉक्सिक पदार्थ उत्पन्न होते हैं जो सूक्ष्मजीव को मृत कर ~~दे~~ सकते हैं।

LONG TERM METHOD :-

जब कल्चर को लंबे समय तक परिरक्षित करना होता है तब निम्न विधियाँ इस्तेमाल में लायी जाती है :-

(a) Mineral oil or Liquid Parafin storage:

इस विधि में विजमिकृत द्रव पैराफिन (sterile liquid Parafin) को सूक्ष्मजीव के स्लॉन्ट कल्चर के ऊपर पोर किया जाता है और कमरे के तापक्रम पर संग्रहित किया जाता है।

→ यह ऑक्सीजन की अधिकता को नियंत्रित करता है जो कि सूक्ष्मजीव की जैविक क्रिया (metabolism) को कम कर देता है, साथ ही साथ परिरक्षण के दौरान कोशिका को सूखने (drying) से बचाता है।

→ Azotobacter and mycobacterium को 7 से 10 साल तक जबकि Bacillus को 8-12 साल तक परिरक्षित किया जा सकता है।

(b) नमक घोल में संग्रहण (storage in saline suspension):-

→ जीवाणु के कल्चर को स्क्रू से कैप्ड ट्यूब में 1% नमक सांद्रता (salt concentration) में संग्रहित किया जाता है।

→ ट्यूब को कमरे के तापक्रम (Room temprature) पर रखा जाता है।

→ जब आवश्यकता पड़ती है तब अगार माध्यम (Agar medium) में स्थानांतरित किया जाता है।

(c) आसुत जल में डुबाकर (Immersion in Distilled water):-

→ इस विधि का इस्तेमाल कवक के कल्चर को परिरक्षित करने में किया जाता है। कवक को 20°c पर संग्रहित किया जा सकता है जो 2-10 साल तक जीवित रहते हैं।

→ स्पोर्स उत्पन्न करने वाले कवक का अगार स्लान्ट तैयार किया जाता है और 25°c पर कई सप्ताह तक संग्रहित किया जाता है जिससे स्पोर्स उत्पन्न होते हैं।

→ अब 6-7 ml. d/w को कल्चर में प्रवेश कराया जाता है और कल्चर के सतह को धीरे से खरूचा जाता है, जिससे स्पोर एवं माइसीलियम का घोल तैयार किया जाता है

→ इसे विजमिकृत ग्लास वॉयल में 25°c पर रखते हैं। कल्चर को प्राप्त करने के लिए 200-300 μm घोल को वॉयल से निकालकर फ्रेश माध्यम में रखा जाता है।

Euglena : General account and Economic importance

Euglena, यूकैरियोटिक, एककोशिकीय जीव है जिसमें जन्तु एवं पादप दोनों के गुण पाये जाते हैं। Euglena में flagella पाया जाता है। Euglena में plastid पाया जाता है [illegible] की तुलना में एवं प्रकाश में प्रकाशसंश्लेषण की क्रिया करता है। रात्रि में [illegible] Euglena की [illegible] [illegible] करता है। Euglena के लगभग 1000 प्रजातियाँ पाई जाती हैं। ये [illegible] जल में, [illegible] एवं दलदल (marshes) एवं नमी युक्त [illegible] में पाये जाते हैं।

Systematic Position : [illegible] के आधार पर Euglenophyta [illegible] Euglena को algae के साथ रखा जाता है

— Domain = Eukaryota

Kingdom = Protista

Phylum = Euglenozoa

Class = Euglenoidea

Order = Euglenales

Family = Euglenaceae

Genus = Euglena

General characteristics (लक्षण)

* यूग्लीना में [illegible] पाया जाता है जो [illegible] होते हैं।
* [illegible] Euglena [illegible] के रूप में होते हैं।
* Chlorophyll pigment के कारण ये हरे रंग के दिखाई देते हैं।
* इनमें [illegible] पाया जाता है [illegible] nucleus पाया जाता है।
* Euglena [illegible] होता है जिसके [illegible] पेलिकल (Pellicle) का [illegible]
* इनमें [illegible] होता है [illegible] पाया जाता है जो [illegible] प्रदान करती है।
* इनमें [illegible] पाया जाता है जो [illegible] को बाहर करता है।
* कई [illegible] ([illegible]) जैसे [illegible], [illegible] [illegible] स्रोत होते हैं।

Fig. Euglena

Nutrition : इनमें chloroplast पाया जाता है जिसमें ~~.....~~ chlorophyll उप० होता है।

- ये प्रकाशसंश्लेषण (Photosynthesis) की क्रिया प्रदर्शित करते हैं एवं अन्य कार्बनिक पोषक जैसे विटामिन B12 की आवश्य० होती है।

- कुछ प्रकाशसंश्लेषी युग्लिना को जब अंधेरे में (dark) में grow कराया जाता है तब ये अपने क्लोरोफिल को मुक्त कर लेते हैं एवं विषमपोषी (heterotrophic) की तरह कार्बनिक पदार्थ (organic matter) से पोषण प्राप्त करते हैं।

- विषमपोषी (heterotrophic) युग्लिना अपने चारो ओर के जल से पोषण प्राप्त करते हैं या Phagocytosis की क्रिया के द्वारा bacteria या protist का भक्षण करते हैं।

- Euglena के chloroplast में Pyrenoides उपस्थित होता है जो Paramylon (β-3 polymer of glucose) के संश्लेषण में इस्तेमाल होता है।

- भोज्य पदार्थ Paramylon के रूप में संग्रहित होता है। जो प्रकाश की अनुपस्थिति में ऊर्जा प्रदान करता है।

- Euglena के कुछ प्रजाति एल्कोलॉइड (alkaloid) उत्पन्न करते हैं जिसे Euglenophycin कहा जाता है ~~.....~~ जो fish को मारने में सहायता करता है

Locomotion and Phototaxis :-

इनमें eyespot पाया जाता है जिसे stigma कहा जाता है, ~~जिसमें stigma~~. प्रकाश संग्राहक (photoreceptor) पाया जाता है जो प्रकाश के संग्रहण एवं Phototaxis के लिए जिम्मेदार होता है।

- Light जिसे eyespot के द्वारा पहचाना (detect) किया जाता है, Paraflagellar body में Focus होता है।
- सामान्यतः दो Flagella पाया जाता है जिसमें से एक बाहर नहीं आता।

Reproduction : Asexually by Binary fission, प्रतिकूल (Unfavourable) परिस्थिति में cyst का निर्माण होता है।

Economic Importance :- 5 'F' model

- **Food** → विकसित देशों में पाउडर के रूप में प्रोटीन (Protein) के साधन (Source) में इस्तेमाल में लाया जाता है।
- **Fiber** → नये Fiber पदार्थ Paramylon का इस्तेमाल किया जाता है।
- **Feed** → Protein और पोषण के कारण जानवर (Livestock) एवं मछली के चारे के रूप में
- **Fertilizer** – biofuel प्राप्ति के पश्चात् बचा पदार्थ fertilizer के रूप में इस्तेमाल में लाया जाता है।
- **Fuel** →

Flagellates (Mastigophora)

ये प्रोटोजोआ के ऐसे समूह हैं जो कि एक केन्द्रिका युक्त (mononucleate) जीव होते हैं जो कि अपने जीवन चक्र के किसी स्तर पर एक या अधिक flagella धारण करते हैं। अधिकतर flagellates में पतला जेली के समान बाहरी स्तर Pellicle पाया जाता है। ये सामान्यतः दो class में विभाजित किया जाता है।

* **Phytoflagellates**: इसमें अधिकतर गुण algae के समान होता है कुछ में chlorophyll वर्णक पाया जाता है और जिसमें प्रकाशसंश्लेषण पाया जाता है। जबकि इस ग्रुप के अधिकतर सदस्य विषमपोषी (Hetrotrophy) या मिक्सोट्राफी (mixotrophy) होते हैं।

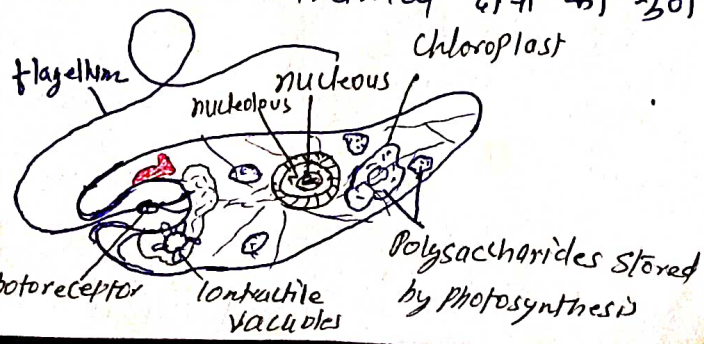
  उदा० Euglena, chlamydomonas, chloromonad, dinoflagellate, ~~class~~ cryptomonad, chrysomonad.

* **Zooflagellates**: ये Protozoa, कार्बनिक पदार्थ को plasma membrane के द्वारा अवशोषित करते हैं। या food vacuoles के द्वारा ग्रहण करते हैं। इसमें पाया जाने वाला Pellicle बहुत पतला होता है। zooflagellates में उनके आकार में बहुत भिन्नता पायी जाती है। ये स्वतंत्र, सहजीवी या मनुष्य और अन्य जीवों में परजीवी के रूप में पाये जाते हैं।

  उदा० choanoflagellate, Holomastigotoides, Protomonad, trichomonad

Flagellates को एक उदाहरण Euglena से समझते हैं।

Euglena का 54 genera और 800 प्रजाति पाया जाता है। Euglena के प्रजाति सामान्य fresh water और salt water दोनों में पाये जाते हैं। अधिकतर Euglena के cell में Plant के समान ~~cell~~ chloroplast पाया जाता है। परंतु इसमें विषमपोषी प्रकार का पोषण भी पाया जाता है। इसमें Plant और animal दोनों का गुण पाया जाता है।



Form and Function:- जब Euglena विषमपोषी जीव की तरह व्यवहार करता है तब यह भोज्य पदार्थ को चारों ओर से घेर लेता है और इसे Phagocytosis के द्वारा भक्षण करता है। जब सूर्य के प्रकाश की पर्याप्त मात्रा उपस्थित होती है तब ये प्रकाश संश्लेषी पूर्ण प्रदर्शित करते हैं और chlorophyll a और chlorophyll b के द्वारा sugar का संश्लेषण करते हैं।

Euglena का chloroplast तीन स्तर युक्त membrane से घिरा होता है।

सभी Euglenoids में दो flagella उपस्थित होते हैं जो Basal body में जुड़े होते हैं। Euglena में एक flagellum बहुत छोटा होता है और cell से बाहर नहीं निकलता जबकि दूसरा अपेक्षाकृत लंबा होता है।

यूग्लिना में लाल eyespot Present होता है, जो कि प्रकाश को छानता है और केवल एक निश्चित तरंगदैर्ध्य के प्रकाश को पहुंचने देता है।

Euglena में cell wall अनुपस्थित होता है जबकि इसके स्थान पर Pellical पाया जाता है जिसमें microtubules उपस्थित होते हैं।

कम आर्द्र अवस्था में और जब भोज्य पदार्थ की कमी होती है तब Euglena अपने चारों ओर रक्षात्मक wall का निर्माण करता है और सुप्तावस्था में पड़ा रहता है जिसे cyst कहते हैं।

* Euglena में प्रजनन binary fission (द्विविखण्डन) के द्वारा होता है जो उदग्र (longitudinal) होता है।

General characteristics and classification of Algae

यह प्रोकैरियोटिक प्रकाशजीवी का एक बहुत बड़ा समूह है। यह एककोशिकीय और बहुकोशिकीय रूप में पाया जाता है। भूरे शैवाल 50 मीटर लंबाई तक पाये जाते हैं। अधिकतर स्वपोषी (autotrophic) होते हैं। इनमें स्थलीय पादप के समान स्टोमेटा, जाइलम और फ्लोयम नहीं पाये जाते।

Classification: लिनियस (Linnaeus) ने Species Plantarum (1753) में शैवाल (algae) के 14 जेनेरा की पहचान की जिसमें 4 को ही आजकल शैवाल में सम्मिलित किया जाता है।

Systema Naturae में लिनियस ने जेनेरा वाल्वाक्स (Volvox) और कोरालीना (Corallina) को जन्तु वर्ग में रखा

* W. H. Harvey (1811-1866) और Lamouroux (1813) ने सर्वप्रथम Algae को उनके वर्णक (Pigment) के आधार पर 4 डिवीजन में बाँटा जो निम्न थे:

लाल शैवाल (Rhodophyta)

भूरे शैवाल (Heteromontophyta)

हरे शैवाल (Chlorophyta) और

डायएटोमेसी (Diatomaceae)

प्रसिद्ध वैज्ञानिक एफ. ई. फ्रीश (F. E. Frisch (1935)) ने algae को 11 क्लास में विभाजित किया जिसका मुख्य आधार:

(i) वर्णक (Pigmentation)
(ii) संग्रहित भोज्य पदार्थ (Reserve food material)
(iii) फ्लेजिला की स्थिती (flagellation) एवं
(iv) प्रजनन (Reproduction) था है।