

الباب السادس عشر

بكتريولوجيا الالبان المكشفة والمجففة

تمتاز الالبان المكشفة والمجففة الجيدة الصنع ببقائها مدة طويلة دون تلف إذا حفظت على حرارة منخفضة ، على أنه تظهر أحيانا بهذه المنتجات وخاصة الالبان المكشفة تغيرات غير مرغوب فيها تؤدي إلى خفض قيمتها التجارية أو إلى تلفها كلية بحيث تصبح غير صالحة للغذية ، وينتج بعض هذه التغيرات عن نشاط الميكروبات والبعض الآخر يتسبب عن عوامل غير ميكروبية ، وسنبحث في هذا الباب أهم التغيرات الاولى ونشير بإيجاز الى الثانية ونشرح طرق الوقاية منها .

أولا - الالبان المكشفة

تنقسم هذه الالبان إلى محلاة وغير محلاة وقد سبق أن بسطنا باختصار طريقة صنعهما ، وهما وإن كانتا متشابهتين إلا أن اختلاف درجات الحرارة التي يعرض لها اللبن في أثناء الصنع واحتواء أولهما على نسبة عالية من السكر يؤديان إلى تباين أنواع الميكروبات التي يحويانها ومن ثم فإن التغيرات التي تطرأ على كلا الصنفين تختلف كثيرا من حيث منشأها وطبيعتها وستسكلم أولا عن تغيرات اللبن المكشف غير المحلى أى المعروف باللبن المتبخر ثم نبحث تغيرات اللبن المكشف المحلى .

١ - اللبن المكشف غير المحلى

لما كان هذا اللبن صالحا لنمو أصناف مختلفة من الميكروبات نظرا لاحتوائه على الماء والمواد الغذائية اللازمة لها مع خلوه من المواد الحافظة فإن من أهم ما يراعى لضمان بقاءه بحالة جيدة مدة طويلة تعريضه لحرارة تكفل إبادة ما يحويه من ميكروبات عقب الصنع أى تعقيمه تعقيا كاملا مع أحكام سد أوانيه بحيث لا يتعرض للتلوث عقب التعقيم ، فإذا أهمل أحد هذين الأمرين أصبح اللبن المتبخر عرضه للتلف . وقد تظهر التغيرات التي تحدث باللبن المتبخر عقب صنعه بمدة قصيرة إلا أنها في أحيان كثيرة لا تلاحظ إلا بعد انقضاء بضعة أسابيع من وقت الصنع فيكون اللبن قد وصل حيثئذ إلى الموزع أو المستهلك ، وهذا ينشأ في الغالب عن بقاء نمو الميكروبات التي قاومت حرارة التعقيم بسبب ارتفاع تركيز مواد اللبن الصلبة أو عدم ملائمة درجات الحرارة التي حفظ عليها اللبن لنمو الميكروبات ، فإذا نقل إلى مكان مرتفع الحرارة كما يمكنه التوزيع أو المنازل أدى ذلك إلى زيادة نشاط الميكروبات وسرعة ظهور التغير تبعا لذلك .

وأحيانا يلاحظ حدوث التغير في جميع الصفائح التي صنعت في نفس الدفعة وفي أحيان أخرى لا يظهر إلا ببعض الصفائح فقط دون البعض الآخر وغالبا تسبب الحالة الأولى عن عدم تمام عملية التعقيم أو شدة مقاومة الميكروبات التي أحدثت التغير لتأثير الحرارة المستعملة ، أما الثانية فينشأ في الغالب عن عدم انتظام توزيع الحرارة في المعقم أو عن وجود عيوب ببعض الصفائح .

ومن أهم التغيرات التي تلاحظ باللبن المتبخر وأكثرها شيوعا التجبن وتكون الغازات والمرارة وطعم السمك وسنبحث كل منها على حدة ونتكلم عن أسبابها وطرق تجنبها

أرشد : التجبن (Curdiness)

إما ان يحدث هذا التغير عن عمل البكتريا أو عن تأثير الحرارة التي يعرض لها اللبن في أثناء التعقيم ، وقد يؤدي إلى تجبن اللبن جميعه وظهوره على هيئة خثرة صلبة متماسكة أو يسبب تكون كتل صغيرة أو قشور ، وقد يكون التجبن مصحوبا بظهور شرش قليل أو غير مصحوب به

ويميز التجبن الناتج عن عمل البكتريا من الناشئ عن تأثير الحرارة بأن الأول يظهر تدريجيا بعد تعقيم اللبن على حين أن الثاني يلاحظ حالما تنقل الصفائح من المعقم .

التجبن الناتج عن البكتريا: وجد أن لعدة أنواع من البكتريا القدرة على تجبن اللبن المتبخر عند تلقينه بها كما لوحظ أن مظهر الخثرة الناتجة والتغيرات التي تصحب التجبن تختلف باختلاف نوع البكتريا المسببة له ، فبعض الأنواع قد تجبن اللبن تجبنا كاملا والبعض قد لا يسبب سوى تجبن جزئي ، وفي بعض الاحوال قد يصحب التجبن ارتفاع في حموضة اللبن أو تغير في طعمه ولونه الخ .

ومن الأنواع المسببة للتجبن البكتريا العصوية المتجزمة الهوائية المعروفة بقدرتها على إنتاج التجبن الحلو في اللبن السائل مثال ذلك باسلس سريس (B. cereus) التي دلت الابحاث على أنها تسبب تجبن اللبن المتبخر عند حفظه على درجة ٩٨,٦ ف بعد انقضاء وقت قصير من تعقيقه دون أن تؤثر في درجة حموضته . وقد عزل هامر (Hammer) ميكروبا آخر من لبن متبخر متجبن أطلق عليه اسم باسلس كواجيولانس (B. coagulans) ولاحظ أن هذا الميكروب يؤدي إلى ارتفاع الحموضة وينتج خثرة صلبة يعلوها في الغالب قليل من الشرش ولها طعم ورائحة جبنية ، كما ظهر أنه يجبن اللبن المتبخر في مدة ٤ — ٦ أيام عند حفظه على درجة ١٣١ ف ولكنه لا يحدث هذا التغير إلا بعد انقضاء ٩ — ١٤ يوما إذ حفظ على درجة ٩٨,٦ ف وبعد انقضاء ١٩ يوما على حرارة الحجرة .

ولما كان التغير الناتج عن عمل الميكروب المذكور لا يكثر ظهوره إلا في زمن الصيف فان حفظ اللبن المتبخر على حرارة منخفضة يساعد على وقف عمله .

وباسلس كواجيولانس كبير المقاومة لتأثير الحرارة ، فقد وجد أنه يتحمل التعرض لدرجة ٢٢٣ ف (١٠٦,١ س) لمدة دقيقتين ولاكن التسخين على درجة ٢٣٤ ف (١١٢,٢ س) لمدة ٦ دقائق يضمن إبادته . وقد وجد هامر وهاسونج (Hussong) كذلك أن تجبن اللبن المتبخر قد يعود إلى ميكروب آخر

يعرف باسم ياسلس كاليدولاكتس (*B. calidolactis*) وهو ميكروب متجشم يحدث التغير بسرعة على درجة حرارة تتراوح بين ١٤٠.٩١٣١ ف (٦٠.٥٥٥ س) أى أنه يحب للحرارة ولذا فهو لا ينمو باللبن أو يجبنه إذا حفظ على درجة ٩٨,٦ ف أو أقل .

ومن أهم الاحتياطات الواجب مراعاتها لتجنب هذا التغير الاهتمام بنظافة المصنع وجميع مشتملاته حتى يمنع وصول الميكروبات السالفة الذكر الى اللبن بقدر الامكان ، وكذلك استعمال حرارة عالية في تعقيم اللبن المتبخر والتحقق من انتظام توزيع الحرارة في المعقم وحفظ اللبن على حرارة منخفضة .

وقبل أن نختم الكلام عن هذا التغير تجدر الإشارة إلى أن ميكروبات حامض اللكتيك العادية قد تسبب أحيانا تجبن اللبن المتبخر ، ولكن لما كان من غير المنتظر أن تقاوم هذه الميكروبات الحرارة التي يعرض لها اللبن المتبخر عند تعقيمه فإن وجودها به يعزى في الغالب الى عيب ببعض الصفايح . ولذا فإن التغير الناتج عنها لا يظهر بجملة الصفايح بل بواحدة أو اثنتين منها في بعض الأحيان .

التجنب الناتج عن الحرارة : يظهر هذا التغير في الغالب أثناء عملية التعقيم وعادة تكون الخثرة المتكونة في هذه الحالة لينة بحيث يكفي رج اللبن عند إدارة الصفايح بالمعقم (لغرض توزيع الحرارة عليها جميعاً بانتظام) لتكسيدها واختفائها فيبدو اللبن بعد تمام تعقيمه وتبريده متجانساً قشدي القوام ، على أنه قد لا يكون الرج السالف الذكر وافياً بالغرض وحينئذ تعامل الصفايح بعد تعقيمها في آلة خاصة حيث ترج بشدة بعض الوقت لتكسير الخثرة . ومع هذا فقد لا يؤدي ذلك إلى النتيجة المطلوبة إذا كانت الخثرة المتكونة صلبة ومتمسكة ، ولذا كان من الضروري ضبط حرارة التعقيم بحيث تكفي لإبادة الميكروبات دون أن ينشأ عنها خثرة مستديمة (permanent curd) ، وبالطبع ينبغي أن يقرن ذلك بمراعاة استعمال لبن طازج نظيف في صناعة اللبن المتبخر .

وقد استنتج من الأبحاث أن العامل الرئيس في هذا التجبن هو ما يحويه اللبن من الأملاح ، فإن هناك توازناً بين الكالسيوم والمغنسيوم من جهة والسترات والفوسفات من جهة أخرى ولذا فإن زيادة أملاح أحد القسمين تؤدي إلى التجبن على حين أن توازناً مناسباً (proper balance) ينتج عنه حالة الثبات التامة تقريباً ، وقد لوحظ أنه عندما يكون تجبن اللبن المتبخر ناتجاً عن اختلال توازن نسبة الأملاح التي يحويها فإنه يوجد في جميع الحالات زيادة في الكالسيوم والمغنسيوم ، ولهذا فإن إضافة سترات الصوديوم أو فوسفات ثنائي الصوديوم تؤدي إلى تحسن حالة اللبن بحيث يصبح أقل ميلاً للتجبن . وقد وجد أن لعدة عوامل أخرى علاوة على العامل السابق دخلاً في تجبن اللبن المتبخر بالحرارة ومن أهمها محتويات اللبن من الألبومين والميكروبات المكونة للرني ودرجة حموضته ودرجة الحرارة التي يعرض لها اللبن في التسخين الأولى الخ .

ثانياً -- تكون الغازات (Gas formation)

قد ينشأ تكون الغازات باللبن المتبخر أما عن عمل الميكروبات أو عن عوامل غير ميكروبية ، وهو يسبب انتفاخ أطراف الصفايح نتيجة الضغط الذي يحدثه داخلها ، وقد يكون هذا الضغط كبيراً لدرجة أنه

يؤدى إلى انفجار (bursting) الصفائح على طول خط اللحام وخروج محتوياتها على هيئة رغاوى ، وكثيرا ما يتسبب عنه خسائر اقتصادية عظيمة .

وتختلف رائحة اللبن المتبخر الغازى فتكون أحيانا حمضية مقبولة وغالبا تعفنية كريهة ، وقد يصحب هذا التغير تجبن اللبن ، ويسهل عادة تمييز التغير الناتج عن الميكروبات من السبب عن عوامل غير ميكروبية باحتواء اللبن فى الحالة الأولى عند فحصه ميكروسكوبيا على عدد كبير من الخلايا البكتيرية .

نكوبه الغازات الناتج عن الميكروبات : كثير من الميكروبات له القدرة على إحداث التخمر الغازى

فى اللبن المتبخر وقد يكون أهمها الأنواع المتجرمة غير الهوائية ، فهذه الأنواع كبيرة المقاومة لتأثير الحرارة ولذا فقد لا تقتل بسهولة بعملية التعقيم فضلا عن أنها كثيرة الوجود باللبن السائل حيث يتلوث بها من العبارة والتربة والأواني غير النظيفة .

وقد عزلت عدة أصناف من البكتريا المتجرمة غير الهوائية من اللبن المتبخر الغازى وعند تلقيحها فى لبن متغير جيد أنتجت تغيرا مماثلا لما حدث باللبن الاصلى وصحب هذا التغير أولا ارتفاع فى الحموضة أعقبه انحلال وظهور رائحة تعفنية ، ومن هذه الأنواع باسلس بيوتريفيكس وبلكتريديوم نوفم (Plec. novum) وبلكتريديوم فوتيدم (Plec. foetidum) والآخر منها عل الاخص كثيرا ما يسبب اختمارا غازيا مع رائحة تعفنية شديدة وهو ذو جرثومة طرفية متفخخة وغير هوائى حتما ويقاوم التعرض لحرارة ١٤٥ ف لمدة ١٥ دقيقة .

ويعزى التخمر الغازى فى اللبن المتبخر أحيانا إلى ميكروبات غير متجرمة ، فقد عزل سافاج وهنوك (Savage & Hunwicke) بضعة أصناف من البكتريا تنتمى إلى طائفة القولون كما عزلا أنواعا أخرى من البكتريا السكرية والعصوية القصيرة والخماز وعند تلقيحها فى لبن متبخر جيد أنتجت اختمارا غازيا .

وقد عزل هامر كذلك من لبن متبخر غازى ميكروباً سبجياً أطلق عليه اسم ستربتوكوكس دسدندنس (Str. disdens) . وجد أنه يسبب انتفاخ الصفائح فى مدة ٣٦ - ٤٨ ساعة على درجة ٩٨,٦ ف وبعد ٧٢ ساعة على درجة حرارة الحجرة .

واللبن المتبخر الذى تخمر بتأثير الميكروب السالف الذكر له طعم حمضى مشوب بمرارة ، وتبلغ حموضته ٠,٧ - ٠,٨ ٪ ، وهذا الميكروب هوائى اختياراً ويقتل على درجة ١٤٠ ف (٦٠ س) لمدة ١٥ دقيقة ، ومعنى ذلك أنه يقتل بسهولة بالحرارة التى يعرض لها اللبن المتبخر أثناء تعقيمه ، ومن ثم فالمرجح أن التلوث بهذا الميكروب يحدث عقب التعقيم نتيجة وجود ثقبوب بالصفائح ولذا فانه لا يحدث الانتفاخ فى جميع صفائح الدفعة الواحدة بل ببعضها

ومن أهم الاحتياطات الواجب مراعاتها لتلافى هذا العيب استخدام أعلى درجة ممكنة فى التعقيم أو إطالة مدة التعقيم .

تكونه الفعالت الناتجة عنه عوامل غير ميكروبية: من أهم هذه العوامل تفاعل الحامض الموجود باللبن المتبخر مع معدن الوعاء المحفوظ به بمضى الوقت ، إذ يتحد بجزء كبير من الحديد فينتج عن ذلك انفراد غاز الايدروجين ، وبما يساعد على سرعة هذا التفاعل استمرار تعرض الصفائح لحرارة مرتفعة وقد يحدث انتفاخ الصفائح نتيجة خزن اللبن المتبخر على حرارة أقل من درجة تجمد الماء مما يتسبب عنه تجمد محتوياتها وتمدها وانتفاخ أطراف الصفائح تبعاً لذلك ، على أنه متى عرضت هذه الصفائح المتنتفخة لحرارة عالية عاد اللبن إلى حالته السائلة وإلى حجمه الاسلى ونتج عن ذلك عودة الصفائح إلى شكلها الاول هذا وقد وجد ان تعمية اللبن المتبخر بأمكنة واقعة بالقرب من مستوى البحر ثم نقله إلى جبات مرتفعة يؤدي إلى انتفاخ الصفائح كذلك ، ويعظم أثر هذا العامل اذا عيى اللبن بارداً في الصفائح ، ويحدث الانتفاخ في هذه الحالة نتيجة لزيادة الضغط في داخل الصفائح عن الضغط الجوى المحيط بها في الامكنة المرتفعة التي نقلت اليها ، ويمكن تلافي هذا العيب بتعمية اللبن المتبخر دافئاً .

ثالثاً - المرارة (Bitterness)

لا يلاحظ هذا التغير بكثرة في اللبن المتبخر بدرجة التغيرين السابقين ، وهو يصحب عادة التجهن ، ذلك لان معظم الميكروبات التي تجهن اللبن نجبتاً حلواً تهضم الخثرة فيما بعد ، مع تكون متحصلات مرة المذاق . ولقد أجرى عدة باحثين تجارباً على منشأ الطعم المر في اللبن المتبخر فعزل هنزيكر وريت (Hanziker & Wright) ميكروبا عسويا قصيرا غير متجرح ثم هوأى اختياراً يكون خثرة صلبة في مدى ٥ - ٧ أيام ذات طعم مر شديد وحرارته المثلى ٩٠ ف ويقتل بالتعرض لدرجة ٢١٢ ف لمدة ١ ساعة . كما عزل هامر ميكروبا عسوى الشكل اطلق عليه اسم باسلس أمارس (Bac. amarus) وعند تلقيحه في لبن متبخر جيد وحفظه على درجة ٩٨,٦ ف نتج عن ذلك ارتفاع طفيف في الحوضة ومراره في الطعم ثم تكونت خثرة صلبة بعد انقضاء بعض الوقت .

وقد عزل باحثون آخرون ميكروبا متجرحاً كبير المقاومة للحرارة يسبب مرارة اللبن المتبخر واثبتوا أن هذا الميكروب يحلل البروتين وينتج مقادير كبيرة من الببتون والمركبات الأزوتية الأخرى ونسبوا الطعم المر رئيسياً إلى هذه المتحصلات .

ويرجع السبب في ظهور هذا العيب غالباً إلى انخفاض حرارة التعقيم وقد أمكن تلافيه في بعض الأحوال برفع هذه الحرارة إلى درجة ٢٣٦ ف ومراعاة انتظام توزيع الحرارة أثناء التعقيم

رابعاً - طعم السمك (Fishiness):

وهو من التغيرات النادرة الحدوث في اللبن المتبخر ، وقد تمكن هامر من عزل ميكروب خاص من اللبن المتبخر الذي حدث به هذا التغير وإعادة إنتاج طعم السمك في لبن متبخر جيد في أيام قلائل عند تلقيحه به ،

وقد لاحظ بالصفائح التي تتج بها التغير ظهور غاز قليل وكتل صغيرة من الخثرة وارتفاع طفيف في حموضة اللبن ، كما شاهد أن التغير يحدث بسرعة أكبر على درجة حرارة الحجرة منه على درجة ٩٨,٦ ف .
وقد أطلق هامر على هذا الميكروب اسم باسلس ائوسميس وقد سبقت الإشارة اليه في الكلام عن التغيرات التي تحدث بالزبد ، وهو وثيق الارتباط بطائفة بروتيس وشكله عصوي وغير متجرحم ويذوب الجيلاتين ويهضم الكازين ، ويقتل بسهولة بالحرارة ولذلك فالماظنون ان التغير المذكور يحدث نتيجة تلوث الصفائح عقب التعقيم .

• • •

ويقتج باللبن المتبخر أحيانا بعض العيوب المسببة عن عوامل غير ميكروبية وتعتبر أقل أهمية من السابقة ومنها تغير اللون وتحوله الى البنى وهذا يعود رئيسيا الى طريقة التعقيم أو الى اضافة بيسكربونات الصوديوم أو الى ارتفاع حرارة الحفظ ، وقد وجد أن لطول مدة تسخين اللبن أثرا في ظهور هذا التغير يفوق أثر تعرضه للحرارة العالية ، ولذا يفضل دائما لتجنب ظهور هذا التغير تعقيم اللبن المتبخر بتعرضه لحرارة عالية لمدة وجيزة على تسخينه مدة طويلة على حرارة منخفضة ، وكذلك حفظ اللبن على حرارة أقل من ٤٥ ف ومن أمثلة هذه التغيرات ظهور راسب في قاع الاوعية بطول مدة الحفظ وهذا الراسب يحتوى على مواد محبة بيضاء اللون غير ذائبة ، وهى عبارة عن أملاح الكلسيوم والمغنسيوم ، والظاهر أن السبب الرئيسى في ظهور هذا التغير يعود إلى أثر عملية التعقيم في اللبن ، فكما ارتفعت حرارة التعقيم وطالت مدته كلما ازداد تكون الراسب وخاصة إذا كان تركيز اللبن عاليا ، كما لوحظ أن لحرارة الحفظ أثرا في تكون الراسب كذلك فقد وجد أنه لم يتكون في خلال أربعة أشهر عند حفظ اللبن على درجة ٤٥ ف بيد أنه يتكون بكمية كبيرة في مدى شهر واحد عند الحفظ على درجة ٨٥ ف ، وهذا يرجع غالبا الى أن سترات الكلسيوم أكثر قابلية للاذابة على حرارة منخفضة وتقل هذه القابلية تدريجيا بارتفاع الحرارة .

٢ - اللبن المكشّف المحلى

تموقف قابلية اللبن المكشّف المحلى للحفظ بحالة جيدة كما قلنا على تركيز مواد اللبن الصلبة وتركيز السكر المضاف اليه أثناء الصناعة ، ولو أنه يحتمل أن تكون لآبادة الميكروبات بعملية التسخين الأولى والتكثيف بعض الأثر في هذا الصدد ، فالبلزمة التي تنتج عن ارتفاع الضغط الاسموزى للمحلول السكرى المركز تركيزا عاليا تمنع نمو معظم الميكروبات ونشاطها حتى ولو حفظ هذا اللبن في أوان غير مقفلة وعلى درجة حرارة مناسبة لنمو الميكروبات .

وقد يحتوى اللبن المكشّف المحلى على ميكروبات لها القدرة على إحتمال التركيز العالى للمواد الذائبة وقد يتمو بعض هذه الميكروبات إلى حد ما دون أن يظهر باللبن تغير يذكر على حين أن البعض يمكنه النمو بسرعة تحت ظروف خاصة فيحدث تغيرات غير مرغوب فيها من أهمها تكون الغازات وازدياد كثافة اللبن والتكتل وتكون الأضرار ، كما قد تنشأ باللبن المكشّف بعض تغيرات أخرى مسببة عن عوامل غير ميكروبية سنشير إلى أهمها باختصار إتماما للقائمة .

أولاً — تكونه الغازات

يؤدى حدوث هذا التغير باللبن المكثف إلى انتفاخ الصفايح التى تحويه وانفجارها أحيانا ، كما قد ينشأ عنه فى حالة تعبئة اللبن فى براميل رفع أغطية هذه البراميل بقوة وخروج محتوياتها ، ويصحب إنتاج الغازات باللبن المكثف عادة إرتفاع حرارته وتجهينه على هيئة كتل ، ويظهر هذا التغير فى المعتاد بعد انقضاء بضعة أسابيع من صنع اللبن ، ولذا يغلب انتفاخ الصفايح بعد وصولها للموزع أو المستهلك ، وهو لا يظهر دائما فى جميع الصفايح التى صنعت فى نفس الدفعة ولكنه يظهر فى بعضها فقط

ويتسبب إنتاج الغازات غالبا من عمل ميكروبات خاصة ولو أن انتفاخ الصفايح قد يحدث أحيانا من عوامل غير ميكروبية وسنصفه ، أولا هذه الميكروبات ثم نشير الى العوامل المذكورة فى ظهور هذا التغير تكون الغازات بواسطة الميكروبات : دلت الابحاث على أن هذا التغير ينشأ فى أغلب الأحوال عن نمو ونشاط خمائر خاصة مخمرة للسكروز ، وقد أطلق هامر على إحدى هذه الخمائر اسم تورديولا لاكتيس كوندنسى

(*torula lactis condens*)

ولا تتكاثر هذه الخمائر تحت شروط غير هوائية ، ونظرا لأن كمية الاكسجين التى تحويها صفايح اللبن المكثف المحكمة السد محدودة وتستنفد بسرعة فانه لا يحتمل حدوث هذا التغير باللبن إلا إذا وجدت به الخمائر المذكورة بوفرة أو إذا تمكنت من التكاثر بدرجة كافية قبل أن ينفد الاكسجين القليل الموجود وتصير الشروط غير هوائية فيتمتد نتج الخمائر كمية مناسبة من الانزيمات تكفى لحل السكروز والاستمرار فى إنتاج الغاز اذ ان عمل الانزيمات لا يتوقف على وجود الاكسجين بعكس الخمائر فان نفاذه يوقف تكاثرها ويؤدى إلى نقص عددها تدريجا

ويحدث التلوث بالخمائر بسبب قلة العناية بإنتاج اللبن الخام المستعمل فى الصناعة أو عدم نقاوة السكروز المضاف أو تلوث الاجهزة والمعدات الاخرى أو تعرض اللبن المكثف مدة طويلة للهواء أثناء التبريد . ويكثر ظهور التغير فى زمن الصيف إذ يزداد التلوث كما تساعد حرارة الطقس المرتفعة وقتئذ هذه الميكروبات على النمو .

وبما أن الخمائر السالفة الذكر غير مقاومة لتأثير الحرارة فان وجودها باللبن المكثف المحلى غالبا ما يعزى إلى اجراء التسخين الاولى على حرارة منخفضة أو لمدة قصيرة أو الى التلوث الشديد كذلك عقب التكشيف أو الى تعبئة اللبن فى أوعية غير تامه النظافة والتعقيم أو غير محكمة السد أى ذات أغطية منفذة للهواء . وقد وجد بعض الباحثين ميكروبا ينسب الى طائفة كولاي اروجينيس له انقدرة على إنتاج الغاز فى اللبن المكثف المحلى المحتوى على ٤٠ — ٤٥ ٪ من السكروز وعزوا انتقاله الى اللبن الى التلوث بواسطة الذباب فى الفترة بين خروج اللبن من المكثف ودخوله آلة التعبئة .

ومع أنه لم يثبت على وجه التحقيق قدرة بكتريا حامض البيوتريك الكبيرة المقاومة للحرارة على إنتاج الغازات باللبن المكثف المحلى إلا أن وجودها به يعتبر على وجه العموم غير مرغوب فيه .

الانتفاخ الناتج عن عوامل غير ميكروبية : قد يحدث انتفاخ الصفائح نتيجة لتعرض اللبن المكشوف المحلى لحرارة منخفضة ومرتفعة على التوالي في أوعية غير محكمة الاقفال مما يتسبب عنه انكماشه (Contraction) وتمدده (expantion) ، فاذا عيى اللبن المكشوف على درجة ٧٠ ف كما هو المعتاد وعرضت الصفائح بعد قفلها لحرارة شديدة الانخفاض عند خزنه أو نقله كما هو الحال في البلدان الباردة فان التفرغ الجزئى الذى يحدث داخلها نتيجة انكماش اللبن والهواء اللذين تحويهما يفتأ عنه سحب الهواء إلى داخلها ويعظم هذا الانكماش بالنسبة لائن اللبن المكشوف المحلى لايتجمد (freeze) ، فاذا عرضت الصفائح فيما بعد لحرارة مرتفعة تمدد اللبن والهواء وانتفخت أطراف الصفائح تبعاً لذلك .
ولتلاقي هذا العيب بحتاط من تعرض الصفائح لحرارة شديدة الانخفاض وتستعمل أوعية ملحومة جيداً بلحام كالتصدير .

ثانياً - القوام السميك (Thickening)

قد ينشأ هذا العيب كذلك أما عن عمل الميكروبات أو عن عوامل غير ميكروبية أو عن السبين معاً ، وهو من العيوب التى تزداد بمرور الوقت وخاصة عند حفظ اللبن على درجة حرارة مرتفعة نوعاً إذ يظهر في الدرجات الأولى باجزاء من اللبن ثم ينتشر في بقية اللبن جميعه فيما بعد
القوام السميك الناتج عن الميكروبات : يصحب التغير في هذه الحالة عادة ظهور طعم ورائحة غير مقبولين كثيراً ما تشبه طعم ورائحة اللبن وعند فحص اللبن يوجد أنه يحتوى على عدد كبير نسبياً من البكتريا ، كما أنه إذا خفف بالماء وسخن تنفصل الحثرة .
وقد دلت أبحاث ريس ودونز (Rice & Downs) عل ان هذا العيب يتسبب عن ميكروب كروى امكشهما عزله من جميع العينات المتغيرة تقريباً ووجد أن لهذا الميكروب القدرة على تحويل (inverting) وهدم السكروز وانتاج حامض ، كما له القدرة على النمو في محلول من السكر المذكور ذى تركيز عال ، وأنه يفضل النمو على درجات حرارة أكثر ارتفاعاً من الدرجات العادية .
ولما كان الميكروب المذكور غير مقاوم لتأثير الحرارة ويقتل بسهولة على حرارة التسخين الأولى فإنه يرجح تلوث اللبن به في المصنع بعد التكهيف وخاصة من احواض التبريد .
على ان دونز عزل فيما بعد صنفين من الميكروكوكس يسببان القوام السميك وعزى قدرتهما على احداث هذا التغير الى انتاج انزيم شبيه بالرينين بدليل تجبن اللبن اللتسمى تجبنا حلوا عند تلقيحه بهما .
ولتلاقي هذا العيب تراعى الاحتياطات الآتية :

١ - يستخن اللبن تسخيناً أولياً على حرارة تضمن قتل الميكروبات المسببة لهذا التغير ، وبما أنه وجد أن درجة الحرارة القاتلة للميكروبات المذكورة في مرق اللحم هي ١٤٧,٢ ف (٦٤ س) لمدة ١٠ دقائق ، فان الحرارة التى تستخدم عادة في التسخين الأولى أى ١٧٠ ف أو أكثر تعتبر كافية لبلوغ هذا الغرض بشرط أن يصل اللبن

الى الحرارة المذكورة قبل أن يضاف اليه السكروز إذ أن وجود السكروز كما اتضح من التجارب يزيد من مقاومة الانزيمات للحرارة .

ب — وقاية اللبن المكثف من التلوث من الأدوات والآجهزة غير النظيفة والهواء غير النقي بين خروجه من المكثف وسد الصفائح وذلك بمراعاة الاشتراطات الصحية في المصنع وعدم تعريض اللبن المكثف للهواء مدة أطول من اللازم

ح — حفظ اللبن المكثف على درجات حرارة منخفضة

القوام السميك الناتج عن عوامل غير ميكروبية : يز هذا التغير بأنه لا يصحب بارتفاع في الحموضة ولا بعلام غير متبول كما يحدث أحياناً في حالة التغير البكتريولوجي ، والمعتقد أنه يرجع الى تغيرات في البناء الغروي (Colloidal structure) لروتين اللبن ، على ن التفاعلات التي ينتج عنها التغير غير معروفة على وجه التحقيق ولأنه ثبت أن لموامل متعددة أثراً في حدوثه ، وقد تكون أهم هذه العوامل درجة حرارة الحفظ وطول مدته ، وكذلك درجة الحرارة التي يعرض لها اللبن في التسخين المبدئي ، فقد وجد أنه لا يحدث اذا حفظ اللبن على درجة أقل من ٤٥ ف وأنه كلما ارتفعت حرارة الحفظ زاد احتمال ظهوره فإذا حفظ مثلاً على درجات بين ٩٠ و ١٠٠ ف يسمك قوامه في مدى ثلاثين يوماً . أما من حيث تأثير التسخين فقد اتضح أن تسخين اللبن إلى حرارة تنقص قليلاً عن درجة الغليان يرفع حدوث هذا العيب على حين أن التسخين على حرارة أعلى من درجة الغليان يبطئ سرعة حدوثه .

بما تقدم يتضح أن أفضل الوسائل لتلافي هذا العيب حفظ اللبن المكثف على حرارة أقل من ٤٥ ف وكذلك إجراء التسخين الأولي إما على درجات ٢٣٥ — ٢٤٥ ف أي أعلى من درجة الغليان أو على درجات ١٧٦ — ١٧٠ ف لمدة ١٠ — ١٥ دقيقة ، والدرجات الأخيرة كافية لتدمير الانزيمات وقتل البكتيريا التي تؤثر في قابلية الحفظ وعلى الأخص إذا جرى التسخين قبل إضافة السكروز . ويتوقف ظهور هذا العيب كذلك على بضعة عوامل أخرى منها درجة تركيز السكروز وتوازن الأملاح المعدنية ودرجة حموضة اللبن الخ .

ثانياً — التكتل (Lumpiness)

يوجد أحياناً باللبن المكثف المحلى عند فتح الصفائح كتل ذات أحجام مختلفة ، وهذه قد تكون قليلة أو كثيرة ، لينة أو صلبة ، بيضاء أو صفراء ، وقد يعود تكونها إلى عدة أسباب من أهمها رداءة اللبن الخام المستعمل في الصناعة ، وعدم نظافة الآلات التي يعامل فيها اللبن أو الأنايب التي يمر بها ، واستعمال ألوان الماشية بعد الولادة بزمان قصير ، كما قد يعزى إلى تلوث الاموعية التي يعبأ فيها اللبن المكثف .

فاحتواء اللبن الخام مثلاً على حموضة عالية يؤدي إلى ظهور هذا العيب ولذلك فإن التشديد في مراقبة اللبن الوارد إلى المصنع يساعد على تلافيه كما أن ملاحظة نظافة الأحواض والأنايب والمضخات والمبردات وآلات التعبئة من أهم وسائل التغلب عليه .

أما من حيث استعمال ألبن ماشية وضعت حديثاً وأثر ذلك في التكتل فإنه نظراً لاحتوائها على السرسوب أولاً لارتفاع محتوياتها من الألبومين واللاكتوجينولين وهى مواد حساسة للحرارة فإنها تتجهن بسهولة عند ملاستها في حالة تركزها للسطوح الساخنة في المكشفتكون على الأنابيب الحلزونية طبقة جيلاتينية سمكية بها تكتل . ويظهر العيب المسبب عن هذا العامل غالباً في الصفائح التى عبت في نهاية مدة إدارة الجهاز أى بعد سحب معظم اللبن المكشف الموجود به .

ويظهر هذا العيب في الغالب بصحبة الاختار الغازى أو الاختار الحامضى المسببين عن وجود عدد كبير من بكتريا مكونة للحامض لها القدرة على المعيشة في محلول سكرى مركز أو عن خمائر مخمرة للسكروز ، والحامض المتكون نتيجة الاختار يجبن الكازين .

رابعا - تكونه الأزرار (Button Formation)

تتكون على سطح اللب المكشف المحلى في بعض الأحيان أجسام تشبه الأزرار مختلفة الاحجام ، وهذه يمكن رفعها بسهولة أى أنها غير ملتصقة باللبن وتتكون ببطء .

والأزرار المذكورة عبارة عن كتل صلبة ذات لون مصفر أو بنى باهت أو بنى محمر ويتوقف حجمها على عمر اللب المكشف وعلى درجة الحرارة المحفوظ عليها ، فكلما كان قديماً وكلما ارتفعت حرارة الحفظ كلما كبر حجمها .

وقد أجريت عدة أبحاث حول منشأ هذه الأزرار ، فوجد أنها تسبب عن نمو الفطر المعروف باسم أسبرجيلس ريبنس (*Aspergillus repens*) وربما بعض الفطريات الأخرى ، وأن استنفاد (exhaustion) الأكسجين من الصفائح أو البراميل المعياً فيها اللب المكشف يحدد أو يمنع نمو الفطر المذكور كما وجد الأزرار ذاتها تعزى على الأرجح إلى عمل انزيم ينتجه الفطر ويستمر في العمل بعد موت الفطر فيضم الميسليوم الخاص بالفطر نفسه .

وقد اتضح من الأبحاث كذلك أن المدة اللازمة لتكوين الأزرار تختلف باختلاف درجة الحرارة المحفوظ عليها اللب وكية الهواء الموجودة بالوعاء وربما بعض العوامل الأخرى ، على أنه في المعتاد تظهر مجموعة الفطر بعد انقضاء ٥ - ١٠ أيام من صنع اللب ويحتمل أن يقف نمو الفطر بعد انقضاء أسبوعين أو ثلاثة نظراً لاستنفاد الأكسجين ، ويظهر لون بنى محمر في مدة شهر وأخيراً تأخذ الأزرار شكلها المميز عادة بعد انقضاء شهرين .

وأهم الوسائل لتلافي ظهور الأزرار هى الآتية : -

١ - وقاية اللب من التلوث : لما كانت الحرارة التى يعرض لها اللب في عملية التسخين الأولى وعملية التكشيف تكفى لقتل جراثيم الفطر المكون للأزرار إذا وجدت باللبن الخام المستعمل فإن وجودها باللبن المكشف يؤدي إلى التلوث عقب الصناعة ، ويحدث التلوث غالباً في أثناء التبريد وفي الفترة التى تمضى بين التبريد والتعبئة وكذلك نتيجة تلوث الصفائح والبراميل المستعملة في التعبئة ، لهذا كان من الضروري الاحتياط

من التلوث المذكور باستعمال جهاز تبريد لا يعرض اللبن فيه للهواء في أثناء العملية أو بعدها ، وكذلك العناية بتعقيم هذا الجهاز والصفائح وجهاز التعبئة ، والأفضل أن تعامل البراميل كذلك بالبخار لتعقيمها ثم يدهن داخلها بالشمع أو بسلبيكات الصوديوم قبل التعبئة .

ب — الحفظ على حرارة منخفضة : يبطؤ نمو الفطريات على وجه العموم على درجات الحرارة المنخفضة ، ولهذا فقد لاحظ بعض الباحثين أن الأضرار لا تظهر في اللبن المكثف المحفوظ على درجة ٦٨ ف أو أقل ، على أنه لضمان عدم تكويناها تحت الظروف التجارية ينبغي حفظ اللبن المكثف على درجة ٥٠ ف أو أقل .

ح — إخراج الأكسجين : لا تنمو الفطريات المسببة للأضرار في غياب الأكسجين فهو ضروري لمعيشتها ونموها ، لذلك فقد وجد أن قفل الصفائح تحت ضغط مخفف قدره ٢٠ بوصة أو أكثر يمنع ظهور العيب في اللبن المكثف الملوث بجراثيم الفطريات المذكورة .

هـ : التزنج

لا يعتبر التزنج من التغيرات الشائعة في اللبن المكثف المحلى ، ولكنه إذا حدث جعل هذا اللبن غير صالح للاستعمال كغذاء ، وهو من التغيرات التي تزداد وضوحا بمضى الوقت .

وهذا التغير كما أسلفنا القول هو نتيجة لتحليل الماء للدهن بواسطة الميكروبات أو بواسطة أنزيم الليباز الموجود باللبن الخام ، ويعزى الطعم والرائحة الرنخة إلى انفراد حامض البيوتريك وغيره من الأحماض الدهنية ذات الوزن الجزيئى المنخفض نتيجة للانحلال المائى المذكور .

ومن المحتمل أن يكون استعمال الماء غير النقى المستمد من مصادر مشكوك فيها في غسل الأنابيب أو الصفائح أو الأجهزة الخ من العوامل التي تؤدي إلى انتقال الميكروبات المسببة للتزنج — وخاصة بكتريوم فلورسفس — إلى اللبن المكثف وحدوث هذا التغير به .

ولما كان اللبن الخام يحتوى على أنزيم الليباز فإنه إذا لم تكن حرارة التسخين الأولى التي يعرض لها اللبن كافية لالتلاف الأنزيم المذكور لأدى ذلك إلى ظهور التزنج باللبن المكثف ، وما يعزى ذلك ما وجد من أن إضافة مقدار قليل من اللبن الخام لا يتجاوز ٠,٧٥ ٪ إلى اللبن المكثف الجيد الصنع كافية لحدوث التزنج .

وقد دلت التجارب على أن الاحتياطات الآتية تساعد على تلافى حدوث هذا العيب :

- أ — تجنب تلوث اللبن المكثف بلبن خام أى غير مسخن .
- ب — رفع حرارة التسخين الأولى بحيث تكفى لالتلاف أنزيم الليباز ، وقد وجد أن حرارة ١٦٧ — ١٧٠ ف لمدة ١٠ دقائق تكفى لهذا الغرض في حالة عدم احتواء اللبن الخام على سكروز .

سادس : التشمع

وهو من التغيرات النادرة الحدوث كذلك باللبن المكثف المحلى ، ولا يصحب بارتفاع عدد البكتريا أو زيادة حموضة اللبن .

ويفتح التشحم كما سبق القول عن تأثير الأكسجين في دهن اللبن ، ويسرع انتفاعه في وجود الضوء وخاصة ضوء الشمس المباشر وكذلك في وجود مقدار قليل من النحاس ومن أهم الدلائل على أن التشحم إنما يعزى إلى تفاعل كيمائى وليس إلى عمل ميكروبى أو أنزيمى ما يأتى : —

١ — أنه لا يمنع بالتعقيم أو باستعمال المطهرات القوية

٢ — أن عدد البكتريا بالعينات التى ظهر بها التشحم منخفض .

على أنه يستدل من أبحاث ريس (Rice) أن الأحماض الدهنية التى تنفرد عن التحلل المائى للدهن بواسطة الميكروبات أو أنزيم الليباز الموجود باللبن قد تسرع التفاعل الذى ينتج عنه التشحم .

ومن أهم الاحتياطات التى تتخذ لتلافى هذا العيب ما يأتى :

١ — اجتناب تعرض اللبن المكشف للهواء مدة طويلة قبل التعبئة ، وكذلك تقليل كمية الهواء بالصفائح ملتصقة بها تماماً بقدر الامكان .

ب — مراعاة عدم بقاء اللبن فى أجهزة نحاسية مدداً أطول من اللازم . ويفضل معاملة اللبن فى أجهزة ذات سطوح ليست من النحاس الخالص أو سبائكها .

• • •

وهناك بعض التغيرات الأخرى كالتركيب الرملى (Sandiness) والترسيب وانفصال الدهن ، وهى تنشأ رئيسياً عن خطأ فى صناعة اللبن المكثف الحلى ، والتغير الأول يفقد الناتج تركيبه الناعم الأمس ويتسبب عن وجود بلورات سكرية كبيرة ، والثانى ينتج عن ترسب جزء من بلورات السكر إلى قاع الوعاء المحفوظ به مكوناً طبقة رقيقة أو سميكه ، وكلا التغيرين يتأثر بحجم بلورات السكر المتكونة ويتوقف ظهورهما على إتقان عملية التبريد ، أما العيب الثالث فيتسبب عن تكون طبقة دهنية على سطح اللبن ، وينشأ عن عدم تركيز اللبن بدرجة كافية ، ويزداد بحفظ اللبن على درجة مرتفعة ، ويمكن تجنبه بمراعاة الدقة فى عملية التكييف وإجراء التسخين الأولى على حرارة لا تقل عن ١٦٥ — ١٧٠ ف .

ثانياً — الألبان المجففة

يتوقف نجاح صناعة الألبان المجففة على بقائها بحالة جيدة دون أن يتطرق إليها الفساد فى زمن وميز ، لذا سنأتى هنا على ما يعثر بها من عيوب ونشرح أهم العوامل التى تؤدى إلى سرعة تلفها فى أثناء التخزين . لما كان مسحوق اللبن الجيد الصنع الذى اتخذت الحيلة الكافية لمنع تلوثه بالميكروبات عقب التجفيف لا يحتوى إلا على عدد يسير من البكتريا ، ولما كان مثل هذا المسحوق لا يشتمل إلا على نسبة مئوية ضئيلة من الرطوبة لا تسمح بتكاثر البكتريا التى يحويها على قتلها ، فانه لو حفظ فى أوعية مناسبة وعلى درجة حرارة منخفضة لا يكون عرضة للتلف بفعل الميكروبات ، كما ظهر لبعض الباحثين أن وجود عدد كبير من البكتريا فى اللبن المجفف لا يحدث تأثيراً محسوساً فى قابليته للحفظ إذا كانت نسبة ما يحويه من رطوبة منخفضة على أنه من جهة أخرى إذا ما احتوى المسحوق على نسبة عالية من الماء أو عرض للرطوبة كان ذلك مدعاة

لنو الميكروبات وتكاثرها فيه ونشأ عن ذلك انحلاله وسرعة تلفه ، كما وأن البكتيريا قد تؤثر أحيانا في المسحوق بطرق غير مباشرة وذلك باحداث تغيرات كيمياوية في اللبن الخام قبل تجفيفه مثل تكون حموضة وإنتاج الأنزيمات الخ مما يضر بنوع اللبن المجفف الناتج .

ولو أن للتجفيف تأثير فعال في منع الكثير من ضروب التلف التي قد تعترى اللبن السائل والمكشوف ، فإن هناك عدة عوامل قد ينشأ عن واحد منها أو أكثر ظهور عيوب في اللبن المجفف تؤثر في نوعه وتقلل من قيمته في أثناء مدة حفظه وتنحصر أهم هذه العوامل فيما يأتي :

نوع اللبن الخام — درجة حموضته — كيفية معاملة قبل وفي أثناء التجفيف — نسبة الرطوبة والدهن في اللبن المجفف — وجود أنزيم الليباز والعوامل المعدنية المساعدة فيه — حجم وتركيب ذرات المسحوق — مقدار تعرضه للحرارة والرطوبة والهواء والضوء عقب التجفيف وفي أثناء الخزن — إضافة السكر والسكرات إليه — ونوع الوعاء الذي يحفظ فيه .

أما أكثر تغيرات اللبن المجفف شيوعا فهي التزنخ — والتشحم — وفساد الطعم والرائحة — وتغير اللون ، وسنبحث فيما يلي العوامل التي تسبب أو تساعد على ظهور هذه العيوب .

أولاً — التزنخ : ينشأ التزنخ كما كررنا من قبل عن التحلل المائي للدهن الذي ينتج عنه إفراز أحماض

دهنية طيارة من أهمها حامض البيوتريك ، ويتسبب التزنخ من عمل أنزيم الليباز الذي تكوّن على الأغلب أنواع البكتيريا والفطر التي توجد باللبن ، ولذا فإن وقاية اللبن الأصلي من التلوث بالبكتيريا قبل تجفيفه مهم جداً لتلافي حدوث هذا العيب .

ولطريقة التجفيف أثر واضح كذلك في ظهور التزنخ بالمسحوق إذ أن الأنزيمات تتلف ويبطل عملها إذا عرضت للحرارة العالية ، ولذا يندر تزنخ اللبن المجفف الكامل الدهن المصنوع بطريقة الاسطوانات ، في حين أن هذا العيب شائع الحدوث في المساحيق المصنوعة بطريقة الرشاش من لبن لم يستخن مبدئياً إلى أكثر من درجة ١٤٠ — ١٦٠ فهرنهايت ، ويستدل من ذلك على أن هذه الأنزيمات لا تتلف بالفعل الحرارة المستعملة في طريقة الرشاش ، ولهذا ينصح للاحتياط من تزنخ المسحوق الكامل الدهن بتسخين اللبن إلى درجة حرارة تكفل لإتلاف الأنزيمات المجزئة للدهن التي قد توجد به بشرط أن لا تكون هذه الدرجة مرتفعة بحيث تؤثر في قابلية المسحوق للاذابة ، وذلك إلى جانب التحقق من جودة اللبن المستعمل في عملية التجفيف كما سبق القول .

ثانياً — التشحم : وهو أهم التغيرات التي تحدث في اللبن المجفف الكامل الدهن بطول مدة الحفظ .

ويشبه المسحوق عند حدوث هذا التغير من حيث الطعم والرائحة الشحم الفاسد ، وينشأ التشحم عن أكسدة الدهن بخلاف الزناخة التي تسبب كما ذكرنا من التحلل المائي للدهن ، ويصحب التشحم عادة بياض لون الدهن وتناثر سرعة الأكسدة بجملة عوامل ، أهمها الهواء ، والحرارة ، والرطوبة ، والضوء ، والحموضة ، ونسبة الدهن ، والعوامل المعدنية المساعدة ، والتكثيف المبدي ، والتجفيف ، وإضافة السكر ، والأوعية التي يحفظ فيها المسحوق ، وسنلخص فيما يلي تأثير كل من هذه العوامل .

(١) أثر الهواء في التشحم : يتسبب الطعم الشحمي كما ذكرنا من الأكسدة ولذا فإن حفظ المسحوق المحتوى على دهن معرضا للهواء أو في أوعية غير محكمة السد يؤدي الى سرعة ظهور هذا العيب فيه ، وبما يساعد على ذلك صغر حجم ذرات المسحوق ودقة تجزئتها فكلما صغر الحجم ازدادت مساحة السطح المعرض للهواء ، وازدادت تبعاً لذلك صعوبة منع التشحم ، وزيادة على ذلك فقد وجد ان ذرات المسحوق المصنوع بطريقة الرشاش تحتوى في الوسط على فجوات هوائية ، ولذا يكون الدهن في مثل هذا المسحوق معرضا للهواء من داخل الذرات وخارجها ، ومن هذا يتضح أن الطرق التي تتبع لمنع تأثير الهواء الخارجى لا تؤثر على الهواء الداخلى في ذرات المسحوق المصنوع بطريقة الرشاش

وقد دلت التجارب على أن المسحوق المصنوع بطريقة الاسطوانات لا تحتوى ذراته على فجوات هوائية ولهذا السبب يشاهد أنه أقل تعرضا للأكسدة والتشحم من المسحوق المصنوع بطريقة الرشاش كما ان الأبحاث قد أثبتت من مقارنة المساحيق المصنوعة بطريقة الرشاش ان فجوات الهواء أكبر حجماً في ذرات الأنواع التي أجري فيها ذر اللين بالطرد المركزى منها في الأنواع التي استعمل فيها الضغط ، ولهذا السبب تعزى قلة جوده الأنواع الأولى إذا قورنت بالأخيرة

وقد وجد زيادة على ما تقدم أن لتكثيف اللين قبل تجفيفه علاقة وثيقة بحجم الفجوات الهوائية التي تضمها ذرات المسحوق ، فهي أصغر حجماً في مسحوق اللين المكثف ولذا فانه أقل عرضة للتلف الناشئ عن الأكسدة من مسحوق اللين غير المكثف

وبما يساعد كثيراً في منع حدوث التشحم إزالة الهواء من الأوعية التي يحفظ فيها المسحوق وقت تعبئته واستبداله بغاز مثل الأزوت أو الايدروجين أو ثانى أكسيد الكربون ، وقد ظهر ان ذلك يبطل عملية الأكسدة ويقلل من حدوث التشحم ، وقد يكون أقل هذه الغازات فعلاً ثانى أو كسيد الكربون وأعظمها أثراً الأزوت

ولا يغرب عن الذهن إن اجراء النعجة مع وجود أحد هذه الغازات ليس من شأنه أن يمنع تأثير الأكسجين المحصور في الفجوات الهوائية داخل ذرات المسحوق المصنوع بطريقة الرشاش

(٢) أثر الحرارة في التشحم : من المعلوم أن الحرارة تساعد على إسرار التفاعلات الكيميائية ومنها الأكسدة ، لذلك فهي من أهم العوامل التي تساهم في حدوث التشحم باللين المجفف الكامل الدهن ، فاذا خزن هذا المسحوق على درجة حرارة أعلى من الصفر بقليل بقى دون تشحم مدة طويلة على فرض ملاءمة الظروف الأخرى بالطبع . أما إذا حفظ على حرارة الحجر العادية فيظهر فيه التشحم بعد اشهر قلائل ، وهكذا تزداد سرعة ظهور التشحم بارتفاع درجة الحرارة .

وقد أجريت تجارب كثيرة لمعرفة أثر الحرارة في سرعة ظهور التشحم فوجد من إحداها أنه على درجة ٣٢ فهرنهايت يمكن وقف التشحم لمدة ١٨ شهراً ، ولكن على درجة ٥٢ فهرنهايت تظهر بوادر التشحم في ١٢ — ١٣ شهراً في حين أن الطعم والرائحة الشحمية تظهر واضحة في ٥ — ٦ أشهر على درجة ٧٠ — ٧٥

فهرنيت ، وقد انضح من التجارب أيضا أنه ليس للحرارة أثر كبير في إحداث التشحم عندما يحفظ المسحوق في أوعية محكمة تمنع تسرب الهواء اليه .

ومما تقدم نرى فائدة النهاية بثقل المسحوق المصنوع بطريقة الرشاش من المجفف عقب تجفيفه مباشرة حتى لا يعرض لحرارة الهواء الساخن طول مدة إدارة الجهاز وإلا كان عرضة للتشحم في زمن وجيز كما لا ينبغي أن يعبأ المسحوق عقب تجفيفه مباشرة دون تبريد . لأنه يبقى إذ ذاك محتفظا بحرارته بضعة أيام ، فينشأ عن ذلك سرعة الأكسدة والتشحم ويحتاج لذلك في بعض أجهزة الرشاش بازالة المسحوق من المجفف عقب تجفيفه مباشرة ثم تبريده إلى درجة حرارة الحجرة ، وهو في طريقه من المجفف الى الأوعية ، وقد وجد لهذه الطريقة أثر نافع في مقاومة التشحم .

(٣) أثر الرطوبة في التشحم . في حين أن ارتفاع نسبة الرطوبة في المسحوق تؤدي إلى انخفاض قابليته للاذابة إذ لها تأثير عكسي على التشحم لأنها تبطئ أكسدة الدهن ، ومن ثم فإن المساحيق الكبيرة الجفاف سواء أكانت مصنوعة بطريقة الاسطوانات أم بطريقة الرشاش ، يظهر بها التشحم بدرجة وسرعة أكبر من المحتوية على نسبة عادية أو مرتفعة من الرطوبة

على أنه قد ظهر من بعض التجارب أن الأكسدة تسير في المسحوق المحتوي على درجة منخفضة من الرطوبة بنفس السرعة تقريبا التي تسير بها في المحتوي على نسبة مرتفعة ، غير أن ارتفاع نسبة الرطوبة في النوع الأخير يحجب الطعم الشحمي وتجعله غير محسوس .

وقد ثبت من بعض التجارب الأخرى الدقيقة التي أجريت على مدى علاقة الرطوبة بحدوث التشحم أن النسبة الرطوبه في المسحوق درجة مثلى لمنع التشحم ، وهي حوالى نسبة ٢ ٪ للمسحوق المصنوع بطريقة الاسطوانات و ٣ ٪ للمصنوع بطريقة الرشاش ، فإن انخفضت أو ارتفعت النسبة عن ذلك ازداد حدوث التشحم

(٤) أثر الضوء في التشحم : ثبت أن تعرض دهن اللين للضوء طويلا يؤثر في لونه فيجعله باهتا ، ويصحب ذلك ظهور طعم شحمي قوى ، فحفظ المسحوق الكامل الدهن معرضا للضوء مع وجود الهواء يساعد على حدوث التشحم ويسبب الضوء في مثل هذه الاحوال سرعة الأكسدة وظهور التغيرات الناشئة عنها ، وقد وجد ان الأشعة فوق البنفسجية على وجه الخصوص تضعف من مقاومة الدهن للأكسدة

للاسباب المتقدمة كان من أهم مايجب ان يراعى لجودة حفظ منتجات الألبان التي تحتوى على دهن تخزينها في جو مظلم ، وبلوغ هذه الغاية ينبغي عدم ترك اللبن المجفف الكامل الدهن معرضا للضوء طويلا قيل تعبئته ثم حفظه أما في براميل مغطاة جيدا أو في صفائح محكمة السد ، أما إذا حفظ في أوعية زجاجية فيجب ان تكون ذات لون يمنع نفوذ الأشعة فوق البنفسجية

(٥) اثر الحموضة في التشحم : تعتبر الحموضة من أهم العوامل التي تؤثر في ظهور التشحم إذ انها تسرع التفاعلات التي ينشأ عنها هذا العيب ، ولذا فان لنوع اللين السائل الذى يستعمل في عملية التجفيف أهمية كبيرة في مقدار مقاومة المسحوق الناتج للأكسدة وامكان حفظه مدة طويلة بحالة جيدة ، فاذا كان اللبن

السائل غير طازج ولم تتخذ الحبيطة الكافية لمنع تلوثه بالبكتريا ، وعرض لحرارة عالية تلاثم زيادة نشاطها مما ينشأ عنه زيادة هوضته تأكسد المسحوق الناتج بسهولة عادة وظهر فيه الطعم الشحمى بسرعة وقد دلت التجارب على أن للاحماض الدهنية أهمية خاصة في مقدار تعرض الدهن للاكسدة ، إذ ظهر أن غسل الدهن والتقطير بالبخار من شأنه أن يبطل هذه العملية كما وجد أن الطريقة المتبعة في التجفيف قد تؤدي إلى إزالة الاحماض من اللبن ، فالحرارة العالية التي يعرض لها اللبن في طريقة الاسطوانات وملاسته للسطوح المعدنية المرتفعة الحرارة من شأنها أن تزيل الاحماض بدرجة أعلى من طريقة الرشاش التي لا يلامس فيها اللبن سطوحا معدنية ساخنة ، وحيث لا يعرض إلا لدرجة حرارة منخفضة نسبياً ، وفي الواقع يلاحظ كل من مارس عمالية تجفيف الالبان أو اتجر بها أن التشحم لا يظهر في المساحيق المصنوعة بطريقة الاسطوانات بالسرعة التي يظهر بها في الانواع المصنوعة بطريقة الرشاش

(٦) أثر نسبة الدهن في التشحم : أجريت تجارب متعددة حول تأثير نسبة الدهن المثوية التي يحويها المسحوق على سرعة ظهور الطعم الشحمى فيه ولكن نتائج هذه التجارب متعارضة فبعضها يثبت أن ارتفاع نسبة الدهن أعلى من حد مخصوص يؤخر ظهور التشحم في حين أن البعض الآخر يستدل منه على عكس ذلك تماماً ، ولكن رغم هذه النتائج المتعارضة فقد يقال انه إذا تشابهت الظروف الاخرى فإن الزيادة في نسبة الدهن تؤدي إلى سرعة ظهور التشحم ، وبما يعزز ذلك ما يلاحظ من أن المساحيق الغرز وهي التي لا تحتوي عادة إلا على كمية صغيرة من الدهن (حوالي ١ - ١,٥ ٪) ليست عرضة للتشحم بدرجة المساحيق السكاملة الدهن ، ولذا فإن مصانع الالبان المجففة لاتضمن بقاء المسحوق الكامل الدهن بحالة جيدة أكثر من ستة أشهر ، وتنصح المستهلكين بعدم استعماله بعد تاريخ معين يرقم على الاوعية وقت تعبئتها وهو متأخر ستة أشهر عن وقت صنع المسحوق ، على أنه قد وجد أن المسحوق الجيد الصنع والتعبئة يمكن حفظه بحالة جيدة أكثر من عام دون أن يتطرق اليه الفساد أو يظهر به طعم غريب .

(٧) أثر العوامل المعدنية المساعدة في التشحم : قد وجد أن معادن مخصوصة كالنحاس والحديد ، وألملاح هذه المعادن ، وأكاسيدها يمكن أن تعمل كوكسيدات وعوامل مساعدة فتسرع الاكسدة ، وظهور التشحم في منتجات الالبان التي تحتوي على دهن . وأكبر هذه المعادن أثراً هو النحاس ثم يليه الحديد أما القصدير والنيكل فالظاهر أن ليس لهما تأثير يذكر وقد أثبتت بعض التجارب أن المسحوق الكامل الدهن الذي يحتوي على ١ - ١,٥ جزء من النحاس لكل مليون جزء من مواد اللبن الصلبة يظهر به تشحم شديد بعد ٩ - ١٠ أشهر في حين أن نفس التأثير يحصل في ٥ - ٧ أشهر إذا زادت نسبة النحاس إلى ٥ - ٧ أجزاء في المليون ، أما المسحوق المصنوع من لبن لا يحتوي على نحاس فقد يبقى دون أن يظهر به هذا العيب أكثر من عام .

وبما تقدم تتضح أهمية العناية بانتخاب المعادن المصنوعة منها سطوح الاجهزة المستعملة في معاملة اللبن قبل عملية التجفيف ، فما لاشك فيه أن العوامل المعدنية المساعدة مثل النحاس والحديد التي تذوب بكميات قليلة من سطوح المسخن المبدئي وأحواض التعميم الجزئي والمكثف والمواسير التي يمر فيها اللبن والمبرد ، تسبب سرعة أكسدة الدهن وظهور التشحم .

المادة - فساد الطعام والرائحة : يظهر أحيانا في اللبن المجفف عند استعماله تغيرات غريبة في الطعام

والرائحة غير الزناخة والتشحم تدل على قديم المسحوق وطول مدة خزنه.

وتتوقف سرعة ظهورها على نسبة الرطوبة الأصلية في المسحوق وعلى مدى تعرضه للرطوبة والحرارة والهواء عقب التجفيف في أثناء الحفظ . فان احتوى المسحوق على نسبة عالية من الرطوبة عند صنعه أو عرض للرطوبة مدة من الزمن تحول إلى هيئة كتل وتصلب وظهر فيه الطعم والرائحة الفاسدة بسرعة ، وبما يساعد على ذلك تعرض المسحوق للحرارة العالية أو الحرارة المنخفضة جدا في أثناء خزنه .

وقد لوحظ أن مثل هذه العيوب أكثر حدوثا في المساحيق المصنوعة بطريقة الاسطوانات منها في المصنوعة بطريقة الرشاش ، ويحتمل أن يكون سببها حدوث تفاعلات في البروتين تقوى بالرطوبة العالية نسبيا في المساحيق المصنوعة بطريقة الاسطوانات ، وبالحرارة العالية التي يعرض لها اللبن في أثناء تجفيفه بهذه الطريقة .

ولما كان لبن المجفف خاصية امتصاص الرطوبة من الهواء (hygroscopic) فان أفضل الوسائل لمنع ظهور هذه العيوب بالمسحوق هي وقايته من الرطوبة والهواء في أثناء الحفظ ، وذلك بأحكام سد الأوعية بعد تعبئتها وحفظها على درجة حرارة مناسبة لا هي بالمرتفعة ولا بالمنخفضة جدا أى حوالى ٣٥ - ٤٥ فهرنهايت ، على أنه لو أجريت تعبئة المسحوق في حالة عدم وجود الهواء أى اذا أجرى تفريغ الهواء من الأوعية التى يعبأ فيها أو استبدل بغاز الآزوت أو الايدروجين ، فان ذلك يقلل من تأثير حرارة الحفظ المرتفعة . وقد ظهر كذلك أن اضافة السكر الى المسحوق ، يجعله أقل قابلية لامتصاص الرطوبة من الهواء إذا قورن بالمسحوق العادى ، ويساعد على منع ظهور التغيرات الغريبة في الطعم والرائحة وتحول المسحوق إلى كتل وتصلبه .

مادها - تغير اللون : لون المسحوق في الغالب أبيض أو يعيل إلى الصفرة ، وقد يكون أحيانا

أصفر ، وينشأ ذلك عن تلون اللبن الأصلى نتيجة تغذية الماشية بمواد ينشأ عنها اللون المذكور ، وقد يكون لون الأنواع الرديئة من المسحوق مائلا إلى البنى ، وينشأ ذلك في الغالب عن استعمال الحرارة العالية في التجفيف ، وقد وجد أن تعرض المسحوق للرطوبة رغم ما يسببه من انخفاض في قابلية الاذابة ومن العيوب الأخرى التى ذكرت في عدة مناسبات سابقة ينشأ عنه تغير لون المسحوق كما أن خزنه على درجة حرارة مرتفعة (حوالى ٣٧ سنتجراد) . وتركيز اللبن إلى درجة كبيرة قبل تجفيفه ينشأ عنها نفس التأثير .

ومن ذلك يستخلص أن لوقاية اللبن المجفف من الرطوبة والحرارة أهمية كبرى في منع حدوث هذا العيب ، وقد شوهد كذلك أن المسحوق الذى أضيف إليه السكر لا يتغير لونه في أثناء مدة حفظه .

الميكروبات المرضية في الألبان المكثفة والمجففة

لا تعتبر الألبان المكثفة والمجففة من الوسائل الهامة لانتقال ميكروبات الأمراض ، ففي حالة الأصناف الأولى تضمن إبادة هذه الميكروبات بعملية التسخين الأولى وكذلك بعملية التعقيم النهائى في اللبن المتبخر

على أنه لا يعرف على وجه التحقيق مدى تأثير التركيز العالي للسكر في الميكروبات المرضية في حالة احتواء اللبن المكثف المحلى عليها إذ لم تجر أبحاث مستفيضة عن هذا الموضوع .
وغنى عن القول أن مراعاة نقاوة اللبن الخام المستعمل في صناعة هذه الألبان يكفل إلى حد ما خلوها من ميكروبات الأمراض ، كما أن وقايتها من التلوث بالغبار والذباب والعوامل الأخرى بعد فتح أوعيتها يساعد على درء خطر وصول هذه الميكروبات إليها .
أما من حيث الألبان المجففة فقد سبق أن أشرنا إلى أن المصنوع منها بطريقة الرشاش لا يضمن خلوه من الميكروبات المرضية إلا إذا أجريت بسترة اللبن الخام المستعمل في صناعته ، ولكن المحضر بطريقة الاسطوانة المكشوفة يعتبر خاليا منها نظراً للحرارة العالية التي يعرض لها .
وللعناية بانتخاب اللبن الخام ومراعاة نظافة ووقاية المسحوق من التلوث عقب الصنع أهمية في هذه الحالة تعادل أهمية العناية بهذا الأمر في حالة الألبان المكثفة ، وجدير بالذكر هنا كذلك أنه لم تجر أبحاث دقيقة على مدى معيشة الميكروبات المرضية التي قد توجد بالألبان المجففة .

الباب السابع عشر

بكتريولوجيا المشاجات اللبنية

يمكن تعريف المثلجات اللبغية عموماً بأنها لبن أوقشدة أضيفت إليها بعض مواد خاصة كالسكر والجيلاتين والبيض والفاكهة ثم جمدت بالتبريد ، وهى ذات قيمة غذائية عالية فضلاً عن تأثيرها المرطب ، إلا أنها من جهة أخرى قد تكون وسيلة لنقل بعض الأمراض الخطرة وخاصة فى زمن الصيف حيث يزداد التلوث بالذباب والغبار وغيرهما وتقل مقاومة الأطفال الذين يكثرون تغذيتهم بها للأمراض .
وبما أن اللبن والقشدة هما العنصران الرئيسيان اللذان يدخلان فى صنع معظم أصناف المثلجات ، وأهميتهما فى نشر الأمراض معروفة ، لذا فمن الضرورى اتخاذ أوفى الاحتياطات فى صنع هذه المنتجات وتداولها وقاية لمستهلكيها من خطر الأضرار التى قد تنشأ عنها .

وقد دلت التجارب الكثيرة التى أجريت على تقدير عدد البكتريا فى المثلجات وتميز أنواعها على أن معظم الأصناف التجارية منها تحتوى فى الغالب على عدد كبير من الميكروبات ، إلا أن أغلب أنواع الميكروبات التى تضمها غير ضارة ، على أنه من الثابت أن جل الظروف التى تؤدى إلى ارتفاع العدد الكلى تساعد كذلك على التلوث بالأنواع الضارة وتؤدى ذالبا إلى تكون متخلصات غير مرغوب فيها ناتجة عن نمو البكتريا ، ولذلك فانه من الأهمية بمكان الامام بالعوامل المؤدية إلى تلوث المثلجات بالميكروبات والوسائل التى تتخذ لإبادة ما يكون قد وصل إليها من الميكروبات أو منعها من النمو والتكاثر فيها .

عدد وأنواع البكتريا التى توجد بالمثلجات

يتوقف عدد البكتريا بالمثلجات على مدى نقاوة المواد المصنوعة منها وعلى درجة العناية المتخذة فى صنعها وتداولها ، فإذا روعيت هاتين الوجهتين فقد لا يتجاوز العدد فى السنتيمتر المكعب بضعة آلاف وقد لا يزيد عن الالف فى أحيان كثيرة ، أما إذا أهملتا فقد يبلغ عدة ملايين فى المقدار المذكور ، على أن التحسينات التى أدخلت على صناعة المثلجات فى السنوات الأخيرة واستخدام الأجهزة الحديثة وتعقيم المواد الداخلة فى تركيبها كان لها أثر واضح فى خفض محتوياتها البكتيرية .

ويستدل من الأبحاث التى أجريت على الميكروبات التى توجد بالمثلجات على أنها من أنواع متباينة نظراً لتعدد المصادر التى تنتقل منها ، فقد وجد بيل وهيكى (Yale & Hickey) من بحث حديث أجرياه على عدد كبير من عينات المثلجات واختبرها فيه ١٣٠ مجموعة من التى ظهرت على الأطباء فى لبن لمتسى حفظ

على درجة ٨٩,٦ ف (٣٢ س) لمدة ١٠ — ١٤ يوما أن الطوائف الآتية يغلب وجودها بالنسب المذكورة مقابل كل منها :

٥٦	أنواع منتجة للحامض ولا تجبن اللبن
١٣	» » » تجبن اللبن
١٥	» » » وتحلل البروتين
١٨	» تغير تأثير اللبن الى القلوية وتحلل البروتين
٢٠	» » » » ولا تجبن اللبن
٨	» عديمة التأثير
١٣٠	

ومن هذه النتائج يتضح أن الانواع المكونة للحامض تؤلف النسبة المثوية الغالبة من الميكروبات التي توجد بالمثلجات ، وقد وجد أنها تستمر كذلك طوال مدة الحزن .

مصادر تلوث المثلجات بالبكتريا

يقسم تلوث المثلجات بالبكتريا الى قسمين رئيسيين : أولهما - التلوث الناتج عن المواد المستعملة في صنعها ، وثانيهما - التلوث الحادث أثناء الصناعة والتداول ، وسفشرح فيما يلى كلا منها وطرق تلافيه :

أولاً - التلوث من المواد المستعملة في الصناعة :

تختلف أصناف المثلجات تبعا لل مواد الداخلة في تركيبها ، وقد تكون أهم هذه المواد اللبن ومنتجاته وخاصة القشدة والالبان المكثفة والمجففة والزبد ، والسكر والجيلاتين والبيض ، الفانيليا وأحيانا بعض الفاكهة والملونات وسنبحث علاقة أهم هذه المواد بتلوث المثلجات :

١ - اللبن ومنتجاته : قد يؤدي اللبن والقشدة الى زيادة العدد الكلى للبكتريا بالمثلجات زيادة كبيرة واحتوائها أحيانا على ميكروبات ضارة اذا لم تراعى العناية التامة في انتاجهما ومعاملتها ونقلهما الخ ، وقد سبق أن شرحنا الاحتياطات الواجب اتخاذها لضمان نقاوة هذه المواد ، وجدير بالذكر هنا أنه يفضل دائما بسترة اللبن والقشدة المستعملين في صنع المثلجات وتبريدهما بعناية وحفظهما على درجة حرارة منخفضة لحين الاستعمال ، وفي حالة استعمال قشدة واردة من أمكنة بعيدة ينبغي تبريدها قبل النقل واحاطة أوانيتها بمادة عازلة للحرارة وخاصة في زمن الصيف والا يصبح بها عند وصولها للصنع عدد هائل من الميكروبات وتزداد حموضتها الى درجة كبيرة فتصير غير صالحة للاستعمال في هذا الغرض .

أما الالبان المكثفة والمجففة وهى كثيرا ما تدخل في صنع المثلجات فان أولاهما قد تكون ذات أهمية كمصدر للتلوث إذ أن الالبان المكثفة المحلاة التى تستعمل في هذا الغرض تعبأ في المعتاد جملة في صقائح كبيرة أو براميل وهذه اذا حفظت على حرارة عالية مدة من الزمن تكاثرت بها البكتريا والخمائر وارتفعت حموضتها وحدثت بها تغيرات أخرى غير مرغوب فيها .

كما أن استعمال الزبد المصنوع من قشدة غير نظيفة أحيانا في صنع الثلجات قد يؤدي الى ارتفاع محتوياتها البكتيرية وخاصة اذا حدثت به تغيرات غير مرغوبة أو خزن على حرارة عالية .

٢ — الجيلاتين وهو أهم المثبتات (Stabilisers) التي تدخل في صناعة الثلجات فتكسبها القوام المتناسك والتركيب المطلوب وتختلف محتويات هذه المادة من الميكروبات باختلاف أصنافها ، فقد دلت التجارب على أن بعض عيناتها قد تخلو من البكتريا أو لا تحتوى إلا على عدد ضئيل منها لا يتجاوز ١٠ خلايا في الجرم الواحد على حين أن البعض الآخر قد يبلغ عدد ما يحويه في مقدار مماثل ١١٣ مليوناً ، كما استدل من الأبحاث على أن أصناف الميكروبات التي توجد بها متعددة إلا أن أغلبها من الأنواع المتجزمة والكروية .

وتقارن أحيانا مدى صلاحية عينات الجيلاتين للاستعمال في صنع الثلجات باذابة خمسة جرامات من العينة في ٩٥ سم^٣ من الماء المعقم في قنينة وحفظها على درجة حرارة تناسب نمو الميكروبات وتسمح ببقاء الجيلاتين صلبا (حوالى ٢٢ س) فتكون عليه المجموعات ، ومع أن نتيجة هذه المقارنة غير دقيقة إلا أنها تمكن من استبعاد العينات الشديدة التلوث ، كما يمكن بواسطتها ملاحظة درجة تعكير العينات المختلفة ولون محلول الجيلاتين ودرجة صلابته

وتجدر الإشارة إلى أن الحرارة التي يعرض لها الجيلاتين عادة عند اذابته تؤدي الى قتل عدد كبير من البكتريا التي يحويها ، وهذا العامل مضاف إلى صغر الكمية التي يستعمل بها في صناعة الثلجات يقللان من أهميته كمصدر لتلوث الثلجات بالبكتريا

وزيادة في الاحتياط من تلوث الثلجات من هذا المصدر يراعى حفظ الجيلاتين جافا وصيانه من الغبار والاضااخ وعدم تعرضه مطلقا للرطوبة فان ذلك بما يزيد من محتوياته البكتيرية

٣ — السكر : يستعمل السكر لتحلية الثلجات ، وهو لا يعتبر من مصادر التلوث الهامة نظراً لانخفاض محتوياته من البكتريا فقد أظهرت التجارب أن ما يحويه يتراوح غالبا بين ٢٤٠.٩٢٠ بكتريا في الجرام الواحد ، والسكر كالجيلاتين تنبغى وقايته من الرطوبة والغبار والاضااخ .

٤ — الفانيليا . من أكثر المواد المكسبة للنكهة والرائحة استعمالا في صناعة الثلجات . وهي كذلك قليلة الأهمية كمصدر للتلوث بالنسبة لقلة ما تحويه من بكتريا ولصغر الكمية التي تستعمل منها .

٥ — الفاكهة : تستعمل الفاكهة اما طازجة أو محفوظة لكي تنكسب الثلجات طعما مرغوبا فيه ويؤدي استعمال الأولى في المعتاد الى تلوث الثلجات بعدد كبير من البكتريا وخاصة إذا قلت العناية بتنظيفها ، كما قد يؤدي استعمال الثانية إلى نفس النتيجة إذا بقيت أوعيتها مفتوحة مدة من الزمن ، ويكثر التلوث من هذا المصدر غالبا بالخناثر والفطريات .

ثانياً : التلوث أثناء الصناعة والتداول :

أهم العوامل التي يتسبب عنها تلوث المثلجات أثناء الصناعة والتداول هي الآواني والاجهزة والعمال والهواء وسنشرح أثر كل منها فيما يلي :

(١) الآواني والاجهزة : لا يقل خطر تلوث المثلجات من الآوعية المستعملة في صنعها كالصفائح والاحواض الخ عن خطر تلوث اللبن من الآواني المستعملة في إنتاجه ونقله فجميعها قد تؤدي الى ازدياد عدد البكتريا الى حد كبير اذا لم تراعى العناية التامة بغسلها وتعقيمها عقب الاستعمال ووقايتها من التلوث على الدوام

وتعتبر آلتا التجنيس والتجميد من أهم مصادر التلوث وخاصة ثانيتهما نظرا لتعدد تركيبيهما ، وتقدير مدى نظافة هاتين الآلتين في المعتاد بامرار مقدار معين من الماء المعقم في الأولى أووضعه في ثانيتهما وإدارته مدة تعادل مدة التشغيل ، ثم احصاء عدد ما يحويه هذا الماء من ميكروبات ، وقد أظهرت التجارب انه في حالة مجرد غسل الآلتين دون تعقيمهما بالبخار تكون نسبة ما يحويانه من البكتريا عالية مما يؤدي الى شدة تلوث المزيج الذي يعامل فيهما بخلاف الحال اذا ما عقمنا بالبخار ، فقد وجد فاي (Fay) مثلا ان مزيجا قدر فيه عدد البكتريا بـ ٢٦٠٠٠ في الجرام الواحد بطريقة الاطباق قبل وضعه في آلة التجميد ارتفع فيه العدد الى ٦٢٥٠٠ في مقدار مماثل بعد تمام عملية التجميد ، وقد عزيت هذه الزيادة جزئيا الى تفكك السكتل البكتيرية ولكن أغلبها يعود على الأرجح الى عدم تمام نظافة وتعقيم الآلة المذكورة

رقد يكون الجنس أهم الآلات المستخدمة في صنع المثلجات أثراً في التلوث فالملاحظ دائماً أن الجزء الاول من المزيج الذي يمر بالجنس يحتوي على عدد من الميكروبات أكبر بكثير من الاجزاء التالية نظراً لأن الميكروبات تغسل تدريجياً بمرور المزيج في آلة التجنيس ويكثر عددها على الاخص متى كانت معاملة الآلة المذكورة من حيث الغسل والتعقيم غير متقنة

(٢) العمال : تتوقف درجة تلوث المثلجات من العمال المشغولين بصنعها وتداولها على مدى فطنته هؤلاء العمال واتباعهم الاشتراطات الصحية ، وخلوهم من الامراض ومراعاة نظافتهم الشخصية ، وهذا المصدر خطر على الاخص لأن الميكروبات المتنقلة منه يحتمل احتواؤها على أنواع خطيرة ، فالعمال المرضى أو حاملي المرض أهم مصادر انتقال الميكروبات المرضية إلى المثلجات

(٣) الهواء : الهواء أقل مصادر التلوث أهمية ، على أنه قد يؤدي الى ارتفاع العدد في أحوال خاصة كأن تعرض المثلجات لغبار الجو في يوم عاصف في أثناء التوزيع أو كأن تترك آوانيتها مكشوفة مدة من الزمن في مصنع مفتوح النوافذ والأبواب . ومن أهم وسائل تلافى التلوث من هذا المصدر العناية بنظافة المصنع وترطيب أرضيته وأحكام سد الآواني أثناء النقل .

أثر العمليات المختلفة في عمر البكتريا بالمعالجات

تؤدى بعض العمليات التى تجرى فى أثناء اعداد المثلجات الى خفض محتوياتها البكتيرية فى حين يؤدى البعض الآخر الى زيادته عند تقديره بطريقة الاطباق ، وسنشرح فيما يلى أثر العمليات المختلفة فى نقص أو زيادة ما تحويه المثلجات من ميكروبات :

١ — أثر اعداد المزيج : يعد المزيج (Mix) بخلط المواد الأولية الداخلة فى تركيب المثلجات بعضها ببعض فى أوان أو أجهزة خاصة يجرى فيها تقليبها عادة بواسطة محركات آلية . وقد أظهرت بعض التجارب أن السنتيمتر المسكعب من المزيج قد يحتوى على عدد من البكتريا أقل مما يحتويه مقدار مماثل من القشدة التى استعملت فى صنعه وعزى ذلك جزئيا الى زيادة حجم المزيج بسبب اضافة عدة مواد أخرى اليه ، غير أن البلزمة الناتجة عن وجود نسبة عالية من السكر فى المزيج تعتبر من الاسباب الهامة لانخفاض العدد ويختلف تأثير العامل الاخير باختلاف أنواع الميكروبات التى يضمها المزيج ولذا فانه لا ينتظر حدوث انخفاض كبير فى العدد بتأثير هذا العامل فى جميع الاحوال

٢ — أثر بستر المزيج : تجرى بستر المزيج إما فى وقت إعداده أو عقبه وفيها ترفع حرارة المزيج عادة إلى ١٥٠ ف لمدة نصف ساعة ، وهى تؤدى الى اباده عدد كبير من الميكروبات التى يحويها تتراوح نسبتها فى المعتاد بين ١,٩٨,٩٩ ٪ من العدد السكلى

ويميل البعض الى بستر المزيج على درجات حرارة أعلى من ذلك حتى يضمّنوا إباده الغالبية العظمى من الميكروبات التى يحويها ، وهذا جائز لأنه ليس للحرارة العالية تأثير ضار بالمزيج يعادل تأثيرها فى اللبن إذ أن عملية التجنيس تزيل الأثر السئ الذى تحدثه بالدهن ، كما أن المواد المسكبة للمكبة والرائحة التى تضاف الى المزيج تخفى الطعم غير المرغوب فيه الذى ينفشأ عن الحرارة العالية

٣ — أثر تجنيس المزيج : يجنس المزيج فى آلة خاصة عقب بسترته والفرض الرئيسى من هذه العملية هو تجزئة حبيبات الدهن وانتظام توزيعها فى المزيج فيصير بذلك متجانسا ، وهى تجرى بامرار المزيج فى فتحات دقيقة تحت ضغط يبلغ فى المعتاد ٣٠٠٠ رطل للبوصة المربعة

ولهذه العملية أهمية خاصة من حيث أثرها فى التلوث لانها تجرى عقب تمام بستره المزيج ، فضلا عن أن تعقد تركيب آلة التجنيس يجعلها صعبة التنظيف كما أسلفنا القول ، إذ يتعذر إزالة بقايا المزيج من الفتحات الدقيقة التى يمر بها بطرق الغسل العادية ، وهذه ان وجدت تسمح بنمو البكتريا بين مرات الاستعمال ، فيؤدى ذلك إلى شدة تلوث المزيج الذى يمر بها فى المرة التالية وخاصة الجزء الاول منه .

وقد اتضح من بعض التجارب أن عملية التجنيس تؤدى عادة إلى زيادة عدد الميكروبات القابلة للزرع على الاطباق بنسبة ٢٦ ٪ وقد عزيت هذه الزيادة إلى عاملين أولهما التلوث الناتج عن عدم الاعتناء بغسل المجنس

وتعقيمه ، وثانيهما تفكك السكتل والسلاسل البكتيرية عند مرورها بقوة خلال فتحات الآلة الدقيقة ، والزيادة الناتجة عن العامل الأخير هي زيادة ظاهرية فقط

وغنى عن القول أن من أهم الاحتياطات التي تراعى لتقليل التلوث من هذا المصدر العناية بتنظيف الآلة وأمرار مقدار كبير من الماء المغلي فيها لإزالة المواد العالقة بها ثم تعقيمها بدقة بالبخار.

٤) أثر عملية التبريد : تنخفض حرارة المزيج بعد تجفيفه إلى درجة ٤٠ ف وهذه العملية قد تؤدي إلى زيادة محتوياته البكتيرية إذا استعملت هبرات سطحية غير معقنة بنظافتها وتعقيمها أو عرضت للغيار والاضحاخ في أثناء مرور المزيج عليها .

٥) أثر عملية الحفظ : يجرى حفظ (ageing) المزيج أو تعتيه عادة بعد تبريده على حرارة منخفضة تقل عن ٤٠ ف مدة تتراوح بين ساعتين وأربع وعشرين لغرض تحسين قوام وطعم المثلجات المصنوعة منه وزيادة الناتج ، وهذه العملية لا ينظر أن تؤدي إلى زيادة جوهريه في عدد البكتريا إذا لم تتجاوز مدة الحفظ المدة السالفة الذكر ، فقد وجد فاي وولسون (Fay & Olson) أن حفظ المزيج مدة ١٦ - ٢٠ ساعة على درجات حرارة أقل من ٤٠ ف لا يحدث عنه ارتفاع كبير في محتوياته البكتيرية كما اتضح من تجربة أجريها على ٢٨ عينة بلغ متوسط العدد فيها قبل الحفظ ١٩١٧٨٢ في الجرام الواحد وارتفع إلى ١٩٢٣٦٢ بعد الحفظ في مقدار مماثل على أن العدد يزيد زيادة محسوسة إذا حفظ المزيج مدة طويلة حتى ولو كان الحفظ على درجات حرارة منخفضة

ومن المهم أن يتم تبريد المزيج المزمع حفظه بسرعة إلى درجة منخفضة إذ أن بطء التبريد يؤدي إلى نمو البكتريا وتكاثرها في أثناء العملية

٦) أثر عملية التجميد : تتم عملية التجميد (freezing) في آلة خاصة يحاط فيها المزيج بالملح والثلج أو بمحلول مبرد ويدار حتى يتحول إلى حالة نصف صلبة ، وفي أثناء هذه العملية يزداد حجم المزيج نتيجة تخلل الهواء له واندماجه فيه

وينتج عن عملية التجميد عادة ارتفاع عدد البكتريا في المزيج عند تقديره بطريقة الاطباق حتى في الاحوال التي ينظف فيها جهاز التجميد ويعقم بعناية بحيث يستبعد أن يكون مصدرا هاما من مصادر التلوث وقد دلت بعض التجارب على أن هذه الزيادة قد تبلغ نسبتها ٤٨ ٪ على أنه وجد من تجارب أخرى أن بعض العينات ينخفض فيها عدد البكتريا نتيجة لعملية التجميد في حين أن البعض يبقى فيه العدد دون تغير قبل التجميد وبعده

وينسب ارتفاع العدد الذي يلاحظ في أغلب الاحوال أثناء التجميد إلى تفكك السكتل البكتيرية الناتج عن تحريك المزيج في الآلة ، ولهذا اعتبرت الزيادة ظاهرية وليست حقيقية ، على انه لما كان من المنتظر ان يؤدي انخفاض الحرارة أثناء التجميد إلى قتل بعض الميكروبات التي يحويها المزيج فقد عزي نقص العدد الذي يلاحظ احيانا في بعض العينات إلى أثر هذا العامل

ومن الأسباب المؤدية إلى تلوث المزيج عدم اقفال اغطية العلب باحكام أثناء التجميد أو وضع الثلج

حولها بارتفاع يترتب عليه تسرب ماء الملح لداخلها واختلاطه بالمزيج وقت دورانها
(٧) أثر عملية التصلب : تجري عملية التصلب (hardening) عقب التجميد وفيها تبرد الثلجات الى درجة شديدة الانخفاض (نحو - ١٨ ف) وذلك بوضعها في صناديق أو غرف خاصة بضع ساعات ، وتؤدي هذه العملية كما هو المنتظر وكما دلت التجارب الى قتل بعض الميكروبات التي تحويها الثلجات ، غير أن تأثيرها يتوقف على انواع الميكروبات الموجودة وعلى درجة الحرارة التي تجري عليها العملية
(٨) أثر الحزن : تخزن الثلجات عادة بعد تصلبها على درجة منخفضة (حوالي صفر ف) لحين توزيعها وقد شوهد من اغلب التجارب أن عدد البكتيريا لا يتغير تقريباً أثناء الحزن إذ ليس من المنظور نموها على مثل هذه الدرجة ، على أنه لوحظ في بعض الحالات ميل يسير لانخفاض في العدد اذا ما قدر بطريقة الأطباق

الاحتياطات المؤدية الى انخفاض عدد البكتيريا بالثلجات

يمكننا اجمال أهم الاحتياطات التي تساعد على انتاج ثلجات جيدة تحتوى على أقل عدد ممكن من البكتيريا فيما يلى : —
(١) استعمال مواد نقية لم تحدث بها تغيرات غير مرغوبة ، فاللبن المستعمل ينبغي أن يكون طازجاً نظيفاً خالياً من الطعم والرائحة الغريبة وغير ناتج من ماشية مريضة أو في نهاية فصل الحليب أو بعد الولادة مباشرة ، والقشدة يلزم أن تكون طازجة كذلك غير مرتفعة الحموضة أو مرة المذاق ، والزبد يجب أن يكون غير مملح وناجمان قشدة نظيفة
(٢) استخدام أوان وأجهزة تامة النظافة والتعقيم
(٣) مراعاة الدقة في بستر المزيج وتجنيسه لضمان إبادة الميكروبات الضارة بالمواد المستعملة
(٤) وقاية الثلجات من التلوث في أثناء الصناعة وبعدها وخاصة من المصادر الادمية
هذا وينبغي أن تكون الاحتياطات المتخذة كفيلة بانتاج ثلجات لا يزيد عدد البكتيريا في السفيتر المكعب منها عن ١٠٠٠٠٠

الميكروبات المرضية في الثلجات

تعتبر الثلجات اللبنة في المرتبة الثانية مباشرة بعد اللبن السائل من حيث أهميتها في نقل الامراض ونشرها ، وقد يظن البعض خطأ أن انخفاض درجة حرارة الثلجات يؤدي الى إبادة ما قد يوجد بها من ميكروبات مرضية أو يضعف من حيويتها ، فقد اثبت التجارب ان لمعظم هذه الميكروبات القدرة على المعيشة في الثلجات مددا طويلة دون أن تتأثر قوتها على احداث المرض ، وأجريت بعض الأبحاث بخصوص ذلك فمثلاً لقح لبن بميكروب السل ثم استخدم في صنع ثلجات منه وحفظت هذه الثلجات متصلة وبعد انقضاء شهر من حفظها لقحت بها أرانب هندية فأصيبت بالمرض ، كما أن الميكروب المذكور قد وجد حياً في احوال كثيرة بعد مضي بضعة شهور في ثلجات مصنوعة من لبن ناتج من ماشية مصابة

بتدرن الضرع ، وقد ظهر كذلك من فحص المثلجات التي صنعت من مزيج ملوث بميكروب التيفود وحفظت متصلة على درجات منخفضة تتراوح بين - ٨ و ٨ ف (- ٢٢, ٢ و - ١٣, ٣ س) انه برغم تناقص عدد هذا الميكروب تدريجاً فان بعضه يبقى حياً في المثلجات الملوثة حتى بعد انقضاء اكثر من سنتين ، وقد عرف كذلك انه ميكروب الباراتيفود أقدر من ميكروبات التيفود على مقاومة تأثير درجات الحرارة المنخفضة وقد أجرى والاس (Wallace) حديثاً تجربة اختبار فيها مدى معيشة بضعة ميكروبات مرضية في مثلجات تجارية لقيمت بها وحفظت مجمدة على درجة - ١٠ ف (- ٢٣, ٢ س) فوجد أن ميكروب الاجهاض بقي حياً تحت هذه الظروف سبع سنوات وميكروب السل (الادى والبقرى) ست سنوات ونصف وميكروب الحمى المالطية خمس سنوات

من كل ما تقدم تظهر أهمية العناية بمنع تلوث المثلجات بالميكروبات المرضية ومعاملتها بأدق الطرق التي تضمن أبادته هذه الميكروبات في المزيج المصنوعة منه ، ولقد كان للتحسينات التي ادخلت على صنع هذه المنتجات وخاصة استعمال البسترة وكذلك اهتمام الهيئات الصحية بالاشراف على مصانعها وفحص عيناتها أثر كبير في تقليل الاضرار الناتجة عنها

الباب الثامن عشر

بكتريولوجيا الجبن

ترجع صناعة الجبن إلى أزمنة مديدة ، وكان أساسها محاولة حفظ مشتملات اللبن الغذائية عند توفره لاستعمالها في الأوقات التي يشح فيها ، وكانت تنحصر الطريقة الأولية لصنعه في تخميض اللبن ذاتياً ثم يصرف الشرش من الخثرة الناتجة وتجفف وتملح ، على أن هذه الطريقة لم تلبث أن حورت تدريجاً بمرور الزمن إذ لوحظ أنه يمكن حفظ الخثرة مدة غير قصيرة دون تخفيفها تماماً وفضلا عن ذلك فإن الخثرة تنضج أثناء الحزن وينتج بها طعم مرغوب فيه ، ولهذا فإن صناعة الجبن لا تعتبر في الوقت الحاضر مجرد طريقة من طرق الحفظ كما كان ينظر إليها فيما مضى بل تعد قننا يقصد به الحصول على مادة غذائية لذيدة الطعم سهلة الهضم .

وتصنع الآن أصناف عديدة متنوعة من الجبن لسكل منها طريقة خاصة في الإعداد ، ولسنا نرمي هنا إلى بحث صفات هذه الأصناف أو كيفية صنعها فهذا كما ذكرنا في الكلام عن الزبد من الموضوعات التي تعنى ببحثها المؤلفات الخاصة بصناعة الألبان ، ولكننا سنبحث التغيرات التي تحدثها الميكروبات في بعض أصناف الجبن الكبيرة الانتشار إذ أنها من أهم العوامل التي تتوقف عليها جودة هذه الأصناف ومدى نجاحها تجارياً

يمكن أن يقال أن الأساس الذي بنيت عليه صناعة الجبن متفق تقريباً في أغلب الحالات ، وهو يتلخص في تخثير اللبن ثم فصل الخثرة عن الشرش وتمليحها وأخيراً تسوية الجبن أو إنضاجه ، على أن الاختلافات التي تلاحظ في صفات الأصناف المختلفة من الجبن تعود إلى الاجراء المتبع في صنع كل منها ومعاملته وخاصة من حيث طريقة التخثير ودرجة الحرارة التي تعرض لها الخثرة في أثناء الصنع ومدة الانضاج ونسبة مائه من ماء ومقدار الملح المضاف إليها ودرجة رطوبة الجو وشكل الجبن وحجمه الخ ، فهذه العوامل ذات أهمية جوهرية في تهيئة الظروف التي تناسب معيشة ونشاط طوائف معينة من الميكروبات وهي التي تنسب إليها رئيسياً التغيرات الهامة في الخواص الطبيعية والطعم والرائحة والمظهر الذي تتميز به مختلف أصناف الجبن ومن هذا فإن كل تغير في طريقة الصنع والمعاملة يخرج الجبن عن نوعه الحقيقي فينتج نوع آخر مختلف

ومع أن صناعة الجبن قد عرفت وذاعت قبل أن تدرك أهمية الميكروبات في إعداد مستخرجات الألبان ، فإن دراسة عملها والوقوف على الأدوار التي تقوم بها في صنع مختلف أصناف الجبن قد أدى دون ريب إلى ترقية هذه الصناعة كما ساعد على نجاح صناعة بعض الأصناف في جهات لا توافر فيها الظروف الطبيعية التي تناسب صنعها

يقسم الجبن عادة إلى قسمين رئيسيين كالآتي:

أولاً: أصناف تتخثر بإضافة المنفحة

ثانياً: » » بتسكون الحامض

وستتسكلم فيما بعد عن أثر المنفحة في إحداث التخثر ، أما أثر الحامض فقد أشير إليه في الكلام عن الاختبار اللبكتيكى .

وتقسم أصناف القسم الأول تبعاً للنسبة الرطوبة التى تحويها إلى قسمين : (١) جبن جاف — (٢) جبن طرى .

على أنه لا يوجد حد فاصل بين الأصناف الجافة والطارية اذ توجد أصناف وسطية وهذه تعرف أحياناً باسم الجبن نصف الجاف ، ومن أمثلة الأصناف الجافة جبن تشدر وجبن أمتال وأولهما ينضج دون تكون غازات فى حين تلتج غازات فى أثناء نضج الثانى ، ومثال الأصناف نصف الجافة جبن روكفور وهو ينضج رئيسياً بواسطة الفطريات ، أما أمثلة الأصناف الطرية فمن أهمها جبن كامبير وهو ينضج كذلك رئيسياً بواسطة الفطريات وجبن ليمبرج وينضج بواسطة البكتريا

وقبل أن نتكلم عن كل من الأصناف السالفة الذكر على حدة يحسن بنا أن نوجز أهم النقاط التى تراعى فى مختلف درجات صناعة الجبن التى تجرى فيها عملية النضج على وجه العموم

أولاً) انتخاب اللبن المستعمل فى الصناعة : دلت الاختبارات على أنه لا يمكن صنع جبن جيد النوع

إلا من لبن روعيت النظافة فى إنتاجه إذ من المحتمل أن تنمو الميكروبات غير المرغوب فيها التى يضمها اللبن غير النقى بالجبن عند استعماله فى صنعه وتحدث تغيرات غريبة به نتيجة لذلك ، ومع أنه يمكن ضمان خلو الزبد من الميكروبات الضارة ببسترة اللبن أو القشدة المصنوع منهما إلا أنه غالباً لا يتبع هذا الاجراء فى صناعة الجبن نظراً لأن أصنافاً كثيرة منه لا يمكن صنعها من لبن مبستر

وغنى عن القول أن اللبن غير العادى كالتاج فى نهاية فصل الحليب وكذلك السرسوب لا يصلح إطلاقاً لصنع الجبن الجيد .

ثانياً) انضاج اللبن : تصنع معظم أصناف الجبن بتخثير اللبن بالمنفحة والمعتاد أن ينضج اللبن فى حالة

هذه الاصناف قبل أن تضاف المنفحة اليه ، والغرض من النضج هو تكون حموضة مناسبة باللبن واعطائه طعماً مرغوباً فيه ، وهذا يتم بواسطة بكتريا حامض اللبكتيك .

ويتبع فى انضاج اللبن المعد لصنع الجبن ثلاث طرق مشابهة للمتبعة فى انضاج القشدة المعدة لصنع الزبد وهى :—

(أولاً) الانضاج الطبيعى : وفيه يترك اللبن ليحمض من تلقاء نفسه

(ثانياً) استعمال روبات محضرة طبيعياً : وفيه يستعمل لبن حامض تم اختياره فى المعمل أولاً

مخيض جيد .

(ثالثاً) استعمال روبات صناعية : وهى عبارة عن مزارع نقيه من الميكروب ستربتوكوكس لاكتيس

منمأة فى لبن فرز مبستر وأحياناً يضاف إليها بعض الميكروبات الأخرى وخاصة أنواع من اللاكتوباسيلس

وأحبانا أصناف معينة من الفطريات ، ويتبع في أعدادها نفس الطريقة المتبعة في اعداد الروبة الخاصة بتخمير القشدة .

والطريقتان الأولتان غير موقوفتان بقتائهما أما الطريقة الثالثة فهي أصلحها وأكثرها شيوعاً في صنع أنواع الجبن الجيدة ، وتتلخص فوائده استعمال الروبة فيما يلي :

(١) تؤدي الروبة إلى انضاج اللبن ، وهذا من شأنه أن يساعد على سرعة التخثر بالمنفحة ، إذ أن حامض اللبكتيك الناتج يحول بعض أملاح الكالسيوم غير الذائبة إلى حالة ذائبة كما يوجد وسطاً حامضياً وهذا الوسط الحامض مع أملاح الكالسيوم الذائبة يسهل إلى حد كبير عمل الانزيمات المجبنة اللبن

(٢) تساعد على تصفية الشرش من الخثرة ، ذلك لأن الحموضة التي تنتجها تسبب انكماش الخثرة فيسهل طرد الشرش منها .

(٣) تحسن قوام الجبن وتركيبه إذ تساعد على اندماج جزئيات الخثرة بعضها ببعض وجعلها متماسكة متجانسة .

(٤) تقى الجبن من التعفن نظراً لأن الميكروبات التعفنمية التي توجد في الغالب باللبن لا تقوى على المعيشة والعمل في وجود الحموضة التي تنتجها الروبة ولذا يلاحظ أنه في حالة عدم تكون الحامض تنشط الميكروبات المذكورة وتؤدي إلى سرعة فساد الجبن

(٥) تساعد الحموضة التي تنتجها الروبة عمل أنزيم الببسين الذي يوجد بالمنفحة ، ولهذا الانزيم أهمية كبرى في عملية انضاج الجبن

وتجدر الإشارة إلى أنه لكي تؤدي الروبة عملها على الوجه الأكمل ينبغي أن تشمل على أنواع البكتريا المرغوبة وأن تكون خالية من التلوث وأن تحضر وتعامل بعناية تامة طبقاً لما اشير إليه في الكلام عن الروبات المستعملة في انضاج القشدة

وتضاف الروبة في المعتاد بنسبة تتراوح بين ٢٠,٥ ٪ وفي المتوسط ١ ٪ من وزن اللبن المراد صنعه جبناً على أن مقدار الروبة المضافة يتوقف على عدة عوامل من أهمها صنف الجبن ودرجة نظافة اللبن ونسبة الحموضة فيه وحرارة الطقس ودرجة نشاط الروبة المستعملة الخ

✓ نالمناً (انضاج) : المنفحة هي مستخلص يحضر من المعدة الرابعة للعجول الرضيعة بطرق

خاصة على أشكال مختلفة فتهدون على هيئة سائل أو مسحوق أو أقراص ، وتحتوى رئيسياً على أنزيمين هما الرينين والببسين ويعزى تخثر اللبن رئيسياً إلى أولهما إذ يؤثر في الكازين فيحوّله إلى باراكازين الذي يكون خثرة في وجود أملاح الكالسيوم الذائبة أما الثاني فهو مهم في عملية التسوية أو الانضاج .

ولما كان انزيم الرينين لا يؤدي عمله على الوجه الأكمل إلا على درجات حرارة مناسبة فإنه بعد أن يتم نضج اللبن (أى بعد أن تبلغ حموضته حداً مناسباً هو ٢ ٪ في حالة جبن تشدر مثلاً) ترفع حرارته إلى درجة تتناسب مع نوع الجبن المراد صنعه (يختلف بين ٢٧ و ٣٣ س) ثم تضاف إليه المنفحة بالقدر اللازم ، وينبغي

ملاحظة اجتناب تسخين اللبن إلى درجات عالية حتى لا يؤدي ذلك إلى تحول أملاح الكالسيوم الذائبة إلى حالة غير ذائبة مما يعوق تخثر اللبن بالمنفحة

وعندما يتم التخثر تقطع الخثرة بسكاكين خاصة ثم ترفع حرارتها في حالة بعض الأصناف (إلى درجة ٢٩ س في أحوال وإلى ٥٥ س في أحوال أخرى) بعد التقطيع ، وعندما تبلغ الحموضة درجة خاصة يصفى الشرش ثم تفرم الخثرة بعد انقضاء فترة من الزمن تصل فيها الحموضة إلى حد معين وبعدئذ تملح وتكبس بآلات خاصة

والمقصود من عمليات التقطيع والتسخين (أو كما تعرف أحيانا بالسمط) والضغط هو صرف الشرش والحصول على خثرة جامدة ، وبما يسهل تخليص الخثرة من الشرش استمرار ارتفاع الحموضة فيها بواسطة الروبة المضافة كما أشير إلى ذلك من قبل

وتحسن الإشارة هنا إلى أنه عندما يتجهن اللبن بالمنفحة تتخلف معظم الميكروبات التي يحويها في الخثرة ولذا فإن الشرش يحتوي على عدد من الميكروبات في السنتيمتر المكعب أقل مما يحويه مقدار مماثل من اللبن المصنوع منه ، ويساعد تركيز الميكروبات في الخثرة بهذه الكيفية على سرعة انتاج الحامض فيها إذ أن معظم الميكروبات المذكورة هي بكتيريا حامض اللاكتيك

وضبط درجة الحموضة في الدرجات المختلفة من صناعة الجبن الجاف من الأهمية بمكان إذ أن تكون حموضة زائدة يؤدي إلى جفاف الخثرة ويزيد الفقد من الدهن كما يؤثر في عملية النضج على حين أن الحموضة المنخفضة تؤدي إلى احتفاظ الخثرة بكمية كبيرة من الشرش فيصبح قوام الجبن الناتج رخواً ، ولهذا يلاحظ ألا يصفى الشرش بعد تقطيع الخثرة في حالة جبن تشدر مثلاً إلا إذا بلغت الحموضة حوالي ٢٦ ٪ ، وألا تفرم الخثرة إلا متى وصلت الحموضة إلى نحو ٨ ٪

أما تملح الخثرة فيساعد على حفظ الجبن من عوامل التلف والقساد كما يعطى الجبن تبعاً لاختلاف كميته طعماً خاصاً بكل نوع .

درابعا) انضاج الجبن : ينقل الجبن بعد انتهاء العمليات السالفة الذكر إلى حجرات خاصة على درجات حرارة ورطوبة مناسبة لكي ينضج ، وقد يستغرق الانضاج أسابيع قلائل أو عادة شهور ، وفي أثناء مدة الانضاج تحدث بالجبن عدة تغيرات طبيعية وكيمائية تؤثر في تركيبه ومظهره وطعمه الخ . وتختلف طبيعة هذه التغيرات باختلاف صنف الجبن ، ويرجع اختلافها رئيسياً إلى التباين في معاملة الأصناف المتعددة وخاصة من حيث نسبة ماتحوية الخثرة من الشرش وحفظ الجبن تحت تأثير درجات متباينة من الحرارة والرطوبة والتهوية والاضاءة في أثناء مدة النضج مما يؤدي إلى نشاط أصناف خاصة من الميكروبات .

وينشأ عن التغيرات التي تحدث في أثناء نضج الجبن تحلل في الخثرة وارتفاع نسبة الأزوت الذائب فيها وازدياد قابليتها للهضم وتكون مواد مكسبة للطعم والرائحة وتشمل التغيرات تحلل المواد الثلاث الرئيسية في الجبن وهي اللاكتوز والسكرات والدهن بدرجات متفاوتة .

وتحدث التغيرات المذكورة بتأثير ثلاثة عوامل رئيسية هي : البكتيريا والانزيمات والفطريات وسنتكلم عن كل منها بإيجاز .

(١) البكتريا : كان المعتقد من زمن طويل أن البكتريا العسوية المنجرثمة الهوائية وغير الهوائية هي العامل الهام في انضاج الجبن ، وقد نشأ ذلك الاعتقاد عن قدرة الأنواع الهوائية على تحليل السكازين والأنواع غير الهوائية على إنتاج رائحة جبينة ، إلا أن الأبحاث الحديثة أظهرت فيما بعد أن هذه الأنواع نادرة الوجود بالجبن وأنها غير قادرة على التكاثف فيه حتى ولو لقح بعدد كبير منها نظرا لحساسيتها للحموضة ، كما وجد أنه إذا جعلت الظروف مناسبة لنمو الأنواع المذكورة يسترة اللبن المعد لصنع الجبن وعدم إضافة الروبة إليه فإن هذه البكتريا تنتج طعما تعفنيا بالجبن .

على أنه أتضح من جهة أخرى أن البكتريا المسكونة للحامض لاغنى عنها في عملية الانضاج واستدل على ذلك من أن الجبن المصنوع من لبن خال من بكتريا حامض اللكتيك لا ينضج على وجه مرضى إذ لا يظهر به سوى تغير طفيف يختلف كثيرا عن التغيرات التي تحدث بالجبن الجيد الصنع

ويعتقد فريق من العلماء أن بعض بكتريا حامض اللكتيك وخاصة اللاكتوباسلس تموت عندما يستنفد اللاكتوز من الجبن الجاف وأن خلاياها تنحل ذاتيا بتأثير انزيماتها الداخلية وبذا تفرد هذه الانزيمات وتعمل في تحلل البروتين ويشبه عمل الانزيمات المسدورة عمل الأربسين إذ أنها تحلل البروتين الى أحماض أمينية .

وفضلا عن أثر هذا العامل في زيادة قابلية الجبن للضم فإن بعض أنواع البكتريا تعمل في تكوين مواد تكسب الجبن نكهته الخاصة ، فمثلا يعود جانب من نكهة جبن تشدر أصلا الى مواد كيميائية تنتج أثناء اختصار اللاكتوز كما تعزى الى انحلال هذه المواد بواسطة أنواع مختلفة من البكتريا .

(٢) الانزيمات : المعتقد أن انزيمات المنفحة وخاصة الببسين هي أقوى عوامل الانضاج التي تؤدي الى زيادة نسبة الأزوت الذائب .

وانزيم الببسين ينشط كما ذكرنا في الوسط الحامض الذي تسببه بكتريا حامض اللكتيك فيهضم الكازين محولا كازينات الكلسيوم العديمة الذوبان الى مواد أقل تعقيدا منها كالكازيوس والببتون ، ومن هذا تتضح أهمية البكتريا المذكورة في تجهيز الوسط المناسب لنشاط الانزيمات ، هذا فضلا عن أنه يوجد باللبن انزيم يعرف بالجالاكتاز يظن أن له أهمية كذلك في نضج الجبن ولو أن التجارب أظهرت أنه في الامكان صنع جبن جيد من لبن سخن الى درجة ١٧٦ ف (٨٠ س) وهي حرارة تلف الانزيم المذكور كما أنه حساس للحموضة .

(٣) الفطريات : الفطريات مهمة على الأخص في انضاج بعض أصناف الجبن نصف الجاف والطرى ويوجد منها عدة أصناف تختلف باختلاف نوع الجبن وهي تعيش على سطوحها وتدخلها أحيانا وتنتج أنزيمات تفسر في الجبن وتعمل في حل السكازين وإنتاج مواد آزوتية بسيطة منها النشادر ، كما أنها تحلل الدهن مائيا وتنتج أحماضا دهنية يرجع اليها الطعم القوي الذي تتميز به بعض الأصناف ، ويمكن تلخيص التغيرات التي تحدثها العوامل الثلاثة مجتمعة في أثناء عملية النضج فيما يلي :

اولاً) انحلال اللاكتوز الموجود في مدى أيام قلائل وتحوله إلى مركبات عضوية أهمها حامض اللكتيك ، وتعادل جزء من هذا الحامض بالكسيوم مكوناً لكتات . وتحول هذه جزئياً إلى احماض طيارة كما تتكون آثار من الكحول من اللكتات وهذه قد تكون استرات مع الاحماض الموجودة الناتجة من انحلال سكر اللبن كذلك

ثانياً) تحول معظم البارا كازين في الأدوار المتتالية لعملية النضج إلى مركبات ذائبة كالكازيوس والبايتون والاحماض الأمينية التي منها الجليكوكول والالانين والايوسين والثيروسين والمستيدين ، وتتكون من الاحماض الأمينية في الدرجات الأخيرة من النضج نشادر ، وهذه قد تنفرد كما في حالة بعض أصناف الجبن الطرى أو تتحد ببعض المركبات الحامضية المختلفة كما في حالة الجبن الجاف ، وغنى عن القول أن التغيرات التي تحدث بالكازين هي أهم التغيرات في نضج الجبن.

ثالثاً) يتحلل جزء من الدهن تحليلاً مائياً مكوناً أحماضاً دهنية تدريجياً ومن هذه الاحماض ما يعطى بعض أصناف الجبن نصف الجاف كالروكفور مثلاً طعماً حريفاً كاحماض الكابروييك والكبريلييك والكبرييك .

والتغيرات السالفة الذكر هي التي تؤدي إلى تحول الحثرة الناتجة عقب الصنع الخشن إلى كيب عديدة الطعم إلى جبن جيد التركيب مقبول الطعم سهل الهضم وتحسن الإشارة إلى أن للاحماض الأمينية والنشادر والاسترات والاحماض الدهنية أهمية كبيرة في انتاج الطعم والرائحة المميزة بمختلف أصناف الجبن

جبن تشدر

يعتبر جبن تشدر (Cheddar) من أكثر الأنواع الجافة شيوعاً وقد بسطنا في كلامنا السابق اجمالاً أهم النقاط التي تراعى في صنعه والتغيرات التي تحدث به أثناء النضج على أنه يراعى في صنع هذا الجبن أن يحتوى اللبن في الوقت الذي تضاف إليه المنفحة على عدد كبير من ميكروبات حامض اللكتيك السبجية حتى يضمن تكون حموضة سريعة به في أثناء الصنع وفي الأدوار الأولى من الانضاج وبديهي أن هذا متوقف على جودة الروبة المضافة إليه

الميكروبات الموجودة في هذا الجبن: إذا فحص هذا الجبن يوجد أن الغالبية العظمى من الميكروبات التي يضمها هي بكتريا حامض اللكتيك فاليسكروكوكس يغلب وجودها بالقرب من السطح على حين توجد الاستربتوكوكس واللاكتوباسلس في الداخل نظراً لميلها إلى المعيشة غير الهوائية . وينتقل النوعان الأخيران إلى الجبن من الروبة المستعملة في صنعه كما ينتقل الأخير على الأخص من غذاء الماشية وأمعانها ومصادر أخرى متعددة وقد وجد أن بكتريا حامض اللكتيك تستمر في النمو بسرعة في الخطوات الأولى من الصنع بعد تمام التجبن أي في أثناء الكبس والانضاج .

وقد وجد بعض الباحثين من تجاربهم عن تقدير عدد البكتريا في الجبن أن أكبر عدد منها يوجد عندما يكون عمر الجبن يوما واحداً ولو أنه قد لا يصل إلى نهايته العظمى إلا بعد انقضاء يومين أو خمسة أيام من تمام الصنع أى في خلال الفترة الأولى من عملية النضج وهو الوقت الذى يستنفد فيه على الأرجح اللاكتوز المتبقى. الخثرة، ويبحث الأصناف الموجودة اتضح أن ستر بتوكوكس لاكتس تسود في الفترة المذكورة إذ تبلغ نسبتها ٩٩٪ من العدد الكلى للميكروبات الذى يتجاوز في كثير من الأحيان ١٠٠٠ مليون في الجرام الواحد، على أن عدد الميكروبات لا يلبث أن ينخفض تدريجاً فيما بعد ويشمل هذا الانخفاض رئيسياً ستر بتوكوكس لاكتس وينسب إلى وجود ظروف غير ملائمة لمعيشة الميكروب المذكور، وبانخفاض عدد ستر بتوكوكس لاكتس يتزايد عدد صنف آخر له أهمية في نضج هذا الجبن وهو اللاكتوباسلس ولذلك نرى أنه يوجد بنسبة مرتفعة وبعدها كبير في الدرجات المتأخرة من نضج الجبن على حين يوجد ستر بتوكوكس لاكتس بنسبة ضئيلة، والجدول الآتى يبين نتيجة تجربة أجراها هاستنج وآخرون ومنه تتضح نسبة وجود الميكروبين المذكورين في الدرجات المختلفة من نضج اللبن :

عمر الجبن بالأيام	نسبة مئوية لا ستر بتوكوكس لاكتس	نسبة مئوية اللاكتوباسلس
١٤	٩٩,٩٩	٠,٠١
٢٢	٩٩,٩٠	٠,١٠
٢٧	٩٠,٩٠	٩,١٠
٤٥	٩٩,٩٠	٠,١٠
٧٧	٩٩,٠٠	١,٠٠
١٠٠	٩٠,٩٠	٩,١٠
١٥٥	٥٠,٠٠	٥٠,٠٠
١٦٥	١,٠٠	٩٩,٠٠
١٨٧	١,٠٠	٩٩,٠٠

هذا ولما كانت الأبحاث قد أثبتت أن وجود الببتون في البيئة يساعد نمو اللاكتوباسلس وأن هذه المادة تنتج بالجبن أثناء نضجه نتيجة تحلل السكازين لهذا فإن زيادتها فيه من العوامل التى تساعد على نمو الميكروب المذكور بالجبن، ومن ذلك يمكن أن يقال أن ازدياد نسبته ترجع إلى سلسلة تغيرات متعاقبة يتوقف أحدها على الآخر وتتلخص في إنتاج حامض اللكتيك بواسطة ستر بتوكوكس لاكتس ثم نشاط انزيم الببسين في الوسط المناسب الناتج عن الحامض المذكور ثم تكون الببتون بفعل الانزيم السالف الذكر وأخيراً ازدياد عدد اللاكتوباسلس بتأثير وجود هذه المادة،

ويلاحظ وجود هذا الميكروب عند فحص الجبن ميكروسكوبياً متجمعا في كتل تعرف باسم مراكز النضج (ripening centres)

ويوجد بحجن تشدر في أحيان كثيرة إلى جانب هذين الصنفين أنواع أخرى من البكتريا الكروية والمصوية المنجرفة وغير المنجرفة وكذا الخنائر بعضها ذو تأثير مفيد في عملية النضج والبعض ليس له تأثير يذكر على حين أن البعض الآخر له تأثير ضار ، فمن الأنواع الأولى أصناف من ستربتوكوكس وميكروكوكس ذات أهمية في إنتاج الأحماض الطيارة وخاصة حامض الخليك وهذه الأحماض لا تنتجها على الأرجح من الدهن بل من مصادر أخرى كحامض الستريك واللاكتوز ، ومن الأنواع الأخيرة ميكروبات القولون المنتقلة من الروث إلى اللبن المستعمل في صنع الجبن وسنعود إلى شرح ضررها في مكان آخر.

التغيرات التي تنتج أثناء النضج : من أهم التغيرات التي تحدث أثناء نضج هذا الجبن حل الكازين

ومشتقاته ، وقد وجد أن طعم جبن تشدر يتوقف رئيسياً على مقدار الأحماض الأمينية الناتجة عن هذا الانحلال ، كما أن تحول الخثرة من تركيبها الخشن وقوامها المطاط الذي يبدو به عقب الصنع مباشرة إلى تركيب أملس شهي كما هو الحال في الجبن الجيد النضج لا يتم إلا بهضم الكازين ويحدث هذا الانحلال كما أسلفنا القول رئيسياً بتأثير انزيمي الببسين والجالاكتاز كما تلعب البكتريا دوراً في هذا التغير ، وقد استدل على أهمية الانزيم الأخير في حل البروتين من أنه لوحظ أن نسبة الآزوت الذائب ترتفع في اللبن المضاف إليه الكلوروفورم بقصد منع نمو البكتريا ، على أنه وإن كان المعتقد أن لهذا الانزيم أهمية في تحلل البروتين أثناء نضج الجبن إلا أنه من الصعب تقدير الاثر الصحيح الذي يحدثه في هذه الحالة نظراً لنشاط العوامل الأخرى التي تعمل في حل البروتين ، ويحل هذا الانزيم البروتين إلى أحماض أمينية ، ووجود آزوت بقدر كبير على صورة أحماض أمينية من مميزات جبن تشدر وغيره من أصناف الجبن الجاف ، ولكن بما يلاحظ أن التأثير الحامضي لهذه الأصناف من الجبن لا يناسب نشاط أنزيم الجالاكتاز إذا قورن بالتأثير المتعادل أو المائل إلى القلوية

ومن أهم الميكروبات التي تشترك في حل البروتين بالجبن أصناف اللاكتو باملس فقد أظهرت التجارب أنها تعمل على هدم البروتين وتزيد من كمية الآزوت الذائب باللبن النامية فيه ، ومثل هذا يحدث دون ريب بالجبن وهي تنتج أحماضاً أمينية من الكازين .

وينتج بحجن تشدر أثناء الانضاج كذلك أحماض طيارة وخاصة أحماض الخليك والبروبيونيك والبيوتريك والكاربويك ، وقد وجد أن اللكتات هي المصدر الرئيسي للحمضين الأولين ، على حين أن الدهن والبروتين هما مصدر الحمضين الآخرين ، كما وجد من تحليل الجبن المذكور احتوائه كذلك عن كحولات واسترات ولهذا المواد أهمية في طعم ورائحة هذا الجبن

جبن أمنتال

يختلف جبن أمنتال (Emmental) أو الجبن السويسري عن الصنف السابق أساسياً بقوامه المطاطي وطعمه المائل إلى الحلاوة مع وجود فجوات وعيون (eyes) تتخلله ، علاوة على أنه كان يصنع في الماضي من لبن طازج لم ينضج بواسطة بكتريا حامض اللكتيك ولتخثيره بوضع جانب من منشفة جافة

فى شرش ويحفظ على درجة ٨٦ ف (٣٠ س) لمدة ٢٤ - ٣٦ ساعة ثم يضاف الشرش المذكور إلى اللبن ولا يخلط هذا المخلوط اللبن فحسب بل يضيف إليه عدداً كبيراً من البكتريا المكونة للحامض التي تمت فيه في مدة الحضارة السابقة الذكر ، على ان هذه الطريقة حورت فيما بعد والمتبع غالباً الآن هو إضافة روبة مؤلفة من مزرعة نقية من اللاكتوباسلس بلجاريكس (وقد يضم إليها مزرعة من الميسكروبات المكونة للعيون) إلى اللبن الطازج أو المبستر المعد اصنع الجبن ثم يخثر هذا اللبن كالمعتاد بالمنفحة الزجاجية الجافة أو السائلة.

ومن أوجه الاختلاف الهامة بين جبن أمثال وجبن تشدر تعريض خثرة الأول بعد التقطيع وقبل الكبس والتليخ إلى درجة ١٢٦ - ١٤٠ ف (٥٢ - ٦٠ س) وكذلك تليخ التوالب من الخارج ونقعها في محلول ملحي مركز وتجدر الإشارة إلى ان طريقة معاملة الجبن وقت الصنع وبعده هي من اهم العوامل في تنشيط البكتريا التي تعطى الجبن صفاته المطلوبة .

أنواع الميكروبات التي توجع برزما الجبن : دلت الأبحاث التي أجريت على محتويات هذا الجبن من البكتريا على أنه يشتمل على عدة أنواع مختلفة منها الكروي والعصوى ومن هذه الأخيرة ميزت طائفتان هامتان إحداهما تعرف باسم بكتريا حامض البروبيونيك والثانية أصناف من اللاكتوباسلس ، والأخيرة تكون بنسبة منخفضة عقب الصنع مباشرة ولكنها ترتفع تدريجاً حتى تسود على الأنواع الأخرى في أواخر مدة النضج وهي على الأرجح ذات أهمية خاصة في تسوية هذا الجبن ويكثر وجودها في اللبن والشرش والمنفحة ، وتستعمل مزرعة منها بنجاح في صنع هذا الجبن بسويسرا تعرف باسم ثرموبكتريوم هافتيك (Thermobacterium helveticum)

وبكتريا حامض البروبيونيك المذكورة تعرف عليمًا باسم بكتريوم أسيدى بوبيونيقي (B. acidi propionici) وهي غير متجزمة وغير متحركة وتوجد منها عدة أصناف تختلف في مظهرها ، ومن المحتمل وجود هذه البكتريا بعدد كبير في الروث حيث تنتقل منه إلى اللبن .

التغيرات التي تنتج أثناء النضج : يستمر تخمر اللاكتوز في هذا الجبن في أثناء الكبس وبعده ولذا

فانه يختنى في مدى أيام قلائل ، أما البروتين فيتبع نفس خطوات التغير التي تحدث بحجب تشدر كما أن العوامل التي تؤدي إلى تحلله تشابه كذلك تلك التي تعمل في الجبن الأخير .

أما تكون العيون ، وهي الميزة الهامة لهذا الصنف من الجبن ، فانه يتسبب عن نشاط بكتريا حامض البروبيونيك فهي تخمر لكتات الكالسيوم إلى حامض البروبيونيك وحامض الحليك وحامض الكربونيك ، وقد اتضح أن العيون العادية التي تتكون بحجب أمثال لا تكاد تحتوى على غاز آخر سوى ثانى أكسيد الكربون وقد توجد بها مقادير ضئيلة من الآزوت ، ولتشجيع تكون العيون ينقل الجبن من الغرفة الباردة التي حفظ فيها بعد الكبس إلى حجرة حرارتها ٦٤,٥ - ٦٨ ف (١٨ - ٢٠ س) عندما يصير عمره اسبوعين

وعلى هذه الدرجات تفشط بكتريا حامض البروبيونيك وبذلك تكون العيون بحجمها العادى فى مسدى أربعة الى ستة أسابيع ثم يعاد الجبن الى الغرفة الباردة مرة أخرى .

ولما كانت بكتريا حامض البروبيونيك حساسة لكودور الصوديوم فان استعمال نسبه كبيره من الملح فى انواع الجبن الاخرى تمنع تكون العيون بها ، هذا علاوة على أنه يمكن تنظيم تكون العيون بحجب أمتال بزيادة الملح أو تقليله ، وما يثبت تأثر هذه البكتريا بالملح عدم تكون العيون بكثرة بالقرب من السطح اذا قودن بالدخل .

وقد يلاحظ أحيانا خلو هذا الجبن من العيون ويعزى ذلك غالبا إلى غياب الميكروبات المكونة لها أو تحديد نموها ، وقد وجد أن استعمال مزرعة من الميكروبات الخاصة فى اللبن الذى يصنع جبنا يفيد فى احداث التغير المذكور

وقد اتضح من التجارب أن نمو بكتريا حامض البروبيونيك بالاختلاط مع ستر بتوكوكس لا كتس أو لاكتو باسلز كازى أو بعض الميكروبات الاخرى يؤدى إلى انتاج كمية من حامض البروبيونيك تفوق ما ينتجها الميكروب الأول عند نموه بحالة نقية ، ولا تعزى هذه الزيادة إلى انتاج حامض البروبيونيك بواسطة الميكروبات الاخرى ولكن تنسب إلى أثر الاشتراك أو التعاون فى نشاط بكتريا حامض البروبيونيك

وليس لتكون العيون أهمية حيوية فى هذا الجبن إذ قد يوجد جبن أمتال خال من العيون ومع ذلك يكون ذا طعم ورائحة جيدين .

جبن رو كفور

جبن رو كفور (Requefort) من الأصناف نصف الجافة ، وهو يتميز عن الصنفين السابقين بمظهره الخاص إذ ينمو الفطر فيه أثناء النضج مكونا عروقا زرقاء ، ولهذا الفطر أهمية خاصة فى إحداث تغيرات هامة فى التركيب الكيماوى للخرثرة مما ينتج عنه ارتفاع فى قابليتها للهضم مع اعطائه طعم ورائحة مرغوبة

ويتبع فى اعداد هذا الجبن اجراء مشابه للمتبع فى اعداد جبن تشدر إذ تضاف الروبة إلى اللبن لانضاجه مما يتسبب عنه تكون حامض اللاكتيك نتيجة اختار اللاكتوز وهذا يؤدى إلى سرعة انفصال الخرثرة عن الشرش ووقف نمو الميكروبات الضارة

الميكروبات التى تؤهب لهذا الجبن : أهم الميكروبات التى يحويها جبن رو كفور هى الفطر المسبب للعروق

الزرقاء المعروف عليها باسم بفسليوم رو كفورتي (*Penicillium roqueforti*) وفى المعتاد تلقح الخرثرة به عند الصنع ، وكذلك ستر بتوكوكس لاكتس التى تضاف إلى اللبن فى الروبة وهذه بعد أن يتزايد عددها بدرجة كبيرة تأخذ فى الانخفاض ثم تتلاشى فى مدى أسبوعين أو ثلاثة ، وقد عزى ذلك إلى التركيز العالى للملح ، كما يضم هذا الجبن أصنافا من اللاكتو باسلز وبعض الميكروبات المتجرمة والخناثر على أنه يظهر أن

ليس للميكروبات الأخيرة أهمية حيوية في إعدادده ونضجه إلا أن وجودها به يرجع إلى وجودها أصلاً باللبن الذى صنع منه الجبن وإلى قدرتها على المعيشة تحت الظروف السائدة خلال مدة النضج ،
التغيرات التى تنتج أثناء النضج : يحدث الفطر السالف الذكر ثلاث تغيرات هامة هى هدم حامض اللكتيك وانحلال البروتين وانحلال الدهن ، فالفطر يوجد نموه فى الوسط الحامضى المسبب عن وجود حامض اللكتيك ثم يعمل على حل الحامض المذكور إذ يستمد منه على ما يظهر حاجته من الكربون كما يستعمله فى الحصول على المجهود ، أما البروتين فلا يتوقف انحلاله على الفطر لحسب بل أن الأنزيمات والبكتريا التى تعمل فى تحول البروتين بالجبن الجاف عموماً توجد كذلك بهذا الصنف من الجبن ، وقد دلت التجارب على وجود نسبة مئوية عالية من الآزوت غير الذائب ومن الأحماض الأمينية ونسبة مئوية منخفضة نسبياً من الكازيوس والبيتون بهذا الجبن ، كما اتضح أن انحلال الدهن ما يما يجبن رو كفور يعود إلى تأثير الليباز الذى ينتجه الفطر السالف الذكر ، وهذا ينشأ عنه انفراد أحماض الكابريك (caproic) والكابريك (capric) والسكابريك (caprylic) وأملأها السهلة الانحلال ، وإلى هذه الأحماض ينسب رئيسياً الطعم الحريف المميز كما أشرنا إلى ذلك من قبل .

وعادة يجرى تلقىح الخثرة عند وضعها بالمكبس بنثر مسحوق أوفتات خبز نوى عليه الفطر ثم جفف ، ثم يؤخذ الجبن فى الوقت المناسب أى بعد انقضاء نحو شهر أو شهرين من صنعه بابر أو مخارز خاصة فينفذ الهواء بكمية كافية فى المسالك الناتجة عن هذه العملية وبذا يسهل نمو الفطر فيها إذ من الضرورى لنموها وجود الأكسجين ، ويحتاج من دخول ميكروبات خارجية أثناء الوخز بتنظيف سطح الجبن قبل الوخز وبعده ، ويتميز البنسليوم رو كفورق بقدرة على النمو تحت ضغط منخفض من الأكسجين ومن ثم فإن الظروف التى تسمح لهذا الفطر بالنمو وتكوين العروق الزرقاء فى الثغرات الموجودة به هذا الجبن لا تسمح للفطريات الأخرى التى قد تصل إلى الداخل بالنمو بسهولة .

وقبل أن نختم الكلام عن هذا الجبن تحسن الإشارة إلى أنه يتكون على سطحه فى أثناء النضج مواد مخاطية بواسطة أصناف مختلفة من البكتريا والخمائر والفطريات ، وقد أتضح أن ليس لهذه الميكروبات سوى أهمية ثانوية فى عملية النضج غير أن قلة هذه المواد أو كثرتها تتخذ مقياساً لمدى مناسبة درجات الرطوبة والحرارة فى حجرة الانضاج ، وهى إذا تكونت بكثرة تؤدي إلى تغيرات غير مرغوب فيها تضر بطعم الجبن

جبن كاممبير

جبن كاممبير (Camembert) من الأصناف الطرية الكثيرة الانتشار التى يتم النضج فيها رئيساً بواسطة فطر ينمو على السطح ، ويشبه هذا الجبن من حيث معاملته فى الدرجات الأولى جبن تشدر ولكن الخثرة لا تقطع أو تسخن أو تكبس ، ولذا يبقى بها مقدار من الشرش يفوق ما يبقى بالجبن الجاف أو نصف الجاف كما أن اختار اللاكتوز الموجود بنفسية مرتفعة نسبياً يؤدي إنتاج حموضة عالية ، فتقى هذه الحموضة داخل الجبن من الميكروبات المحللة للبروتين

الميكروبات التي توجد بهذا الجبن : توجد ستربتوكوكس لاكتس بعدد كبير نتيجة استعمال الروبة في نضج اللبن الذي يصنع منه هذا الجبن وكذلك لملاءمة الجبن الحديث الصنع لتكاثرها نظرا لارتفاع نسبة الماء والمواد الذائبة فيه ، ويبلغ عدد هذا الميكروب اقصاه في اليوم الثالث من تمام صنع الجبن ثم يأخذ في الانخفاض تدريجيا حتى يتم النضج ، وعادة تبلغ نسبته ٩٩ ٪ من العدد الكلى للميكروبات التي توجد بالجزء الداخلى من هذا الجبن ، كما توجد بالداخل كذلك بعض ميكروبات أخرى بعدد كبير أحيانا مثل اللاكتوباسيلس والخناثر على أن هذه الميكروبات لا تلعب على ما يظهر دورا أساسيا في عمليات الصنع والنضج أما على السطح فيوجد دائما الفطر المميز الخاص بهذا الصنف المعروف عالميا باسم بنسايوم كاممبرتي (*Penicillium camemberti*) وعادة يلقح به الجبن عقب تمام الصنع برشه بماء يحتوى على الفطر المذكور على حالة تعليق ، على أن التلقيح يتم طبيعيا بانتقال الفطر من الهواء والمعدات في المعامل التي يصنع فيها هذا الجبن باستمرار بنجاح

ويرى نمو الفطر على السطح في المعتاد بعد انقضاء بضعة أيام من الصنع ثم يأخذ في الانتشار ويزداد النمو وضوحا عند ما يبدأ تكون الجراثيم ويكون لونه رماديا مخضرا ، وينمو مع الفطر السالف الذكر على السطح أو يسبقه في النمو والظهور نوع آخر هو أوبيديوم لاكتس ولكن نموه يتحدد بتأثير الملح الذي تبلغ نسبته في هذا الجبن ٣,٥ - ٣ ٪

وتغطي الطبقة المؤلفة من النوعين السابقين بعد تكونها بطبقة من مواد لزجة تتكون رئيسيا من بكتريا وخمائر وقد يكون لونها أحمر أو أصفر أو فتكسب الجبن لونا مائلا للأحمر ، وليس لهذه الميكروبات على الأرجح أهمية في عملية النضج ولكنها تميل إلى تحديد نمو النوعين السابقين الذكر

التغيرات التي تحدث أثناء النضج : عمل البكتريا الرئيسى في هذا الجبن هو إنتاج الحموضة ، أما التغيرات الهامة التي تؤدي إلى تسوية الجبن فتحدث رئيسيا بواسطة البنسليوم كاممبرتي والأوبيديوم لاكتس النامين على السطح وفي المعتاد يظهر نمو النوع الثاني أولا وفيما بعد عند ما يحف سطح الجبن نوعا يظهر نمو النوع الأول بوضوح .

ومن أهم خواص البنسليوم وهو المسئول رئيسيا عن النضج قدرته على حل البروتين إلى مواد أبسط ، فهو ينتج انزيمات ينتشر تدريجيا بالجبن من السطح متجها إلى الداخل فيحلل الكازين ويهضم الخثرة ويسبب ليونة الجبن ولذا يلاحظ نضج الأجزاء الخارجية أولا بسرعة أكبر من الأجزاء الداخلية وعند تمام النضج مصير الجبن لينا يشبه قوامه قوام الزبد ، والتغير الذي يحدث بالبروتين في هذه الحالة اريسينى أكثر منه بيسينى ، أما انزيمى البيسين والجالاكتاز المهمان في انضاج الجبن الجاف فع أنهما قد يكونان نشطين إلا أنه يظهر أن ليس لهما أهمية أساسية في النضج العادى لهذا الجبن ، وعلاوة على ذلك فإن الفطر المذكور يعمل على خفض حموضة الجبن نتيجة استعماله للحمض الناتج جزئيا في المجهود ومعادلة إياه بالمواد التي يكونها

أما الأوبيديوم فهو مهم من حيث علاقته بانتاج الطعم الخاص بجبن كاممبرتي ، فقد لوحظ أن الجبن الذي لم ينم على سطحه الفطر أو تحدد نموه بنقصه الطعم المميز ، على أنه من جهة أخرى إذا نمت الأوبيديوم بنشاط

تتكون طبقة سميكة مجمدة غير ملتصقة بالسطح بجودة وهذه تؤثر في عملية النضج نظراً لعدم إمكان نمو البفسليوم على الوجه الاكل في وجود الطبقة المذكورة

وتحسن الإشارة اجمالاً الى اوجه الاختلاف بين جبن كاسمير وصنف آخر من الجبن الطرى يعرف باسم الليمبرج (Limburg) ففي الجبن الأخير تقوم بالدور الاساسى في عملية النضج بعض أنواع البكتريا وليس للقطر دخل في التسوية ، ومن أهم الميكروبات التى يضمها نوعان احدهما عصوى يعرف باسم بكتريوم كازي ليمبرجنسيس (B. casei limburgensis) والآخر كروى يطلق عليه تتراكوكس الكوفاسيان (Tetracoccus liquefaciens) وهما يتعاونان في المعيشة فيحل ثانيهما الكازين ويكون الاول من نواتج الانحلال نشادر ، والنشادر التى تنتج على سطح هذا الجبن بمقدار كبير اثناء النضج تنتشر تدريجياً الى الداخل

عيوب الجبن

يلاحظ بمختلف أصناف الجبن أحياناً بعض العيوب منها ما يؤثر في صفات الجبن الى حد كبير فيخفض قيمته الغذائية والتجارية في حين أن منها ما ليس له سوى تأثير طفيف غير ملحوظ ، ويختلف منشأ عيوب الجبن فبعضها ينسب الى خطأ في الصناعة كاستعمال لبن ذى طعم أو رائحة غير مقبولة أو انضاج الجبن تحت ظروف غير ملائمة أو استعمال مقدار غير مناسب من الملح الخ ، ويعزى البعض الآخر الى عدم نمو الميكروبات المرغوب فيها بحالة جيدة أو نشاط ميكروبات خارجية لاعلاقة لها بميكروبات الجبن العادية ، وتقتل الميكروبات الأخيرة من مصادر عدة منها اللبن والمنفحة والماء والهواء والاولى والمععدات ، وأهم التغيرات غير العادية التى تنتج بالجبن عن عوامل ميكروبية هى الآتية .

أولاً - تكون الغازات

تتكون أحياناً بالجبن غازات بكميات كبيرة فتحبس في الخثرة وتعطى الجبن مظهراً اسفنجياً ويعرف حينئذ باسم الجبن الغازى أو الاسفنجى ، وهذا العيب من أكثر عيوب الجبن شيوعاً ، وهو يظهر غالباً في الأدوار الأولى من النضج وقد يؤدي إلى خسائر اقتصادية جسيمة

وقد عزلت عدة أصناف من الميكروبات المكونة لغازات بالجبن ووجد أنها تنسب إلى طائفة كولاى - ايروجينيس ، وهذه تأتى على الأغلب من تلوث اللبن المستعمل في الصناعة كما قلنا من جلد الماشية أو روثها أو الماء أو الأولى ، على أنه وجد أنها ربما تقتل في بعض الأحوال من أصابه ضرع الماشية بالتهاب مسبب عن هذه الميكروبات وحينئذ يحلب اللبن محتوياً عليها

وقد عزلت في بعض حالات خمائر مخمرة اللاكتوز وفي حالات أخرى ميكروبات متجذمة غير هوائية أى ميكروبات حامض البيوتريك من جبن غازى على أن الغازات الناتجة عن الميكروبات الأخيرة لا تظهر بالجبن إلا بعد انقضاء بضعة أسابيع من صنعه لأنها تنتج من اللبكتات التى تحولها إلى بيوترات وللمركبات الأخيرة طعم ورائحة غير مقبولة .

وأهم الاحتياطات التي تساعد على تجنب هذا العيب استعمال لبن أظيف وحفظ الجبن على درجات حرارة منخفضة . كما أن إضافة أزونات البوتاسيوم أى ملح البارود (Saltpetre) إلى اللبن المراد صناعته جينا بنسبة تتراوح بين ٦٠.٢٠ جراما من الملح المذكور لكل ٢٥ جالونا من اللبن يقلل من خطورة هذا العيب لأن ميكروبات القولون تحصل على الأكسيجين اللازم لها في هذه الحالة من الأزونات بدلا من اللاكتوز فتخزل الأولى إلى نشادر وترتك الثاني حيث تحوله بكتريا حامض اللبكتيك إلى حامض لسكتيك ، على أن الخناثر والميكروبات المتجترمة غير الهوائية لا تتأثر بوجود ملح البارود .

ثانياً تغيرات الطعم

قد يظهر بالجبن أحيانا طعم مر ينسب رئيسياً إلى عمل الميكروبات التعفنية كما قد يتسبب عن الخيرة توريولاً أمارا التي تنتج طعماً مرّاً باللبن وقد يؤدي حدوث تحلل لعفنى بالبروتين إلى إنتاج منتجات تكسب الجبن طعماً ورائحة تعفنية غير مقبولة ، ومن المحتمل أن تكون هذه المنتجات هي سبب التسمم الناتج أحيانا عن أكل الجبن ويسهل حدوث هذا التحلل بغياب الحوضنة المناسبة .

وقد يلاحظ احتواء أحد أصناف الجبن على طعم ورائحة صنف آخر مخالف ، ويعود هذا إلى تلقيح الصنف الأول بميكروبات خاصة بالصنف الثاني ، ويحدث ذلك عند استعمال نفس الأواني والمعدات في صناعة أصناف مختلفة من الجبن ، وللملافة ذلك يجب استعمال آوان وغرف منفصلة لكل صنف وفي حالة صنع أحد الأصناف بدلا من صنف آخر ينبغي تطهير هواء المعمل واستعمال مزارع نقية من الميكروبات الخاصة بالصنف الجديد .

ثالثاً - تغيرات اللون

إذا وجدت الميكروبات الملونة بالجبن بعدد كبير فانها قد تحدث به بقعا حمراء أو وردية أو صفراء أو زرقاء الخ ، كما أن نمو الفطر على سطح الجبن قد يؤدي إلى تلوّنه بألوان مختلفة لاسيما وأن جراثيمه موجودة على الدوام بالهواء وإن درجة الحرارة والرطوبة بغرف الانضاج مناسبة لنموه . وبما يساعد على تلافي هذا العيب دهن سطح الجبن بطبقة سميكة من البارافين ولكن تشقق هذه الطبقة نتيجة تكون الرطوبة تحتها فهي الفرصة لنمو الفطر فينتشر بسرعة .

وقد تتلون الخثرة نتيجة اذابة أجزاء طفيفة من معدن الوعاء بواسطة الحامض مما ينشأ عنه ظهور لون مزرق أو رمادي أو مسود .

أثر البسترة في صناعة الجبن

ذكرنا فيما سبق أن البسترة لا تستخدم في صنع بعض أنواع الجبن نظراً لصعوبة صنع هذه الأصناف من اللبن المبستر بالنسبة لبطء تحثره وتفكك الخثرة الناتجة منه ، وينسب ذلك رئيسياً إلى أثر الحرارة في نقص نسبة أملاح الكلسيوم الذائبة باللبن وهي ضرورية كما قلنا لتحثر اللبن بالمنفحة ، على أن الفوائد التي تعود من استعمال البسترة في صناعة الزبد قد وجهت الأنظار إلى اتباعها في صناعة بعض أصناف الجبن ،

وقد أدى استعمالها بالفعل في أحوال كثيرة إلى نتائج طيبة ، فقد لوحظ مثلاً أنه في حالة صنع جبن تشدر من لبن أجريت بسترته بالطريقة السريعة إلى درجة ١٦٠ - ١٦٥ ف (٧١,١ - ٧٣,٩ س) وأضيفت إليه الروبة بنسبة ١ - ١ ¼٪ وزيدت نسبة المنفحة المضافة إليه قد أدى إلى إنتاج صنف أجود من المصنوع من لبن خام سواء من حيث قابليته للحفظ أو من حيث خواصه العامة ، كما وجد أن استعمال طريقة البسترة البطيئة أى التسخين إلى درجة ١٤٥ ف لمدة نصف ساعة قد أدى إلى نتائج مماثلة للسابقة ، على أنه ظهر من جهة أخرى أن استعمال درجات حرارة أعلى كثيراً من المذكورة له تأثير سيء على تركيب الجبن

ومن أهم مميزات البسترة في هذه الحالة إبادة الميكروبات المرضية والميكروبات الأخرى الضارة التي يحويها اللبن الخام ، وتجد الميكروبات الأخيرة الظروف المناسبة لنموها على الأخص في الوقت الذي يترك فيه اللبن على درجة حرارة مناسبة ليحمض فتؤثر في طعمه أو رائحته وقد تؤدي إلى إنتاج غازات به ومن ثم فإن البسترة تحسن نوع الجبن الناتج وتطيل مدة حفظه ، على أنه لما كان اللبن المبستر لا يحتوي إلا على عدد قليل من الميكروبات فإنه يتحتم عند استعماله في صناعة الجبن إضافة الروبة بنسبة ملائمة .

الميكروبات المرضية في الجبن

دلت التجارب على أن الأدوار التي يمر بها اللبن في صناعته جبناً من تخميص وتسخين وتنفيج وكبس الخ لا تقضى على ما قد يوجد به من ميكروبات مرضية إذ وجد أن الجبن المصنوع من لبن ناتج من ماشية مصابة بـ *تدرن* *الضرع* أو *ملقح* بميكروب السل يحتوي على هذا الميكروب حياً في أحيان كثيرة بعد انقضاء مدة قد تصل إلى بضعة شهور من صنعه ، كما اتضح أن ميكروبات *التي فود* و *الدفتريا* و *الحما* *القرمزية* و *الاجهاض* المعدي يمكن أن تنتقل إلى الإنسان إذا تغذى بجبن محتو عليها غير أن مدة معيشتها فيه تقل كثيراً عن مدة معيشة ميكروب السل . ومن المحتمل أن تكون أصناف الجبن الطرية أشد خطورة في نقل الأمراض من الجبن الجاف نظراً لسرعة استهلاكها ، كما أنه من المشكوك فيه أن تحتفظ الميكروبات المرضية بقدرتها على إحداث المرض خلال مدة النضج في الجبن الأخير .

الجزء الثالث

الفصل الأول في الأدب والشعر

الباب التاسع عشر

أهمية الفحص البكتريولوجي ونظام معاملته

أولاً: أهمية الفحص البكتريولوجي

كما أن اللبن من أهم مواد الغذاء للإنسان والحيوان فهو بيئة صالحة لنمو وتكاثر أغلب أنواع الميكروبات وقد أثبتت التجارب الكثيرة والأبحاث العديدة أن بلبن السوق المعتاد في معظم الحالات عددا هائلا من الكائنات المذكورة تصل إليه من مصادر شتى كالغبار وروث الماشية والأواني غير النظيفة والماء الملوث والذباب الخ ، لذلك فإن كثرة عددها أو قلتها يتوقف إلى حد بعيد على مقدار العناية التي تتخذ في إنتاجه وتداوله واحتواء اللبن على عدد كبير من الميكروبات يجعله — كما أسلفنا القول — عرضة لحدوث تغيرات غريبة تضر بطعمه ورائحته وتؤدي إلى سرعة فسادِه ، كما يحتمل أن تكون من بين هذه الميكروبات أنواع ممرضة يتسبب عنها نقل ونشر بعض الأمراض الخطيرة ، ولهذا فقد عنيت الهيئات الصحية في أغلب الممالك المتحضرة بوضع قواعد واشتراطات تكفل إنتاج اللبن نظيفا خاليا من الميكروبات الضارة صحيا واقتصاديا وعمدت للوثوق من استيفاء القواعد والاشتراطات إلى تفتيش محال الانتاج ولخص عينات من ألبان كل منتج فحسا بكتريولوجيا في فترات دورية متقاربة الآجال حماية للمستهلك من خطر الألبان الملوثة ومنعاً للتنافس الغير المشروع بين الذين يراعون الدقة في الأخذ بقواعد النظافة مضحين بالوقت والمال في سبيل إنتاج ألبانهم نقية وبين الذين يهتمون بإتباع هذه القواعد فينتجون ألبانا شديدة التلوث بالميكروبات .

والفحص البكتريولوجي ذو أهمية كبرى لكل من منتج اللبن وصانع مستخرجاته ، فالمنتج يستمد من نتائج الاختبار البكتريولوجي معلومات قيمة عن مبلغ الطرق المتبعة في الانتاج من الدقة والسكال وهدى صلاحيتها للحصول على لبن نقي يمكن حفظه مدة طويلة بحالة جيدة ، كما يقف بوساطتها على مقدار حرص العمال على الأخذ بقواعد النظافة وإتباعهم الأساليب الفنية الصحيحة في إنتاج اللبن ومعاملته .

وخليق بالذكر هنا أن بعض البلدان الراقية في سبيل سعيها لتحسين نوع اللبن الناتج قد مهدت السبيل أمام المنتجين لفحص ألبانهم في فترات منتظمة بمراكز خاصة بذلك مقابل أجر زهيد . وقد وجد هذا المشروع إقبالا وتشجيعا من المنتجين نظراً للفوائد التي تعود منه .

كما نظمت بعض تلك البلاد مباريات في إنتاج اللبن النظيف بقصد بث روح التنافس بين المنتجين ووجهت أهميتها عند وضع نظام التحكيم الخاص بها إلى نتائج الفحص البكتريولوجي لعينات الألبان فحستها بالنصيب الأكبر من مجموع الدرجات التي تمنح بمقتضاها الجوائز والمكافآت المالية .

ويمكن الانتفاع بنتائج الفحص البكتريولوجى فى تنوير أذهان المنتجين وإقناعهم بضرورة العناية بجميع العمليات التى يتناولها إنتاج اللبن فنحن يشاهدون مثلا أثر دقة نظافة الماشية وتعقيم أوائى الحليب فى تقليل محتويات اللبن من البكتريا .

وليس أهمية الفحص البكتريولوجى لتجار اللبن وصانعى مستخرجاته بأقل من أهميتها لمنتجيه فعامل الألبان سواء منها ما توزع اللبن دون معاملة خاصة أو التى تقوم بتوزيعه بعد تعقيمه ومصانع الربد والجبن والألبان المركزة والمجففة وغيرها تستوثق من نقاوة اللبن الخام الذى تستورده عادة من منتجين عديدين قبل معاملته أو توزيعه بالاختبارات البكتريولوجية ، كما تتوسل هذه الاختبارات إلى التحقق من انتظام سير العمليات المختلفة ودقة الأجهزة المستعملة فتطمئن إلى جودة النتائج .

ولا يقتصر الأمر على اتخاذ نتائج الفحص البكتريولوجى للبن أساسا لمسكافة المتفوقين فى نظافة الإنتاج بل تتخذها الهيئات الصحية فى بعض الأحيان وسيلة لمجازاة من يعتمد إهمال القواعد الصحية الأساسية فى إنتاج اللبن وصيائمه وتداوله .

ومن أهم مزايا الفحص البكتريولوجى إمكانية التحقق من إصابة ماشية الحليب بأمراض معدية يمكن انتقالها بواسطة اللبن وكذلك الكشف عن وجود ميكروبات عرضة فى عينات اللبن المشتبه فيها ولا يخفى ما لذلك من أهمية قصوى من الوجهة الصحية .

ثانيا : المعدات اللازمة للتحاليل البكتريولوجية

تنقسم المعدات اللازمة للتحاليل البكتريولوجية إلى عدة أقسام كالأجهزة والأدوات الزجاجية والمواد الكيميائية وغيرها ويتوقف العدد اللازم من كل منها وكمياتها على عدد العينات التى يجرى فحصها يوميا أو أسبوعيا بالمعمل وسنورد فيما يلى بيانا إجماليا بأهم المعدات الضرورية اللازمة لمعمل متوسط معد لفحص حوالى خمسين عينة من اللبن فى الأسبوع الواحد .

(١) الأجهزة :

نوع	عدد
ميكروسكوب كامل مجهز بعدسة زيتية	١
معقم بالهواء الساخن	١
أوتوكلاف (معقم بالبخر تحت الضغط)	١
معقم بالبخر على ضغط الجو العادى	١
محضن (Incubator)	٢
ميزان وعلبة أفعال	١
آلة اختبار الرامب	١
حمام ماء	١

(٢) الأدوات الزجاجية. النخ :

نوع	عدد
طبق بترى	٢٠٠
صندوق لأطباق بترى يسع الواحد ١١ طبقا	٦
ماسة سعة ١ سم ^٣ مستقيمة بدون فقاعة	١٥٠
صندق لتعقيم الماصات السالفة الذكر (٤٥ سم × ٦ سم)	٦
ماسة سعة ١٠ سم ^٣ مستقيمة بدون فقاعة	٣٦
ماسة سعة ١.١ سم ^٣	٦
زجاجة عينه	١٢
زجاجة إرفار سعة ١٠٠ سم ^٣	٢٤
» » ٣٠٠ سم ^٣	٢٤
» » ٢٠٠٠ سم ^٣	٦
مخبار أحدها سعة ١٠٠ سم ^٣ والثاني سعة ٥٠٠ سم ^٣ والثالث سعة ١٠٠٠ سم ^٣	٣
قع ترشيع بعضها قطره ٨ بوصات والبعض ٣ بوصات	٦
كأس زجاجية سعة ٣٠٠ سم ^٣ ١٠٠٠ سم ^٣ ٢٠٠٠ سم ^٣	١٢
أنبوبة اختبار	٨٠٠
حامل خشبي لأنابيب الاختبار يسع الواحد ١٢ أنبوبة	٦
أنبوبة درهام الاختبارية	٢٠٠
سحاحة (سعة ٥٠ سم ^٣)	٢
سلة سلك (١٥ × ١٥ × ١٥ سم)	١٢
وعاء مزدوج الجدران من الصاج لعمل البيئات سعة ١ سم ^٣ ٢ سم ^٣ ٣ لتر	٣
كوز من الصاج سعة ٥٠٠ سم ^٣	٣
ترمومتر مدرج الى ١١٠ سم ^٣ ٣٠٠ سم ^٣ ستيجراد	٤
زجاجة بقطارة سعة ٣٠ سم ^٣	١٢
زجاجة ذات فوهة ضيقة سعة ٢٥٠ سم ^٣	٢٤
إبرة للتفقيح	٦
مصباح بنزن	٤
قع ترشيع ساخن	٢
حامل حديد ذو ثلاثة أرجل	٣

شريحة ميكروسكوبية

٢٠٠

جردل من الصاج للغسيل

٢

هذا عدا ما يلزم من القطن الطبي بنوعيه الماص وغير الماص وورق الزبد وورق الترشيح من مقاسات مختلفة وأقلام الشمع وفرش تنظيف الانايب وانايب المطاط لمصايح بنزن وسدادات المطاط من مقاسات مختلفة وقضبان زجاجية.

(٣) المواد الكيميائية والاصباغ

نوع	عدد
كيلو آجار	٢
• بيتون	٠,٥
• لمكو	٠,٥
• ملح الصفراء	٠,٥
• لاكتوز	٠,٥
• كلورور الصوديوم	٠,٥
لتر محلول إيدروكسيد الصوديوم أساسى	١
لتر محلول إيدروكسيد الصوديوم عشر أساسى	١
كيلو حامض كلورودريك تجارى	١
كيلو حامض كبريتيك تجارى	١
كيلو صودا الغسيل	٢
كيلو ديكرومات البوتاسيوم	٢
جرام أزرق الميثيلين	٥٠
• فوكسين قاعدى	٥٠
• فوكسين حمضى	١٠
سم ٣ محلول بروم ثيمول أزرق	١٠٠
لتر كحول فقى	٢
لتر زيلول	١
كيلو فينول	٠,٥
ماء مقطر	

ويجدر بنا أن نشير إلى أن الانابيب والمصاصات والأطباق وغيرها من الأدوات الزجاجية يجب أن تكون من نوع جيد ومن زجاج سميك لا يتأثر بتكرار عمليات الغسيل والتعقيم الخ وإن المواد الكيميائية التي تستعمل في عمل البيئات وغيرها يجب أن تكون نقية من نوع جيد مضمون .

ثالثا : كيفية إعداد الأدوات والمواد لاستعمالها في البكتريولوجية

أولا : معاملة الاواني الزجاجية الجديدة :

من المهم جدا في الفحص البكتريولوجي للحصول على نتائج موثوق بها أن يعنى بمعاملة الاواني الزجاجية الجديدة قبل الاستعمال بطريقة تكفل إزالة ما تحويه من مواد قلووية إذ أن وجود هذه المواد ولو بمقادير طفيفة يؤدي إلى تغير تأثير السوائل والبيئات التي توضع بها وهذا يؤثر في البكتريا التي تنمو عليها . والطرق المتبعة لبإوغ هذا الغرض كثيرة منها على الاواني الزجاجية كالأنايب الاختبار وأنايب درهام وأطباق بترى في محلول ١ ٪ حامض كلورودريك تجارى لمدة ربع ساعة في وعاء من الصاج ثم غسلها جيدا بالماء لإزالة آثار الحامض منها وأحيانا توضع في الماء أو تملأ به ثم تسخن ببخار تحت الضغط حرارته ١٣٥° سنتجراد ويعقب ذلك شطفها بمحلول ١ ٪ حامض كلورودريك وأخيرا تغسل بالماء عدة مرات . وقد يكتفى أحيانا بوضع الأدوات الزجاجية التي لا تتحمل المعاملة السابقة مدة عشرين ساعة في محلول منظف مجفف مركب كالآتي :

٦٠ جرام ديكرومات البوتاسيوم
٣٥ سم^٣ حامض كبريتك تجارى
١٠٠٠ سم^٣ ماء

ويحضر المحلول المذكور بإذابة الديكرومات في ماء دافئ ثم تبريده وإضافة الحامض اليه ببطء مع التقليب المستمر

ونغسل الاواني بالماء عدة مرات بعد معاملتها بالمحلول المنظف

ثانيا : معاملة الاواني الزجاجية المستعملة :

وكما تجدر العناية بمعاملة الأدوات الزجاجية الجديدة قبل الاستعمال ينبغي كذلك الاهتمام بتنظيف الاواني المستعملة قبل إعادة استعمالها مرة ثانية . فالأواني التي استعملت في زرع البكتريا كالأنايب وأطباق بترى مثلا تعقم بالبخار تحت الضغط على حرارة ١٢٨ أو ١٣٥° سنتجراد وهذه المعاملة تطهر الاواني المذكورة وتذيب البيئات الصلبة الموجودة بها كالآجار وبذا يسهل تنظيفها وبعد ذلك تنقل عادة وهي ساخنة من جهاز التعقيم إلى حوض أو صهر ينجح يحتوى على ماء ساخن فتنظف فيه الانابيب بواسطة فرشاه خاصه والأطباق بترى بقطعة قطن ثم تشطف جيدا بماء ساخن نظيف ويفضل أحيانا استعمال محلول صودا ساخن (قوته حوالى ٥ ٪) بدلا من الماء الساخن لمعاملة الاواني العسرة التنظيف المحتوية على بقايا لبن أو نحو ذلك ويستعمل أحيانا في الحالة الاخيرة محلول للغسل والتنظيف مركب كالآتي :

٢٥٠ جرام صودا الغسيل

١٠٠ جرام صابون طرى

١٠ لتر ماء

وتوضع الادوات فى اناء محتو على هذا المحلول لمدة ١٢ - ٢٠ ساعة ثم تغسل بالماء عدة مرات ويفضل معاملة مملتها بمحلول ١ ٪ حامض الكلورودريك قبل غسلها بالماء كما هو الحال فى الاوانى الجديدة وبعدئذ توضع الانايب مقلوبة فى السلات السلكية الخاصة بها كما تقلب الاطباق وأغطيتها على لوحة التنصيف إلى أن تجف .

وينبغى أن يراعى غسل الادوات التى احتوت على ابن عقب الفراغ من استعمالها مباشرة فان تعذر ذلك لزم وضعها فى الحال فى ماء بارد لحين تنظيفها حتى لايجف اللبن بها فتصعب إزالته فزجاجات البعثة مثلاً تنظف بغسلها أولاً بماء فاتر (قريب من حرارة الدم أى على حوالى درجة ٣٠ ستيجراد) حتى تسهل إزالة المواد الدهنية منها ولايجب استعمال الماء الساخن مطلقاً فى الدرجة الاولى من عملية التنظيف وإلا يتجمد اللبن فى طبقة يصعب إزالتها فيها بعد . ثم تغسل بمحلول الصودا الساخن وتشطف بحامض مخفف ثم بالماء .

ويلزم الاعتناء بتنظيف الماصات لان كمية السائل التى تقاس بواسطة الماصة تنوقف إلى حد كبير على درجة نظافتها من الداخل . والطرق المتبعة فى تنظيف الماصات كثيرة إلا أن أهمها الآتية : -

(١) تشطف أولاً بماء فاتر ثم تطرد السداده القطنية من فوهتها بأمرار تيار من الماء فيها ويستكمل تنظيفها بادخال سلك رفيع فيها ملفوف على أحد طرفيه قطعة قطن صغيرة وأخيراً تشطف بماء الصنبور أو بماء مقطر وتجفف قبل التعقيم .

(٢) توضع الماصات فى إناء يحتوى على محلول ٢ ٪ صودا كاوية لمدة ساعتين على الأقل ثم تغسل بماء ساخن وتترك ليتصفى ما بها من بقايا الماء وتغسل بعدئذ بالاسيتون (Acetone) بواسطة حبله من المطاط تتركب على طرفها العلوى ويمص السائل المذكور فيها ويطرد بضع مرات وتزال بقاياها منها بماء ساخن وأخيراً تغسل بماء مقطر ويصفى الماء وتجفف قبل التعقيم .

(٣) تغمس الماصات فى محلول الصودا السالف الذكر ويسخن الوعاء الذى يحويها بالبخار لمدة ١ ساعة ثم تستخرج من المحلول وتصفى وتوضع فى وعاء آخر يحتوى على حامض مخفف لمدة بضع دقائق وأخيراً تشطف بالماء وتجفف ثم تعقم .

والاوانى الزجاجية التى يتعسر تنظيفها على العموم بالطرق السابقة الذكر توضع لمدة ١٥ دقيقة فى محلول منظف قوى تركيبه كالاتى :-

٤٠ جرام ديكرورومات البوتاسيوم

٢٣٠ سم ٣ حامض كبريتيك تجارى

١٥٠ سم ٣ ماء

وتستعمل كذلك طرق خاصة في تنظيف الشرائح الميكروسكوبية سواء منها الجديد أو المستعمل ومن هذه الطرق غليها في المحلول المنظف المخفف لمدة ١ ساعة ثم غسلها جيدا بالماء ، أما الشرائح المستعملة فيفضل دعيكها بصابون بروك (Brooke's soap) عقب معاملتها بالطريقة السابقة ثم إعادة غسلها بالماء وإذا أريد الحصول على شرائح غاية في النظافة فيستحسن أن توضع عقب معاملتها بالمحلول المنظف المخفف في المحلول المنظف القوى لمدة ساعة أو ساعتين ثم تغسل بالماء وتحفظ مغموسة في كحول ٥٠ ٪ في أثناء محكم القفل لحين الحاجة إليها على أن تغسل بالماء وتجفف قبل الاستعمال مباشرة :

ثالثا : تعقيم الأدوات والبيئات :

يشترط في الأواني والمواد التي تستعمل في الأشغال البكتريولوجية وخاصة ما يستخدم منها في زرع البكتريا أن تكون معقمة أى خالية تماما من جميع الميكروبات الحية فالأواني الزجاجية التي أسلفنا ذكرها بعد التأكد من نظافتها والبيئات بعد تحضيرها بالطرق التي سيرد ذكرها فيما بعد تعامل كل منها قبل الاستعمال بطريقة خاصة تضمن إبادة ما تحويه من ميكروبات وتمنع تلوثها بميكروبات تصل إليها من الخارج وسنعمل فيما يلي طرق التعقيم الرئيسية المستعملة في تحضير الأدوات اللازمة للفحص البكتريولوجي للأنسجة .

يمكن إبادة البكتريا في مادة ما إما بتعريضها لفعول الحرارة أو للمطهرات الكيماوية على أنه لا ينصح باستعمال الأخيرة في الاعمال المتعلقة بفحص اللب البكتريولوجي نظراً لتعذر إزالتها من المواد والأدوات ولأن بقاءها بها ولو بمقادير ضئيلة جداً يؤثر في نمو البكتريا التي تزرع فيها .

والتعقيم بالحرارة يجرى بطرق ثلاث رئيسية نلخصها فيما يأتي : —

(١) التعقيم بالهواء الساخن (Hot air)

يستعمل لهذا الغرض جهاز يعرف باسم « المعقم بالهواء الساخن » (Hot air steriliser) وهو عبارة عن فرن معدني مزدوج الجدران يسخن بغاز الاستصباح أو الكهرباء وتعقم فيه الأدوات الزجاجية التي تتحمل الحرارة العالية كالأطباق والمصاصات بعد وضعها في صناديق أسطوانية خاصة مصنوعة من النيكل أو من النحاس ، وقبل تعقيم المصاصات يلزم وضع سدادات قطنية (Cotton plugs) في طرفها العلوي طولها ٥ ، ١ — ٢ سم بواسطة قطعة سلك رفيعة وينبغي ألا تبرز السدادة خارج الماصة وألا تكون كبيرة لدرجة تعوق عملية مص السائل أو صغيرة جداً بحيث لا تخرج عند نفخ السائل من الماصة ، كما يمكن تعقيم زجاجات العينة بهذه الطريقة كذلك .

ويشترط لضمان دقة العملية وعدم تعرض الأدوات للكسر مراعاة النقاط الآتية :

(١) أن تكون الأدوات الزجاجية تامة الجفاف قبل التعقيم .

(٢) أن توضع الأدوات المذكورة في الجهاز قبل بدء التسخين .

(٣) ألا يفتح الجهاز قبل أن تنخفض حرارته إلى درجة ٤٠ سانتجراد .

ويجرى التعقيم عادة بهذه الطريقة إما على درجة ١٧٠ سانتجراد لمدة ساعة أو على درجة ١٦٠ سانتجراد لمدة ساعة ونصف ساعة وزيادة في الاحتياط ينصح بإجراء التعقيم على درجة ١٦٠ — ١٧٠ لمدة ساعتين

(٢) التعقيم بالبخار على ضغط الجو العادى (درجة ١٠٠ سنتراد) (Current Steam) :

يطلق على الجهاز المستعمل فى هذه الطريقة اسم المعقم البخارى ، (Steam Steriliser) ويصنع عادة من النحاس ويكسى بطبقة من الاسيستوس وله غطاء ذو فتحة ينفذ منها البخار . يوضع الماء فى قاع المعقم وتوضع الادوات المراد تعقيمها على افريز ذى ثقب مثبت فوق مستوى الماء وبتسخين الماء بالغاز أو بالكهرباء يتصاعد البخار متخللا ثقب الثقب الافريز فيحيط بالادوات المذكورة ولا ترتفع حرارة البخار فى الجهاز عن درجة ١٠٠ سنتراد .

وتعقم فى هذا الجهاز البيئات المغذية التى محتوى على مواد يخشى تحللها على درجات الحرارة العالية ، والتعقيم بهذه الطريقة يجرى عادة بتعريض المواد للبخار لمدة ٢٠ دقيقة أو نصف ساعة كل يوم مرة فى ثلاث أيام متعاقبة ويشترط أن يحسب الزمن من وقت وصول الحرارة الى درجة ١٠٠ سنتراد كما ينبغي أن تبلغ الفترة التى تتخلل مرات التعقيم أربع وعشرين ساعة .

(٣) التعقيم بالبخار تحت الضغط (Steam under pressure)

يستخدم فى هذه الطريقة جهاز معروف باسم الأوتوكلاف (Autoclave) مصنوع من النحاس أو الصلب ذو غطاء سميك يحكم قفله بواسطة مشابك لولبية . يوضع الماء فى قاعه وتوضع الادوات المراد تعقيمها على افريز كالمذكور فى الجهاز السابق أو فى وعاء حديدى مثقب الجدران يرتكز على القاع ولاجراء العملية يحكم قفل الجهاز ويسخن الماء بالغاز أو بالكهرباء فيطرد الهواء الموجود بداخله أولا من صنوبر خاص ثم يقفل الصنوبر فزداد ضغط البخار وترتفع حرارته عن درجة ١٠٠ سنتراد ، وتعرض درجة الحرارة ومقدار ضغط البخار فى داخل الجهاز أثناء تشغيله بواسطة ترمومتر ومقياس للضغط (Pressure gauge) ، ويطفأ اللهب عند وصول الضغط إلى الدرجة المطلوبة ولايفتح الجهاز قبل أن يبرد . وتصلح هذه الطريقة لتعقيم جميع الادوات كالانابيب والقنينات وزجاجات العينة ذات السدادات من المطاط الخ وكذلك البيئات ماعدا ما شتمل منها على مواد يحتمل تحللها إذا عرضت للحرارة العالية ويجرى التعقيم فى الأوتوكلاف عادة إما برفع الحرارة إلى درجة ١٢٨ سنتراد (١,٥ ضغط جوى أى ٢٢,٥ رطل للبوصة المربعة) وإطفاء اللهب فى الحال أو بالتسخين إلى درجة ١٢١ سنتراد (ضغط جوى واحد أى ١٥ رطلا للبوصة المربعة) وابقاء الحرارة على الدرجة المذكورة لمدة ١٥ ساعة .

وتعقم السوائل والبيئات المغذية سواء فى هذا الجهاز أو فى المعقم بالبخار بعد وضعها فى أنابيب أو قنينات وقلها بسدادات قطنية وتغطى السدادات المذكورة بطبقة من ورق بارشمنت أو بطبقتين من ورق الزبد المعتاد حتى لا تتبل بالماء المتكثف وترص الانابيب فى السلات السلوكية عند تعقيمها .

رابعاً : تأنيب معمل التحاليل البكتريولوجية

تتوقف سعة المعمل المخصص للتحاليل البكتريولوجية على عدد عينات اللبن التى يجرى اختبارها يوميا أو أسبوعيا ، فالمعامل الملحقه بمصانع الألبان الصغيرة نسبيا تتألف عادة من حجرة واحدة مجهزة بمعدات

بسيطة تجري بها كافة العمليات ، أما معامل المصانع المتوسطة فيلزم لها حجرتان وتخصص إحداها للغسيل والتعقيم وتحضير البيئات والثانية للفحص ولكن معامل التحاليل التي يختبر فيها عدد كبير من العينات يزيد عن المائتين أو الثلاثمائة في الأسبوع تكون غالباً من ثلاث حجرات إحداها للغسيل والثانية لتحضير البيئات والتعقيم والثالثة للفحص

ويشترط في حجرات معمل الفحص عموماً أن تكون جيدة التهوية والاضاءة وأن تغطي حيطانها وتضع أرضيتها من مواد يسهل غسلها وتنظيفها وينبغي أن تراعى فيها النظافة التامة وعدم تراكم الغبار في أى جزء من أجزائها أو على الأجهزة أو المعدات الأخرى . ويحسن أن توصل إليها أنابيب الغاز والكهرباء وأن تجهز بمسخن لامداد المعمل بالماء الساخن اللازم للغسيل .

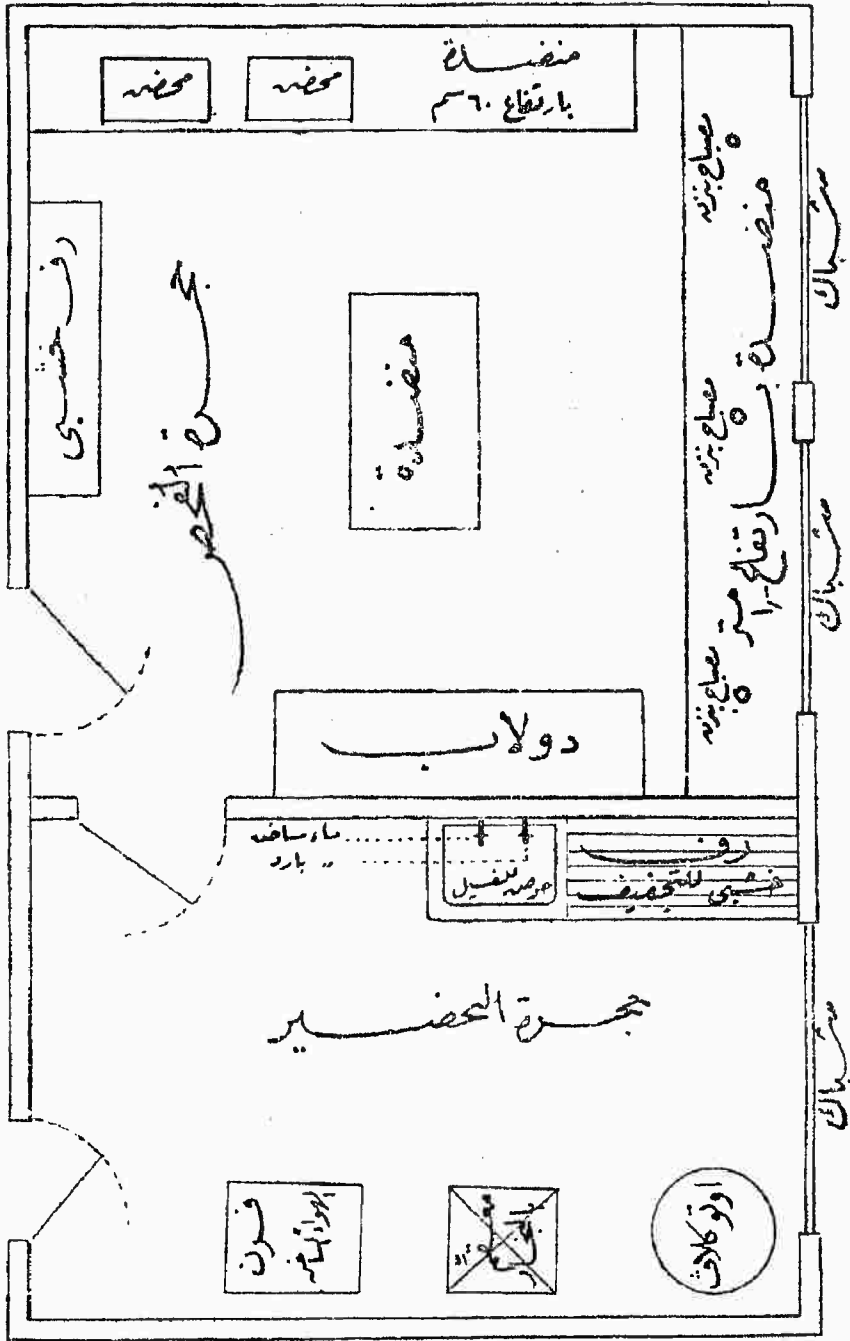
وقد رأينا زيادة في الفائدة أن نوضح نظام معمل متوسط للفحص برسم تخطيطي (شكل ٣١) يبين ترتيب الأجهزة والمعدات المختلفة في الحجرتين اللتين يتألف منهما ، ويلاحظ في الرسم أن إحدى الحجرتين وهى حجرة التحضير « مقاسها حوالى ٣ × ٥ متر ، تشمل أجهزة التعقيم في صف يقابله معدات الغسيل والتنظيف وفي إحدى جوانب الحجرة توجد منضدة ثابتة « ارتفاعها حوالى ٨٠ سم » مخصصة لخدمة البيئات وعملية الترشيع ونحو ذلك ، أما الحجرة الثانية أى حجرة الفحص « مقاسها حوالى ٥ × ٥ متر » فيلاحظ احتواؤها على معدات الفحص وتعلي دواليب الخزن الأدوات والمواد الزائدة عن حاجة العمل .

ويلزم لمثل هذا المعمل موظف واحد ملم بالاعمال البكتريولوجية والاجراء التحاليل يساعده عامل متمرن للقيام بصنع البيئات واعداد الأدوات اللازمة للتنظيف.

فهامساً : القواعد الواجب مراعاتها في معمل الفحص

قبل أن ننهي من الكلام عن نظام معامل الفحص يحسن سرد أهم القواعد العامة الواجب مراعاتها في معامل الفحص البكتريولوجي وهى :

- (١) ضرورة العناية بتنظيف الايدي على الدوام وتطهيرها بين آونة وأخرى بمطهر خفيف مثل محلول ٥٪ حامض الكربوليك
- (٢) الاحتياط التام من وصول مواد معدية (Infectious material) إلى سطوح المناضد وأرضية المعمل فإذا حدث ذلك وجب مسحها في الحال بخزقة مبللة بمحلول مطهر
- (٣) عدم ترك الاوان المستعملة كالانابيب والاطباق الخ على المناضد عقب الفراغ من استعمالها بل يلزم غمسها في محلول مطهر أو تعقيمها مباشرة .
- (٤) تعقيم ابر التطعيم دائماً بتسخينها في اللهب لدرجة الاحمرار قبل استعمالها ثم بعد أن تستعمل مباشرة قبل وضعها على الحامل الخاص بها أو على المنضدة
- (٥) تجنب لعق أوراق اللصق باللسان بل تبلل بنقطة ماء أو بمحلول مطهر قبل لصقها
- (٦) وقاية الماصات والاطباق المعقمة من التلوث بوضعها في صناديق معقمة مغلقة خاصة بالحين الحاجة اليها
- (٧) تمسك الانابيب والقنينات المعقمة عند فتحها في وضع أفقي بقدر الإمكان وتعقم فوهاتها بمجرد ورودها في اللهب بعد نزع غطاءها وقبل أن يعاد الغطاء مكانه



(شكل ٣١) رسم تخطيطي لعمل فحص متوسط

(٨) تحفظ المزارع البكتيرية على الدوام في الظلام بعيداً عن النجم.

(٩) تراقب أجهزة التعقيم أثناء تشغيلها بدقة ويطفأ اللهب أو يقطع التيار الكهربائي عند وصول الحرارة إلى الدرجة المطلوبة توأ ويلاحظ احتواء المعقم على ماء كاف قبل تشغيله تجنباً لخطر الفارقة

(١٠) لا يشار النجم بالمعمل في أثناء ساعات العمل على الإطلاق ويراعى أن تكون حجرة الفحص خالية من النيارات الهوائية وإلا وجب إغلاق الباب والنوافذ أثناء إجراء الاختبارات

الباب العشرون

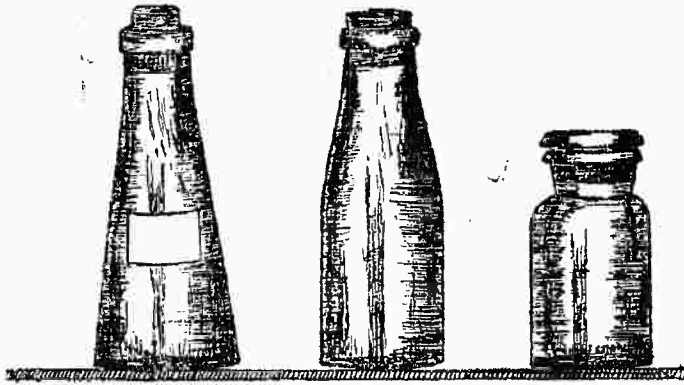
طرق اخذ عينات اللبن للفحص البكتريولوجى

- عند أخذ عينة من اللبن للفحص البكتريولوجى يشترط مراعاة النقاط الآتية بدقة :
- (١) أن تكون العينة ممثلة لجميع اللبن المراد اختباره ، وذلك يستدعى خلط اللبن خلطا جيدا وجعله متجانسا تماما قبل أن تؤخذ العينة لأن بعض البكتيريا تطفو مع حبيبات الدهن على السطح كما ان بعض كتل البكتيريا والمواد الغريبة ترسب إلى القاع عند ترك اللبن مدة من الزمن دون رجحه
 - (٢) الاحتياط التام من تلوثها بميكروبات خارجية وذلك بعدم تعرضها للغبار أو الذباب واستعمال أدوات خاصة لهذا الغرض يكون قد سبق تنظيفها وتعقيمها تعقيا كاملا وحفظها في أوان محكمة السد
 - (٣) اتخاذ الوسائل التى تضمن سرعة وصولها إلى معمل التحاليل بحيث لا تمضى مدة طويلة بين حلب اللبن وفحص العينة ، إذ مرور الوقت يزداد تدريجيا عدد البكتيريا التى توجد به خصوصا عند حفظه على درجة حرارة مرتفعة .
 - (٤) حفظ العينة أثناء النقل على درجة حرارة منخفضة ويستعمل عادة لهذا الغرض صندوق تبريد خاص
 - (٥) تجنب كثرة رج العينة أثناء النقل حتى لا تتفتت السكتل البكتيرية (Clumps) الكبيرة نوعا إلى كتل صغيرة أو خلايا متفرقة مما يفسد عنه ازدياد عدد البكتيريا السكلى الناتج بطريقة الأطباق التى سيأتى وصفها فيما بعد عند فحص العينة .

أولا : الأدوات اللازمة لأخذ العينة

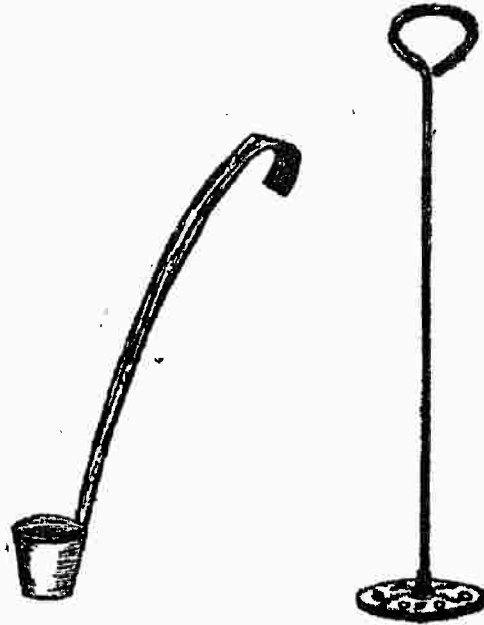
- يلزم لأخذ العينة بطريقة صحيحة عدة أدوات خاصة أهمها ما يأتى :
- (١) زجاجات العينة : يستعمل فى أخذ العينة زجاجات (Sample bottles) ذات أشكال وأحجام مختلفة ولكن أكثرها ملائمة لهذا الغرض هى الأنواع الثلاثة المبينة بشكل ٣٢ . وهى كما يرى إما أن تكون اسطوانية أو مخروطية وذات غطاء من المطاط أو من الزجاج المصنفر والنوع الاخير يفضل الاول خصوصا ما كان منه ذا حافة مثنية إلى أسفل بحيث تقى فوهة الزجاجاة من التلوث من الاصابع أو المواد المتساقطة من الجو ، وقد يصنع الغطاء أحيانا من المعدن ويطن بطبقة من المطاط .
 - وتتراوح سعة زجاجات العينة بين ٩٠ سم^٣ و ١٨٠ سم^٣ وتصنع من زجاج جيد مقاوم للحرارة خال من المواد القلوية بقدر الامكان .

وتعقم الزجاجات قبل الاستعمال أما في فرن الهواء الساخن على درجة ١٦٠ — ١٧٠ سفتجراد لمدة ساعتين كما ذكرنا من قبل أو في الاوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ٢٠ دقيقة ، وتعقم بذلك الطريقة الزجاجات ذات السدادات من المطاط على أن تسد فوهاتها بأغطية قطنية أثناء التعقيم بينما تلف سدادات المطاط بورق الزبد وتعقم على حدة ثم تستبدل الاغطية القطنية بها بعد صب عينة اللبن في الزجاجاة مباشرة مع مراعاة ألا تلمس اليد جزء السدادة الذي يدخل في فوهة الزجاجاة حتى لا يتلوث بعد التعقيم .



(شكل ٣٢) بعض انواع زجاجات العينة

(٢) الخالط والكوز : ويستعمل في أخذ العينة كذلك خالط (plunger) خاص يتركب من قرص معدني مثقب مثبت في نهاية قضيب طويل من المعدن ينتهي بقبض (أنظر شكل ٣٢) كما يستعمل وعاء على هيئة كوز (dipper) يثبت فيه ذراع طويل منحن قليلا ذو طرف ملتو (شكل ٣٢) وهو أما أن يصنع

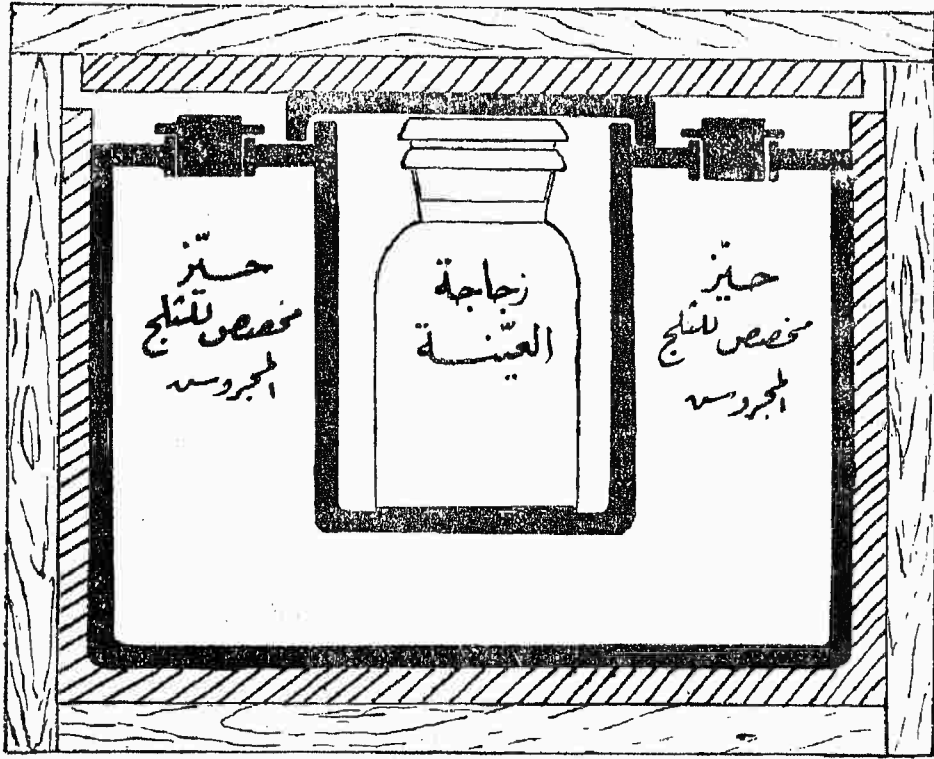


(شكل ٣٣) يرى به الخالط إلى اليمين والكوز إلى اليسار

من الحديد غير القابل للصدأ أو من الألومنيوم أو النحاس المغطى بالقصدير ، ويعقم كلا الخايط والكوز قبل الاستعمال بعد انقيهما في ورق الزبد أو الورق المشمع أو وضعهما في وعاء خاص من المعدن بنفس الطريقة المتبعة في تعقيم زجاجات العينة .

(٣) صندوق التبريد (refrigerator box) : وهو عبارة عن صندوق من الخشب مبطن بمادة عازلة للحرارة كاللباد وبداخله وعاء نحاسي به قسم منفصل توضع به زجاجة العينة ويحيط به حيز مخصص للتاج المجمد (انظر شكل ٣٤) .

غطاء الصندوق



(شكل ٣٤) صندوق التبريد

ثانياً : طرق أخذ العينة

Methods of Taking Samples

تستعمل عدة طرق في أخذ عينات اللبن كل منها تناسب حالة خاصة وسنبين فيما يلي تلك الطرق مع ذكر الاحوال المختلفة التي تستعمل فيها .

(١) طرق أخذ عينة من صفائح اللبن (Sampling of churns) : وهي تختلف باختلاف الظروف . وفيما يلي أهم الطرق المستعملة : —

(أ) يرفع غطاء الصفيحة باليد اليسرى ويمزج اللبن الذي تحويه بواسطة خالط معقم باليد اليمنى ويجرى المازج بغمس الخالط في اللبن حتى يصل إلى قاع الوعاء تقريباً ثم يرفع إلى السطح وتكرر هذه العملية عشر مرات على الأقل وبعدئذ تؤخذ العينة بواسطة الكوز المعقم وتصب في زجاجة العينة ، وينبغي الحذر من أن تلمس اليد أو أى جسم آخر غير معقم أجزاء الخالط والكوز التي تغرس في اللبن ، كما يراعى عند صب العينة في الزجاجة أن يرفع عنها الغطاء باحتراس ويمسك بين أصابع إحدى اليدين أو يوضع على منضدة مركزة على الجزء الخارجى منه في حين تمسك الزجاجة قريباً من قاعدتها في وضع أفقى بقدر الإمكان وتصب فيها عينة اللبن بحذر حتى تملأ ثلاثة أرباعها تقريباً ثم يعاد الغطاء مكانه ويختاط أثناء هذه العملية من تلوث اللبن أو سدادة الزجاجة أو فرحتها ، وينبغي ألا يرفع غطاء الزجاجة بعد صب اللبن فيها إلا عند الضرورة القصوى .

واتباع الطريقة المذكورة في مزج اللبن يضمن تجانسها وتوزيع جزيئات الدهن والميكروبات فيه بالتساوى وهى تفضل كثيراً المزج بحركة رجوية .

ويجب أن يخصص خالط معقم للمزج محتويات كل صفيحة وكوز معقم لأخذ عينة منها غير أنه عند ما تؤخذ عينات كثيرة فى وقت واحد يمكن استعمال نفس الخالط والكوز فى أخذ عدة عينات بشرط تنظيفها وتعقيمها بين مرات الاستعمال بالكيفية الآتية : -

يوضعا عقب الاستعمال مباشرة فى وعاء كبير (مثل جردل به ماء بارد) يتجدد باستمرار ثم يرفعاً منه بعد فترة قصيرة ويوضعا فى وعاء آخر يحتوى على ماء ساخن حرارته ١٨٠ فهرنهيت على الأقل (وتحفظ الحرارة على الدرجة المذكورة بإمرار بخار ساخن فى الوعاء بواسطة خرطوم متصل بقزان البخار) ويتركاً فيه إلى أن يمتلئ وقت استعمالها ، والمتبع عادة فى مثل هذه الأحوال استخدام أكثر من خالطين وكوزين واستعمالهما بالتبادل بمعنى أن يستعمل أحدهما فى الوقت الذى تنظف وتعقم فيه البقية .

وفى حالة فحص محتويات عدة صفائح واردة من مصدر واحد تؤخذ عينة ممثلة لجملة اللبن الذى تحويه الصفائح جميعاً وتحضر هذه العينة المختلطة بأخذ مقدار معين من كل صفيحة يتناسب مع كمية اللبن التى تحويها فالصفائح النامة التعبئة مثلاً يؤخذ من كل منها ملء كوز والصفائح المعبأة إلى النصف لا يؤخذ منها غير نصف المقدار الذى يسعه الكوز وهكذا ثم تصب هذه المقادير جميعها فى إناء صغير معقم وتمزج جيداً وتؤخذ منها عينة واحدة ممثلة لجميع اللبن المراد اختياره ولا يخفى أنه من الضرورى مزج محتويات كل صفيحة بالطريقة المشروحة آنفاً قبل أخذ اللبن منها على أنه يجوز استعمال نفس الخالط والكوز فى تحضير العينة المختلطة ما دام اللبن وارداً من مصدر واحد .

(ب) يستعمل أحياناً بدلاً من الخالط والكوز أنبوبة مفتوحة الطرفين مستقيمة مصنوعة من الزجاج أو الألومنيوم يزيد طولها قليلاً عن ارتفاع صفائح اللبن ويبلغ قطرها الداخلى حوالى $\frac{1}{4}$ بوصة وهذه تعقم فى الأوتوكلاف قبل الاستعمال ، وعند أخذ العينة بهذه الطريقة يرفع الغطاء عن صفيحة اللبن ثم تمسك الأنبوبة من طرفها العلوى فى وضع عمودى وتغمس فى اللبن ببطء حتى تصل إلى قاع الصفيحة فتقل فتحتها العلوية بالاهام وتسحب باحتراس ثم تصب محتوياتها فى زجاجة العينة مع اتخاذ الاحتياطات السالف ذكرها

لمنع التلوث أثناء هذه العملية وليس من الضروري خلط محتويات الصفيحة قبل أخذ العينة بهذه الطريقة . وتستعمل أنبوبة معقمة خاصة لكل صفيحة إذا كان عدد الصفائح قليلاً أما إن كان كبيراً فتستعمل أنبوتان أو ثلاث بالناوب على أن تنظف وتعقم في أثناء أخذ العينات بالكيفية المشروحة في الطريقة السابقة

ومع أن هذه الطريقة مستعملة في كثير من المعامل الأمريكية (وهي لذلك تعرف غالباً باسم الطريقة الأمريكية) إلا أن الطريقة السابقة تنفذها من عدة وجوه ولذلك فهي المتبعة في أغلب الأحيان . (ح) في الأحوال التي تصب فيها محتويات الصفائح الواردة من كل منتج على حدة في صهريج الوزن عند وصولها إلى المعمل أو إلى محطة الاستلام تؤخذ العينة مباشرة من الصهريج المذكور بواسطة كوز معقم وتصب في زجاجة العينة حسب الوصف السابق . ولهذه الطريقة بعض العيوب من أهمها أن اللبن النظيف الذي يوضع في صهريج الوزن قد يتلوث ببقايا لبن غير نظيف لأن مثل هذا الصهريج لا يعقم عادة بين مرات الاستعمال لذلك لا ينصح باتباع هذه الطريقة عند أخذ عينات من ألبان عدة موردين لفحصها تمهيداً للمكافأة كل منهم بحسب درجة نقاوة ألبانه .

(د) إذا كانت صفائح اللبن صغيرة الحجم فيحسن قفل كل منها بإحكام وقلبها ثم أعادتها لوضعها الأصلي بضع مرات وبذلك تخرج محتوياتها جيداً ، كما يمكن إجراء المزج بصب اللبن من الوعاء الأصلي إلى وعاء آخر معقم ثم أعادته إلى الوعاء الأول وتكرر هذه العملية أربع أو خمس مرات ، وأخيراً يصب مقدار مناسب من اللبن في زجاجة العينة

(٢) طريقة أخذ عينة من صهريج اللبن : (Sampling of Tank Milk) :

يعبأ اللبن أحياناً عند نقله إلى مسافات بعيدة في صهاريج كبيرة مثبتة على عربات السكة الحديد أو على سيارات خاصة ويبلغ ما تسعه كل من هذه الصهاريج ٢٠٠٠ إلى ٣٠٠٠ جالون ، ريصعب كثيراً أخذ عينة من مثل هذه الصهاريج عن أخذها من الصفائح الصغيرة المعتادة بالطرق السابقة الذكر لأن طبقة القشدة التي تتكون على سطح اللبن في الصهريج أثناء المدة الطويلة نسبياً التي تمضي بين تعبئة اللبن ووصوله إلى المعمل تكون سميكه جداً فيتعذر لذلك خلط محتويات الصهريج وأخذ عينة من فتحته العلوية كما أنه ليس من المناسب أخذ عينة من صنبور التفريغ السفلي لأن مثل هذه العينات لا تمثل جميع اللبن .

وأفضل الطرق لأخذ عينة في مثل هذه الأحوال هي أن تفرغ محتويات الصهريج أولاً في صهريج خزن مناسب (Storage tank) يسع كل المقدار الذي يحويه صهريج النقل ثم تؤخذ عينة من صهريج الخزن عقب التفريغ مباشرة بواسطة كوز معقم ، وأحياناً يستعاض عن هذه الطريقة بامرار هواء مضغوط حوالى ربع ساعة في صهريج النقل قبل تفرغه لمزج محتوياته ثم تؤخذ العينة من الفتحة العلوية بواسطة الكوز المعقم .

(٣) طريقة أخذ عينة من الزجاجات : (Sampling of Bottled Milk) :

إذا أريد أخذ عينة من اللبن أثناء توزيعه على المستهلكين فتستعمل لذلك طرق خاصة تخالف ما ذكر سابقاً ، ومن أكثر هذه الطرق استعمالاً قلب الزجاجات وإعادتها بسرعة إلى وضعها الأول ٢٥ مرة مع

تحريكهما حركة دورية في أثناء هذه العملية وبذلك يمكن خلط طبقة القشدة باللبن بقدر الامكان ثم يرفع غطاء الزجاج ويصب حوالى ربع محتوياتها في وعاء آخر ويعاد الغطاء مكانه ويوضع قرقه غطاء آخر معقم وترج الزجاج ٢٥ مرة بحيث ترفع في كل مرة حوالى ٣٠ سم فيترا ثم تخفض بسرعة . وتتبع أحيانا طريقة أخرى وفيها تصب محتويات الزجاج جميعها في زجاجة أخرى معقمة أكبر حجما من الأولى وهذه تقفل بغطاء الزجاج الأصلية ويوضع فوقه غطاء آخر معقم ثم ترج الزجاج بالطريقة السابقة الذكر . وقد يصعب أحيانا أخذ عينة جيدة من الزجاجات التى تكونت على سطح اللبن فيها طبقة سمكية من الدهن ملتصقة بغطاء الزجاج .

(٤) طريقة أخذ عينة من ماشية الحليب :

قد يكون من الضروري أحيانا جمع عينات من لبن مراشئ الحليب المتفرقة مباشرة لاختبارها بكتريولوجيا أو للوقوف على منشأ بعض التغيرات الغير العادية التى تظهر أحيانا فى اللبن وفى مثل هذه الحالة ينبغى مضاعفة العناية بمنع التلوث الخارجى من أى نوع كان ولذلك براعى غسل وتجفيف ضرع وحلمات الحيوان المراد أخذ العينة منه ويفضل تنظيف جزئه الخلفى كذلك كما تغسل وتطهر يدي الحلاب ثم تحلب مقادير متساوية من اجزاء الضرع الاربعة فى زجاجة عينة معقمة مباشرة وتقفل الزجاج عقيب أخذ العينة وينبغى ألا يؤخذ الجزء الأول من اللبن المحلوب ضمن العينة إلا فى أحوال خاصة سيأتى ذكرها .

ثالثا : تدوين البيانات الخاصة بالعينة

يجب أن تصحب دائما العينات التى تؤخذ للفحص البكتريولوجى بيانات وافية عن مصدرها وموعد أخذها الخ ومثل هذه البيانات يجب أن تدون على الزجاج ذاتها أو تميز الزجاج بعلامة خاصة وتدون البيانات على ورقة منفصلة بعد أخذ العينة مباشرة خشية اللبس واختلاف العينات وفيما يلى تفصيل أهم البيانات الضرورية الواجب تدوينها .

(١) يوم ووقت حلب اللبن .

(٢) يوم ووقت أخذ العينة .

(٣) اسم صاحب العينة وعنوان المزرعة التى أنتجت فيها أو المعمل الذى أخذت منه .

(٤) إذا كانت العينة مأخوذة من ألبان جملة مواش أو من لبن قطيع معين أو من حيوان واحد .

(٥) نوع الاختبارات المراد إجراؤها والغرض من تحليل العينة .

(٦) إذا كان اللبن قد أجرى تصفيته وتبريده

(٧) درجة حرارة العينة عند أخذها

وعند وصول العينة إلى المعمل يدون مرعد وصولها ودرجة حرارتها وقت الاستلام

رابعا : نقل العينات إلى المعمل وعظمتها لبن الفحص

ينبغى أن تغفل العينات المراد فحصها إلى معمل التحليل فى أقصر وقت ممكن فان كان المعمل على مقربة

من محل أخذ العينة أو كل أمر نقلها إلى أحد الأشخاص الموثوق بهم وسامت باليد اما ان بعدت المسافة بينهما وجب سرعة ارسالها بالبريد ويستعمل أحيانا في الحالة الأخيرة بدلا من زجاجات العينة الاسطوانية الشكل زجاجات مربعة لكي يسهل إرسالها في صندوق خاص من الورق المقوى بعد لفها بطبقة من القطن حتى لا تعرض للكسر أثناء النقل ويحسن تبريدها قبل ارسالها إلى درجة تقل عن ٥٠ فهرنهايت بوضعها في وعاء يحتوي على ثلج مجروش

وانظر طريقة المثلى لنقل العينات إلى مسافات بعيدة خصوصا عند اشتداد الحرارة في زمن الصيف هي استعمال صندوق التبريد السابق وصفه وإحاطتها بالثلج المجروش وبذلك يمكن حفظها على درجة حرارة منخفضة لحين وصولها إلى المعمل ، وهذه الطريقة تناسب نقل وحفظ العينات المعدة للفحص بجميع الاختبارات البكتريولوجية التي سيأتي ذكرها على أنه يجوز إضافة بعض المواد الحافظة إلى العينة في حالة ما إذا اريد فحصها وعد محتوياتها من البكتريا بطريقة الميكروسكوب فقط ، وعندئذ لا تكون هناك ضرورة لوضعها في الثلج وعادة تضاف نقطتين أو ثلاث من محلول ٤٠٪ فورمالدهيد لكل ١٠ سم^٣ من عينة اللبن

وعند وصول العينات إلى المعمل اما أن تفحص مباشرة أو تحفظ على درجة حرارة منخفضة إلى أن يحين وقت فحصها ولا ينبغي أن يمضي عليها أكثر من ٣٢ ساعة بين حلب العينة وفحصها .

وفي الأحوال التي يراد مقارنة نتائج فحص العينات المختلفة بغية تقدير مكافآت أو منح جوائز ، كما في حالة مباريات اللبن النظيف مثلا ينبغي أن تحفظ العينات في ظروف متماثلة بقدر الامكان فاذا أخذت بعضها من جهات قريبة وأخذ البعض الآخر من جهات بعيدة وجب حفظ عينات النوع الاول بالمعمل قبل الفحص مدة من الزمن تعادل المدة التي تستغرقها عينات النوع الثاني حتى تصل إلى المعمل ويلزم أن تكون حرارة الحفظ في الحالتين واحدة



الباب الحادى والعشرون

تقدير عدد البكتريا فى اللبن

Determination of the Total Bacterial

Content of Milk

تتبع طرق كثيرة متنوعة فى اختبار اللبن بكتريولوجيا ، ومن هذه الطرق ما يستغرق إجراؤها وقتا طويلا ومنها السريع السهل الاجراء ويستعمل كل من هذه الطرق فى أغراض وظروف معينة سنبينها بالتفصيل فى الأبواب التالية ونقصر الكلام هنا فى الاختبارات الخاصة بإحصاء محتويات اللبن من البكتريا .

يتوقف عدد البكتريا التى تحويها العينة وقت الاختبار على عدة عوامل أهمها درجة وطبيعة تلوث اللبن أثناء الانتاج وكذلك درجة الحرارة التى حفظ عليها والوقت الذى مضى بين حلبه واختباره ، فاللبن الذى روعيت النظافة التامة فى حلبه لا يحتوى عادة إلا على عدد ضئيل من البكتريا التى تلوث بها من داخل الضرع وهذه أغلبها من الأنواع الكروية التى لا تكون باللبن غير نسبة طفيفة من الحامض ومثل هذا اللبن لا يكون عرضه للتلف السريع وعلى الأخص إذا حفظ على درجة حرارة منخفضة . أما اللبن الذى عرض للتلوث بالغبار والروث وغيرها من الأقدار أثناء الانتاج فيحتوى غالبا على عدد كبير من مختلف أنواع البكتريا من كروية وعصوية متجرمة وغير متجرمة وهذه تؤدى الى سرعة فساد مثل هذا اللبن نظراً لانها سريعة التكاثر فضلا عن أن نموها لا يقف تماما بالتبريد .

وغنى عن القول إن حفظ اللبن مدة طويلة على درجة حرارة مرتفعة يؤدى إلى ازدياد عدد ما يحويه من بكتريا زيادة مضطردة سريعة .

ويقدر عدد البكتريا الكلى فى عينات اللبن بإحدى الطرق الآتية وهى .

أولا — طريقة الأطباق	(Plate Method)
ثانياً — » بريد	(Breed's »)
ثالثاً — » فروست	(Frost's »)
رابعاً — » بورى	(Burri's »)

(١) : طريقة الأطباق

قد تكون هذه الطريقة أكثر طرق الفحص انتشارا ولو أن أجرامها يقتضى دقة وعناية زائدتين ويستلزم أدوات ومواد أكثر مما يلزم للاختبارات الأخرى . وهى من طرق الفحص المعتمدة رسميا من

وزارات الصحة والزراعة الانجليزيتين ومن مصلحة الصحة الأمريكية ،

وتلخص هذه الطريقة في تخفيف مقدار معين من اللبن بالماء أو بمحلول ملحي وخلط جزء من اللبن المخفف بمادة غذائية ذات تركيب خاص في أوعية مناسبة وحفظها مدة معينة على درجة حرارة ملائمة لنمو ميكروبات اللبن فتكون كل منها على المادة المذكورة مجموعة (Colony) مستقلة ذات حجم مناسب يمكن رؤيتها بالعين المجردة ، وباحصاء هذه المجموعات يمكن استنتاج عدد البكتريا الكلى في السنتيمتر المكعب من عينة اللبن المختبرة أى تقدير محتوياتها من البكتريا . وتعرف هذه الطريقة إما باسم طريقة الأطباق أو باسم طريقة الاختبار العيني (Macroscopic method) .

(١) الأدوات اللازمة للاختبار

يلزم لأجراء هذا الاختبار أدوات كثيرة أهمها الآتية :

- ١ - أطباق بترى (Petri dishes) : وهى عبارة عن أطباق زجاجية مستديرة ذات غطاء ، والنوع الشائع الاستعمال منها قطره ١٠ سنتيمترات وعمقه ١٠ ملليمترات . ويشترط أن يكون قاعه مسطوحاً تماماً وليس به تعاريج حتى إذ ما وضع به الأجار تكونت منه طبقة منتظمة السمك .
- ب - أنابيب الماء المعقم (أو المحلول الملحي) : يستحسن أن تكون أنابيب الاختبار المحتوية على الماء المعقم المستعمل في التخفيف ذات مقاس ثابت والنوع المفضل هو بالمقاس الآتى : ٦ بوصة $\times$ $\frac{3}{4}$ بوصة وقطرها الداخلى ١٦,٥ ملليمتر وسنشرح طريقة تحضيرها فى مكان آخر .
- ج - أنابيب بيئة الأجار : النوع الشائع الاستعمال من هذه الأنابيب مقاسه كالآتى : ٦ بوصة $\times$ $\frac{9}{8}$ بوصة وقطرها الداخلى ١٣,٥ ملليمتر وسنذكر كيفية تحضير بيئة الأجار فيما بعد .
- د - ماصات سحبها سنتيمتر مكعب : ينبغى أن تكون من النوع المستقيم (أى غير المحتوى على فقاعة) وأن تكون بالمقاس الآتى : —

الطول	٣٠٠	ملليمتر
القطر الخارجى	٧,٥ - ٨,٥	ملليمتر
الداخلى	٢,٦ - ٣	ملليمترات
الطول من علامته ١ سم ٢ الى قم الماصة	١٤٠ - ١٨٠	ملليمتر
الطرف العلوى	١٢٠ - ١٦٠	ملليمتر

- هـ - محضن (Incubator) : المحضن هو جهاز أشبه ما يكون بخزانة (أو دولاب) مزدوجة الجدران أى مركبة من جزئين يحتوى الداخلى منهما على رف واحد (أو أكثر) مصنوع من المعدن ومثقب حتى تنتشر الحرارة فيه بانتظام ، ويفصل جزئى المحضن حيز يملأ بالماء أو يحتوى على هواء ويسخن الماء والهواء بالغاز أو الكهرباء أو البترول . وتنظم حرارة المحضن بواسطة جهاز يعرف باسم الثرموستات (Thermostat) أو منظم الحرارة وهو يحتوى على كبسولة (Capsule) معدنية بها بضع نقط من سائل خاص له درجة غليان تماثل تقريبا درجة حرارة الحضانة المطلوبة . وعند تشغيل المحضن ووصول

الحرارة الى درجة ٣٧ ستعجزاد تتمدد الكبسولة فترفع ذراع خاص وبذلك ينقطع التيار الكهربائي أو يحجز الغاز جزئيا فينخفض اللهب ، وعند انخفاض الحرارة عن الدرجة المذكورة تنكش الكبسولة فيتصل التيار الكهربائي أو يرتفع اللهب وتبدأ عملية التسخين مرة أخرى وهذه الكيفية تبقى حرارة المحضن ثابتة طول الوقت .

وغنى عن القول أن الاطباق وأنايب الماء والأجار والمصاصات يجب أن تكون تامة التعقيم قبل استعمالها في الاختبار ، وقد سبق أن فصلنا طريقة تعقيم الاطباق والمصاصات وستأتى ذكر طريقة تعقيم بقية الادوات المذكورة عند الكلام عن طريقة تحضيرها .

(٢) تحضير بيئة الأجار

لكي يقيس عد الميكروبات التي يحويها اللبن بطريقة الاطباق يلزم انائها على بيئة صناعية ذات تركيب خاص كما نوهنا إلى ذلك من قبل ، ومثل هذه البيئة يشترط فيها عدة شروط أساسية نجملها فيما يلي :

- (١) أن تشمل على المواد الغذائية الضرورية لنمو تلك الميكروبات .
 - (٢) أن تكون ذات تأثير أو تفاعل (reaction) مناسب لنموها كذلك
 - (٣) أن تكون جامدة حتى يثبتاً عن نمو الميكروبات عليها مجموعات منفصلة يسهل عدّها .
 - (٤) أن تكون شفافة بحيث ترى فيها المجموعات بسهولة .
- وقد استعملت أنواع كثيرة من البيئات لعد البكتريا في اللبن إلا أننا ستكتفى ببيان تركيب أهم المستعمل منها وطريقة تحضيره .

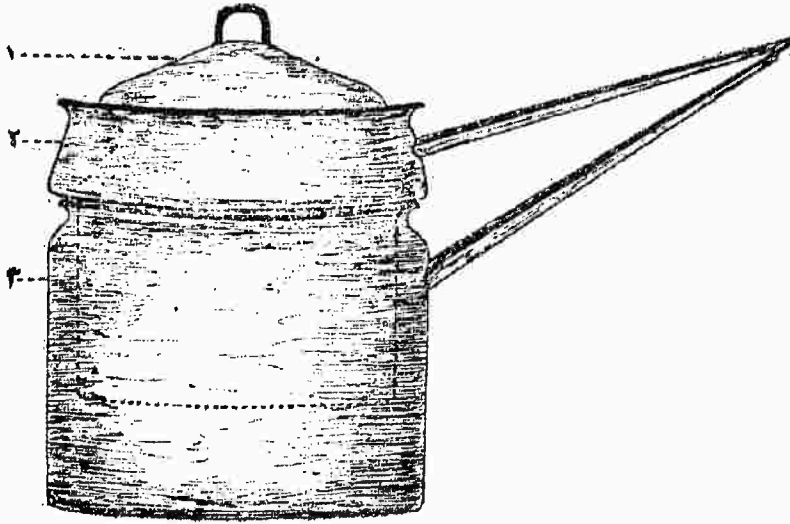
البيئة الأولى

١ — تركيب البيئة : للمكو		
بيتون	٥	جرامات
آجار	١٥	جراما
ماء الصنبور	١٠٠٠	سم
رقم P H	٦,٨	

ب — اعداد الادوات : قبل البدء بتحضير البيئة تعد الادوات الضرورية اللازمة للعملية وأهمها المرشح وقمع التعبئة اللذان سيأتى وصفهما كما تجهز بضع ماصات سعة كل منها عشرة سنتيمترات مكعبة وعدد من الأنايب السابق ذكرها تكفى لتعبئة البيئة ويلاحظ أنه يلزم حوالى مائة أنبوبة لتعبئة الاثر الواحد من بيئة الاجار ويستحسن تعقيم هذه الأنايب فارغة بعد سدها بالفطن قبل التعبئة ولكنه يكتمفى في الغالب بتعقيمها بعد أن تعبأ بالبيئة وتسد .

ح — تحضير المرق ، يوزن القدر اللازم من البيتون ومن اللمكو (يوزن الأخير على قطعة صغيرة

من الورق) ويوضعان في أناء مزدوج الجوانب من الصاج (بشكل حله) يحتوي الجزء الخارجى منه على ماء (شكل ٣٥) ويضاف إليها لتر من الماء ، وراعى إختبار ماء الحنفية قبل استعماله في هذا الغرض فإن وجد محتويا على نسبة مرتفعة من الأملاح أستعيض عنه بالماء المقطر وأضيف إلى البيئة في الحالة الأخيرة آثار من الكالسيوم والكور والحديد .



(شكل ٣٥)

اناء مزدوج الجوانب - - - - - يعمل في عمل البيئات

تسخن المواد المذكورة لمدة ٥٠ دقيقة وبحسب الوقت إبتداء من غليان ماء الوعاء الخارجى ثم يرشح المخلوط الناتج ؛ ويعرف عندئذ بالمرق (في ورق الترشيح ويضبط تأثيره ، والعملية الأخيرة من الأهمية يمكن لأن نمو الميكروبات ونشاطها تتوقف إلى حد كبير على درجة تأثير أو تفاعل البيئة .

و - - - - - ضبط تأثير المرق . ولما كان المرق المصنوع من البيتون واللمكو ذا تأثير حامضى وكانت الميكروبات التى توجد باللبن لا تنمو جيدا إلى على البيئات المتعادلة التأثير تقريبا لذلك فن الضرورى لضبط تأثير البيئة المذكورة إضافة مقدار مناسب من أيدرات الصوديوم إليها .

وتتبع عدة طرق في ضبط تأثير البيئات عموما قد يكون أفضلها قياس تركيز أيونات الهيدروجين فيها (H-ion concentration) وضبط درجة التركيز عند نقطة خاصة تلائم نمو الميكروبات . وهذا القياس أما أن يجرى

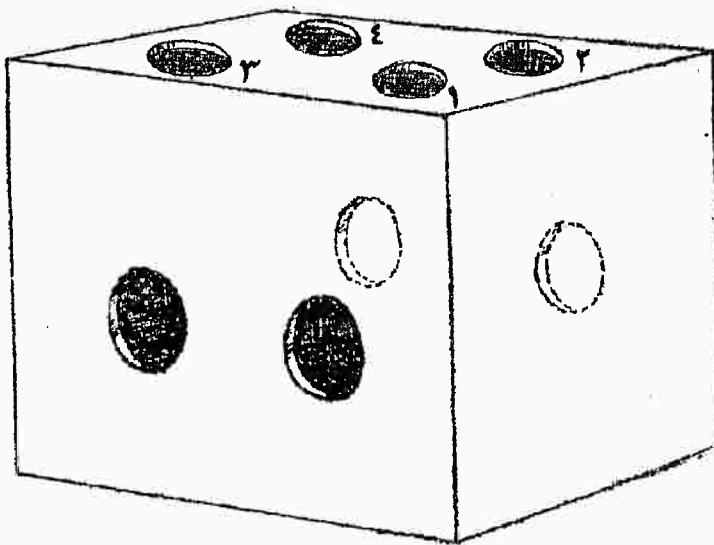
- (١) بالطريقة الألكترومترية (Electrometric) أى بطريقة قياس الكهرباءية .
- (٢) أو بطريقة استعمال الأدلة (indicators) وتعرف أحيانا بطريقة قياس اللون (Colorimetric) والطريقة الأولى أدق من الثانية إلا أن إجرائها يستلزم أجهزة خاصة غالية الثمن ولذا تستعمل غالبا الطريقة الثانية وخصوصا لأنها أسهل وأسرع فى الاجراء ، وتتلخص نظريتها فى أن بعض الأدلة حساسة

جداً للتغيرات الطفيفة في درجة تركيز أيونات الأيدروجين لذلك يختلف لونها تبعاً لدرجة التركيز المذكورة في المحلول الذي يحويها فعندما يضاف أحد الأدلة المناسبة إلى البيئة ثم يقارن لونها بالألوان النموذجية للدليل المستعمل يمكن الاستدلال على درجة تأثيرها وتقدير كمية أيونات الصوديوم أو حامض الكلورودريك اللازم لضبطها .

وتستخدم في ضبط تأثير البيئات عدة أدلة أنسبها استعمالاً في تحضير بيئة أجار عد اللبن هو الدليل المعروف باسم البروم ثيمول الأزرق (Brom - thymol blue) وهو دليل يكون أصفر اللون في المحاليل التي درجة تركيز أيونات الأيدروجين فيها $10 - 6$ (أو أكثر) أي التي لها رقم pH ٦ (أو أقل) (و pH هو رمز يطلق على اللوغاريتم السالب لدرجة تركيز أيونات الأيدروجين في المحلول) . ويتغير لون الدليل المذكور تدريجياً كلما نقصت حموضة المحلول ، أي كلما زاد رقم pH ، فيكون مائلاً إلى الخضرة الخفيفة عند رقم pH ٦,٢ ويزداد اخضراره بارتفاع رقم pH فيصير أخضر مزرقي متى كان رقم pH للمحلول ٧ أي عندما يكون المحلول متعادلاً ، وأخيراً يصبح أزرق اللون في المحاليل التي لها رقم pH ٧,٦ أو أكثر ، وعليه فإن تغير لون البروم ثيمول الأزرق من الأصفر إلى الأزرق وبجمل استعماله يبدأ عند رقم pH ٦ وينتهي عند رقم pH ٧,٦ .

والطريقة الآتية هي المستعملة عادة في تقدير درجة تركيز أيونات الأيدروجين في البيئة ومعادلتها وهي تمتاز بسهولة أجزائها وبسرعتها .

يستعان في ضبط التأثير بهذه الطريقة بمجموعة من الألوان النموذجية للبروم ثيمول الأزرق وبجهاز لقياس اللون يعرف باسم صندوق المقارنة أو المقابلة (Comparator block) وأبسط أنواعه عبارة عن صندوق مقفل (كلمين بشكل ٣٦) أسود اللون من الداخل والخارج وبسطحه العلوي أربع فتحات مستديرة متقابلة (نمر ١ و ٢ و ٣ و ٤) وفي أحد جوانبه فتحتان يقابلهما فتحتان في الجانب الآخر .



(شكل ٣٦) صندوق المقارنة

ولاجراء التعادل تصب عشرة سنتمترات مكعبة من المرق في أنبوبة ويضاف اليها سنتمتر مكعب من البروم ثيمول الأزرق (يحضر محلول الدليل بتركيز خاص يتناسب مع تركيزه في أنابيب اللون النموذجي) وتوضع هذه الأنبوبة في الفتحة اليمنى الأمامية لصندوق المقارنة (نمرة ١) وتوضع في الفتحة المقابلة لها (نمرة ٢) أنبوبة بها عشرة سنتمترات مكعبة من الماء المقطر ثم توضع أنبوبة اللون النموذجي لمحلول له رقم pH ٦,٨ بالفتحة اليسرى الأمامية (نمرة ٣) ومن خلفها توضع أنبوبة تحتوي على عشرة سنتمترات مكعبة من المرق دون أن يضاف اليه دليل (نمرة ٤) ويراعى في جميع الأنابيب المستعملة أن تكون نامة النظافة ومتائلة الحجم والشكل واللون .

يضاف باحتراس محلول ايدرات الصوديوم العشر الأساسى إلى الأنبوبة رقم ١ (أى المرق المحتوى على الدليل) حتى يصير لونها مع الأنبوبة المقابلة لها أى رقم ٢ (الماء المقطر) مطابقا للون الأنبوبتين ٣ و ٤ بمجسمتين وتجري المقارنة بدقة بالنظر خلال الفتحات الجانبية للجهاز

ولما كانت درجة تركيز ايونات الايدروجين في المحلول تختلف باختلاف درجة الحرارة لذلك يفضل دائما أن يضبط تأثير البيئة على درجة ٢٥ سنتجراد

وبعد الانتهاء من العملية السابقة يمكن حساب مقدار محلول ايدرات الصوديوم الأساسى اللازم لمعادلة البيئة المحضرة جميعها بمعرفة كمية ايدرات الصوديوم العشر الأساسى التى اضيفت إلى عشرة سنتمترات مكعبة لضبط تركيز ايونات الايدروجين فيها إلى الدرجة المطلوبة فنلنا : —

إذا كان المقدار الذى اضيف من محلول ايدرات الصوديوم العشر الأساسى إلى عشرة سنتمترات مكعبة من البيئة ٥. سنتيمتر مكعب

فيكون المقدار اللازم من المحلول المذكور لضبط تأثير ١٠٠ سم^٣ = ٥. سنتيمترا مكعبا وعلى ذلك يلزم إضافة خمسة سنتيمترات مكعبة من محلول ايدرات الصوديوم الأساسى إلى كل لتر من البيئة لضبط تأثيرها إلى الدرجة المطلوبة .

هـ — إضافة الآجار : بعد الانتهاء من ضبط التأثير يسخن المرق في الوعاء المزدوج الجوانب مرة اخرى لمدة نصف ساعة لترسيب الفوسفات الناتجة عن إضافة ايدرات الصوديوم اليه ثم يرشح في ورق ترشيح لحجز ما به من رواسب ثم يكمل إلى الحجم الأصلى بالماء المقطر لتعويض الفقد الذى حدث بالتبخير ، على أنه فى أغلب الأحوال لايجرى التسخين ولا الترشيح المذكورين اكتفاء بتسخين البيئة وترشيحها عقب إضافة الآجار إليها

ويشترط فى الآجار المستعمل فى تحضير البيئات اليكترولوجية عامة وبيئة عد اللبن خاصة أن يكون من نوع جيد متعادل التأثير ويفضل استعمال الآجار الحيطى (Shred agar) حتى يمكن تنظيفه جيدا ما به من مواد معدنية وما يشوبه من أتربة ومواد غريبة قبل أن يضاف إلى المرق ويجرى ذلك بالكيفية الآتية :

يوزن المقدار اللازم منه ويوضع فى كيس من المرسلين ويغسل فى ماء جار لمدة أربع ساعة على الأقل ثم يعصر جيدا ويضاف إلى المرق

ويذاب الآجار في المرق إما بتسخين المخلوط على درجة ١٠٠ سنتيجراد لمدة نصف ساعة بالطريقة السابقة أو يوضع في دورق بالاو توكلاف ويسخن تحت ضغط ١٥ رطلا (١٢٠ سنتيجراد) لمدة ٢٠ دقيقة ثم يرشح .

وترشيح الآجار أو ترويقه من الأهمية بمكان إذ يتوقف عليه مقدار شفافية البيئمة وتجري هذه العملية بعدة طرق يستعمل فيها إما الشاش أو القطن أو الورق الخ . ومن أكثر طرق الترشيح استعمالا طريقة القمع النحاسي الساخن (Hot water funnel) وفي هذه الطريقة توضع قطعة مناسبة من القطن في قمع نحاسي خاص يحاط بالماء ويصب الآجار في القمع عقب إذابته مباشرة ويسخن الماء المحيط بالقمع اما بمصباح بنزن أو بالكهرباء وبراى بقاءه ساخنا طول مدة الترشيح ، وتستعمل أحيانا طريقة أخرى أسرع من السابقة يجهز فيها المرشح وتجري كالآتي :

يوضع قرص من ورق الترشيح في قمع بوخنر (Buchner funnel) من الصيني قطره ١٢ بوصة بحيث يغطي القرص جميع فتحاته ويركب القمع في قنينة ترشيح سعتها لترن بواسطة سدادة من المطاط ذات فتحة واحدة وتوصل القنينة بمضخة تفريغ (vacuum pump) بواسطة أنبوبة من المطاط السميك وترطب ورقة الترشيح بقليل من الماء وتشغل المضخة مدة وجيزة إلى أن تلتصق الورقة بالقمع وتسد جميع فتحاته ، تقطع ورقة ترشيح بحجم مناسب (مربعه مساحتها ١٢ × ١٢ بوصة تقريبا) وتوضع في جالون من ماء الصنبور وتغلى لمدة دقيقتين ثم تفصل المضخة عن القنينة ويصب الورق المغلى في قمع الترشيح وبعد أن يمر معظم الماء من القمع يعاد توصيل المضخة ويبدأ بتشغيلها باحتراس بفتح الحنفية فتحة بسيطة حتى يجف المرشح ويوضع أثناء ذلك قرص من ورق الترشيح فوق المرشح وبعد انتهاء هذه العملية يقفل الصنبور وتفصل القنينة عن المضخة مرة أخرى ويفرغ ما بها من الماء ويعاد توصيلها ثم يصب الآجار فوق ورقة الترشيح العلوية السالفة الذكر وتشغل المضخة مباشرة مع مراعاة عدم استعمال الضغط الشديد كي لا يمزق المرشح .

ويفضل أحيانا تغطية القمع أثناء الترشيح حتى يبقى الآجار ساخنا طول المدة ويستغرق ترشيح اللتر الواحد من الآجار بهذه الطريقة نحو خمس دقائق .

(و) تعبئة الأنابيب وسدها : تجرى هذه العملية بسهولة بواسطة قمع زجاجي صغير متصل بطرفه أنبوبة صغيرة من المطاط مركب عليها مقبض وفي نهايتها أنبوبة زجاجية مديبة .

وقبل إجراء عملية التعبئة توضع قنينة الترشيح المحتوية على الآجار في ماء ساخن لكي يبقى سائلا ويصب الآجار في قمع التعبئة وتعبأ بواسطة عشرة سنتيمترات مكعبة من البيئمة في كل أنبوبة وينبغي فصل القمع الزجاجي من أنبوبة المطاط عقب انتهاء العملية مباشرة وغسلها جيدا وتعقيمها بالبخار .

وتسد الأنابيب بعد تعبئتها بسدادات محكمة من القطن غير الماص (Cotton plugs) وهذه السدادات تمنع نفوذ الميكروبات من الخارج إلى البيئمة بعد تعقيمها بشرط أن تبقى جافة على الدوام

ز — تعقيم البيئمة : ينبغي ألا تعرض البيئمة إلا للحرارة الضرورية لتعقيمها فقط فتسخن في الأوتوكلاف

تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة نصف ساعة . ويستحسن إعادة إختيار تأثير البيئة عقب تعقيمها للتأكد من صلاحيتها للعمل .

وبيئة الآجار السابق وصفها كثيرة الاستعمال في اغلب معامل الفحص الانجليزية والامريكية إلا أنه يقتصر استعمالها غالباً على فحص الألبان النظيفة التي لا تحتوى على عدد كبير من البكتيريا فقد دلت التجارب على أنها لا تعطى نتائج جيدة عند استخدامها في اختيار الألبان الشديدة التلوث بالبكتيريا أو الألبان المعقمة تعقياً جزئياً (المبسترة) .

البيئة الثانية :

وهي أنسب من البيئة الأولى لفحص الألبان التجارية سواء منها الخام أو المبسترة وطريقة اعدادها هي نفس الطريقة المشروحة سابقاً إلا أنه بعد الترشيح النهائي يضاف إليها ١٪ من اللبن الفرز النظيف ثم تعبأ في الأنايب مع تقليلها باستمرار في أثناء هذه العملية وأخيراً تعقم الأنايب كالمعتاد . ويشترط أن يكون اللبن المستعمل طازجاً وغير مسخن وألا تزيد حموضته عن ١٨٪ .

البيئة الثالثة :

هذه البيئة تختلف عن البيئتين السالفتين ذكرهما من عدة وجوه وقد اعتمدها أخيراً (سنة ١٩٣٧) وزارة الصحة الانجليزية لفحص الألبان المبسترة وتركيبها كالآتى :

٣	جرامات	يستريل
٥	"	بيتون
١٥	جراماً	آجار خيطى
١٠ سم ^٣		لبن كامل الدهن طازج
١٠٠٠ سم ^٣		ماء مقطر

وبما يلاحظ أن اليستريل يستعمل في هذه البيئة بدلا من اللمكو المستعمل في البيئة الأولى . أما طريقة التحضير فتتلخص فيما يلى : — يذاب اليستريل والبيتون في الماء المقطر في المعقم البخارى ويضبط التأثير (بعد تبريد المرق الى درجة ٢٥ سقتراد) الى رقم $pH 7.4$ مع استعمال دليل الفينول الأحمر (Phenol red) ويفسل الآجار ويعصر ويضاف مع اللبن الى المرق ويوضع المخلوط في الأوتوكلاف ويسخن تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ٢٠ دقيقة ثم يرشح في قمع يوختر ويعاد اختبار تأثير الآجار المرشح ويضبط إذا استدعى الحال إلى رقم $pH 7$ وتعبأ البيئة بنسبة عشرة سقترات مكعبة في كل أنبوبة ثم تعقم الأنايب كالمعتاد .

البيئة الرابعة :

تفضل بعض معامل الفحص استعمال هذه البيئة لفحص الألبان الخام وهي تعرف باسم الدكستروز (dextrose agar) وهي تتركب وتحضر كما يأتى : —

لمسكو	١٠ جرامات
بيتون	١٠
ملح الطعام	٥
ماء خفيفة	١٠٠٠ سم ^٣

بعد اعداد المرق من المواد الالفة الذكر يضبطه تفاعله ويضاف اليه الآجار بنسبة ١,٥ ٪ وينذاب ويرشح ثم يضاف اليه ٥,٥ ٪ دكستروز وتعبأ البيئة في الانايب وتعقم كالمعتاد .

البيئة الخامسة :

وجدت البيئة التالية مناسبة لفحص الألبان عموما وقد اقترح استعمالها ديفز (Davis) وهي تتركب كالآتي : —

١ جرام	نترات الفشادر
١ جرام	سلفات
٤ جرامات	فوسفات ثنائي البوتاسيوم (Dipotassium phosphate)
٢ جرام	فوسفات أحادي البوتاسيوم (Potassium hydrogen phosphate)
١ جرام	ملح الطعام
١ جرام	دكستروز
١ جرام	مارميت (marmite)
١٥ جرام	آجار
١٠٠٠ سم ^٣	ماء مقطر

أما طريقة تحضيرها فبسيطة وهي أن يغسل الآجار جيدا وينذاب في ٧٠٠ سم^٣ من الماء المقطر في الأوتوكلاف ويرشح وتذاب بقية المواد في ٣٠٠ سم^٣ من الماء وتضاف الى الآجار المرشح ثم يكمل المخلوط إلى لتر بالماء المقطر الساخن وتعبأ البيئة في الأنابيب وتعقم كالمعتاد

وهذه البيئة إذا حضرت بدقة يكون لها رقم H ٦,٦p ولذلك لا يكون هناك داعيا لضبط تأثيرها كما هو الحال في البيئات السابقة .

وهناك بيئات أخرى كثيرة تستعمل في هذا الغرض إلا أن البيئات السالفة الذكر هي أهمها وأكثرها استعمالا .

وينبغي التحقق من تمام تعقيم البيئة بعد الانتهاء من إعدادها ولهذا تنتخب بضع أنابيب منها وتوضع في المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٥ — ٧ أيام فإن بقيت دون تغيير أى إذا لم ينمو على سطحها بكتريا أو فطر أعتبرت تامة التعقيم وصالحة تماما للاستعمال .
ولحفظ الأنابيب بحالة جيدة يلزم وضعها في صناديق خشبية بمكان مظلم حرارته منخفضة بعيد عن الغبار

(٣) تحضير أنابيب التخفيف

يخفف اللبن كما سبق القول إما بالماء أو بمحاليل مناسبة في حالة استعمال الماء يفضل غالبا ماء الصنبور (أى الماء المستعمل من الحنفية العادية مباشرة) على الماء المقطر إلا إذا احتوى الأول على أملاح معدنية بنسبة مرتفعة أو على مواد سامة البكتريا ولهذا يستحسن اختبار ماء الصنبور قبل استعماله في التخفيف وبين حين وآخر أثناء استعماله وسيأتى تفصيل ذلك فيما بعد .

أما المحاليل فيستعمل منها غالباً نوعان أولهما يطابق عليه اسم « الحلول الملحية » (Saline) وهو مركب كالآتى : —

ملح الطعام	٩ جرامات
ماء مقطر	١٠٠٠ سم ^٣
يذاب الملح في الماء ثم يعقم المحلول في الأوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ¼ ساعة، والثانى يعرف باسم « محلول رنجر » (Ringer's Solution) ويتركب من : —	
ملح الطعام	٩ جرامات
كلورور البوتاسيوم	٠,٤٢ جرام
» الكلسيوم	٠,٤٨
بيكربونات الصوديوم	٠,٢
ماء مقطر	١٠٠٠ سم ^٣

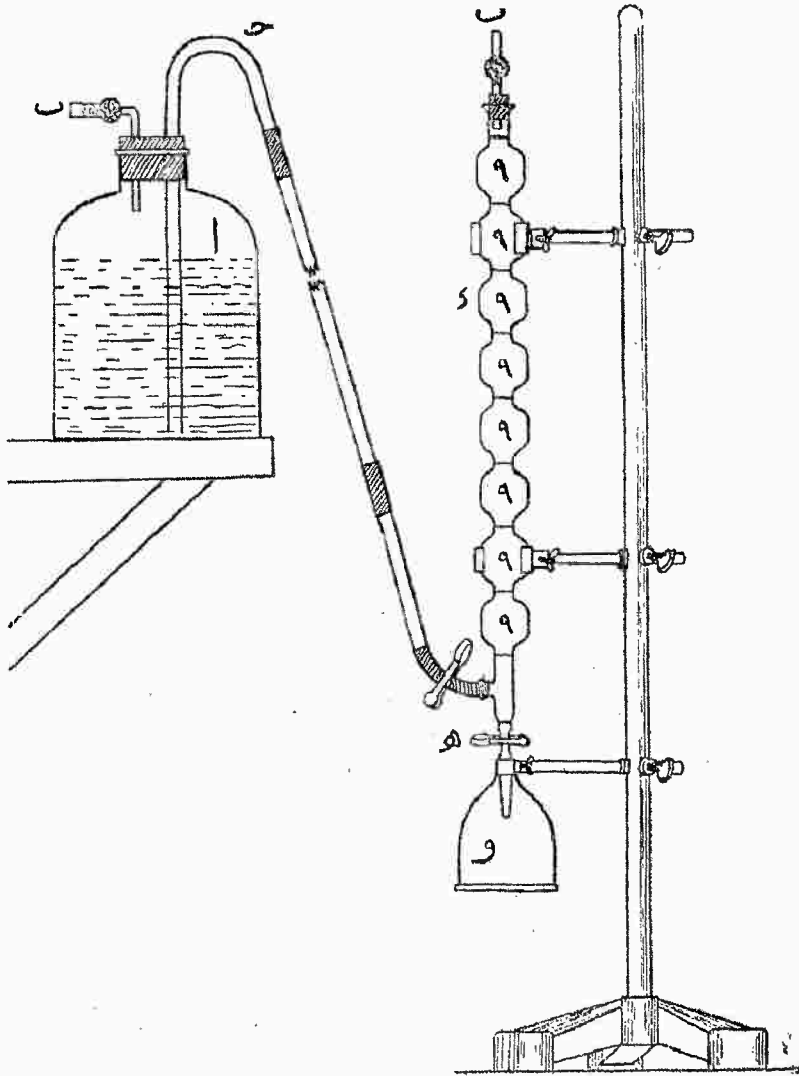
تذاب الأملاح المذكورة في الماء بالتسخين في المعقم البخارى لمدة ¼ ساعة ثم يخفف المحلول الى ¼ قوته وأخيرا يعقم في الأوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ٢٠ دقيقة .

وقد أجريت تجارب كثيرة حول صلاحية السوائل المذكورة آنفا لعملية التخفيف فوجد منها أن الماء المقطر في جهاز نحاسي يخفض أحيانا نسبة البكتريا بدرجة كبيرة عند استعماله في التخفيف أو تحضير المحلول الملحي منه وهذا التأثير يرجع على ما يظهر إلى احتوائه على نسبة من النحاس . كما وجد أن الماء المقطر في جهاز زجاجي والمحلول الملحي المحضر من الماء المذكور لا يخفضان من عدد البكتريا غير نسبة طفيفة وقد أثبتت هذه التجارب بصفة قاطعة أن محلول رنجر المحضر من الماء المقطر في جهاز زجاجي ليس له تأثير سى على البكتريا واعتبر لذلك أصح السوائل المذكورة جميعها للاستعمال في تخفيف اللبن .

أما ماء الصنبور فقد وجد أن تأثيره يختلف كثيرا باختلاف مصدره ولذا ينبغي اختياره كما أسلفنا القول قبل استعماله في الغرض المذكور .

ولما كان من الضروري إحتواء الأنابيب على مقدار معين من الماء أو المحلول المستعمل في التخفيف ينبغي يتسبب عن عملية التعقيم تبخر جزء من السائل الذي تحويه لذلك يفضل في أغلب الأحوال تعقيم الماء أو المحلول في قنينة أولاً وتعقم الأنابيب النظيفة فارغة بعد سدها بالقطن ثم نقل المقدار اللازم من السائل المعقم وهو تسعة ستيمترات مكعبة إلى كل أنبوبة بواسطة ماصة معقمة إذا أريد تحضير عدد قليل من الأنابيب . وينبغي الاحتراس من وصول أى بكتريا من الخارج إلى الأنابيب في أثناء تعبئتها ولذلك تعقم فوهة القنينة في اللهب قبل أن ينقل منها السائل في كل مرة وتعقم فوهة كل أنبوبة قبل وبعد صب السائل فيها كما تحرق سداتها القطنية .

أما في حالة تحضير عدد كبير من الأنابيب فيستعمل جهاز خاص (كالمبين بشكل ٣٧) مركب من زجاجة من نوع جيد سعتها لتران (١) ذات فوهة ضيقة مقفلة بغطاء من المطاط به فتحتان تنفذ من أحدهما أنبوبة



شكل (٣٧) الجهاز المستعمل في تعبئة أنابيب التخفيف

مسدودة بالقطن تستخدم كمرشح للهواء (ب) وتنفذ من الفتحة الأخرى أنبوبة زجاجية ملتوية تستخدم كمنص (ميفون) (ج) يصل أحد طرفيها إلى قرب قاع الزجاجية ويتصل الطرف الآخر بواسطة عدة قطع من أنابيب المطاط بسحاحة مدرجة (د) مقسمة إلى أجزاء سعة كل منها تسعة سنتيمترات مكعبة بالضبط ومركب على الطرف العلوي من السحاحة أنبوبة مسدودة بالقطن انرشيح الهواء الداخل (ب) وفي نهايتها السفلية أنبوبة زجاجية مدببة الطرف تتصل بالسحاحة بواسطة أنبوبة من المطاط مركب عليها مقبض (هـ) وتستخدم الأنبوبة الزجاجية والمتبض كصنب و لتفريغ السائل من السحاحة ومركب على الأنبوبة الزجاجية مظلة (و) لوقاية السائل من التلوث أثناء تعبئته .

ويعد الجهاز للاستعمال بالطريقة الآتية : تملأ الزجاجية بالحلول وتسد بالقطن وتلف بورق الزبد كما تلف بنفس السكيفية السحاحة ومرشحها للهواء والأنابيب الزجاجية وأنابيب المطاط بعد سد أطرافها المفتوحة بالقطن . وبعد التعقيم تتركب السحاحة على حامل وتوصل بالزجاجية التي توضع على رف مرتفع فيمر السائل من الزجاجية إلى السحاحة بواسطة المدبر ومنها يعبأ في الأنابيب بنسبة تسعة سنتيمترات مكعبة في كل أنبوبة .

وتراعى في أثناء هذه العملية تعقيم فوهة كل أنبوبة بامرارها في اللهب قبل وبعد تعبئتها كما ينبغي الاحتياط من حفظ الأنابيب في مكان حرارته مرتفعة لأن ذلك يؤدي إلى تبخر جزء من السائل الذي تحويه .

وفي بعض الأحوال تحضر أنابيب سائل التخفيف بطريقة سهلة تلخص فيما يلي : —
تؤخذ ٩,٣ سم^٣ من السائل بعناية بواسطة ماصة مدرجة سعتها عشرة سنتيمترات مكعبة وتصب في كل أنبوبة وبعد تمام تعبئة الأنابيب بهذه الطريقة تسد بالقطن وتعقم في الأوتوكلاف على درجة ١٢٠ سنتجرات لمدة ١٥ دقيقة وقد وجد أن كمية السائل الذي يبقى بالأنبوبة بعد التعقيم يقرب جداً من التسعة سنتيمترات المكعبة المطلوبة .

والطريقة الأخيرة ولو أنها سهلة الاجراء كما ذكرنا إلا أن الطريقتين الأوليين تفضلان عليها نظراً لدقتهما إذ فيهما تبلغ كمية السائل في كل أنبوبة تسعة سنتيمترات مكعبة بالضبط .

وقبل أن نختم الكلام عن تحضير الأدوات اللازمة لهذا الاختبار تحسن الإشارة إلى أنه من المهم تنظيم العمل بحجرة التحضير نظراً لكثرة العمليات التي تجري بها وتنوعها ومن المستحسن أن تبدأ العمليات التي تستغرق وقتاً طويلاً في الصباح الباكر قبل تعقيم الأنابيب والاطباق في فرن الهواء الساخن وإذابة المواد التي تتركب منها البيئة فوق اللهب أو في المبخر وأن تجري العمليات الأخرى البسيطة كغسل الأنابيب وتعبئتها وسدها في أوقات الفراغ أثناء النهار .

٤ — كيفية إجراء الاختبار

١ — تخفيف اللبن (Dilutions)

يجرى تخفيف اللبن بالطريقة الآتية : —

(١) يوضع عدد مناسب من أنابيب الماء المعقم (أو المحلول الملحي أو محلول زنجفر) على حامل خشبي

فوق المنضدة وتوضع بجوارها علبة الماصات مستندة على أحد جوانبها ويفتح غطاؤها ثم ترج الزجاجة المحتوية على عينة اللبن خمس وعشرين مرة بحيث ترفع الزجاجة في كل مرة مسافة تبلغ حوالى ٣٠ سنتيمترا ثم تخفض بسرعة ، وبعد ذلك يمر بغطاؤها وفوهتها في اللهب بسرعة ثم يرفع الغطاء باحتراس بحيث لا يلامس جزؤه الداخلى سطحاً غير معقم .

(٢) تمسك الزجاجة من قاعدتها باليد اليسرى في وضع أفقى بقدر الامكان حتى لا تلتوث محتوياتها بميكروبات الهواء ، وتستخرج احدى الماصات المعقمة من العلبة باليد اليمنى وتمسك من طرفها العلوى (ويراعى كذلك الاحتياط من ملامسة طرفها السفلى المذنب لسطوح غير معقمة) ويمص بواسطتها اللبن من الزجاجة ويضبط سطحه فيها بمحاذاة العلامة الموجودة عليها (أى علامة ١ سم ٣) ويتخلص من اللبن الزائد المعلق بطرفها بورقة ترشيح معقمة أو بلمس رقبة الزجاجة من الداخل بالماصة عند اخراجها منها ثم يمر بفوهة زجاجة العينة في اللهب ويعاد عطاؤها مكانه وتوضع على المنضدة .

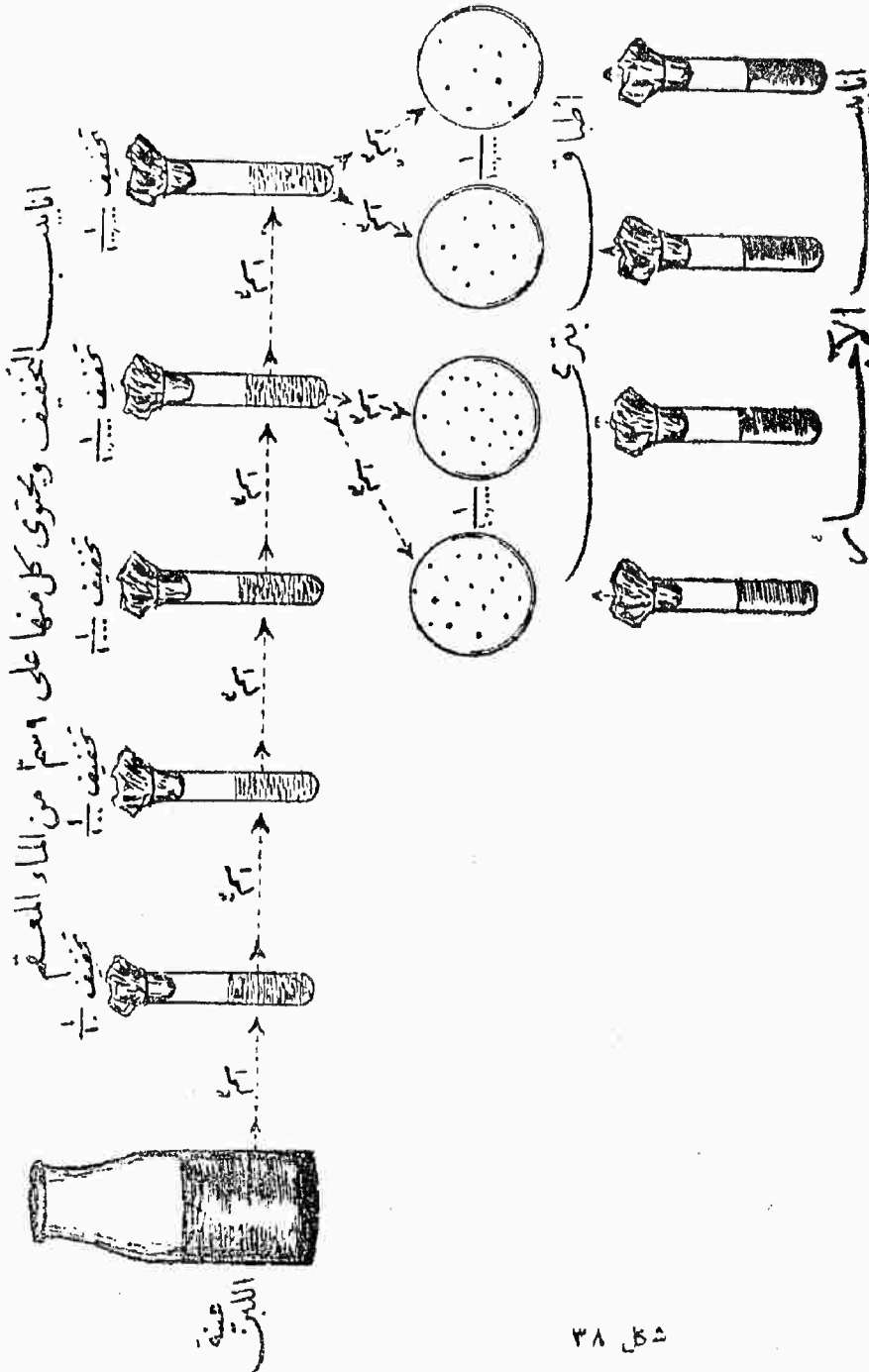
(٣) ترفع أنبوبة الماء المعقم الاولى من الحامل وتمسك من قاعدتها باليد اليسرى في وضع مائل وتنزع سداتها القطنية بين أصابع اليد اليمنى ويمر بفوهتها في اللهب ثم يصب فيها اللبن الموجود بالماصة وتغسل الماصة جيدا بمص اللبن المخفف من الانبوبة فيها وارجاعه بطريقى النفخ الخفيف خمس أو ست مرات وأخيرا تعقم فوهة الانبوبة مرة ثانية بالطريقة السابقة ويعاد سدها وتدار الانبوبة بين اليدين بضع مرات ليتم اختلاط الماء باللبن .

وتتبع أحيانا طريقة أخرى في عمل التخفيف وذلك بأن يمس اللبن من زجاجة العينة بالماصة الاولى حتى يبلغ العلامة ثم يعاد فى الزجاجة المذكورة وتكرر العملية عشر مرات وبعدئذ يضبط سطحه فى الماصة الى العلامة وتسحب الماصة من زجاجة العينة وتوضع فى أنبوبة التخفيف الاولى بحيث يلمس طرفها السفلى جانب الانبوبة على بعد بوصة واحدة من سطح السائل الموجود بها وبحيث لا تلامس السائل نفسه ثم تفرغ محتويات الماصة بطريق النفخ الخفيف وينظر ثلاث ثوان حتى تتجمع بقايا السائل فى نقطة وهذه تطرد بالنفخ مرة ثانية وعند عمل التخفيف التالى تمزج أولا محتويات أنبوبة التخفيف الاولى بماصة أخرى معقمة بأن يسحب السائل من الانبوبة فى الماصة ويعاد اليها عشر مرات وهكذا .

(٤) يلاحظ أنه عند إضافة سنتيمترا مكعبا من اللبن الى تسعة سنتيمترات مكعبة من الماء المعقم ينتج عن ذلك أن كل سنتيمتر مكعب من المخلوط يحتوى على ٣ سم من اللبن أو بمعنى آخر أن اللبن خفف عشر مرات ولذا تعرف الانبوبة المحضرة بالكيفية السابقة بأنبوبة « تخفيف ١٠ » ، ويكتب عليها بالخبر أو بقلم الشمع الرقم المذكور .

(٥) ينقل بماصة أخرى معقمة سنتيمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الاولى الى أنبوبة ثانية تحتوى على ٩ سم من الماء المعقم (باحدى الطريقتين السالفتى الذكر) وبذلك يحضر « تخفيف ١٠ » ، ثم ينقل سنتيمتر مكعب من التخفيف الاخير بماصة ثالثة معقمة الى أنبوبة ماء معقم فيحضر « تخفيف ١٠٠ » وهكذا الى أن يتحصل على التخفيف المطلوب الذى يتوقف على عدد البكتيريا المحتمل وجودها فى عينة اللبن ، والمعتمد أن

يكتفى بتخفيف عينات اللبن النظيفة إلى $\frac{1}{10}$ أما عينات اللبن الرديئة فيلزم تخفيفها إلى $\frac{1}{100}$ أو إلى $\frac{1}{1000}$ والشكل ٣٨ يبين الخطوات المتبعة في تخفيف اللبن بهذه الطريقة (٦) وتفضل الهياث الصحية في بعض البلدان استعمال مقدار من عينة اللبن يزيد عن سقنيمتر مكعب في تحضير التخفيف الأول ($\frac{1}{10}$) ففي أمريكا يوصى بأخذ ١١ سم^٣ من عينة اللبن بماصة خاصة ويضاف هذا المقدار إلى ٩٩ سم^٣ من الماء المعقم في زجاجة تخفيف (Dilution bottle) وتعبأ زجاجات التخفيف



شكل ٣٨

كيفية اجراء التخفيف في طريقة عدد البكتريا على الاطباق

بالمقدار المناسب من الماء بحيث تحتوى بعد تعقيمها على ٩٩ سم^٣ من الماء المعقم وهذا يقتضى معرفة مقدار الفقد الذى يحدث بالانخيار أثناء عملية التعقيم فى الاوتوكلاف المستعمل بالاختبار .

ويمكن تعقيم زجاجات التخفيف المذكورة فارغة أولا ثم يصب فى كل منها ٩٩ سم^٣ من الماء المعقم بواسطة جهاز خاص كالسابق وصفه مع اتخاذ الاحتياطات اللازمة لمنع التلوث بميكروبات الهواء أثناء عملية التعقيم .

أما فى الجلترا فيفضل أخذ عشرة سنتيمترات من العينة وتخفيفها بتسعين سنتيمترا مكعبا من الماء المعقم فى زجاجة ذات غطاء زجاجى حتى يمكن رجها جيدا وتحضير التخفيف التالى بخاط عشرة سنتيمترات مكعبة من التخفيف الاول بتسعين سنتيمترا مكعبا من الماء المعقم بنفس الطريقة وهلم جرا

ويستحسن أن تستعمل فى عملية التخفيف زجاجات قطرها ٤ سم وسعتها ٢٠٠ سم^٣ وعليها علامة تبين مستوى الماء عندما تحتوى على ١٠٠ سم^٣ منه وكذلك تستعمل ماصات لقياس عشرة سنتيمترات مكعبة من اللبن من النوع المستقيم أى الذى لا يحتوى على فقاعه .

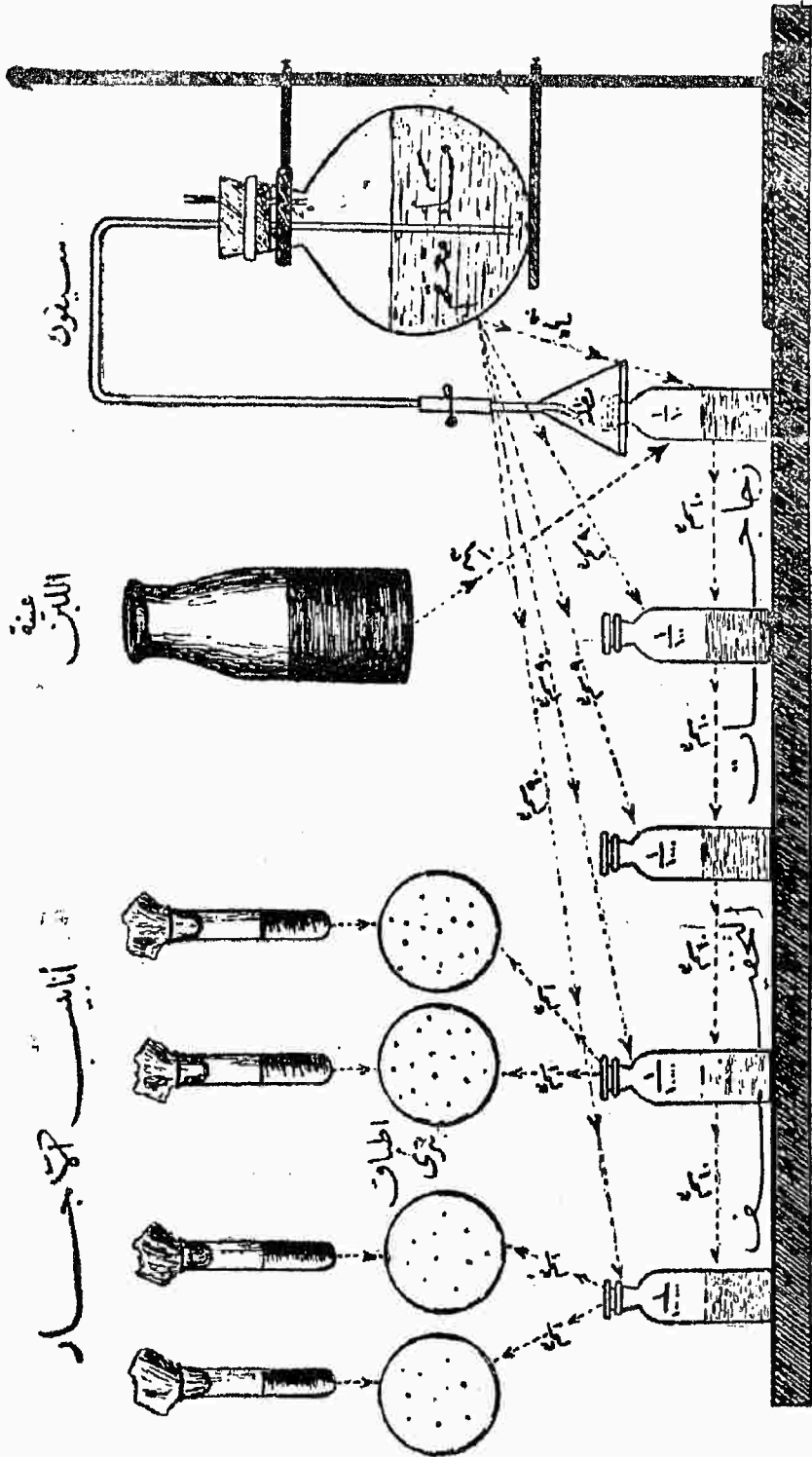
(٧) ويستعمل أحيانا جهاز بسيط للتخفيف كالمبين بشكل ٣٩ وهو كما يرى يتركب من زجاجة سعتها لتران مستديرة القاع مسدودة بغطاء من المطاط به فتحتان تنفذ من إحداهما أنبوبة مسدودة بالقطن تستخدم كمرشح للهواء وينفذ من الفتحة الأخرى ممص (سيفون) زجاجى ينتهى بأنبوبة من المطاط مركب عليها مقبض وفى طرفها أنبوبة زجاجية مدببة عليها مظلة لوقاية الماء من التلوث أثناء تعبئته فى الزجاجات

وقبل استعمال الجهاز تملأ الزجاجات بالماء وتسد بالقطن وتلف السدادات والممص بورق الزبد وتسد أطرافها بالقطن وتعقم هذه الأدوات جميعها فى الاوتوكلاف كما تعقم زجاجات التخفيف والماصات والأطباق فى فرن الهواء الساخن ، وبعد انتهاء عملية التعقيم تنزع السدادات القطنية ويركب الممص بالزجاجة وتوضع على حامل ثم تنقل عشرة سنتيمترات مكعبة من عينة اللبن إلى الزجاجة الأولى وتكمل إلى العلامة بالماء المعقم (تخفيف ١) وتنقل عشرة سنتيمترات مكعبة من الزجاجة الأولى إلى الثانية وتكمل كذلك إلى العلامة بالماء المعقم (تخفيف ٢) وهكذا إلى أن يحضر التخفيف المطلوب . ولا بد من الاعتناء أثناء عملية التخفيف بتعقيم فوهات الزجاجات وبرج زجاجة العينة وزجاجات التخفيف ٢٥ مرة خلط محتوياتها جيدا .

ب — تحضير الأطباق (Plating)

(١) توضع أربعة أطباق بترى معقمة على المنضدة وينقل بواسطة ماصة معقمة (لم يسبق استعمالها) سنتيمترا مكعبا من أنبوبة التخفيف الأخير إلى كل من طبقين من الأطباق الأربعة المذكورة (مع اتخاذ الاحتياطات المعتادة لمنع تلوث الماصة أو السائل بميكروبات الهواء) ، ويراعى أن تخرج محتويات الأنبوبة جيذا قبل النقل وذلك بمص السائل منها فى الماصة وإرجاعه إليها عشر مرات على النحو الذى ذكرناه فى الكلام عن التخفيف ثم يفتح الطبق فتحة صغيرة برفع الغطاء قليلا من أحد جوانبه ويدخل طرف الماصة بين الطبق والغطاء ويفرغ ما بها دون أن تلس قاع الطبق بطريق النفخ الخفيف فى طرفها العلوى المسدود

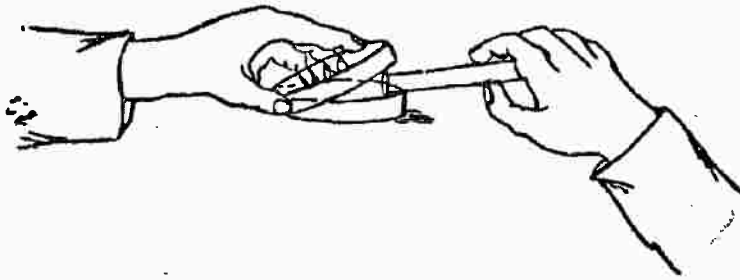
بالقطن ، وبعد أن يتم تصريف السائل الموجود بها ترك على هذا الحال مدة ثلاثة ثوان ثم يلبس القناع بطرف الماصة في مكان جاف ويعاد النفخ فيها مرة ثانية للخلص مما تبقى بها من السائل .
وينقل بنفس الماصة سبعمترا مكعبا من أنبوبة التخفيف السابقة للأخيرة إلى كل من الطبقتين الآخرين



شكل (٣٩) جهاز التخفيف المستعمل في عدد البكتريا بطريقة الاطلاق

بنفس الطريقة ثم ترقم الاطباق بدرجة تخفيف اللبن الذي تحويه وتسكتب عليها نمرة العينة والتاريخ وتبع في بعض الأحيان طريقة أخرى أسرع من السابقة وفيها تلتفح الاطباق أثناء عمل التخفيف، فإذا كان في النية تخفيف العينة إلى . . . مثلا ينقل ستمتر مكعب من أنبوبة تخفيف . . . إلى أنبوبة التخفيف الأخيرة وينقل بنفس الماصة بعدئذ ستمتر مكعب آخر من أنبوبة تخفيف . . . كذلك إلى كل من طبق بترى معقمين ويرقان بدرجة التخفيف (أى . . .) ثم ينقل بخاصة أخرى معقمة ستمتر مكعب من أنبوبة تخفيف . . . إلى كل من طبقين معقمين آخرين ويرقان بدرجة التخفيف المذكورة .
يكتمل في بعض الأحوال بتحضير طبق واحد من كل تخفيف غير أن تحضير طابقين يضمن الحصول على نتائج مضبوطة وموثوق بها .

(٢) تغلى أثناء إجراء العملية السابقة أربع أنابيب آجار في حمام مائى مع الاحتراس من وصول الماء إلى سداداتها القطئية أثناء غليانه ، وبعد أن يتم صب اللبن المخفف بالاطباق تبرد أنابيب الآجار المذكورة إلى درجة ٥٠ ستمتراد ويفرغ ما بداخل كل منها في أحد أطباق بترى الأربعة بالطريقة الآتية : —
تمسك الأنبوبة باليد اليسرى في موضع أفقى بقدر الامكان ثم تنزع سداداتها بين أصابع اليد اليمنى مع إدارة الأنبوبة حتى لا تلتصق السدادة بجدرانها ويمر بفوهة الأنبوبة في اللهب ويخفف سطحها الخارجى مما يعلق به من ماء بواسطة السدادة ويرفع غطاء الطبق من أحد جوانبه باليد اليمنى ويصب الآجار في الطبق مع العناية بعمل الغطاء فوق الطبق مباشرة أثناء هذه العملية (انظر شكل ٤٠) . ثم يعاد الغطاء إلى موضعه وتمزج محتويات الطبق مباشرة وتنشر في طبقه منتظمة وذلك بإمالة إلا الأمام وإلى الخلف بضع مرات أو بإدارته يمينا ويسارا لمدة ٥ — ١٠ ثوان مع الاحتراس من وصول الآجار إلى الغطاء أثناء ذلك .



(شكل ٤٠)

طريقة صب الآجار فى طبق بترى

وينبغي أن تجرى عمليتنا التخفيف وتحضير الاطباق فى أقصر وقت ممكن بحيث لا تتجاوز المدة التى تنمى بين تحضير التخفيف الاخير وصب الآجار فى الطبق خمسة عشرة دقيقة

(٣) ترك الأطباق بعد أن تمزج محتوياتها جيداً على سطح المنضدة إلى أن يتجمد الاجار ثم تقلب وتوضع بالمحضن على درجة ٣٧ سفنجراد لمدة ٤٨ ساعة ولا يجب أن يمضي أكثر من ساعة بين تحضير الأطباق ووضعها بالمحضن

وإذا فحصت جملة عينات في وقت واحد وكان عدد الأطباق التي توضع بالمحضن تبعاً لذلك كبيراً وجب أن ترص الأطباق فرق بعضها بحيث لا تزيد محتويات كل عاءود عن ستة أطباق وتكون الأعمدة متباعدة وينبغي ألا تقل المسافات التي تفصلها بعضها عن بعض أو عن سقف المحضن وجدرانه عن ٢ — ٣ سنتيمتر وذلك لأن البلاستيك يحول دون سهولة مرور الهواء بينها مما يؤدي إلى عدم انتظام الحرارة في أجزاء المحضن المختلفة .

(ح) فحص الأطباق وعد المجموعات (Counting plates)

(١) بعد مضي ثمان وأربعين ساعة تستخرج الأطباق من المحضن وتعد المجموعات التي ظهرت عليها فإذا لم يتيسر إجراء العملية المذكورة مباشرة أو بعد مضي وقت قصير وجب أن يوقف نمو البكتيريا وذلك بوضع ورقة ترشيح مندهاة بالفورمالين في غطاء كل طبق أو تحفظ الأطباق في الثلاجة على حرارة لا تزيد عن ١٠ سفنجراد لمدة لا تتجاوز ١٦ ساعة ولا يجرى ذلك إلا في ظروف اضطرارية

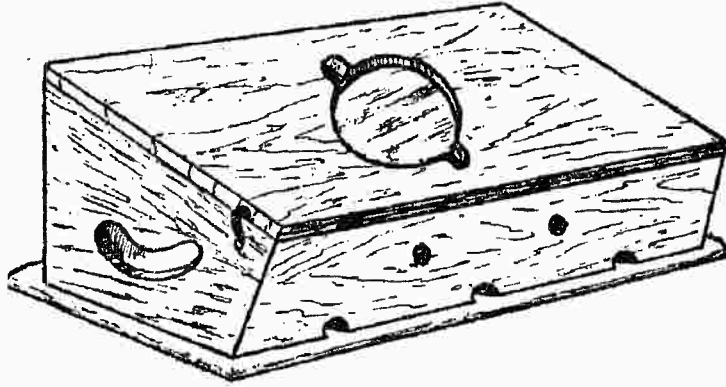
وقبل إجراء العد النهائي تنتخب الأطباق التي تحتوي على مجموعات لا تقل عن ٣٠ ولا تزيد عن ٣٠٠ مجموعة ثم تحصى المجموعات التي ظهرت عليها بعناية تامة ، أما ما عدا ذلك من الأطباق فلا ينبغي الاعتماد على نتائجه إلا إذا لم يوجد سواها ، وعلى كل حال ينبغي تجنب استعمال الأطباق المزدحمة جداً في العد لأن النتائج المتحصل عليها منها لا تكون غالباً دقيقة نظراً لاندماج المجموعات التي تظهر عليها بعضها ببعض واختفاء الصغيرة خلف الكبيرة كما لا ينبغي استعمال الأطباق التي تحوى مجموعات منتشرة (Spreading) إلا إذا لم يؤثر نمو المجموعات المذكورة في نمو المجموعات الأخرى .

ولما كان من المتعذر احصاء جميع المجموعات في الأطباق التي تحوى أكثر من ٢٥٠ مجموعة فيلزم في مثل هذه الحالة تقسيم الطبق إلى عدة أقسام متساوية وإحصاء العدد الموجود على قسم أو أكثر منها ويضرب متوسط عدد مجموعات القسم الواحد في عدد أقسام الطبق ينتج عدد المجموعات الكلى في الطبق كله . وتستخدم أقراص خاصة تعرف بأقراص بيكس (Pakes's discs) لإجراء العد في مثل هذه الأحوال ويلاحظ عند عد المجموعات أن يوضع الطبق مقلوباً (أى غطاؤه إلى أسفل) فوق ورقة سوداء وبذا تظهر عليه المجموعات بسهولة .

(٢) ويستحسن عند إجراء العد الاستعانة بعدسة يدوية قوة تكبيرها ٤ مرات ، وتوضع علامة بالحبر أو بقلم بالشمع على الزجاج بجانب كل مجموعة عند عدّها منعاً للبس وتكرار عد المجموعة الواحدة أكثر من مرة ، ويستعمل أحياناً آلة تسجيل يدوية صغيرة لضبط العدد أثناء إجراء العملية . وكيفية استعمالها هي أن تضغط بالأصبع على زر الآلة عند عد كل مجموعة وفي نهاية العملية يوجد عدد المجموعات السكلى مينا عليها بالأرقام . ومن هذه الآلات ما يتصل بسلك مركب في نهايته قلم يمكن بواسطته ترقيم المجموعات

ويقوم ضغط القلم على الطبق مقام ضغط الأصبع على زر الآلة .
(٣) والمعتاد استعمال الضوء الطبيعي في العد إذا أجريت العملية في وضوح النهار أما إذا كان الضوء المذكور ضئيلاً اسبب من الأسباب فيستعان بالاضاءة الصناعية ويفضل البعض استعمال الاضاءة الأخيرة باستمرار نظراً لانتظامها .

وقد صنع أخيراً جهاز خاص للاضاءة (Illuminated chamber) (أنظر شكل ٤١) يستعمل في هذا الغرض وهو عبارة عن صندوق مستطيل من الخشب طوله نحو ١٧ بوصة وعرضه من أسفل ٦ بوصات ومن أعلى ٧ بوصات وارتفاعه من الخلف ٥,٥ بوصة ومن الأمام ٣,٥ بوصة وسطحه العلوى مائل وفي وسطه طاقة زجاجية مستديرة مجوفة يوضع بها الطبق عند فحصه . ويوجد على كل من جانبي الطاقة المذكورة مصباح كهربائي مثبت في ظهر الجانب الأمامي بداخل الصندوق ومركب بجوار كل مصباح عاكس للضوء (Reflector) . والمصباحان والعاكسان تضمن اضاءة الطبق أثناء فحصه اضاءة منتظمة . ويوجد في جوانب الصندوق عدة فتحات للتهوية .



« شكل ٤١ »

جهاز الاضاءة المستعمل في عد المجموعات على الأطاق

وقد دلت التجارب على أن العد باستعمال هذا الجهاز يفوق في دقته العد بالضوء الطبيعي أو بالاضاءة الصناعية المباشرة إذ يمكن بواسطته رؤية المجموعات الصغيرة بوضوح تام ويسهل تمييزها من ذرات الغبار والشوائب الغريبة وهي علاوة على ذلك غير مجعدة للنظر .

(٤) وبعد الفراغ من عد المجموعات التي تظهر على كل طبق باعتناء يؤخذ متوسط العدد في كل طبقين من النوع الواحد ويضرب في نسبة التخفيف فيحصل بذلك على عدد البكتريا الكلى في السنتيمتر المكعب من عينة اللبن المختبرة .

ومن المهم تدوين نتائج الاختبار بعناية وحفظها في سجلات تحتوى على بيانات وافية عن العينات وتذكر بها درجات التخفيف التي أجريت وعدد الأطباق التي حضرت من كل تخفيف ومتوسط عدد المجموعات التي ظهرت على كل نوع منها وعدد البكتريا في السنتيمتر المكعب من العينة .

(٥) فحص الماء والأدوات المستعملة في الاختبار

ينبغي لضمان دقة نتائج هذا الاختبار الاعتناء بفحص الماء المستعمل في التخفيف بين وقت وآخر والتحقق من عدم احتوائه على مواد سامة تضر بنمو البكتريا . ويجرى هذا الفحص عادة بالطريقة التالية :—
يصب سنتيمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الأخير عقب تحضيره مباشرة في طبق بترى معقم ويخلط بأنبوبة آجار بالطريقة السابق وصفها ثم يصب سنتيمتر مكعب آخر من نفس الأنبوبة بعد مضي خمس دقائق من وقت تحضير الطبق الأول في طبق بترى ثان معقم ويخلط بأنبوبة آجار ثانية وتكرر هذه العملية كل خمس دقائق مرة لمدة ثلث أو نصف ساعة وتحفظ جميع الأطباق المحضرة على درجة ٣٧ سنتجرات لمدة ٤٨ ساعة فإذا اتضح في نهاية تلك المدة عدم حدوث انخفاض محسوس في عدد المجموعات التي تظهر على الطبق المحضر بعد ربع ساعة من انتهاء التخفيف عند مقارنته بالطبق المحضر عقب انتهاء التخفيف مباشرة كان ذلك دليلاً على صلاحية الماء للاستعمال في هذا الغرض .

وكما يلزم التأكيد من عدم احتواء ماء التخفيف على مواد ضارة بالبكتريا ينبغي كذلك الوثوق من خلوه وخلو بيئة الآجار والمصاصات والأطباق من الميكروبات الملوثة وتمام تعقيمها ولذا تختبر هذه المواد والأدوات في فترات منتظمة بالطريقة الآتية : —

يؤخذ بواسطة ماصة معقمة سنتيمتر مكعب من إحدى أنابيب الماء المعقم (قبل استعمالها في التخفيف) في طبق بترى معقم ويخلط بأنبوبة آجار معقمة ويحفظ الطبق المذكور على درجة ٣٧ سنتجرات لمدة ٤٨ ساعة فإن لم تظهر عليه مجموعات بكتيرية ثبت من ذلك دقة عملية التعقيم وصلاحية هذه الأدوات والمواد للاستعمال . وهناك طريقة أخرى تستعمل في اختبار مدى دقة تعقيم أواني اللبن كالصفائح وزجاجات العينة الخ وهذه سيأتي شرحها في مكان آخر .

(٦) ملاحظات عامة على طريقة الأطباء وأهم عيوبها

يحتاج إجراء هذا الاختبار كما ذكرنا من قبل وكما يلاحظ من شرح تفاصيله إلى دقة وعناية فائقتين ولذلك تتوقف مدى صحة النتائج المتحصل عليها منه على خبرة الفاحص بالأعمال البكتريولوجية ومقدار إلمامه بدقائق العملية .

وما من شك في أن عدم العناية بتحضير البيئة أو ضبط تأثيرها أو تعقيمها وكذلك الإهمال في إجراء التخفيف أو وقاية الأنابيب أو الأطباق من التلوث أثناء إجراء الاختبار وعدم الدقة في احصاء المجموعات أو تمييزها من المواد الغريبة التي توجد أحياناً بالبيئة تؤدي إلى اختلاف كبير في النتائج وإلى خطأ في الحكم على نوع العينات ومبلغ نقاوتها .

وبرغم ميزات هذا الاختبار الكثيرة فإنه لا يخلو من عيوب قد يكون أهمها الآتية : —

١ — تعذر تمييز أنواع البكتريا التي تحويها العينة من مجرد ملاحظة شكل المجموعات التي تظهر على الأطباق ، وكذلك عدم امکان التفريق بين الأنواع الممرضة التي تشبهها من حيث مظهر المجموعات .

على أن النقص المذكور لا يقلل من أهمية هذا الاختبار بدرجة كبيرة لأن الغرض الرئيسى من عد البكتريا بطريقة الأطباق هو الحصول على معلومات عامة عن درجة نقاوة اللبن والعوامل التى تؤدى إلى تلوثه أثناء الانتاج والمعاملة والتداول .

ب — لما كان الوقت الذى يستغرقه إجراء هذا الاختبار ومعرفة نتيجه طويلا (لا يقل عن يومين) فانه لا يمكن الاعتماد عليه فى سرعة استبعاد عينات اللبن الرديئة قبل استعمالها ، على أنه لا ينبغي الحكم على جودة اللبن المستمد من أحد المصادر لمجرد فحص عينة واحدة منه بل يلزم فحص عدة عينات لا تقل عن أربع على فترات منتظمة قبل التحقق من طبيعة هذا المصدر وملاءمته لإنتاج نوع جيد من اللبن .

ج — ان البيئة المستعملة فى هذا الاختبار مهما اختلف تركيبها وتأثيرها لانتاج بعض أنواع البكتريا التى توجد باللبن ولذلك فلا تظهر هذه الانواع على الاطباق (مثل ميكروب السل وغيره) ولو أنه لوحظ أن بعض البكتريا أكثر ملاءمة لنمو بكتريا اللبن من الأخرى ولذا يكون العدد الناتج عليها أكبر نسبيا من سواها .

د — أن درجة الحرارة التى تحفظ عليها الأطباق أى درجة الحضانة وكذلك مدة الحضانة لا تناسب بعض أنواع البكتريا . فمن هذه الأنواع ما يقف نموه كلية ومنها ما ينمو ببطء شديد على درجة الحرارة المذكورة فينتج مجموعات دقيقة غير مميزة فى نهاية المدة وهذه كثيرا ما يخطئها العد .

هـ — أن البكتريا لا توجد دائما فى اللبن بحالة خلايا فردية بل أنها كثيرا ما توجد بهيئة كتل صغيرة أو كبيرة تتألف كل منها من عدة خلايا قد تبلغ بضع مئات وهذه الكتل ولو أن بعضها يتفكك أثناء مزج العينة ورجها وتحضير التخفيف الخ إلا أن البعض الآخر لا يتأثر بهذه المعاملة فينتج عن كل كتلة مجموعة واحدة مثما فى ذلك مثل الخلايا الفردية ، ولهذا فإن العدد الناتج بطريقة الأطباق لا يمثل إلا جزءا من العدد الكلى الحقيقى للبكتريا التى تجوئها العينة .

(٧) الحكم على درجة نقاوة اللبن من نتيجة هذا الاختبار

تشتراط الهيئات الصحية وكذلك شركات الألبان الكبيرة فى بعض البلدان كما قلنا من قبل اشتراطات معينة خاصة بنظافة إنتاج اللبن وتتخذ من نتيجة عدد البكتريا بطريقة الأطباق مقياسا لمبلغ العناية التى روعيت فى إتباع هذه الاشتراطات ، فمنها ما يحتم ألا يتجاوز عدد البكتريا فى السنتمتر المكعب من عينات لبن السوق المعتاد غير المسخن ٢٠٠٠٠٠ ومنها ما يميز احتواء مثل هذا اللبن على عدد من البكتريا أكبر من ذلك ، على أن هذه النظم والاشتراطات تختلف كثيرا باختلاف الظروف والأحوال فالمدن التى تستورد ألبانها من مصادر قريبة ، والبلدان التى يرتفع فيها مستوى الحياة من الوجهة الصحية تشدد فى مراقبة الألبان وتضع من الاشتراطات ما يكفل نظافة اللبن واحتواءه على عدد يسير من البكتريا ، أما المدن التى تستمد ألبانها من جهات بعيدة كالتى تقع منها فى مناطق صناعية مثلا ، والبلاد التى يجمل السواد الأعظم من سكانها قواعد النظافة فلا تحتم عادة اشتراطات بالغة الشدة .

وتختلف مقاييس النظافة أحيانا باختلاف فصول السنة فهي في أشهر الصيف الحارة غيرها في أشهر الشتاء الباردة نظرا لتأثير درجة الحرارة في سرعة تكاثر البكتيريا التي يحويها اللبن .
وقد يقال عموماً أن ألبان السوق العادية الغير المسخنة تعتبر جيدة إذا احتوت على أقل من ٥٠٠٠٠ ومتوسطه إذا زاد فيها العدد عن ذلك ولكنه لم يتجاوز ٢٠٠٠٠٠ وريثه إذا احتوت على ٥٠٠٠٠٠ بكتيريا أو أكثر في السنتيمتر المكعب عند فحصها بطريقة الأطباق .

وتتقضى الاشتراطات الخاصة بإنتاج وبيع الألبان النظيفة (المميزه باسماء خاصة) في بعض البلدان ألا تحتوي الأنواع الممتازة منها (سواء أكانت خاماً أم مبسترة) على مايزيد عن ٣٠٠٠٠ في السنتيمتر المكعب . أما الألبان المبسترة التجارية فينبغى ألا يتجاوز ما تحويه عن ١٠٠٠٠٠ بكتيريا في السنتيمتر المكعب وفي الأحوال التي تشجع شركات الألبان مورديها على نظافة الانتاج بمنحهم مكافآت مالية تتناسب مع درجة نقارة ألبانهم نجدها تمنح أكبر عدد من الدرجات في معظم الأحيان للعينات التي يقل العدد فيها عن ٥٠٠٠ في السنتيمتر المكعب ، وتقل الدرجات الممنوحة تدريجياً كلما ارتفع العدد حتى إذا بلغ مليوناً أو أكثر فتعتبر رديئة جداً ولا تمنح درجات كلية .

هذا ولا يغيب عن البال أن مراقبة الألبان لا تقتصر على فحص العينات بطريقة الأطباق ، ولكنها تختم استيفاء اشتراطات أخرى خاصة بماشية الحليب ومخلات الانتاج والمعدات ، كما أن لتقدير نسبة وجود ميكروبات القولون في العينة أهمية كبرى تعادل أهمية اختبار العدد الكلي للبكتيريا أو تفوقها أحيانا ، فإذا ظهر من فحص العينة بطريقة الأطباق احتواؤها على عدد قليل من البكتيريا في حين توجد بها ميكروبات القولون بنسبة مرتفعة فإنها تعتبر رديئة .

ثانياً : طريقة بيريد

تعرف طريقة بيريد أحيانا باسم طريقة الميكروسكوب المباشرة (Direct microscopic method) أو طريقة عد البكتيريا بالميكروسكوب (Microscopic count of bacteria) . وقد انتشر استعمال هذه الطريقة انتشاراً كبيراً في السنين الأخيرة وهي معتمدة رسمياً من الهيئات الصحية الأمريكية لفحص اللبن بكتريولوجياً .

ومع أن هذه الطريقة بسيطة نسبياً ويمكن بها للفاحص المتمرن أن يحكم بسرعة على مبلغ نقاوة العينة وأن يلاحظ أنواع البكتيريا الموجودة بها فعلاً إلا أنها تحتاج إلى دقة ومهارة خاصة في الإجراء .

وتتلخص الطريقة في نشر مقدار معين من اللبن المراد اختباره على هيئة غشاء في مساحة معلومة على شريحة زجاجية خاصة وصبغها وفحصها تحت الميكروسكوب ثم تقدير متوسط عدد البكتيريا في مجال البصر الميكروسكوبي (Field of vision) ، وبمعرفة مساحة المجال المذكور وعدد المجالات التي تحويها المساحة المنشور عليها الغشاء يمكن بعملية حسابية بسيطة استخراج العدد الكلي للبكتيريا في السنتيمتر المكعب من عينة اللبن . وبما يلاحظ أن هذا التقدير يشمل جميع ما تحويه العينة من بكتيريا سواء منها الحية أو الميتة .

(١) الأدوات والمواد المستخدمة للاختبار

أهم الأدوات والمواد اللازمة لإجراء هذا الاختبار هي الآتية : —

١ — ميكروسكوب كامل : ويشترط أن يكون مجهزا بعدسة زيتية (immersion lens) وبعدسة عينية قوة تكبيرها ١٠ مرات .

ب — شريحة ميكرومترية (Stage micrometer) : تحتوى على مقياس طوله مليمتر واحد مقسم إلى ١٠٠ قسم .

ج — شرائح زجاجية : تصنع خاصة لهذا الاختبار ذات حافة مصنفرة عادة وطولها ٣ بوصات وعرضها بوصة واحدة وعليها مربع أو مربعان مساحة كل منهما سنتيمتر مربع . وينبغي أن تراعى نظافة هذه الشرائح قبل الاستعمال فتوضع أولا في المحلول المنظف (الذى سبق ذكره) لمدة ساعة أو اثنتين ثم تغسل بالماء النظيف المعقم وزيادة في الاحتياط يفضل أحيانا تعقيمها عقب التنظيف في فرن الهواء الساخن .

د — ماصات شعرية (Capillary pipettes) : يشترط أن تكون من النوع المستقيم ومصنوعة من زجاج جيد سميك وعليها علامة بـ ١ سم^٣ من اللبن . وهذه الماصات تنظف كذلك قبل الاستعمال بالطريقة المذكورة في الكلام عن الشرائح .

هـ — صبغة أزرق الميثيلين (Methylene blue) : تحضر الصبغة المذكورة كما يأتى : يذاب ٠,٣ جرام من أزرق الميثيلين في ٣٠ سم^٣ من الكحول الايثيلي (٩٥ ٪) ويضاف هذا المحلول إلى ١٠٠ سم^٣ من الماء المقطر . ويلزم أن يكون أزرق الميثيلين المستعمل من نوع جيد وصالح للأعمال البكتريولوجية .

أما الأدوات والمواد الأخرى التى تلزم فهى بسيطة مثل أبرة صغيرة مستقيمة وكحول ايثيلي (٩٥ ٪) وزيلول .

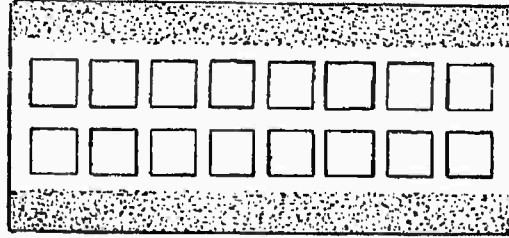
(٢) كيفية إجراء الاختبار

١ — تحضير الغشاء (Preparation of film)

(١) ترج عينة اللبن جيدا بالطريقة المعتادة وتهز الماصة بشدة بضع مرات إذا كانت غير تامة الجفاف ليطرد منها الماء ثم يمس فيها اللبن ويعاد إلى الزجاجية بطريق النفخ الخفيف وتكرر هذه العملية ثلاث أو أربع مرات وأخيرا يضبط مستواه فيها بمحاذاة العلامة ويجفف خارج الماصة وطرفها باحتراس أما بخرقة نظيفة أو بورقة ترشح نظيفة مع مراعاة عدم انخفاض مستوى اللبن في الماصة إلى مادون العلامة في أثناء هذه العملية ثم تفرغ بالنفخ محتويات الماصة على الشريحة ويحسن أن تؤخذ نقطة أخرى من نفس العينة بالطريقة ذاتها وتوضع على مربع ثان .

عند اختبار عينات كثيرة بهذه الطريقة قد تستعمل الماصة الواحدة لجملة عينات بشرط أن تبقى دائما نظيفة أثناء الاستعمال وذلك بأن تزال بقايا اللبن من عليها بمسحة نظيفة وتغسل من الداخل بالماء المعقم بعد الانتهاء من نقل كل عينة .

ويستحسن في مثل هذه الأحوال كذلك أن تستخدم شرائح زجاجية عادية كبيرة طولها ٤,٥ بوصة وعرضها بوصتان وذات حافة مصنفرة وتستعمل معها ورقة دليل (guide plate) بمقاس الشريحة المذكورة مرسوم عليها ١٦ مربعا وقبل ابتداء العملية توضع الورقة تحت الشريحة فترى منها المربعات واضحة تماما (انظر شكل ٤٢)



(شكل ٤٢)

شريحة عد البكتريا بطريقة الميكروسكوب موضوعه على ورقة الدليل

(٢) تشر نقطة اللابن على المربع في طبقة منتظمة بحذر بواسطة الابرة المستقيمة المعقمة بحيث تغطي المربع تماما ويوضع أمام كل مربع على الحافة المصنفرة للشريحة علامة مميزة أو نمرة العينة بالقلم الرصاص (٣) يحفف الغشاء بسرعة في مدة لا تتجاوز العشر دقائق وذلك بوضع الشريحة على سطح مستو في مكان دافئ بالقرب من موقد أو من اللهب مع الاحتراس من وصول الغبار أو الذباب إليها أثناء مدة التجفيف . ولا ينبغي أن يحفف الغشاء بسرعة زائدة بتعريضه لحرارة عالية لأن ذلك يؤدي إلى تشققه وتفتت أجزاء منه أثناء العمليات التي تعقب التجفيف .

(ب) اذابة الدهن من الغشاء وتثبيتته وصبغه

(١) بعد تجفيف الغشاء يذاب منه الدهن بغمس الشريحة في اناء يحتوي على زيلول أو أحد مذيبات الدهن الاخرى كالتربنتين أو الإثير لمدة دقيقة واحدة أو أكثر ثم ترفع من الإناء ويصن منها السائل جيدا وتجفف وقد وجد أن بقاء الشريحة مدة طويلة بالزيلول لا يضر بالغشاء ولا يزيل منه البكتريا .

(٢) بعد أن يذاب الدهن يثبت الغشاء بوضع الشريحة في اناء آخر يحتوي على كحول ايثيلي (٩٥ ٪) لمدة دقيقتين ثم ترفع وتصفى .

(٣) يصبغ الغشاء بعدئذ بصبغة أزرق الميثيلين لمدة دقيقة فتوضع الشريحة لهذا الغرض في اناء ثالث يحتوي على الصبغة المذكورة أو توضع على حامل الصبغ وتصب فوقها الصبغة وتترك عليها المدة الكافية فقط لتلوينها جيدا ثم تغسل بالماء وتخفف صبغة الغشاء الى الزرقة الباهتة إذا استدعى الحال وذلك بغمس الشريحة في كحول ٩٥ ٪ مرة أو أكثر حسب الحاجة على أنه اذا كانت صبغة الغشاء رديئة فيمكن إزالتها منه كلية بالكحول واعادة صبغه بالطريقة السالفة الذكر .

وينبغي تحاشي استعمال صبغات قديمة أو غير مرشحة في تلوين الغشاء لأنها قد تحتوي على بكتريا تلوث الغشاء أو على رواسب تلتصق به فيصعب تمييز البكتريا فيه عند الفحص .

(٤) ولو أنه يفضل غالبا اتباع الطريقة السابق شرحها في إذابة الدهن من الغشاء وتثبيتته وصبغه لأنها تضمن الحصول على نتائج جيدة باستمرار إلا أنه يستحسن أحيانا في الاحوال التي يجرى فيها تحضير الاغشية من عينات اللبن بعيدا عن معمل الفحص استعمال سائل واحد يؤدي الاغراض الثلاثة المذكورة دفعة واحدة فيسهل على الفاحص المتجول إذا ذاك حمل إناء واحد يحتوى على هذا السائل بدلا من حمل ثلاثة أو اثنى وأربعة وتشتمل على السوائل السابق بيانها ، والسائل المذكور يعرف باسم محلول نيومان نمرة ٢ (Newman's Solution No. 2) وهو يتركب كما يأتي :

أزرق الميثيلين	١ جرام
كحول أثيل (٩٥ ٪)	٥٤ سم ^٣
تتراكلوريثان (Tetrachlorethane)	٤٠ سم ^٣
حامض الخليك الجليدى (glacial)	٦ سم ^٣

ويحضر بإضافة الكحول إلى التتراكلوريثان في قنينة وتسخينها في حمام مائى إلى درجة ٧٠ سنتجرات ثم يضاف المخلوط إلى أزرق الميثيلين وترج جميعها جيدا حتى تذوب الصبغة تماما ويبرد المخلوط ثم يضاف اليه حامض الخليك ببطء شديد ويرشح المحلول ويحفظ في زجاجة محكمة السد .
أما طريقة الاستعمال فهي كما يلي : —

تغمس الشريحة بعد تمام تجفيف الغشاء في محلول نيومان لمدة ١٥ ثانية وهذه المدة تكفى لإذابة الدهن وتثبيت الغشاء وصبغه ثم ترفع الشريحة من المحلول ويصفى منها السائل حتى تجف وهذه العملية تستغرق نحو نصف دقيقة .

وسواء استعملت الطريقة الاولى أو الثانية فإنه ينبغي أن تغسل الشريحة بعد المعاملة وتجفف قبل أن تختبر لحين الحاجة إليها .

(ح) فحص الغشاء :

بعد أن يكمل إعداد الغشاء يفحص تحت الميكروسكوب بالعدسة الزيتية وإتماما للفائدة نورد هنا تفصيل الطريقة :

(١) توضع نقطة زيت منادبة على الغشاء المحضر مباشرة .

(٢) توضع الشريحة في وسط مسرح الميكروسكوب (أو المنصة Stage) وتثبت بالمقبضين ويضبط موضع الغشاء تحت العدسة مباشرة .

(٣) تخفض العدسة بواسطة تحريك الانبوبة بالمعدل التقريبي (Coarse adjustment) إلى أن تلامس نقطة الزيت ثم يستمر في تخفيض العدسة بنفس المعدل مع الحذر الشديد حتى تلامس وجه الشريحة تقريبا .

(٤) يبدأ عندئذ بالنظر في العدسة العينية ويضبط الضوء بتعديل المرآة ورفع المكشف بحيث يصبح في مستوى واحد تقريبا مع المسرح وكذلك يفتح الحجاب .

(٥) عندما يصير مجال البصر واضحا تماما ترفع العدسة الزيتية ببطء بواسطة المعدل التقريبي حتى يشاهد اللون الأزرق للغشاء واضحا .

(٦) عندئذ يحرك المعدل الدقيق (fine adjustment) إلى الامام وإلى الخلف حتى تشاهد البكتريا في الغشاء بجلاء .

(٧) يعاد تنظيم الضوء بالطريقة السابقة اذا استدعى الحال .

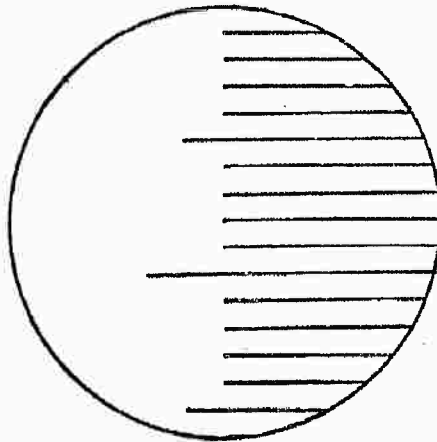
ويستحسن اذا أمكن استخدام مسرح آلى (mechanical stage) حتى يمكن فحص الشريحة بدقة ومن الضروري التأكد من نظافة العدستين الزيتية والعينية والمكثف والمرآة قبل البدء في الفحص .
د ... عد البكتريا :

لتقدير عدد البكتريا في عينة اللبن بهذه الطريقة ينبغي أن يحصى في الغشاء الواحد عددها في ٥ مجالات من مجالات البصر الميكروسكوبى على الأقل ثم يحسب متوسط العدد في المجال الواحد .

ولزيادة ضبط العدد تستعمل أحيانا عدسة عينية خاصة تحتوى في وسطها على دائرة ويكتفى بعد البكتريا في الجزء الوسطى من مجال البصر المحدود بالدائرة المذكورة ، وذلك لتخاشى عد البكتريا الموجودة قرب حافة المجال لأنها لا ترى عادة بوضوح تام وكثيرا ما يخطئ العد فتتأثر بذلك النتيجة النهائية .

ومن الأفضل تسهيلا للعمل أن يقدر قطر مجال البصر (أوقطر الدائرة السالفة الذكر) ومساحته وعدد المجالات التى يحويها الغشاء قبل إجراء العد والطريقة المتبعة هى :

(١) توضع الشريحة الميكرومترية على المسرح وتفحص بعدسة الزيت ويقاس بواسطتها قطر المجال (راجع شكل ٤٣) ويستحسن البعض سحب أنبوبة الميكروسكوب المتحركة (draw tube) لجعل قطر المجال المذكور مساويا لعدد معين من أقسام الشريحة الميكرومترية .



(شكل ٤٣)

كيفية قياس قطر مجال البصر بالشريحة الميكرومترية

(٢) تستخرج مساحة مجال البصر بضرب مربع نصف قطره في النسبة التقريبية .

(٣) وأخيرا يستنتج عدد المجالات الموجودة بالغشاء جميعه (أى بالسنتيمتر المربع) بقسمة مساحة الغشاء على مساحة مجال البصر .

والمثال الاتي يوضح كيفية حساب العدد الكلى للبكتيريا فى السنتيمتر المكعب من عينة اللبن بطريقة الميكروسكوب المباشرة .

إذا فرض أن قطر مجال البصر = ١٦ قسما من أقسام مقياس الشريحة الميكرومترية

أى ١٦٠ ميكرونا (الميكرون = ١/١٠٠٠ من المليمتر)

فتكون مساحة المجال = (ط ٢) $80 \times 80 \times 3,1417 = 20106,88$ ميكرون

ولما كانت مساحة السنتيمتر المربع $100,000,000 = 1000 \times 10 \times 1000 \times 10$ ميكرون

فيكون عدد مجالات البصر فى السنتيمتر المربع $\frac{100,000,000}{20106,88} = 4970,34 = 5000$ مجال تقريبا

وإذا فرض أن متوسط عدد البكتيريا فى المجال

الواحد = ١٠ خلايا

فيكون عددها فى الغشاء جميعه أى فى السنتيمتر

المربع $5000 \times 10 = 50000$

ويكون العدد الكلى للبكتيريا فى السنتيمتر المكعب

من العينة $50000 \times 100 = 5000000$ مليونات

وقبل أن نختم الكلام عن طريقة إجراء هذا الاختبار تجدر الإشارة إلى أن هناك عوامل كثيرة تؤثر

فى نتيجته كما يلاحظ من الشرح السابق وقد يكون أهم هذه العوامل ما يأتى :

(١) مقدار العناية بقياس كمية اللبن التى تختبر .

(٢) مدى الدقة فى تحضير الشريحة وصبغها وعد جميع البكتيريا التى تشاهد بها .

(٣) سهولة تمييز البكتيريا من الأجسام الغريبة الأخرى التى توجد بالغشاء أحيانا .

وغنى عن الذكر أن الخبرة القاحص ومرانه أثر بعيد فى نتيجة هذا الاختبار كذلك .

(٣) مقارنة طريقة الميكروسكوب المباشرة بطريقة الأطباق

أجريت تجارب كثيرة لمقارنة طريقة الميكروسكوب المباشرة بطريقة الأطباق فوجد منها أن عدد

البكتيريا فى عينات من اللبن عند فحصها بالطريقة الأولى يفوق عددها فى نفس العينات إذا ما استعملت فى

الفحص الطريقة الثانية ، ولا شك أن السبب فى ذلك يعود إلى إمكان رؤية جميع ما يحويه اللبن من بكتيريا

وعدها بواسطة الميكروسكوب فى حين أنه لا ينمو على الأطباق غير جانب من العدد الكلى للبكتيريا التى

توجد بالعينة للأسباب التى بسطناها فى الكلام عن طريقة الأطباق .

وقد أثبتت التجارب كذلك أن الفرق بين العددين المقدرين بطريقة الميكروسكوب والاطباق يكون كبيرا في حالة العينات النظيفة خصوصا إذا أحصيت بطريقة الميكروسكوب جميع الخلايا التي تتألف منها الكتل البكتيرية باعتبار كل منها وحدة مستقلة . أما في حالة العينات التي يبلغ عدد البكتيريا فيها مليوناً أو أكثر في السنتيمتر المكعب فقد لوحظ أن الفرق يكون صغيراً نسبياً بل أن العدد المقدر بكلتا الطريقتين قد يكون متماثلاً إذا ما أحصيت الكتل البكتيرية الصغيرة والسلاسل القصيرة في حالة العد بطريقة الميكروسكوب باعتبار كل منها خلية واحدة فقط لأن مثل هذه الكتل والسلاسل تنج كل منها غالباً بمجموعة واحدة على الاطلاق .

على أنه قد وجد عموماً من فحص عدد كبير من العينات أن النسبة بين عدد البكتيريا المقدر بطريقة الميكروسكوب والعدد الناتج بطريقة الاطباق (عند حفظ الاطباق على درجة ٣٧° سنتجرات لمدة ٤٨ ساعة) هي في الغالب ٤ : ١ تقريباً ، وتستعمل هذه النسبة في أكثر الأحيان لتحويل عدد البكتيريا الناتج من فحص عينة من اللبن بإحدى الطريقتين إلى العدد الذي يقابله باستعمال الطريقة الأخرى .

(٤) مميزات طريقة الميكروسكوب وعيوبها

تمتاز طريقة الميكروسكوب على طرق العد الأخرى وبالأخص طريقة الاطباق بعدة مميزات من أهمها :
١ — أنها سريعة الاجراء ويمكن الحصول على نتائجها في وقت قصير . إذ يستطيع الشخص المتدرب أن يفحص العينة في مدة لا تتجاوز ١٥ — ٢٠ دقيقة إذا كانت جميع المعدات اللازمة مستكملة وهذا العامل من الأهمية بمكان في الأحوال التي يستورد فيها اللبن من مصادر متعددة وحيث يوجد عدد كبير من العينات يراد فحصها في مدة وجيزة . كما أنه يمكن بها تمييز العينات الرديئة واستبعادها بسرعة قبل استعمال اللبن .

ب — أنها لا تستلزم إعداد مواد وأدوات كثيرة أو القيام بعمليات طويلة مرهقة كتحضير البينات وماء التخفيف ومعاملة الأدوات اللازمة للاختبار كتنظيف الأواني الزجاجية وتعقيمها ومن ثم كان عدد العينات التي يمكن فحصها بهذه الطريقة في وقت ما أكبر بكثير من العدد الممكن فحصه بطريقة الاطباق في نفس الوقت

ج — أنها قليلة النفقات فلا يقتضى إجراؤها إحراز أجهزة ومعدات باهظة الثمن كالمعدات والمحضنات ونحو ذلك . ولذا فإن نفقات فحص العينة الواحدة بهذه الطريقة أقل كثيراً من نفقات فحص العينة بطريقة الاطباق مثلاً .

د — أنه يمكن بها تمييز أنواع البكتيريا التي توجد وتشاهد بالعينة علاوة على تقدير عددها ومن ثم يمكن تعيين المصادر التي أدت إلى تلوث اللبن على وجه التقريب ، فمثلاً إذا وجدت بالعينة كتل بكتيرية كبيرة مزدحمة كان ذلك دليلاً على شدة تلوثها غالباً من الأواني غير النظيفة أو غير تامة التعقيم كما أنها تفيد كثيراً في كشف الميكروب السببي المسبب لالتهاب الضرع في عينات اللبن كما سيأتي تفصيل ذلك فيما بعد .

هـ - أن الأغشية المحضرة من العينات المختلفة يمكن الاحتفاظ بها بصفة مستديمة وبذلك تعتبر سجلا دائما يمكن الرجوع اليه في أى وقت .

و - أن العدد الناتج بطريقة الميسكروسكوب أقرب إلى الحقيقة من العدد الناتج بطريقة الاطباق ، حيث تعد في الطريقة الأخيرة المجموعات الناتجة من نمو البكتريا على بيئة صناعية كما هو معروف بينما تحصى في طريقة الميسكروسكوب خلايا البكتريا ذاتها مصبوعة : على أن بعض أنواع البكتريا كالميكروب السل إذا وجدت بالعينة لا تصبغ بالصبغة المستعملة في طريقة الميسكروسكوب ولذلك فلا ترى بالاعشاء . وإذا أحصيت في طريقة الميسكروسكوب الكتل البكتيرية والسلاسل والخلايا الفردية كل منها كوحدة مستقلة فإنه يمكن الحصول من الطريقتين على عدد متقارب كما قلنا من قبل ، إلا أن العدد الناتج من طريقة الميسكروسكوب يكون بالرغم من ذلك أكبر لأن بعض أفرع البكتريا لا تنمو على البيئة المستعملة في طريقة الاطباق

ز - إن العينات المزمع فحصها بطريقة الميسكروسكوب يمكن حفظها باضافة بعض المواد الحافظة إليها كالفورمالدهيد لمنع تكاثر البكتريا بها إلى أن يحين وقت فحصها إلا أن مثل هذه العينات لا يمكن بقاءها مدة طويلة لأن الميكروبات التي أهلكتها المواد الحافظة تبدأ في التحلل الذاتي (autolysed) وهذا يؤثر في قابليتها للصبغ فلا تظهر في الغشاء بوضوح تام

أما عيوب الطريقة فأهمها اثنان هما :

ا - إن كلا البكتريا الحية والميتة تظهر في الغشاء مصبوغه ولذلك لا يتسنى تمييز بعضها من بعض ولا معرفة نسبتهما . فهذه الطريقة وإن كانت تصلح لفحص الالبان الطازجة الغير المسخنة نظرا لقلة عدد الخلايا الميتة التي توجد بها إلا أنها لا تناسب تماما فحص الالبان المبسترة أو اختبار مدى دقة عمل الجهاز المستعمل في التسخين لأن التسخين يحدث إنخفاضا كبيرا في عدد الخلايا الحية .

على أنه كثيرا ما يختبر اللبن المبستر بطريقتي الميسكروسكوب والاطباق معا فإذا ظهر احتواؤه على عدد كبير من البكتريا بالطريقة الاولى وعلى عدد قليل بالطريقة الثانية دل ذلك على شدة تلوث اللبن بالبكتريا قبل البسترة أو على احتوائه على عدد كبير من الانواع الترموفيلية (المحبة للحرارة) (Thermophilic) وهذه لا تستطيع النمو على الاطباق لعدم ملائمة درجة الحرارة التي تحفظ عليها تلك الاطباق لنموها .

ب - أنها لا تناسب تماما اختبار الالبان النظيفة أى التي لا تحوى غير عدد قليل جدا من البكتريا لانه يلاحظ خلو مجالات كثيرة من البكتريا في الاغشية المحضرة منها عند فحصها ولذلك يصعب تقدير متوسط عدد البكتريا في المجال الواحد بدقة كافية وهذا يؤدي أحيانا إلى خطأ كبير في استنتاج العدد الكلى للبكتريا في السنتيمتر المكعب من العينة ومن ثم كان من الضروري عند اختبار مثل هذه الالبان أن يفحص عدد كبير جدا من المجالات إذا أريد الحصول على نتائج موثوق بها . كما أن هذه الطريقة لا تناسب كذلك فحص الالبان الشديدة التلوث بالبكتريا بالنسبة لعدم انتظام توزيع البكتريا في الاغشية المحضرة منها واحتوائها على كتل بكتيرية كبيرة الحجم وعلى عدد من البكتريا يصعب حسره .

ح - ويعاب على طريقة الميكروسكوب كذلك صغر كمية اللبن التي تفحص فيها وعدم اعتبارها ممثلة لجميع اللبن المراد اختباره على أن المقدار الذي يفحص في طريقة الأطباق بعد تخفيف العينة خصوصا في حالة اللبائن التجارية التي تخفف غالبا إلى درجة كبيرة يقل عادة عن كمية اللبن المختبرة في طريقة الميكروسكوب

(٥) الحكم على درجة نقاوة اللبن منه نتيجة هذا الاختبار

يقسم اللبن أحيانا إلى رتب بحسب درجة نقاوته وما يحويه من ميكروبات بواسطة طريقة الميكروسكوب وهذا التقسيم إما أن يكون تقريبا وتراعى فيه السرعة والبساطة أو يكون دقيقا فيستدعى إذ ذاك احصاء عدد البكتيريا بعناية تامة وتدوينه ووضع كل عينة في رتبة مميزة بحسب نتيجة الفحص .

في الحالة الأولى : تفحص عدة مجالات في كل مربع (لا يقل عددها عن عشرين) ويقسم اللبن إلى أقسام ثلاثة كالآتي : -

أ - إذا وجد أن أغلب المجالات خالية تماما من البكتيريا وفي مثل هذه الحالة لا تحتوى العينة إلا على عدد ضئيل منها فتعتبر عندئذ جيدة .

ب - إذا وجدت البكتيريا بقلّة في أغلب المجالات ولم تشاهد في بعضها فتعتبر العينة متوسطة .

ح - إذا رُوى عدد كبير من البكتيريا المختلفة الأنواع في جميع المجالات التي فحصت فتكون العينة رديئة .

وفي الحالة الثانية : تستعمل عدسات مناسبة ويضبط طول أنبوبة الميكروسكوب المتحركة بحيث يصير قطر مجال البصر ٢.٥ ميكرونات ثم تحصى البكتيريا في عدد معين من مجالات البصر ويضرب المتوسط في ٣٠٠٠٠٠ لاستخراج عدد البكتيريا في السنتيمتر المكعب وهذه الطريقة تناسب فحص عينات اللبن التجارية التي تحتوى في أغلب الأحيان على عدد كبير من البكتيريا على أنه يفضل غالبا في فحص عينات اللبن التنظيف وتقسيمه إلى رتب مميزة استعمال العدسة العينية الخاصة المحتوية على دائرة وضبط الميكروسكوب بحيث يكون قطر الدائرة ١.٤ ميكرونا فيشتمل السنتيمتر المربع عندئذ على ٦٠٠ دائرة تقريبا ثم تعد البكتيريا في ٦ مجالات ويضرب متوسط العدد في ٦٠٠٠٠٠ فينتج العدد الكلي في السنتيمتر المكعب من العينة .

هذا ولما كانت نسبة العدد بطريقة الميكروسكوب إلى العدد بطريقة الأطباق هي كما قلنا من قبل ٤ : ١ فقد وضع التقسيم الآتي وهو شائع الاستعمال في أمريكا .

أ - إذا احتوت العينة على أقل من ٤ خلايا بكتيرية في ٦٠ مجالا أي بمعدل ١/٦ بكتيريا في المجال الواحد وهو ما يعادل أقل من ١٠٠٠٠ بكتيريا في السنتيمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة جيدة .

ب - إذا قل ما تحويه عن ٢٤ خلية في ٦٠ مجالا أي بمعدل ١/٢ بكتيريا في المجال الواحد وهو ما يعادل أقل من ٦٠٠٠٠ بكتيريا في السنتيمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة جيدة نوعا .

ح - إذا قل ما تحويه عن ٨٠ خلية في ٦٠ مجالا أي بمعدل ١/٣ بكتيريا في المجال الواحد وهو ما يعادل ما يقل عن ٢٠٠٠٠٠ بكتيريا في السنتيمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة متوسطة .

د — أما اذا احتوت العينة على أقل من ٨٠٠ خلية في ٦٠ مجالا أى بمتوسط ١٣٢ بكتريا في المجال الواحد وهو ما يعادل ١ — ٢ مليون في السنتيمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة رديئة.

ثالثا : طريقة فروست

تعرف هذه الطريقة أحيانا باسم « طريقة عد المجموعات بواسطة الميكروسكوب » (Microscopic colony count) وهى أحدث نسبيًا من طريقة الأطباق وتشبهها من أوجه كثيرة ، ويمكن بها تقدير عدد البكتريا الموجودة فى اللبن بانماثها على بيئة آجار وإحصاء المجموعات المتكونة بعد مضي بضع ساعات واستفاج العدد الكلى فى السنتيمتر المكعب من العينة وهى تختلف عن طريقة الأطباق فى أن كمية اللبن التى تستعمل فيها أصغر كثيرا نسبيا وأن المجموعات التى تتكون فى مدة قصيرة تحصى بواسطة الميكروسكوب.

(١) كيفية إجراء الاختبار

تلخص طريقة إجراء الاختبار فيما يلى :

يعمل مستطيل مساحته أربعة سنتيمترات مربعة على شريحة زجاجية وتعقم الشريحة بامرارها فى اللهب ثم تخرج العينة جيّدا ويؤخذ منها $\frac{1}{2}$ سنتيمتر مكعب بواسطة ماصة شعرية مضبوطة العيار ويصب اللبن على الشريحة فى داخل المستطيل قرب أحد جوانبه .

توضع الشريحة بعدئذ على لوح ساخن (Hot plate) حرارته ٤٥ سنتجرات ثم يصب $\frac{1}{2}$ سنتيمتر مكعب من آجار أذيب وبرد إلى درجة ٩٠ سنتجرات بالقرب من الجانب الآخر من المستطيل بعيداً عن اللبن. وأخيراً يمزج اللبن بالآجار بواسطة ابرة من الألومنيوم ذات عقدة (loop) وينشران فى طبقة منتظمة على المستطيل بحيث لا تتعدى حدوده .

ترفع الشريحة بعد ذلك من فوق اللوح الساخن ويترك المخلوط برهة لكى يتجمد ثم توضع الشريحة فى وعاء خاص مقفل يحتوى على ماء حتى يكون جوه رطبا (وهو يعرف باسم Moist chamber) ويوضع الوعاء المذكور فى محضن على درجة ٣٧ سنتجرات لمدة ٨ — ١٦ ساعة ثم تجفف الشريحة لمدة وجيزة على درجة ٩٥ سنتجرات وتثبت عليها البيئة بغمسها مدة دقيقتين فى سائل خاص (يتركب من ١٠ ٪ حامض الخليك فى كحول ٩٥ ٪) ونهائيا تصبغ إما بالكاربول ثيونين (Carbol thionin) أو بالفينوسافرانين (Pheno - safranin) أو بأزرق الميثيلين ($\frac{1}{2}$ قوة) لمدة دقيقة وتفحص تحت الميكروسكوب .

يحسب عدد البكتريا الكلى فى السنتيمتر المكعب من عينة اللبن بهذه الطريقة بتقدير مساحة مجال البصر الميكروسكوبى أولا مع استعمال عدسة شئية مرتفعة القوة (High power objective) قوة تكبيرها ٤٥ وعدة عينية (eye-piece) يفضل أن تكون قوة تكبيرها ١٠ ثم تعد المجموعات الموجودة فى خمسة مجالات على الأقل بنفس العدستين ويؤخذ متوسط العدد .

ولما كانت مساحة المستطيل معروفة فعند قسمتها على مساحة مجال البصر يذهب عدد المجالات فى المستطيل

ويضرب العدد الناتج في متوسط عدد المجموعات في مجال البصر الواحد وضرب الرقم الناتج في أربعة (لأن كمية اللبن المنشورة على المستطيل هي $\frac{1}{4}$ سنتيمتر مكعب) ينتج عدد البكتيريا في السنتيمتر المكعب من عينة اللبن.

وقد أدخل أحد الباحثين بعض تحسينات على هذه الطريقة بتعديل مساحة المستطيل وكمية اللبن التي تنشر عليه واستعمال غطاء زجاجي (Cover slip) مقسم كي يتسنى حساب عدد البكتيريا الكلي من عدد المجموعات التي توجد بعدة أقسام مباشرة.

(٢) مميزات الاختبار وهي:

- ١ — تمتاز هذه الطريقة بعدة ميزات أهمها التالية : —
أ — أنها سهلة الإجراء ويمكن الحصول على نتيجتها بسرعة إذا قورنت بطريقة الأطباق ، إذ أنها لا تحتاج الى أكثر من ١٦ ساعة كما ذكرنا .
 - ب . أنها أقل كلفة من الطريقة المذكورة نظراً لقلة المواد والأدوات التي تستعمل فيها وبساطة العمليات التي تتناولها .
 - ح — يمكن حفظ الشريحة المحضرة واعتبارها سجلاً دائماً .
 - د — يستعمل فيها كمية من اللبن أكبر من الكمية المستعملة في طريقة الميكروسكوب المباشرة .
 - هـ — لا تظهر على الآجار فيها مجموعات منتشرة (Spreading) كاتى تشاهد أحياناً على الأطباق ويتسبب عن وجودها عدم إمكان عد المجموعات الأخرى بدقة .
 - و — أن اللبن لا يخفف في هذه الطريقة ولذا يستبعد الخطأ الناتج من عدم دقة هذه العملية .
- أما ما يؤخذ على هذا الاختبار فأهمه أن كمية اللبن المستعملة فيها على العموم صغيرة لا تمثل تماماً جميع اللبن المراد اختباره .

رابعاً — طريقة بوري

استنبطت هذه الطريقة منذ سنوات قلائل وهي تعرف أحياناً باسم د طريقة عد المجموعات على سطح الآجار المائل ، (Smear Count) وهي تشبه كذلك طريقة الأطباق من عدة وجوه غير أنه يستعمل فيها الآجار المائل في الأنابيب بدلاً من الأطباق ولا يلزم لإجرائها من الأدوات غير أنابيب الآجار واية خاصة من الألومنيوم طرفها مستدير بشكل عروة أو عقدة (loop) تسع بـ ١٠ من السنتيمتر المكعب من اللبن .

١ — كيفية إجراء الاختبار

تلخص طريقة إجراء الاختبار فيما يلي : —
بعد تحضير البيئة كالنظام المذكور تحت طريقة الأطباق وتعبئتها في الأنابيب بنسبة أربعة سنتيمترات

مكعبة في كل أنبوبة وسدها وتعقيمها في الاوتوكلاف تجمد في وضع مائل ويخفف الآجار بوضع الانابيب في المحضن على درجة ٣٧ ستجراد لمدة ٣ — ٤ أيام .

غند ابتداء الاختبار ترج عينة اللبن في الزجاجاة الخاصة بها جيداً وتعقم الابرة الالومنيوم في اللهب ثم ينقل لها من العينة ملء خمس عقد (loopfuls) إلى أنبوبة الآجار ويراعى ضبط كمية اللبن التي تنقل في العقدة وذلك بأن تمسك الابرة رأسية في كل مرة عند غمسها في اللبن وإخراجها منه ثم تشر محتوياتها بانتظام على سطح الآجار المائل وأخيراً تسحب دون تعقيمها على سطح الآجار في أنبوبة ثانية .

توضع الانبوتان بعد تلقيحهما في المحضن على درجة ٣٧ ستجراد لمدة ٤٨ ساعة وتحصى المجموعات التي ظهرت على سطحيهما بواسطة عدسة يدوية ويضرب عددها في ٢٠٠ فينتج عدد البكتريا الكلى في السنتمتر المكعب من العينة الاصلية .

ومع أن هذه الطريقة تناسب في الغالب فحص الالبان النظيفة أى التي لا تحتوى على عدد كبير من البكتريا إلا أنها قد تستعمل في إختبار الالبان الشديدة التلوث بالبكتريا بعد تخفيف عينة اللبن بالماء على النحو المذكور في طريقة الاطباق وينقل اللبن المخفف الى أنابيب الآجار بواسطة عقدة الابرة الالومنيوم حسب النظام المشروح آنفا .

٢ — ميزات الاختبار وعيوبه .

من أهم ميزات طريقة بورى الآتية : —

ا — سهولة الاجراء .

ب — قلة المواد والادوات والعمليات التي يقتضيها إجراؤها وانخفاض نفقات فحص العينة تبعاً لذلك .

ج — عدم ضرورة إجرائها في معمل الفحص بل يمكن تلقيح الالبان في المكان الذي تؤخذ منه العينة مباشرة كافرز الاستلام أو قاعة التعقيم الخ .

أما عيوبها فأهمها : —

ا — أن نتائجها ليست من الدقة بدرجة نتائج طريقة الاطباق نظراً لأن كمية اللبن التي تختبر فيها صغيرة جداً ولذلك فهي لا تمثل تماماً جميع اللبن المراد اختبارها .

ب — تعذر ضبط كمية اللبن التي تنقل الى الانابيب بواسطة عقدة الابرة الالومنيوم التي لا تزيد سعتها عن مليمتر مكعب واحد ومن هذا فان استعمال الماصة كالنظام المتبع في طريقة الاطباق يفضل كثيراً استعمال الابرة في الغرض المذكور .

ج — ان نمو البكتريا في البيئة عند خلطها باللبن (كما هو المتبع في طريقة الاطباق) أفضل منه في حالة نشرها على سطح الآجار الجاف نسبياً في الانابيب .

وعلى العموم فان هاتين الطريقتين غير شائعتي الاستعمال في معامل الفحص كطريقتي الاطباق والميكروسكوب المباشرة .