

दूध का सूक्ष्मजीवी परीक्षण, दूध एवं दुग्ध उत्पादों में मिलावट की पहचान



डॉ. संजय कुमार भारती¹
एवं डॉ. जय किशन प्रसाद²

¹विभागाध्यक्ष, पशु शरीर रचना विभाग एवं अद्यक्षाताए बिहार पशु चिकित्सा महाविद्यालय, बिहार पशु विज्ञान विश्वविद्यालय, पटना-14

दूध महत्वपूर्ण खाद्य पदार्थों में से एक है। दूध निकालने के बाद दूध के स्वाद में जो भी परिवर्तन होता है। वह जीवाणु फफूंदी एवं विषाणु सूक्ष्मजीवियों के कार्यकलापों के कारण होता है। सूक्ष्मजीवी केवल माइक्रोस्कोप की सहायता से देखा जा सकते हैं। ज्यादातर जीवाणु 1 से 5 माइक्रोन आकार से होते हैं। ये जीवाणु कॉलोनी बनाते हैं, जिसे हम आंखों से देख सकते हैं। दूध के नमूने के परीक्षण में प्रायः निम्नलिखित बातों का ध्यान रखा जाता है:

1. एक मि.ली. दूध में उपस्थित जीवाणुओं की संख्या।
2. परिकल्पित परीक्षण द्वारा कोलीफार्म जीवाणुओं की संख्या।
3. स्तनशोथ से ग्रस्त गायों के परीक्षणाधीन दूध में कोशिकीय एवं जीवाणुओं की संख्या अधिक होती है।

जीवाणुओं की संख्या का निर्धारण निम्न विधियों से किया जाता है:

1. कॉलोनी गणन विधि
2. प्रत्यक्ष सूक्ष्मदर्शी गणन विधि
3. कॉलोनी गणन में सुधार के बाद विधियां :

- रोल ट्यूब विधि
- फॉन ओवन द्वारा फास्ट विधि
- बरी लेप विधि
- एगार स्ट्रिप विधि

कॉलोनी गणन विधि

दूध के नमूनों की ज्ञात मात्रा को ज्ञात अंश तक तनुकृत किया जाता है। प्रत्येक नमूने की बराबर-बराबर मात्रा को एगार प्लेट में फैलाकर इन्हें निश्चित काल तक इन्क्यूबेटर में ऊष्मायित किया जाता है। इन्क्यूबेटर से निकालने के बाद प्लेटों में संभावित कॉलोनियों

(पिन प्वाइन्ट) की गणन की जाती है। इनकी संख्या लगभग 300 होती है। इनकी संख्या 300 से अधिक होने पर प्लेट को विभिन्न खंडांशों में बांटकर औसतन संख्या निकाली जाती है। परिणामों को कॉलोनी गणन प्रति एक मि.ली. की दर से लिखा जाता है।

रोल ट्यूब विधि से कॉलोनी गणना

दो प्रतिशत एगार युक्त मानक दुग्ध एगार की 4.5 मि. लि. मात्रा को विशेष रूप से बनी अनेक बोतलों में पिपेट द्वारा डाल दिया जाता है। दूध के नमूनों को अच्छी तरह से मिलाकर इनका 10 गुना तनु घोल बनाया जाता है। तनुघोल की 0.5 मि.लि. मात्रा को पिघले तथा ठंडे माध्यम वाली बोतल में डाल दिया जाता है। इन बोतलों को स्पिनर में रखते हैं। डाट लगाकर नीचे की ओर करके 48 घंटे तक 37⁰ से.

अथवा 72 घंटे तक 30⁰ से. पर रखते हैं। दूध में सूक्ष्मजीवियों की संभावित संख्या ज्ञात करने हेतु 99 मि.लि. तनूकारक में 1 मि.लि. दूध मिलाकर अनुघोल तैयार करते हैं और सूक्ष्मजीवियों की गणना करके 100 से गुणा कर सही संख्या ज्ञात करते हैं।

बरी लेप विधि

तीन-चार दिनों तक 37⁰ से. तापमान पर दूध गणन एगार की प्रवणताओं को सुखाना चाहिए। पांच लूप दूध (0.001 मि.लि.) निकाल कर एगार पर लेप करके प्रवणताओं को 48 घंटे तक 37⁰ से. तापमान पर ऊष्मायित करना चाहिए। प्राप्त कॉलोनियों की कुल संख्या को 200 से गुणा करने पर मूल नमूने के एक मि.लि. में जीवाणुओं की संख्या ज्ञात होती है। तत्पश्चात् निर्जीवाणुक डाट वाली परखनलियों में प्रत्येक में से निर्जीवाणुक पिपेट द्वारा 2 मि.लि. पिघला हुआ 2 प्रतिशत

दूध एगार पर डालें, 45 मिनट तक माध्यम को ठण्डा करें। परीक्षणधीन दूध के तीस अलग-अलग दस गुने घोल बनाएं तथा ठीक ढंग से अलग-अलग परखनलियों में 0.1 मि.लि. तनुघोल डालें। ठोस अवस्था में लाने पर इनमें क्रमशः 3-4 लम्बी स्ट्रिप बन जाती है। इनको 48 घंटे तक 37⁰ से. पर अथवा 72 घंटे तक 30⁰ से. पर ऊष्मायित करते हैं। इसके पश्चात् लेंस एवं गणक का उपयोग करके कॉलोनी की संख्या गिनते हैं।

प्रत्यक्ष सूक्ष्मदर्शी गणन विधि

कांच की कई ऐसी स्लाइडों (slides), जिनमें प्रत्येक में 1 से.मी. क्षेत्रफल उत्कीर्ण हो, का निर्जीवीकरण करना चाहिए। दूध के नमूने को अच्छी प्रकार हिलाकर स्लाइड पर लूप द्वारा 0.01 मि.लि. दूध समान रूप से फैलाया जाता है। पतली परत को तेजी से सुखाते समय लौ में स्थिर नहीं रखना चाहिए। स्लाइड को न्यूमैन अभिरंजक में 15 से. तक रखा जाता है। अभिरंजक के कारण फिल्म स्थिर हो जाती है, दूध से वसा निकल जाती है तथा सूक्ष्मजीव अभिरंजित हो जाते हैं। जब तक स्लाइड सूख न जाए, तब तक अभिरंजक को निसरने व निसरने व निकलने नहीं देना चाहिए। स्लाइड को धोकर व सुखाकर तीस क्षेत्रों में सूक्ष्मजीवों की संख्या ज्ञात करनी चाहिए। औसत आधार पर प्रति मि.लि. दूध में सूक्ष्मजीव संख्या ज्ञात करनी चाहिए। एक मि.लि. में जीवणु-संख्या निकाली जाती है। इसी के

आधार पर 1 मि.लि. दूध में उपस्थित संख्या की गणना संभव है।

यदि क्षेत्र का व्यास 0.01 से.मी. है, क्षेत्रफल 0.0031417 वर्ग से.मी. होगा। अतः 1 वर्ग से.मी. में संख्या = 1/0.0031417 होगी। माना जीवाणुओं की संख्या 10 है, तो 1 वर्ग से.मी. में जीवाणुओं की संख्या 31830 होगी। अतः 1 वर्ग सी.मी. स्लाइड पर या 0.01 मि.ली. दूध में 31830 और इस प्रकार जीवाणुओं की कुल संख्या 3183000 होती है।

जीवाणु प्रदूषण के स्रोत

स्तन : स्तन को पानी से अच्छी तरह से धोना चाहिए और पहली दूध की धारों को निष्कासित कर देना चाहिए, क्योंकि इनमें अधिक संख्या में सूक्ष्मजीव होते हैं।

गवाला : दूध निकालने वाले व्यक्ति के हाथ गंदे होने की स्थिति में दूध में जीवाणु के प्रवेश का रास्ता आसान हो जाता है।

पशु-शरीर : पशुओं की ढंग से सफाई होने पर दूध में गंदगी जाने की संभावना कई गुणा बढ़ जाती है।

वायु : पशु-शाला प्रदूषित होने की स्थिति में जीवाणुओं की संख्या बढ़ जाती है। प्रदूषित वायु से दूध में जीवाणु का खतरा बढ़ जाता है।

बर्तन : बर्तन जीवाणु को फैलाने में महत्वपूर्ण भूमिका अदा करते हैं। जिन बर्तनों में दूध निकाला जाता है, उन्हें अच्छी तरह से अपमार्जक (डिटरजेंट) से साफ करना चाहिए। इसके अतिरिक्त दूध के

कैनों का अच्छी तरह निर्जीवीकरण करना चाहिए, ताकि दूध प्रदूषित न हो।

दूध एवं दुग्ध उत्पादों में मिलावट की पहचान

अत्यधिक लाभ हेतु दूध एवं दूध के उत्पादों में बहुत अधिक मिलावट की संभावना बनी रहती है। इसका कारण यह है कि एक तो इन पदार्थों की हमारे देश में बहुत कमी है और दूसरे इनमें मिलावट बहुत आसानी से की जा सकती है। खाद्य पदार्थों में मिलावट की समस्या को कम करने के लिए भारत सरकार ने वर्ष 1954 में खाद्य मिलावट निवारण अधिनियम पारित किया था, जो वर्ष 1955 से लागू हो गया। इस अधिनियम की दूसरी धारा में मिलावट या अपमिश्रण की जो परिभाषा दी गयी है। इसके अनुसार यदि किसी खाद्य पदार्थ की मात्रा अथवा शुद्धता एक निर्धारित मानक से नीचे गिर जाती है या इसके घटकों की गुणता परिवर्तन की निर्धारित सीमाओं के बाहर हो, तो उसे मिलावट युक्त या अपमिश्रित समझा जाएगा।

दूध में मिलावट की पहचान सीमाएं तथा मानक : भारत में मुख्यतः भैंस तथा गाय के दूध का ही व्यावहारिक महत्त्व है। हालांकि थोड़ी मात्रा में यहां बकरी के दूध का भी उत्पादन होता है। भैंस के दूध में औसतन 7 प्रतिशत वसा तथा 9.7 प्रतिशत वसा रहित ठोस पदार्थ पाये जाते हैं। गाय के दूध में वसा एवं वसा रहित ठोस पदार्थों की औसत मात्रा क्रमशः 4.95 तथा 8.75 प्रतिशत होती है। बकरी के दूध में वसा की

औसत मात्रा 4.9 प्रतिशत तथा वसा रहित ठोस पदार्थों की मात्रा लगभग 9.5 प्रतिशत होती है।

दूध में (अपमिश्रण)

1. दूध में मिलावटी पानी का संसूचन (detection) :

- दूध में अपेक्षाकृत कम वसा का होना।
- अपेक्षाकृत कम आपेक्षिक घनत्व का होना।
- दूध में अपेक्षाकृत कम वसा रहित ठोस पदार्थ अंश का पाया जाना।
- दूध के हिमांक का अपेक्षाकृत ऊंचा होना।

2. दूध से क्रीम निकाले जाने का संसूचन :

- दूध में वसा की अपेक्षाकृत कम मात्रा का होना।
- आपेक्षिक घनत्व का अपेक्षाकृत अधिक होना।
- वसा सहित ठोसों तथा वसा का अपेक्षाकृत ऊंचा अनुपात होना।

3. दूध में सप्रेटा की मिलावट का संसूचन :

- दूध में अपेक्षाकृत कम वसा का होना।

- अपेक्षाकृत अधिक आपेक्षिक घनत्व का होना।
- वसा रहित ठोसों एवं वसा का अपेक्षाकृत ऊंचा अनुपात होना।

दूध में पानी का निर्धारण

दूध में पानी की मिलावट का निर्धारण नाइट्रेट परीक्षण, लैक्टोमीटर मान पर आधारित सूत्र, हिमांक पर आधारित सूत्र एवं हंसा द्वारा किया जाता है।

दूध में विभिन्न ठोस पदार्थों की मिलावट की पहचान

(क) चीनी की मिलावट

: रिसॉर्सिनॉल सुक्रोस के साथ अम्लीय माध्यम में क्रिया करने पर लाल रंग पैदा करता है।

(ख) स्टार्च परीक्षण

विधि : आयोडीन स्टार्च के साथ क्रिया करके नीला रंग पैदा करता है। यह एक अस्थायी स्टार्च-आयोडोकोम्प्लेक्स के कारण होता है।

(ग) लवण परीक्षण विधि

: सोडियम क्लोराइड, पोटैशियम क्रोमेट की उपस्थिति में सिल्वर नाइट्रेट के साथ क्रिया करके सरसों जैसा पीला रंग पैदा करता है।

(घ) सप्रेटा चूर्ण का परीक्षण

: सप्रेटा दुग्ध चूर्ण नाइट्रिक अम्ल के साथ क्रिया करके नारंगी रंग पैदा करता है, जबकि शुद्ध दूध पीला रंग देता है।

(ङ) उर्वरक : यूरिया,

अमोनियम सल्फेट तथा पोटैशियम नाइट्रेट कभी-कभी दूध में वसा रहित ठोस अंश बढ़ाने के लिए डाले जाते हैं।

दूध के वसा रहित ठोस को भारात्मक तथा मात्रात्मक, दोनों तरीकों से निर्धारित किया जाता है।

(च) जिलेटिन के लिए परीक्षण :

जिलेटिन पिक्रिक अम्ल के विलयन के साथ पीला अवक्षेप देता है।

घी में मिलावट की पहचान

1. वनस्पति तेलों की मिलावट

: हाइड्रॉक्लोरिक अम्ल की उपस्थिति में फाइटोस्टिकॉल ऐसीटेट घोल मिलाने पर परीक्षण का रंगीन होना घी में वनस्पति तेल की उपस्थिति का सूचक है। फाइटोस्टिकॉल ऐसीटेट परीक्षण, घोल परीक्षण, हेल्फेस परीक्षण (बिनौले के तेल के लिए) एवं नाइट्रिक अम्ल परीक्षण द्वारा घी में वनस्पति तेल की मिलावट की जांच की जाती है।

2. जांतव वसा (animal fat) की मिलावट :

सामान्यतः जांतव वसा तथा घी के गलनांक में बहुत अंतर पाया जाता है। किसी वसा का नमूना उसके गलनांक बिन्दु पर पारदर्शी होता है, परंतु जैसे-जैसे उसका तापमान घटता है, उसमें जमाव की प्रक्रिया शुरू होने लगती है। घी में जांतव वसा की मिलावट की स्थिति में घी अपेक्षाकृत अधिक अपारदर्शी हो जाता है, क्योंकि जांतव वसा का

जमाव जल्दी शुरू हो जाता है।

3. **खनिज तेल की मिलावट :** खनिज तेल क्षार के द्वारा साबुनीकृत नहीं होते हैं।
4. **रंजक की मिलावट :** मक्खन में कानूनन केवल ऐवैटी रंजक ही मिलाया जा सकता है। उसमें कोलतार रंजक मिलाने पर पूर्ण प्रतिबन्ध है। यदि ये रंजक मक्खन में मिलाए गए हों तो काफी पकाने पर भी ये

घी में रह जाते हैं। कभी-कभी भैंस के घी में पीला रंगा मिलाकर उसे गाय के घी के रूप में बेचा जाता है, क्योंकि इसका मूल्य अधिक मिलता है।

अन्य दुग्ध उत्पादों में मिलावट की पहचान

कभी-कभी मक्खन में बाहरी वसाएं मिला दी जाती हैं, जैसे जांतव वसा, वनस्पति वसा इत्यादि। इनके

संसूचन के लिए भी वही विधियां अपनायी जाती हैं, जो घी की मिलावट के लिए अपनायी जाती हैं।

इसी प्रकार यदि खोआ, खीर तथा रबड़ी इत्यादि में कोई स्टार्च युक्त पदार्थ मिलाया गया हो तो इसकी जांच पूर्व वर्णित स्टार्च परीक्षण विधि द्वारा की जा सकती है।