

الباب الثاني والعشرون

اختبارات وجود الميكروبات المتأونة لغازات

في اللبن

الغرض من هذه الاختبارات هو الوقوف على نسبة وجود البكتيريا التي تخمر اللاكتوز (سكر اللبن) وتنتج أحماضاً وغازات في اللبن. هذه البكتيريا تنتمي إلى طائفة خاصة من الميكروبات تعرف باسم طائفة القولون (Colon or Coli - aerogenes group) وأهمها النوع الذي يميز باسم بكتريم أو باسلس أو اسشريشيا كولاي (Bacterium or Bacillus or Escherichia coli) أو المعروف غالباً باسم باسلس القولون.

وتنتقل ميكروبات القولون إلى اللبن - كما ذكرنا من قبل - من مصادر شتى كروث الماشية والسماد والغبار والأفذار الأخرى وكذا الماء الملوث وكثيراً ما توجد بالآواني غير تامة التعقيم كآنية الحليب والمصفاة والمبرد وصفائح النقل إلى آخره، لذلك فإن ارتفاع نسبتها في اللبن يدل على كثرة تلوثه بالمواد المذكورة وعدم العناية بنظافة آواني اللبن وأدواته ومن ثم نتخذ نتيجة هذه الاختبارات على وجه العموم مقياساً لمبلغ العناية التي روعيت في إنتاج اللبن ومعاملته.

وفضلاً عما ذكر فإن كثرة وجود باسلس القولون، الذي يعيش دائماً بالأمعاء، في اللبن منتقلاً إليه من الروث والسماد يعتبر تلوثاً غير مرغوب فيه إلى حد كبير إن لم يكن خطراً بالفعل لأن بعض الميكروبات المرضية التي تصيب الإنسان تعيش أحياناً في أمعاء الحيوانات ولذلك يحتمل انتقالها إلى اللبن كذلك من نفس هذه المصادر.

هذا ولا يغيب عن البال أن شدة تلوث اللبن بميكروبات القولون يؤدي إلى أضرار اقتصادية، لأن هذه الميكروبات كما ذكرنا تحلل اللاكتوز وتسبب سرعة حموضة اللبن وتكون فيه غازات كثيرة، وعلى وجه الإجمال تحدث تغيرات غير مرغوب فيها تضر بطعم اللبن ورائحته. واللبن الذي ترتفع فيه نسبة ميكروبات القولون لا يمكن حفظه مدة طويلة كما أنه لا يصلح تماماً لصنع أنواع جيدة من الجبن والزبد.

ومع أن معظم ميكروبات القولون تقتل بعملية البسترة إلا أن بعض الأنواع التي تنتمي لهذه الطائفة مقاومة للحرارة فلا تهلك تماماً بالعملية المذكورة ولو أن عددها ينخفض كثيراً فإذا ما وجد أن اللبن خالي من ميكروبات القولون عقب البسترة مباشرة كان ذلك دليلاً على دقة العملية وعلى نقاوة اللبن وخلوه تماماً

من الميكروبات المرضية . أما إذا وجدت هذه الميكروبات بوفرة في اللبن المبستر حديثاً أصبح من الضروري توجيه عناية فائقة لضبط العملية ومنع تلوث اللبن عقب بسترته .

ولما كان اللبن من أصلح البيئات لنمو ميكروبات القولون فإن حفظ العينة قبل اختبارها مدة تزيد عن أربع ساعات على درجة الحرارة العادية أو المرتفعة نوعاً يشجع نمو هذه الميكروبات فتكاثر فيه بسرعة ولذلك لا تكون النتائج المتحصل عليها من اختبار مثل هذه العينة صحيحة ولا يجب أن يعتد بها لأنه لا يمكن معرفة نسبة الميكروبات التي وصلت إلى اللبن أثناء الإنتاج من التي تكاثرت فيه أثناء الحفظ ومن هنا ترى أهمية العناية بتبريد عينات اللبن وحفظها على أقل درجة حرارة ممكنة إلى أن يحين وقت فحصها .

ويجرى اختبار وجود ميكروبات القولون في اللبن عادة بطريقة التخفيف (dilution method) وهذه الطريقة تلخص في تلقى بيئة سائلة تناسب نمو تلك الميكروبات بمقادير معلومة من عينة اللبن المراد اختبارها بعد تخفيفها ثم تحفظ على درجة حرارة خاصة مدة معينة من الزمن يستدل بعدها على نسبة وجود الميكروبات المذكورة في العينة من ظهور الحامض والغاز بالبيئة الملقحة .

١ - الأدوات اللازمة للاختبار

أهم الأدوات اللازمة لاجراء هذا الاختبار هي :

١ - أنابيب التخفيف : تستعمل لهذا الغرض أنابيب بالمقاس المذكور في الكلام عن طريقة الإطباق ويحضر السائل المستخدم في التخفيف ويعبأ في الأنابيب بنسبة تسعة ستمترات مكعبة في كل أنبوبة وتسد الأنابيب وتعقم كما هو مبين في تلك الطريقة .

ب - ماصات سعة ستمتر مكعب واحد : ينطبق على الماصات المستعملة هنا الوصف الذي أتينا عليه كذلك في طريقة الإطباق .

ج - أنابيب بيئة ماكونكي : مطابقة في مقاسها لأنابيب الآجار المذكورة في طريقة الإطباق إلا أن كلا منها تحتوي على أنبوبة زجاجية صغيرة أحد طرفيها مقفل وتعرف باسم « أنبوبة درهام الاختيارية » (Durham fermentation tube) ويفضل أن يكون قطرها $\frac{3}{8}$ بوصة .

٢ - تركيب ونحضير البيئة المستعملة في الاختبار

يستعمل في هذا الاختبار بيئة سائلة إذ لا توجد بيئة صلبة مناسبة تسمح بنمو ميكروبات القولون دون غيرها . وقد وجد أن أنسب بيئة هي مرق ماكونكي (Mac Conkey broth) وهذه تحتوي على اللاكتوز الذي يمكن لهذه الميكروبات تخميره وكذلك على ملح الصفراء (bile salt) وهي مادة تشجع نموها وتثبط في الوقت ذاته نمو الميكروبات الأخرى وتعرف هذه البيئة أحياناً باسم بيئة ملح الصفراء اللكتوزي الببتوني (bile salt lactose peptone medium) وفيما يلي تركيبها وطريقة تحضيرها :

٥ جرامات توروكولات الصوديوم (ملح الصفراء)

١٠ " لاكتوز (سكر اللبن) .

٢٠ جرام بيتون .

٥ جرامات كلورور الصوديوم (ملح الطعام) .

١٠٠٠ سم^٣ ماء مقطر .

يحمز أحيانا التركيب السابق باستعمال ماء الصنبور بدلا من الماء المقطر ولا يضاف للبيئة عندئذ ملح الطعام كما تخفّض في بعض الأحوال كمية اللاكتوز إلى خمسة جرامات بدلا من عشرة .

وقبل أن يبدأ بتحضير البيئة يجهز عدد من أنابيب الاختيار النظيفة بمعدل ١٥٠ — ١٦٠ أنبوبة لكل لتر من البيئة ويوضع في كل منها أنبوبة الاختيار الصغيرة بحيث تتجه فتحها إلى أسفل .

توضع جميع المواد التي تتألف منها البيئة معا في الوعاء المزود الجدران وتسخن بالبخار حتى تذوب المواد الصلبة تماما وهذه العملية تستغرق نحو ساعة (يفضل أحيانا خلط المواد في قئينة وتسخينها في المعقم بالبخار (Steamer) لمدة ساعة) ثم يضبط تأثير البيئة إلى رقم $pH 7.4$ بنفس الطريقة التي أتينا على وصفها في تحضير الآجار ولكن مع استعمال دليل حمرة الفينول (أو الفينول الأحمر Phenol Red) (ويستحسن البعض ضبط تأثير البيئة إلى نقطة التعادل $pH 7$) وبعدئذ يرشح المرق في ورق ترشيح أوفى قطن ماص بواسطة قمع زجاجي ويضاف إليه عشرة سنتيمترات مكعبة من دليل اندراى (andrade's indicator) أو من محلول عباد الشمس (Litmus Solution) أو ١٪ من محلول مائى للحمرة المتعادلة (Neutral red) أو غيره من الأدلة الأخرى المناسبة .

تدخل أحيانا بعض تحورات بسيطة على الطريقة السابقة منها إعادة تسخين البيئة بالبخار لمدة ساعة بعد ضبط تأثيرها لترسيب الفوسفات الغير الذائبة قبل الترشيح ومنها أيضا عدم اضافة اللاكتوز إلى بقية المواد عقب الترشيح حتى لا يتأثر بالتسخين .

يعبأ المرق بعدئذ في أنابيب الاختبار بنسبة ٥ — ٦ سم^٣ لكل أنبوبة ثم تسد الأنابيب بالقطن وتعقم إما في الأوتوكلاف لمدة ربع ساعة تحت ضغط عشرة أرطال للبوصة المربعة أو بالطريقة المتقطعة أى لمدة ٢٠ دقيقة على درجة ١٠٠ سنتجراد في ثلاثة أيام متعاقبة . وينبغي أن تكون البيئة في النهاية رائقة تماما . ويلاحظ عند تعبئة البيئة في الأنابيب أن أنابيب الاختبار تطفو على سطح السائل بتأثير ما تحويه من الهواء ولسكتها تعود فتغوص إلى القاع عندما يفرغ منها الهواء أثناء عملية التعقيم .

يستحسن اختبار البيئة للتحقق من دقة تعقيمها وذلك بانتخاب عدة أنابيب ووضعها في المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٥ — ٧ أيام فإذا لم يحدث بها تغيير ما كانت صالحة للاستعمال . يحضر دليل اندراى بالطريقة الآتية :

٥٠٠ سم^٣ ١٪ محلول مائى للفوكسين الحضى

نحو ١٠ سم^٣ محلول أساسى من أيدرات الصوديوم .

يضاف محلول الصودا إلى محلول الفوكسين حتى يصير شفافا فيترك لمدة ٢٤ ساعة ثم يرشح .
أما أنابيب التخفيف فتحضر بنفس الكيفية التي ذكرت في الكلام عن طريقة الاطباق ويستعمل في
التخفيف الماء المقطر (الذي أجرى تقطيره في زجاج) أو ماء الصنبور (إذا ثبت خلوه من المواد السامة
للبكتريا) أو يستعمل المحلول الملحي أو محلول رنجر .

٣- كيفية إجراء الاختبار

توضع ثلاث أنابيب تخفيف تحتوي كل منها على ٩ سم^٣ من الماء المعقم على حامل كما توضع ثمان أنابيب
محتوية على بيئة ما كونيكي على حامل آخر مزدوج كل اثنتين منها متقابلتان .

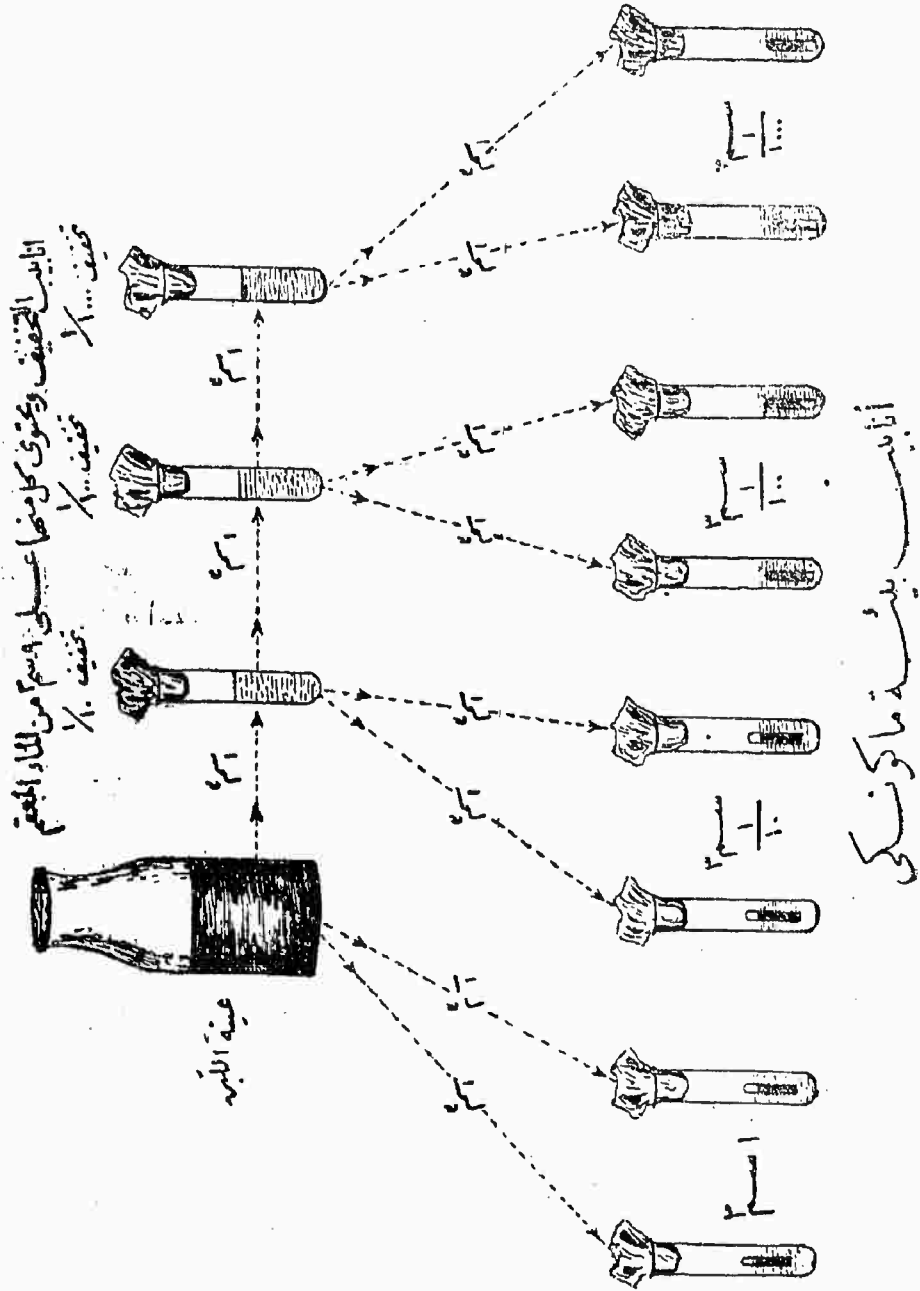
تخلط عينة اللبن جيدا ثم ينقل منها ١ سم^٣ بواسطة ماصة معقمة إلى أنبوبة التخفيف الأولى (مع إتخاذ
جميع الاحتياطات التي تكفل عدم تلوث العينة أو ماء التخفيف أو الماصة بميكروبات الهواء أثناء هذه
العملية أو العمليات التالية) وبذا يحضر تخفيف $\frac{1}{10}$ ثم ينقل ١ سم^٣ من أنبوبة التخفيف الأولى بعد مزج
محتوياتها جيدا بواسطة ماصة أخرى معقمة إلى أنبوبة التخفيف الثانية فيجبر بذلك تخفيف $\frac{1}{100}$ وأخيرا
يحضر من هذه الأنبوبة تخفيف $\frac{1}{1000}$ بنفس الطريقة . ثم يؤخذ بواسطة ماصة معقمة لم يسبق استعمالها
سنتيمترا مكعبا من كل تخفيف وتلقح به كل من أنبوتين من أنابيب بيئة ما كونيكي الثمان ابتداء من التخفيف
الأخير ($\frac{1}{1000}$) وانتهاء إلى التخفيف الأول ($\frac{1}{10}$) ثم تلقح كل من أنبوتين ما كونيكي الباقيتين بسنتيمتر
مكعب من عينة اللبن بواسطة نفس الماصة .

وهناك طريقة أخرى يفضلها البعض ويعتبرها أدق من السابقة وفيها يجري التخفيف وتلقيح أنابيب
ما كونيكي في وقت واحد وهي تلخص فيما يلي :

ينقل بماصة معقمة ١ سم^٣ من عينة اللبن إلى أنبوبة التخفيف الأولى (تخفيف $\frac{1}{10}$) ثم ينقل بنفس
الماصة سنتيمتر مكعب من العينة إلى كل من أنبوتين ما كونيكي (وترقم كل منهما برقم ١ سم^٣) .
تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الأولى بماصة أخرى معقمة وذلك بمص السائل منها واعادته بالنفخ
بضع مرات على النحو الذي بسطناه في الكلام عن طريقة الاطباق ثم ينقل منها بتلك الماصة ١ سم^٣ إلى
أنبوبة التخفيف الثانية (تخفيف $\frac{1}{100}$) و ١ سم^٣ آخر إلى كل من أنبوتين ما كونيكي (يرقن برقم
 $\frac{1}{1000}$ سم^٣) ثم تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الثانية بماصة مائلة معقمة وينقل منها بنفس الماصة ١ سم^٣
إلى أنبوبة التخفيف الثالثة (تخفيف $\frac{1}{1000}$) و ١ سم^٣ إلى كل من أنبوتين ما كونيكي (ويرقن برقم
 $\frac{1}{1000000}$ سم^٣) وأخيرا تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الثالثة بماصة معقمة رابعة وينقل منها بالماصة ذاتها
١ سم^٣ إلى كل من أنبوتين ما كونيكي الأخيرتين (يرقن برقم $\frac{1}{100000000}$ سم^٣) والشكل ٤٤ يوضح كيفية
إجراء التخفيف والتلقيح

وعندما يراد زيادة الدقة في فحص العينة تضاف إلى سلسلة أنابيب ما كونيكي السالفة الذكر أنبوتان

تحويان بـ ٣ سم من عينة اللبن وأنبوبتان أخرتان تحويان بـ ٣ سم من العينة وتلقح هذه الأنابيب بنفس الطريقة التي لقحت بها الأنابيب الآتية الذكر، كما يلقح أحيانا من كل تخفيف عدد أكبر من أنابيب ما كونكي قد يصل في بعض الأحوال الى ستة أنابيب تحفظ أنابيب ما كونكي عقب تلقيحها وتمييزها بعلامات على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة أو ٧٢ ساعة ثم تختبر لوجود الحامض والغاز فيستدل على انتاج الحامض من تغير لون البيئة الى اللون الاحمر



(شكل ٤٤)

طريقة اجراء التخفيف وتلقيح بيئة ما كونكي في اختبار نسبة البكتريا المسكونة لغازات

(وذلك في وجود دليل اندرادي) ويشاهد الغاز الناتج مجتمعاً في أنبوبة الاختبار الصغيرة على أن النتيجة لا تعتبر إيجابية إلا إذا كان الغاز المتجمع في الأنبوبة يزيد عن ١٠ ٪ من حجمها وعند تدوين نتيجة الاختبار يذكر المقدار الأقل من اللبن الذي يتكون منه حامض وغاز ويذكر إذا كان انتاجهما في أنبوبة واحدة أو في الأنبوبتين فإذا ظهر الحامض والغاز مثلاً في أنبوبة بـ ١١ يذكر أن ميكروبات القولون موجودة في بـ ٣ سم ولكنها غير موجودة في بـ ٣ سم وهذا يعني أنه يوجد على الأقل ١٠٠ ميكروب من ميكروبات القولون في السنتيمتر المكعب من عينة اللبن

٤ - كيفية التحقق من وجود ميكروبات القولون بالعينة

يعرف عادة الاختبار السابق وصفه باسم الاختبار التخميني أو الاحتمالي (Presumptive test) لأن إنتاج الحامض والغاز في أنابيب بيئة ما كونكي لا يعتبر دليلاً قاطعاً على وجود ميكروبات القولون فيها إذ أنه توجد أحياناً ميكروبات أخرى تحدث مثل هذا التفاعل ولذلك إذا أريد التحقق من وجود ميكروبات القولون وعلى الاختصاص بكتريم كولاى فيجب إجراء اختبار آخر ثانوى تزرع فيه الميكروبات التي أحدثت التفاعل وتفصل على بيئة مناسبة وتميز أنواعها

ولكى يكون هذا الاختبار وافيًا بالغرض المقصود منه ينبغي أن يجرى مباشرة عقب ظهور نتيجة الاختبار الأول وتلخص طريقة إجرائه فيما يلي :

تختب الأنابيب التي كانت تحتوى على أقل مقدار من عينة اللبن وظهر بها الحامض والغاز (أى التي لقحت من أعلى تخفيف) وينقل منها بأبرة التطعيم ذات العقدة نفقطان أو ثلاث إلى أنبوبة آجار ما كونكي بعد تسييحها وتبريدها إلى درجة ٥٠ سنتجراد ثم تمزج محتويات تلك الأنبوبة جيداً وينقل منها نقطتان إلى أنبوبة ثانية بنفس الطريقة وتصب كل من الأنبوبتين في طبق بترى معقم وتحفظ على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة ثم تلتقط المجموعات المنفصلة التي تظهر على الأطباق بأبرة وتزرع إما في أنابيب المرق المغذى أو في أنابيب آجار ما كونكي المائل (Slopes) وهذه تحفظ على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة وبعدئذ تحضر منها شرائح وتصبغ بطريقة جرام (Gram's method) وتتمحن لوجود ميكروبات عسوية قصيرة غير متجزمة سلبية التلوين لصبغة جرام وتنقى جملة مرات وتقارن صفاتها بصفات ميكروبات القولون كما تزرع مرة أخرى في مرق ما كونكي لاختبار قدرتها على تكوين الحامض والغاز .

وتميز مجموعات كولاى (التي توجد بعدد كبير في الأمعاء وتنقل إلى اللبن رئيسياً من الروث) من مجموعات بكتريم أو إيروبا كتر إيروجنيس (Bacterium or aerobacter aerogenes) (التي توجد بقلّة في الأمعاء ويكثر وجودها في التربة والماء والغبار وغذاء الحيوانات) بأن الأولى مسطحة ومنتشرة نوعاً (Slightly spreading) ومبيضة أو مائلة إلى الاصفرار أولاً ثم تتلون بلون بني متسخ (dirty brown) أما الثانية فأكبر حجماً من الأولى عادة ومرتفعة وغير منتشرة وبيضاء اللون أو مائلة إلى اللون الرمادى ورطبة ولا معة .

ويتألف آجار ما كونسكى الذى يجرى فيه هذا الاختبار من المواد التى ذكرت فى تركيب مرق ما كونسكى بنفس الكميات ولكن يضاف إليها الآجار الخيطى بنسبة ٢ ٪ بعد غسله جيداً ويراعى الأيضاف اللاكتوز والدليل إلى البيئة إلا بعد ضبط تأثيرها وترشيحها . والدليل المستعمل غالباً فى حالة آجار ما كونسكى هو دليل الحمرة المتعادلة (neutral red) فيعمل منه محلول مائى (١ ٪) ويضاف منه إلى البيئة . سم^٣ لكل لتر وهو يمتاز على دليل اندرادى بأنه يساعد على تثبيط نمو الميكروبات التى لا تدخل ضمن مجموعة القولون .

• • •

وقبل أن نختم الكلام عن هذا الاختبار يجدر القول بأن نتيجته الإيجابية تدل عموماً على خطأ الطرق المتبعة فى إنتاج اللبن ومعاملته سواء باسطبيل الحليب أو بعمل اللبن وأن عدم ظهور ميكروبات القولون فى مقدار ١ سم^٣ من عينة اللبن تدل على الدقة فى مراعاة الاشتراطات الصحية فى الإنتاج والمعاملة . ومن أهم ما يعاب على هذا الاختبار عدم إمكان الاعتماد عليه فى سرعة استبعاد عينات اللبن الرديئة قبل استعمالها إذ يستلزم الوصول إلى نتيجته ، كما تبين مما سبق ، انقضاء يومين أو أكثر مثله فى ذلك مثل اختبار عد البكتريا فى اللبن بطريقة الأطباق . ومن ميزات هذا الاختبار إمكان أجرائه بسهولة فى نفس الوقت الذى يجرى فيه عد البكتريا بطريقة الأطباق وزيادة فى الفائدة ستورد هنا كيفية إجراء الاختبارين معاً .

٥ — إجراء اختبار البكتريا الملوثة للغازات

مع عد البكتريا بطريقة الأطباق

تشير الهيئات الصحية الانجليزية وتقوم معامل فحص اللبن بالفعل بإجراء اختبار نسبة البكتريا المكونة للغازات فى نفس الوقت الذى يجرى فيه عد البكتريا بطريقة الأطباق وهذا يؤدى من غير شك إلى اختصار فى الوقت واقتصاد فى المواد والأدوات لأنه لا يلزم فى مثل هذه الحالة غير سلسلة واحدة من أنابيب التخفيف للاختبارين مجتمعين .

فإذا أريد اختبار إحدى عينات اللبن التجارية وكان فى النية تخفيفها إلى ١:١٠٠ مثلاً فيلزم إعداد الأذوات الآتية :

عدد

٥ أنابيب تخفيف

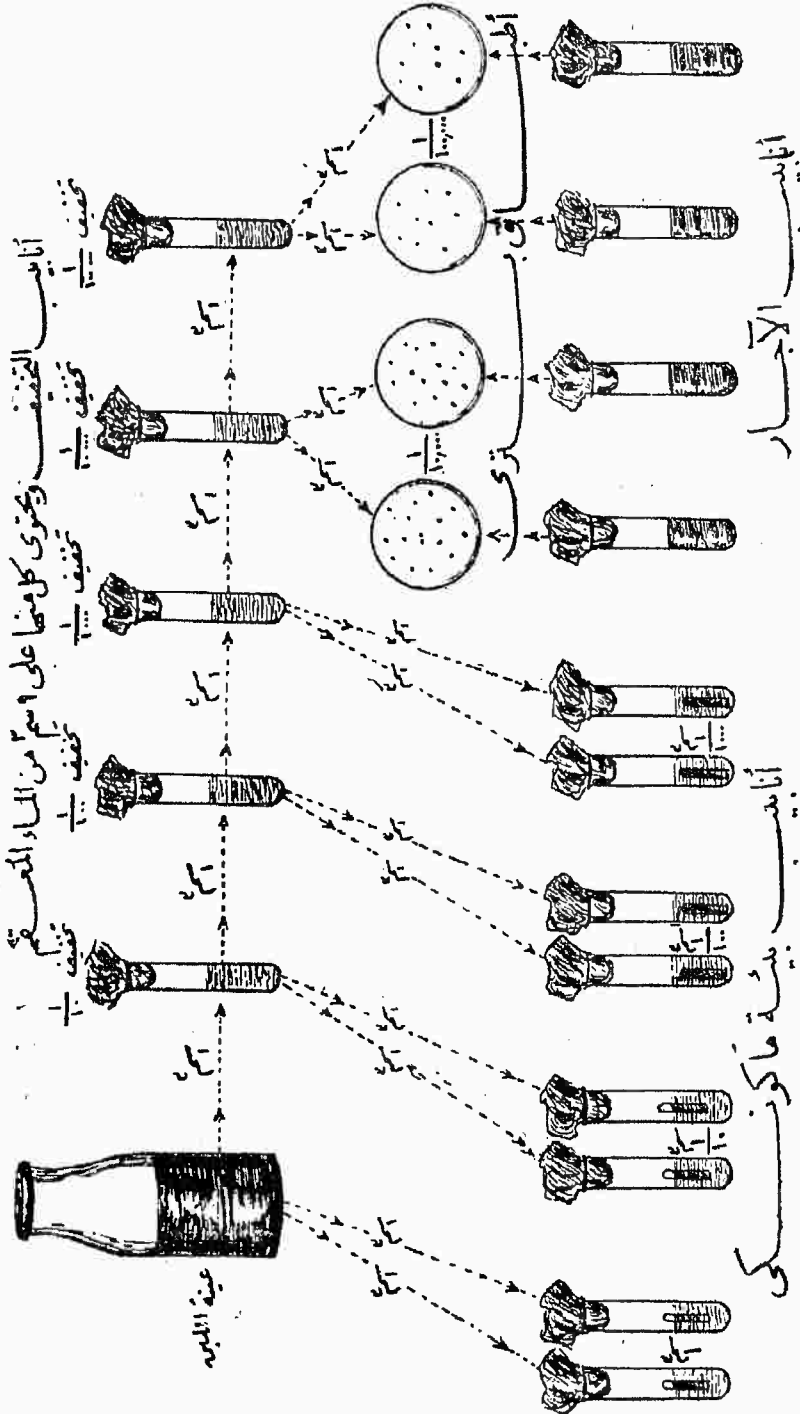
٦ ماصات سعة ١ سم^٣

٤ أطباق بترى

٤ أنابيب آجار

٨ أنابيب مرق ما كونسكى

ترج عينة اللبن في الزجاجه جيداً كما أوضحنا من قبل وينقل منها بماصة معقمة ١ سم^٣ إلى أنبوبة التخفيف الأولى (ترقيم ١) مع مراعاة جميع الاشتراطات التي تضمن عدم تلوث العينة والماصة وماء التخفيف (ثم ينقل بنفس الماصة ١ سم^٣ إلى كل من أنبوتي ماكونكي (ترقان ١ سم^٣) .



(شكل ٤٥)

كيفية اجراء اختبار عد البكتريا بطريقة الاطباقي ونسبة الميكروبات المكونة لغازات في نفس الرقت

تؤخذ ماصة أخرى معقمة وتمزج بواسطتها محتويات أنبوبة التخفيف الأولى ثم ينقل منها ١ سم^٣ إلى أنبوبة التخفيف الثانية (ترقم بـ ١) وكذلك ١ سم^٣ إلى كل من أنبوتي ما كونيكي (ترقان بـ ١ سم^٣) .
تؤخذ ماصة ثالثة معقمة وتمزج بها محتويات أنبوبة التخفيف الثانية ثم ينقل منها ١ سم^٣ إلى أنبوبة التخفيف الثالثة (ترقم بـ ١) كما ينقل بنفس الماصة ١ سم^٣ إلى أنبوتي ما كونيكي (ترقان بـ ١ سم^٣)
تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الثالثة بماصة رابعة معقمة ثم ينقل بها من تلك الأنبوبة ١ سم^٣ إلى أنبوبة التخفيف الرابعة (ترقم بـ ١) وكذلك ينقل ١ سم^٣ إلى كل من أنبوتي ما كونيكي (ترقان بـ ١ سم^٣) .

تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الرابعة بماصة خامسة معقمة ثم ينقل بواسطتها من الأنبوبة المذكورة ١ سم^٣ إلى أنبوبة التخفيف الخامسة (ترقم بـ ١) وكذا ١ سم^٣ إلى كل من طبقى بترى (يرقان بـ ١ سم^٣) .
وأخيرا تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الخامسة بماصة سادسة معقمة وينقل منها ١ سم^٣ إلى كل من طبقى بترى آخرين (يرقان بـ ١ سم^٣) .

تسخن أنابيب الآجار الاربع في حمام مائى إلى درجة ١٠٠ ستجrad ثم تبرد إلى درجة ٥٠ ستجrad .
وتصب محتويات كل منها فى أحد أطباق بترى الاربعة وتخلط جيدا باللبن المخفف الذى يحويه وبعد أن يتجمد الآجار على سطح مستو تقلب الاطباق وتوضع مع انابيب ما كونيكي على درجة ٣٧ ستجrad لمدة ٤٨ ساعة (انظر شكل ٤٥)

٦ - الحكم على درجة نقاوة اللبن من نتيجة هذا الاختبار

ينص دائما فى الاشتراطات الخاصة بنظافة انتاج اللبن على وجوب الاهتمام بنتيجة اختبار ميكروبات القولون فى قياس النقاوة البكتريولوجية لعينات اللبن وتعتبر عادة عينات اللبن التى لا تحتوى على ميكروبات القولون فى ١ سم^٣ جيدة إلا أنه لما كان من الصعب إنتاج اللبن الخام خاليا من هذه الميكروبات تماما فإن العينات تعتبر على وجه العموم مرضية إذا لم تحتو على ميكروبات القولون فى ١ سم^٣ ومتوسطه إذا لم توجد بها تلك الميكروبات فى ١ سم^٣ ودون المتوسطه إذا لم توجد فى ١ سم^٣ ولكنها تعتبر رديئة إذا ظهر الحامض والغاز فى الأنابيب التى تحتوى على المقدار الأخير .

الباب الثالث والعشرون

اختبار اللبن بالطرق البسيطة

يتناول الكلام في هذا الباب شرح طرق فحص اللبن بواسطة الاختبارات البسيطة التي لا يقضى اجراؤها بدقة وعناية فائقتين والتي يقصد منها الحكم بسهولة على نوع اللبن ومقدار نقاوته من الوجهة البكتريولوجية. أغلب هذه الاختبارات سريعة الاجراء وتعرف نتائجها بعد مدة قصيرة بعكس بعض الاختبارات السابق شرحها ، ولذلك يمكن الاعتماد عليها في سرعة استبعاد العينات الرديئة من بين الألبان التي ترد إلى المعمل قبل استعمالها . وهي علاوة على ماتقدم قليلة النفقات ولذا يتيسر اجراؤها بسهولة في معامل الألبان الصغيرة حيث لا توجد الوسائل الكافية لفحص اللبن بكتريولوجيا بالطرق السابقة الذكر كما أنه يمكن للشخص الذكي ، مع اتخاذ احتياطات بسيطة القيام بهذه الاختبارات حتى ولو لم يكن ذا خبرة وافية بالأعمال البكتريولوجية. وسنشرح فيما يلي كيفية إجراء الاختبارات المذكورة

أولاً : اختبار اختزال أزرق الميثيلين

Methylene Blue Reduction Test

يقصر على تعريف هذا الاختبار غالباً باسم اختبار الاختزال ويسمى أحياناً باسم اختبار أوردكتاز (Reductase test) وهو شائع الاستعمال في البلدان الأوروبية منذ سنين كثيرة وينتشر استعماله بسرعة في إنجلترا والولايات المتحدة الأمريكية سنة بعد أخرى .

والمقصود من هذا الاختبار هو الوقوف على نوع اللبن بتقدير الوقت اللازم لاختفاء اللون الناتج عن إضافة كمية معينة من صبغة أزرق الميثيلين إلى مقدار خاص من اللبن حفظ على درجة حرارة ثابتة .

وقد استعملت طريقة قياس اللون (Colorimetric method) منذ أمد غير قصير للملاحظة قدرة السوائل الحيوية على الأكسدة والاختزال وذلك بواسطة صبغات يختلف لونها حسبما يكون الوسط مؤكسداً أو مختزلاً ، ووجد أن الصبغة الأكثر ملاءمة للاستعمال في حالة اللبن هي أزرق الميثيلين حيث أن الميكروبات الموجودة عادة في أنواع اللبن التجارية ينشأ عنها قدرة اختزال كافية لتغيير لون كمية معينة من هذه الصبغة . ويرجع فعل الميكروبات إلى امتصاص الأكسجين الذائب في اللبن بحيث يتسنى للعوامل المختزلة الطبيعية فيه تأدية عملها ، فضلاً عن كون الميكروبات نفسها تنتج بعض مواد ذات خواص مختزلة .

وقد وجد أن سرعة اختفاء زرق الميثيلين في اللبن لا تتوقف على عدد ما فيه من ميكروبات لحسب بل أنها تتوقف كذلك على أنواعها ومقدار نشاطها فقد اتضح من التجارب أن أنواع البكتيريا المختلفة لا تختزل أزرق الميثيلين بسرعة واحدة كما أن حفظ عينة اللبن على درجات الحرارة الملائمة يزيد نشاط البكتيريا ويسرع تكاثرها مما يؤدي إلى سرعة الاختزال ، ولذلك لا ينبغي اعتبار مدة الاختزال مقياسا دقيقا لعدد الميكروبات التي يحويها اللبن ولو أنه يمكن القول عموما إنه كلما كبر عدد الميكروبات الحية التي تحويها عينة اللبن كلما قصر الوقت اللازم لاختزال صبغة أزرق الميثيلين .

وبفضل استعمال أزرق الميثيلين على غيره من الصبغات في هذا الغرض لأن أغلب الصبغات الأخرى إما أن تختزل بسرعة زائدة أو ببطء شديد بحيث يتعذر تعيين مدة الاختزال وبالتالي الحكم على نوع اللبن بدقة كافية ، كما أن صبغة أزرق الميثيلين بالتركيز المستعمل تكسب اللبن لونا واضحا يسهل بواسطته تعيين النقطة التي تختزل عندها الصبغة المذكورة بسهولة ، علاوة على أن المقدار المستعمل منها في هذا الاختبار لا يعتبر ضارا بالبكتيريا .

الطريقة القمرية :

يستعمل في قياس اللبن مخبر مدرج نظيف غير معقم ويكفي غسلة بعينة اللبن المراد اختبارها مرة أو مرتين قبل استعماله ثم يؤخذ به أربعون سنتمتر مكعبا من عينة اللبن وتوضع في أنبوبة غليان معقمة مسدودة بغطاء قطني ثم يضاف إليها سنتمتر مكعب من محلول أزرق الميثيلين المخفف بواسطة ماصة معقمة وتخلط الصبغة باللبن جيدا ويحفظ المخلوط على درجة ٣٧° سنتجراد في محضن أو في حمام مائي ويفحص بين حين وآخر وتدون مدة الاختزال (أي الوقت الذي يمضي بين خلط الصبغة باللبن واختفاء لونها منه) .

ويتركب محلول أزرق الميثيلين المستعمل كما يأتي : —

٥ سم^٣ محلول كحول مشبع لصبغة أزرق الميثيلين .

١٩٥ « ماء مقطر

يفسد هذا المحلول بسرعة ولذا يلزم تغييره بمحلول جديد إذا مضى عليه أكثر من أسبوع .

الطريقة الحمرية :

أجريت تجارب كثيرة على الطريقة المتقدم ذكرها ثبت منها عدم دقة نتائجها ووجد أخيرا أن السبب الرئيسي في ذلك يرجع إلى عدم انتظام توزيع حبيبات الدهن والميكروبات باللبن أثناء مدة الاختبار عندما يترك اللبن مدة من الزمن دون رج أو اهتزاز ترتفع حبيبات الدهن حاملة معها بعض البكتيريا وتجمع على السطح فتطول مدة الاختزال وتتأثر نتيجة الاختبار النهائية تبعا لذلك . وقد اتجهت عناية بعض الباحثين في السنوات الأخيرة إلى إدخال بعض تحسينات على الطريقة القديمة لتلافي عيوبها وكان من نتيجة ذلك أن وضعت طريقة حديثة تشمل بعض تحويلات جوهرية أهمها قلب الأنايب التي تجرى فيها الاختبار في فترات معينة لضمان توزيع الدهن والميكروبات باللبن جميعه طول مدة الاختبار واتخاذ جميع الاحتياطات التي

تكفل عدم تلوث العينة بميكروبات خارجية كاستعمال أدوات تامة التعقيم الخ وقد اعتمدت وزارة الصحة الانجليزية هذه الطريقة وأقرتها رسمياً لفحص عينات اللبن بالمعامل التابعة لها وفيما يلي تفصيلها .

١ — الأدوات والمواد اللازمة للمختبر

١ — محلول أزرق الميثيلين : لما كانت دقة نتيجة الاختبار تتوقف إلى حد بعيد على نقاوة الصبغة المستعملة فمن الضروري ألا تحتوي الصبغة على آثار من المواد الغريبة ولذلك تباع الآن أقراص (١) خاصة ينصح باستعمالها في هذا الاختبار حيث روعي في صنعها دقة الوزن والنقاوة التامة ويجهز منها محلول قياسي (Standard) كالآتي : —

يذاب قرص واحد في ٢٠٠ سم^٣ من ماء مقطر معقم دافئ (يشترط أن يجري التقطير في جهاز زجاجي) في قنينة معقمة ويراعى رج القنينة جيداً حتى يذوب القرص تماماً في الماء وبعد أن يبرد المحلول يكمل إلى ٨٠٠ سم^٣ بماء مقطر معقم كذلك ثم تقفل القنينة بأحكام بسداد من المطاط وتحفظ في مكان بارد مظلم . وهذا المحلول يبقى صالحاً للاستعمال مدة طويلة مادام محفوظاً بالطريقة السابقة على أنه يستحسن استبداله بمحلول جديد إذا مضى عليه أكثر من شهرين من وقت تحضيره

ب — أنابيب الاختبار : تستعمل أنابيب سميكة الجدران طولها ٦ بوصات وقطرها الخارجى $\frac{9}{16}$ بوصة والداخلى ١٣ر٥ مليمتر وعليها علامة لقياس ١٠ سم^٣ من اللبن وينبغي تنظيف الانابيب جيداً وسدها بالقطن ثم تعقيمها قبل الاستعمال إما في الأوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلاً للبوصة المربعة لمدة ٢٠ دقيقة أو في فرن الهواء الساخن على درجة ١٦٠ سنتجراد لمدة ساعتين وإذا لم تستعمل عقب التعقيم بوقت قصير فيجب حفظها في صناديق مغلقة لوقايتها من الغبار .

ج — سدادات مصنوعة من المطاط : يلزم عدد من سدادات خاصة مصنوعة من المطاط يتناسب قطرها مع قطر أنابيب الاختبار السابقة الذكر وهذه تعقم بغمسها في ماء يغلي لمدة ٥ دقائق قبل الاستعمال مباشرة .

د — حمام مائى : يستخدم حمام مائى معدنى ذو غطاء وحوامل للانابيب مصنوعة كلها من المعدن ويشترط أن يكون مجهزاً بمنظم دقيق للحرارة (Thermo - reglator) . تحفظ حرارة الحمام بين درجة ٣٧° و ٣٨° سنتجراد وينبغي أن يكون الحمام مظلماً تماماً من الداخل لان الضوء يؤثر في سرعة العملية .

هـ — ماصات : الماصات التى تستعمل تكون سعتها ١ سم^٣ وينطبق عليها الوصف المذكور تحت طريقة الاطباق ويلزم وضع سدادات قطنية في طرفها العلوى ثم لفها في ورق زبد أو وضعها في علب معدنية وتعقيمها بالهواء الساخن على درجة ١٦٠ سنتجراد لمدة ساعتين قبل الاستعمال .

٢ — كيفية إجراء الاختبار

ترج زجاجة العينة جداً لخلط اللبن على النحو الذى ذكرناه في طريقة الاطباق ثم يرفع غطاؤها باحتراس

(١) يمكن الحصول عليها من محل Blauenfeldt & Tvede, Copenhagen

بحيث لا يلبس جزؤه السفلى أجساما غير معقمة حتى لا يتلوث بميكروبات خارجية ثم يمر بفوهة الزجاجية في
لهب بنزن . تنزع سدادة احدى الانابيب وتعقم فوهتها في اللهب وتمسك في وضع مائل ثم يصب اللبن من
الزجاجة في الانبوبة إلى أن يبلغ مستواه علامة ١٠ سم^٣ وتعاد سدادة الانبوبة وغطاء الزجاجية مكانهما
يؤخذ بواسطة احدى الماصات المعقمة سلتومتر مكعب من محلول أزرق الميثيلين ويصب في الانبوبة
(وبذلك يصبح تركيز الصبغة في اللبن ببسببهم) ويحتاط في أثناء هذه العملية من تلوث طرف الماصة باللبن
الموجود بالانبوبة (فإن حدث ذلك وجب استبدالها باخرى في الحال وعدم اعادة وضعها في محلول أزرق
الميثيلين) ويمكن استخدام ماصة واحدة في اضافة محلول الصبغة إلى عدة أنابيب مادام طرفها لم يلوث باللبن
ويراعى عند صب الصبغة في الانبوبة أن تمسك الماصة بحيث يكون طرفها المدبب ملاصقا للزجاج
الجاف بعيداً عن مستوى اللبن بشحو بوصة ثم تفرغ محتوياتها بالنفخ في طرف الماصة العلوى وبعد مضي
ثلاث ثوان يعاد النفخ في الماصة ليتخلص مما تبقى من المحلول بطرفها وأخيراً تسحب الماصة من الانبوبة
وتقفل الانبوبة باحكام بواسطة احدى السدادات مع مراعاة مسك السدادة بواسطة ملقط معقم أو بأطراف
الاصابع من جزئها العلوى على ألا تلمس الاصابع فم الانبوبة أو جزء السدادة السفلى الذى يدخل في الانبوبة
تقلب الانبوبة بعدئذ ببطء مرة أو مرتين لمزج محتوياتها ثم توضع في الحمام المائى عقب ذلك مباشرة
أو في خلال مدة لا تتجاوز الخمس دقائق من وقت سدها

وينبغي ان توضع مع أنابيب العينات في وقت واحد في الحمام المائى أنبوبتان للمقارنة احدهما تحتوى
على ١٠ سم^٣ من لبن مخفوط من جملة عينات ويضاف اليها ١ سم^٣ من ماء الصنبور والثانية محتوية على نفس
الكمية من اللبن المذكور ولكن يضاف اليها ١ سم^٣ من محلول أزرق الميثيلين وتسد الانبوبتان بالطريقة التى
سبق وصفها ثم تغمسان في ماء مغلى لمدة ٣ دقائق لكي يبطل مفعول المواد المختزلة الطبيعية الموجودة باللبن
وبمقارنة انابيب العينات بالانبوبة المقارنة الثانية يمكن معرفة الوقت الذى يبدأ فيه الاختزال وبمقارنتها
بالانبوبة الاولى يتيسر تحديد الوقت الذى تتم فيه العملية المذكورة

تفحص أنابيب العينات كل ١٠ دقائق خلال النصف ساعة الاولى ثم كل نصف ساعة مرة بعد ذلك
ويلاحظ لونها وتقارن بانابيب المقارنة ويجرى الآتى : —

أولاً : الانابيب التى اختزلت فيها الصبغة تماماً ترفع من الحامل ولا تعاد الى الحمام المائى وتحسب
مدة الاختزال فيها وتدون . ويعتبر الاختبار منتهياً كذلك اذا بقيت آثار من اللون بالسطح أو بالقاع في
طبقة لا يتجاوز سمكها في كلا الحالتين خمسة ملليمترات مع اختفاء الصبغة من بقية اللبن جميعه

ثانياً : الانابيب التى لم تبدأ فيها عملية الاختزال ولم يتغير فيها لون الصبغة عن لونها في البداية تقلب
مرة وتعاد إلى الحمام المائى

ثالثاً : الانابيب التى بدأت فيها عملية الاختزال أى اختفى منها لون الصبغة جزئياً تعاد إلى الحمام المائى
دون أن تقلب حتى يتم فيها الاختزال

٣ — احتياطات خاصة بإجراء الاختبار

- لكي يضمن الحصول على نتائج موثوق بها من اختبار الاختزال ينبغي ملاحظة الاحتياطات الآتية :—
- (أ) يحفظ محلول أزرق الميثيلين دائما في الظلام في الاوقات التي لا يستعمل فيها ولا يعرض لضوء الشمس في أى وقت من الاوقات
- (ب) يصب جزء من المحلول الاصلى لأزرق الميثيلين يكفى للعمل اليومى في وعاء مناسب ولا يجب بحال من الاحوال وضع الماصة المستعملة في اضافة أزرق الميثيلين إلى اللبن في المحلول الاصلى واذا تلوث محلول بشئ من اللبن قد يصل اليه عن طريق الماصة فيجب عدم استعمال المحلول الملوث والاستعاضة عنه بجزء آخر من المحلول الاصلى.
- (ج) من المهم جدا أن يكون داخل الحمام المائى مظلما أثناء اجراء الاختبار ولا يجب تعريض الانابيب لضوء الشمس أثناء فحصها
- (د) يلاحظ— أن يكون مستوى الماء في الحمام المائى أعلى من مستوى اللبن في الانابيب .
- (هـ) يراعى حفظ حرارة الحمام المائى بين درجتى ٣٧° و ٣٨° سنجراد طول وقت اجراء الاختبار
- (و) يلزم في حالة العينات المأخوذة من مصادر مختلفة أن تفحص تحت ظروف متماثلة بقدر الامكان بمعنى أنه لايجوز أن تؤخذ عينة من أحد المنتجين في صباح يوم بارد وتؤخذ عينة من مورد آخر في مساء يوم حار .
- ولو أنه يسهل بهذا الاختبار فحص عدد كبير من العينات في وقت واحد والحصول على نتائج سريعة يمكن بها تمييز العينات الجيدة من الرديئة في مدى ساعات قليلة من وصول اللبن إلى المعمل إلا أنه لا يصلح تماما لفحص اللبن المبستر بقصد الاستدلال على دقة عملية البسترة لان سرعة إختزال أزرق الميثيلين تتوقف على ما يحويه اللبن من أكسجين وعلى ذلك فان عمليات التسخين (كالبيستره) التي تخفض نسبة الاكسجين تقصر مدة الاختزال كثيرا

٤ — الحكم على درجة تفاوت اللبن منه نتيجة هذا الاختبار

- يستعمل اختبار الاختزال في تقسيم اللبن الى رتب بحسب درجة تفاوته ويبني التقسيم على طول المدة التي يختزل فيها اللون الأزرق والتقسيم الآتى هو الأكثر استعمالا :
- الرتبة الأولى : لبن جيد : عينات هذا اللبن لا تختزل اللون في مدة أقل من خمس ساعات ونصف ساعة وقد وجد أن مثل هذا اللبن يحتوى عادة على أقل من ١/٢ مليون بكتريا في السنتيمتر المكعب عند اختباره بطريقة الأطباق
- الرتبة الثانية : لبن متوسط الجودة : يختزل اللون في مدة تقل عن الخمس ساعات ونصف الساعة ولكنها تزيد عن الساعتين وهو يحتوى عادة على ١/٤ إلى ١/٢ ملايين بكتريا في السنتيمتر المكعب

الرتبة الثالثة : لبن ردىء : يختزل اللون فى مدة تقل عن الساعتين ولسكنها تزيد عن العشرين دقيقة وهو يحتوى عادة على ٤ — ٢٠ مليوناً من البكتريا فى السنتيمتر المكعب

الرتبة الرابعة : لبن ردىء جداً : يختزل اللون فى عشرين دقيقة أو أقل وهو يحتوى فى المعتاد على أكثر من ٢٠ مليون من البكتريا فى السنتيمتر المكعب

وقد أدخل استعمال اختبار الاختزال فى فحص عينات اللبن المميز باسماء خاصة (designated milk) فى إنجلترا أخيراً . وتنص الاشتراطات المعمول بها على ألا تختزل عينات اللبن التى تؤخذ فى أشهر الصيف (أول مايو الى آخر أكتوبر) اللون الأزرق فى مدة تقل عن الأربع ساعات ونصف الساعة ولا تختزل العينات المأخوذة فى أشهر الشتاء (أول نوفمبر الى آخر ابريل) فى مدة تقل عن الخمس ساعات والنصف الساعة وعلى العموم ينبغى ألا تقل مدة اختزال عينات البان السوق التجارية الغير المسخنة عن الساعتين

ثانياً . اختبار الراسب

Sediment Test

الغرض من اختيار الراسب تقدير كمية الأوساخ والمواد الغريبة (كالروث والسماد والشعر وأجزاء العليقة الخ) التى وصلت الى اللبن أثناء الإنتاج ومثل هذه المواد تكون مصحوبة بعدد كبير من البكتريا غير المرغوب فيها ولو أن كميته لا تعتبر مقياساً لمحتويات اللبن من البكتريا إذ أن ذلك يتوقف على طبيعة المواد الملوثة .

وهذا الاختبار ذو فائدة محسوسة عند ما يراد التحقق من مبلغ دقة القائمين بعملية الحليب ومبلغ عناية كل منهم باتباع الاشتراطات التى تكفل إنتاج اللبن نظيفاً على شريطة أن يجرى فى محل الإنتاج قبل أن يصفى اللبن أو يرشح ، على أن اجزاؤه عقب التصفية يفيد كذلك فى معرفة مدى دقة تلك العملية ومقدار صلاحية الأدوات او الأجهزة المستعملة فيها لتنقية اللبن من الأوساخ الدقيقة

ولا تقتصر فائدة هذا الاختبار عند الحد المذكور بل يمكن فحص الراسب ميكروسكوبياً والاستدلال من النتيجة على أنواع الميكروبات التى يغلب وجودها فى عينة اللبن كما يمكن بواسطته كذلك الكشف عن بعض الميكروبات المرضية التى قد توجد باللبن

واختبار الراسب يعتبر على وجه العموم من الاختبارات السريعة السهلة الإجراء التى لا تستلزم ادوات او معدات باهظة الثمن وستأتى على وصف الأدوات فى الكلام عن طرق اجراء الاختبار

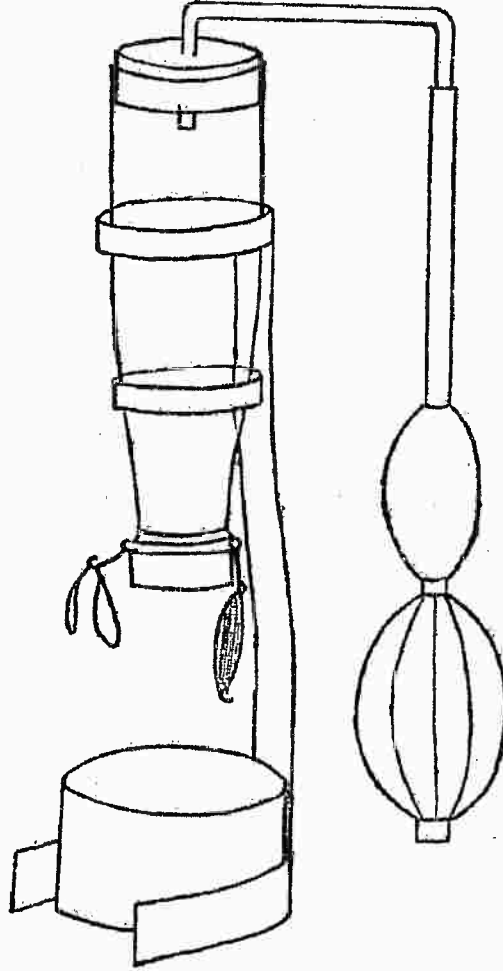
طرق اجراء الاختبار

تتبع عدة طرق فى تقدير كمية الأوساخ والمواد الغريبة بعينه اللبن وسنشرح فيما يلى أهمها :

١ - طريقة الأقراص القطنية :

يستعمل فى هذه الطريقة جهاز بسيط يتألف من زجاجة طويلة قعوية الشكل تقريباً بدون قاع ، مركب

فى رقبته حلقه من السلك المتين تتصل بشبكة سلكية مستديرة قطرها حوالى بوصة واحدة ذات ثقب ضيقة تضغط بأحكام على فوهة الزجاجاة بواسطة مشبك لولبى (على نحو سدادات زجاجات ماء الاكسجين) ، والزجاجاة المذكورة حامل خشبى فى وسطه فتحة مستديرة (راجع شكل ٤٦) .



(شكل ٤٦)

جهاز الراسب ذو الاقراص القطنية

ولإجراء الاختبار تنظف الزجاجاة جيداً ويوضع قرص قطنى خاص على الشبكة السلكية ويحكم قفل الزجاجاة بالمشبك ثم توضع على الحامل مقلوبة الوضع (أى متجهة فوهتها إلى أسفل) بحيث تنفذ رقبته من فتحة الحامل ويوضع أسفلها وعاء مثل كوز من الصاج ويخلط اللبن المراد لإختباره جيداً وتؤخذ منه كمية معينة (لاتقل عن ١ بيذت $\frac{1}{4}$ رطل تقريبا) بواسطة وعاء معقم وتصب فى الزجاجاة باحتراس ويركب فى طرف الزجاجاة العلوى المفتوح سدادة من المطاط ذات فتحة واحدة تنفذ منها أنبوبة متصلة بمضخة يد صغيرة يضغط بها الهواء فتسرع عملية التصفية .

وتستعمل أحيانا أنواع أخرى من أجهزة الراسب تختلف نوعا عن الجهاز السابق وصفه وتكون أكثر ملاءمة للنقل من مكان لآخر خصوصا عندما يراد استخدامها لإجراء الاختبار في أماكن مختلفة متباعدة وهذه قصص من المحدث فلا تكون قابلة للكسر ويراعى فيها خفة الوزن وبساطة التركيب وسهولة التنظيف وتجهيز بضغوط للهواء لاسراع العملية .

عند تصفية اللبن خلال القرص القطنى تنجم عليه الأوساخ والمواد الغريبة التى يحويها اللبن وقد لوحظ أن سرعة تصفية عينات اللبن بهذه الطريقة تختلف أحيانا فاللبن الطازج مثلا الذى لم يسبق تسخينه يصفى عادة بسرعة فى حين أن اللبن المبستر وعلى الأخص الذى عرض منه لحرارة عالية ، كثيرا ما يكون عمر التصفية لأن الحرارة المذكورة تحدث به تغيرات طيعية يندج عنها تجمع حبيبات الدهن فى شبه كتل صغيرة وتجهيز البروتين تجمعا جزئيا فينشأ عن ذلك انسداد بعض مسام القرص القطنى وتبتلو التصفية تبعاً لذلك .

بعد انتهاء عملية التصفية يفصل القرص القطنى عن الجهاز ويحفظ ثم يقارن بأقراص نموذجية محضرة خصيصا لهذا الغرض عليها كميات متفاوتة من الرواسب وبهذه الطريقة تقدر درجة نظافة اللبن وتمنح كل عينة عددا من الدرجات يتناسب عكسيا مع ما يظهر على القرص الخاص بها من مواد غريبة فيقل عدد الدرجات الممنوحة كلما كثرت كمية هذه المواد ويزيد كلما قلت .

أما الأقراص القطنية المتحصل عليها من اختبار مختلف العينات فتحفظ عادة فى سجل خاص بعمل التحليل وذلك بأن توضع على ورق مقوى فى المضمن وهى مازال رطبة فإذا ما جفت التصقت به إذ أن اللبن الجاف مادة لاصقة فى ذاتها ثم تكتب تحت كل قرص نبذة عينة اللبن واسم صاحبها وتاريخ فحصها ، وفى بعض الأحوال يفضل ارسال الأقراص بعد تجفيفها إلى المنتجين كي تدلهم بطريقة ملبوسة على مالدقة الإنتاج من أثر فى نظافة اللبن وخلوه من المواد الغريبة .

ومن أهم ما يلاحظ فى إجراء هذا الاختبار ضرورة الدقة فى قياس كمية اللبن بحيث تكون مقادير العينات المراد اختبارها متساوية تماما وإذا أريد إتخاذ نتيجة الاختبار مقياسا لدقة الحلاليين فينبغى أن تؤخذ العينات كما قلنا فى محل الإنتاج عقب الحليب مباشرة تحت شروط متماثلة بقدر الامكان .

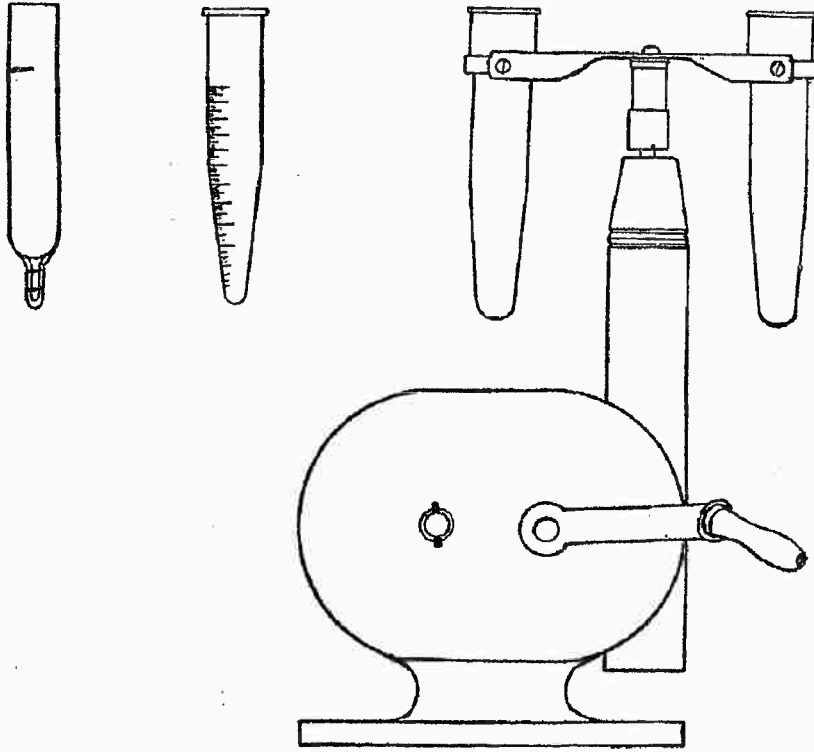
٢ — طريقه أنابيب الترسيب

يشبه الجهاز المستعمل فى هذه الطريقة الجهاز السابق وصفه فى الطريقة المذكورة آنفا غير أنه يختلف عنه فى أن الزجاج لا متصل بشبكة سلكية بل تنتهى فوهتها بأنبوبة من المطاط مركب فى طرفها أنبوبة زجاجية جزؤها السفلى ضيق بشكل أنبوبة رفيعة ومدرجة .

لإجراء الاختبار بالجهاز المذكور توضع الزجاج على حامل خشبي كالمستعمل فى الطريقة السالفة الذكر ويصب فيها مقدار معين من عينة اللبن ويترك دون اهتزاز مدة ١٢ ساعة فيرسب فى تلك المدة ما يحمله اللبن من المواد الغريبة وتتراكم فى قاع الأنبوبة الزجاجية وتقدر كمية الراسب بواسطة التدريج الموجود على الأنبوبة . ويفضل أحيانا زيادة فى دقة الاختبار فصل الأنبوبة عن الزجاج بعد انتهاء المدة وإدارتها فى الآلة المركزية الطاردة بالكيفية التى سيأتى شرحها فيما بعد .

٣ - طريقة الآلة المركزية الطاردة (السنتريفوج Centrifuge)

تعتبر هذه الطريقة أهم الطرق الثلاث وأدقها وتستخدم فيها نظرية القوة المركزية الطاردة وتستعمل لذلك الآلات اليدوية الصغيرة (كالمبينة بشكل ٤٧) أو آلات كبيرة تدار بالكهرباء . ولأجراء الاختبار تسخن عينات اللبن أولاً إلى درجة ٦٠ سنتجراد ثم تملأ أنابيب الآلة إلى مستوى العلامة الموجودة عليها ، كل منها بحسب حجم الآلة فنما ما يسع ١٠ أو ٢٥ أو ٥٠ أو ١٠٠ سم^٣ (ويشاهد بشكل ٤٧ نوعان من الأنابيب سعة كل منهما ١٠ سم^٣ وهي المستعملة في هذه الطريقة) .



(شكل ٤٧)

الالة المركزية الطاردة المستعملة في اختبار الراسب

توزن الأنابيب بدقة بعد تعبئتها باللبن ويراعى أن تكون أوزانها متساوية تماماً ثم توضع بالالة كل اثنتين منها متقابلتان وتدار الآلة لمدة ١٥ — ٣٠ دقيقة بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة وتعرف كمية الراسب من التدرج الموجود على الأنبوبة بعد انتهاء العملية .

وأحيانا تتبع طريقة مخالفة نوعا للسابقة وتعتبر أدق منها وفيها تؤخذ ١٠٠ سم^٣ من عينة اللبن وتدار لمدة نصف ساعة بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة ثم توقف الآلة ويصب جميع ما بالانبوبة من اللبن ماعدا العشرة السنتيمترات الأخيرة وهذه تنقل إلى أنبوبة ثانية سعتها ١٠ سم^٣ طرفها السفلى رفيع ومدرج ثم تدار في الآلة لمدة نصف ساعة أخرى بنفس السرعة وأخيراً تقدر بها كمية الراسب بالدقة .

وكما يمكن بهذه الطريقة معرفة درجة نظافة اللبن من كمية الراسب الناتج فإنه يمكن كذلك في أحوال كثيرة الوقوف على معلومات أخرى مفيدة من ملاحظة مظهر الراسب فمثلا راسب اللبن الملوث بنسبة كبيرة من الاوساخ والروث يكون لونه بنيا أو أسود بحسب درجة التلوث وطبيعته وراسب اللبن الناتج من ضرع غير سليم يحتوى أحيانا على دم ويكون لونه محمرا أما لبن الحيوانات المصابة بالتهاب الضرع فكثيرا ما يكون لون راسبه مائلا إلى الاصفرار نتيجة احتوائه على نسبة كبيرة من كرات الدم البيضاء (leucocytes)

وفضلا عما تقدم فإن فحص الراسب ميكروسكوبيا يعطينا فكرة عامة عن عدد وأنواع الميكروبات التي توجد بعينه اللبن وعن درجة نقاوة العينة والطريقة المتبعة عادة في تحضير الغشاء هي الآتية : —

بعد إتمام العملية توقف الآلة وتدور الملاحظات الوافية عن حجم الراسب ومظهره ثم يصب ما في الانبوبة من لبن ويستبقى الراسب وتؤخذ منه ثلاث أو أربع نقط بواسطة ابرة معقمة وتنتشر على شريحة نظيفة بهيئة غشاء ثم يجفف الغشاء ويثبت ويلون بصبغة أزرق الميثيلين بالكيفية التي ذكرناها في طريقة عد البكتريا بالميكروسكوب وأخيرا يفحص بالعدسة الزيتية فيلاحظ ما يأتي :

ا — إذا كان اللبن نظيفا فلا يرى بالغشاء المحضر من راسبه سوى عدد قليل جداً من البكتريا وهي عادة من النوع الكروي .

ب — أنه يرى غالبا بالغشاء المجهر من راسب عينات لبن السوق العادى عدد كبير من بكتريا حامض اللكتيك من النوع السبحى (الاستربتوكوكس)

ح — يشاهد بغشاء راسب الالبان الشديدة التلوث بالروث والأوساخ عدد كبير من مختلف أنواع البكتريا وعلى الاخص الانواع العصوية القصيرة التي توجد في هذه الحالة غالبا ملتصقة بعضها ببعض على هيئة مجاميع أو كتل (Clumps) .

هذا ويمكن باتخاذ احتياطات خاصة في تحضير الغشاء وصبغه وفحصه التحقق من وجود إصابات بمرض التهاب الضرع في مواشى الحليب وكذلك الكشف عن بعض الميكروبات المرضية التي قد يتلوث بها وسياق الكلام عن ذلك بالتفصيل في مكان آخر .

ثالثا — اختبار الحفظ

Keeping Quality Test

يرمى هذا الاختبار إلى الوقوف على نوع اللبن ومبلغ نقاوته من مجرد حفظه على درجة حرارة ثابتة وتقدير الزمن الذى يمضى بين الوقت الذى حلب فيه والوقت الذى أصبح فيه غير صالح للاستعمال سواء في الشرب أو في صنع المنتجات ، إذ من المعروف أن اللبن الذى روعى جانب النظافة في إنتاجه يمكن حفظه بحالة جيدة مدة غير قصيرة (قد تبلغ الثلاثة أو الاربعة أيام) دون أن يتطرق اليه الفساد بخلاف اللبن الذى عرض للتلوث بالاوساخ ولم يعتن بإنتاجه العناية الكافية فان يكون سريع التلف .

ولا تتوقف مدة بقاء اللبن بحالة جيدة (أو قابليته للحفظ كما تسمى أحيانا) على عدد ما تحويه العينة من ميكروبات فحسب بل أنها تتوقف كذلك على أنواع تلك الميكروبات فمثلا وجود ميكروبات القولون بالعينة ولو بنسبة قليلة يؤدي الى سرعة فسادها بما تنتجه من حوامض (كحامض البوتريك وحمض الخليك) تؤثر في طعم اللبن ورائحته ، على أنه قد وجد عموما أن مدة بقاء العينة بحالة جيدة تتناسب عكسيا مع عدد المجموعات التي تظهر عند فحصها بطريقة الاطباق فكلما كثر عدد المجموعات كلما قصرت المدة المذكورة ومن العوامل الاخرى التي تؤثر في نتيجة هذا الاختبار تعرض اللبن لحرارة عالية عند نقله في زمن الصيف وكذلك كثرة رجه أثناء النقل الى مسافات طويلة وصبه من وعاء لآخر مرات عديدة ففي الحالة الاولى يزداد نشاط الميكروبات ويسرع تكاثرها لارتفاع درجة الحرارة وفي الحالتين الاخرتين يسبب رج اللبن وتكرار صبه في أوعية متعددة تفكك بعض السكتل المؤلفة من عدة ميكروبات وانفراد أغلبها فيؤدي كل هذا الى قصر مدة الاختبار وانخفاض قابلية اللبن للحفظ ، كما لا ينبغي أن لمراعاة الاشتراطات الصحية في الانتاج أثر كبير في النتيجة فنظافة الماشية واونى الحليب والعناية بتبريد اللبن الخ تضمن بقاء العينة دون تغير مدة طويلة

أما التغيرات التي تنشأ باللبن فتجعله غير صالح للاستعمال فهي كثيرة منها ما يحدث بالطعم والرائحة أو بالتركيب أو باللون وبعض هذه التغيرات تبدو أحيانا واضحة وضوحا تاما للمستهلك العادي فقد يشاهد أن اللبن يتجبن إذا ما سخن أو اضيف الى القهوة أو الشاي الساخن أو يلاحظ ان رائحته عفتة أو ان طعمه غير مقبول أو ان قوامه لزج أو ان لونه غير عادي الخ ومثل هذه التغيرات تنشأ عن عوامل متعددة أهمها الميكروبات التي يحويها اللبن او كنتيجة لتغذية الماشية بغذاء خاص أو اصابته بمرض في الضرع أو غير ذلك من الاسباب واغلب هذه التغيرات يمكن تمييزها بحاستي الشم والذوق وتسخين اللبن الى درجة غليان الماء مدة قصيرة وتلك هي القواعد التي بنى عليها اختبار الحفظ

١ - الأدوات اللازمة للاختبار

- لايستلزم هذا الاختبار غير أدوات بسيطة قليلة النفقات وهي : —
- ا — زجاجات عينة سعة ٢٠٠ سم^٣ ذات غطاء يشبه الكأس غير محكمة السد
 - ب — أنابيب اختبار من زجاج سبيك كاليمين وصفها في الاختبارات السابقة
 - ج — حمام مائي به عدة عيون يزيد قطرها قليلا عن قطر أنابيب الاختبار
- تعقم الأنابيب والزجاجات في الأوتوكلاف ويراعى تغطية فوهة الاخيرة بورق الزبد (grease paper) وقاب الكاس فوقها قبل التعقيم وعند استعمالها تنزع الورقة ويعاد الكاس مكانه.

٢ - كيفية إجراء الاختبار

يصب نحو ١٥٠ سم^٣ من اللبن المراد اختباره في إحدى زجاجات العينة ويبين على الزجاجاة نمرة العينة أو علامة مميزة لها ثم توضع على درجة ٦٠ فهرنهايت (١٥,٥ سنجراد) في محضن حرارته ثابتة على الدرجة المذكورة وتختبر مرتين في اليوم أحدهما في الصباح (الساعة التاسعة صباحا) والاخرى في المساء (الساعة الخامسة مساءً) بالطريقتين الآتيتين : —

١ - بالغلي : تخلط العينة جيدا بوضع الزجاجاة في وضع مستوى على المنضدة وإدارتها بحركة رحوية بضع مرات ، ثم يرفع غطاؤها باحتراس وتعمق فودتها ويصب منها نحو خمسة سنتيمترات مكعبة في أنبوبة اختبار وهذه تغمس في ماء يغلي بالحمام المائي لمدة ٥ - ١٠ دقائق ثم تستخرج منه ويلاحظ ان كان اللبن الموجود بها قد تجبن بالغلي أو بقي دون تغيير .

ب - بالشم والذوق : بعد خلط العينة بالطريقة السابقة يصب منها نحو عشرة سنتيمترات مكعبة في كوبية عادية من كوبات الماء ويشم اللبن ثم يؤخذ قليل منه في الفم ويمرر فوق اللسان إلى الخلف ثم ييصق في حوض الغسيل ويلاحظ في أثناء هذه العملية طعم العينة فان كان متغيرا فيجب بصقها بسرعة وغسل الفم بالماء الدافئ مباشرة حتى لا يبقى الذوق متأثرا بطعمها فيتعسر تمييز طعم العينات الباقية ويستحسن غلي العينة قبل أن تشم أو تذاق فان تجبنت بالغلي لم تعد ثمت حاجة إلى شمها أو ذوقها ويفضل في أغلب الأحوال شم العينة بعد الغلي مباشرة لأن الروائح الغريبة تكون أكثر وضوحا في اللبن بعد تسخينه ورجه ، ثم يبرد اللبن بعد شمه ويناق

وتقدر مدة الحفظ بالساعات من وقت حلب اللبن إلى وقت انتهاء الاختبار ، عندما تنجب العينة بالغلي أو عندما يظهر بها طعم أو رائحة غير مقبولة تجعلها غير صالحة للاستعمال

وينبغي أن يعنى في هذا الاختبار بتدوين ملاحظات وافية عن العينة من حيث وقت الحليب ونوع التغيرات التي تظهر بها ووقت ظهور كل منها حتى يمكن الوصول الى نتائج موثوق بها ومقارنة العينات المختلفة بدقة . على أنه يلاحظ عند اختبار عدة عينات جيدة أنه من السهل تمييز التغيرات الطفيفة في الطعم التي تظهر ببعضها ولكن إذا كان طعم بعض العينات المختبرة متغيرا تغيرا واضحا فإنه يصعب تمييز مثل تلك التغيرات الطفيفة في البعض الآخر لهذا يذكر في الملاحظات أن نتيجة تلك العينات (مشكوك فيها) وتحفظ حتى تدون نتيجتها النهائية عند اختبارها في المرة التالية .

وقد قسم اللبن إلى مراتب بحسب نتيجة هذا الاختبار وسنناق على بيان هذه المراتب في مكان آخر ولو أن الطريقة المشروحة فيما سبق هي المستعملة منذ زمن غير قصير في التجملات إلا أنه قد لوحظ أنها لاتخلو من عيوب لذلك اقترح البعض ادخال بعض تعديلات عليها نلخصها فيما يلي : —

أن يحفظ اللبن أثناء مدة الاختبار على درجة ٦٣,٥ فهرنهايت وأن يختبر ثلاث مرات يوميا بدلا من

مرتين (أحدهما في الساعة التاسعة صباحاً والثانية في الثالثة مساءً والثالثة في التاسعة مساءً) أى كل ست ساعات مرة وألا يختبر بالغلى ولا بالذوق بل يعتبر الاختبار مستمياً اذا ظهرت بالعينة رائحة حمضية أو عفنة واضحة وضوحاً تاماً او عندما يتجنب اللبن من ذاته

ومن أهم ما يلاحظ في هذه التعديلات الغاء اختبار اللبن بالذوق وذلك بالنظر لاحتواء بعض العينات أحياناً على ميكروب السل أو بعض ميكروبات الأمراض الأخرى مما يعرض الفاحص للعدوى بذلك الأمراض عند اختبارها بالطريقة المذكورة

هذا ومن أهم عيوب اختبار الحفظ أن أغلب التغيرات التى تبنى عليها نتيجته تميز بحاستى الشم والذوق ولكن لما كانت قوة هاتين الحاستين تختلف كثيراً باختلاف الأشخاص فإنه يصعب معرفة الوقت الذى ينتهى فيه الاختبار بدقة فى أحوال كثيرة

٣ — الحكم على درجة نقاوة اللبن من نتيجة هذا الاختبار

تقدر درجة نقاوة اللبن فى كثير من الأحيان بحسب نتيجة هذا الاختبار ويتبع غالباً فى الفرض المذكور القياس الآتى : —

إذا بقيت العينة دون تغير مدة ٣ — ٤ أيام اعتبرت جيدة جيداً ، على أن عينات اللبن التجارية المعتادة تعتبر مرضية إذا لم تتغير قبل مضى يومين ونصف يوم من وقت الحليب ، أما اذا تغيرت قبل انقضاء ٢٤ ساعة فتعتبر رديئة جداً

وقد أجريت تجارب كثيرة لتحديد العلاقة بين مدة اختزال أزرق الميثلين ومدة الحفظ فتبين منها أن مدة الحفظ لعينات اللبن التى توضع فى الرتبة الاولى بحسب التقسيم المذكور فى اختبار الاختزال تعادل ٤ ساعة وإن مدة الحفظ لعينات الرتبة الثانية تعادل ٣ ساعة ولعينات الرتبة الثالثة تعادل ١٠ ساعات ولعينات الرتبة الرابعة تعادل أقل من ١٠ ساعات

أما فى الأحوال التى يجرى فيها الاختباران وتقسّم العينات تبعاً لنتيجتهما فتوضع العينة أولاً فى الرتبة المناسبة تبعاً لنتيجة اختبار الاختزال على أن تخفض رتبها الى الرتبة الأدنى منها مباشرة أى من الاولى الى الثانية أو من الثانية الى الثالثة مثلاً إذا ظهرت بها تغيرات غريبة فى الطعم والرائحة

الباب الرابع والعشرون

اختبارات متنوعة

تستعمل لفحص اللبن في احوال خاصة

الاختبارات التي سيلي شرحها في هذا الباب لا تستعمل بكثرة في فحص اللبن إلا في أحوال خاصة سيأتي ذكرها فيما بعد وجلها سهلة الإجراء ولا تحتاج الى أجهزة أو معدات غالية الثمن

أولاً — اختبار التخمير

Fermentation Test

يجرى هذا الاختبار إما مستقلاً أو بالاشتراك مع اختبار الاختزال الذي أسلفنا ذكره ويمكن بواسطته الحكم على أنواع الميكروبات التي تلوث بها اللبن أثناء الانتاج أو بمعنى آخر معرفة مدى تلوثه بالميكروبات الغير المرغوب فيها مثل ميكروبات القولون ويقتصر استخدام هذا الاختبار غالباً على فحص اللبن المعدة لصنع الجبن ولو أنه يستعمل أحياناً في اختبار اللبن المعد للاطفال أو الذي تصنع منه الاغذية اللبنية الخاصة بهم ويلخص هذا الاختبار في حفظ مقدار معين من عينة اللبن على درجة حرارة ثابتة مدة خاصة من الزمن ثم ملاحظة التغيرات التي تحدث به

١ — الادوات المطلوبة للاختبار

- ١ - أنابيب غليان معقمة بالهواء الساخن ويشترط لكي تكون مقارنة نتائج العينات المختلفة صحيحة أن يكون قطر الانابيب المذكورة ثابتاً وتستعمل غالباً أنابيب قطرها ٢ سم وذات أعطية من الالومنيوم
- ب - حمام مائي مجهز بمنظم للحرارة ويشتمل على حوامل ذات فتحات تتناسب مع قطر الانابيب المستعملة - تضبط حرارة الحمام المائي على درجة ٣٧ ستنجراد إذ أنه وجد أن تلك الدرجة تلائم معظم ميكروبات اللبن وينبغي أن تبقى حرارة الحمام ثابتة على الدرجة المذكورة طول مدة اجراء الاختبار

٢ - كيفية إجراء الاختبارات

تصب أربعون سنتمترا مكعبا من عينة اللبن (بعد خلطها جيدا في زجاجة العينة) في إحدى الانابيب المعقمة وتسد الأنبوبة بالسدادة الخاصة ثم ترقم بعلامة مميزة وتوضع بالحامل في الحمام المائي وتختبر بعد مضي اثنتي عشرة ساعة ثم بعد أربع وعشرين ساعة تلاحظ التغيرات التي حدثت بالعينة بعد انقضاء المدة المذكورة وتقارن بأنواع التغيرات الآتية :

(أ) يتجنب اللبن تجنبا منتظما وتكون الخثرة صلبة ملساء لا يوجد بها شرش كلبية أو ينفصل منها مقدار قليل من الشرش الرائق ، وتحتوى العينة في هذه الحالة رئيسيا على بكتريا حامض اللبكتيك من النوع السبحى وهى بكتريا اللبن العادية

(ب) تكون الخثرة كالسابقة ولكنها محمية تحميها دقيقا وفي هذه الحالة تحتوى العينة على بكتريا حامض اللبكتيك السالفة الذكر وبعض البكتريا المفردة لانزيم شبيه في فعله بالرينين مثل الانواع الكروية والانواع العصوية المتجرمة الخ

(ح) تكون الخثرة طرية ومنكمشة في جدران الأنبوبة وينفصل منها مقدار من الشرش المبيض اللون وهذا يدل على احتواء العينة رئيسيا على الانواع المفردة للانزيم التي سبق الإشارة إليها مع بعض بكتريا حامض اللبكتيك

(د) تظهر الخثرة الناتجة طرية وذائبة جزئيا (أى أذيب جزء منها) مع تكون شرش مصفر اللون أو مائل الى البنى وحينئذ تحتوى العينة على عدد كبير من البكتريا المتجرمة

(هـ) يكون التجبن غازيا وعندئذ تحتوى الخثرة على فقاعات غازية قليلة أو كثيرة بفسية ما يوجد بالعينة من ميكروبات مخمرة لاكتوز وعلى الاخص من ميكروبات القولون فان كان عددها كبيرا سببت تمزق الخثرة

ولو أن التغيرات المذكورة هى الاكثر شيوعا إلا أنه قد يلاحظ أحيانا حدوث تغيرات لا تنطبق تماما على إحدى الحالات السابقة بل تشبه إحداها من جهة وتماثل الأخرى من جهة ثانية

هذا وتغير العينة بالحالة الأولى يدل على أن النظافة قد روعيت في انتاج اللبن أما تغيرها بالحالات الأخرى فيستدل منه على عدم العناية في الانتاج ، وبما هو جدير بالذكر أن الميكروبات المتجرمة تنتقل الى اللبن غالبا من الاتربة ومواد العلف والدريس الخ في حين أن المصدر الرئيسى للميكروبات المكونة لغازات هو الروث والاوراق غير النظيفة والماء الملوث

وقد تبقى العينة أحيانا دون تغير أثناء مدة الاختبار فيلاحظ أنها مازالت سائلة عند انتهائه وفي مثل هذه الحالة يعتبر اللبن نظيفا جدا ولا يحتوى الا على عدد قليل من البكتريا المنتقلة اليه من الضرع ولهذا الانواع تأثير طفيف على اللبن

وينبغي عند تدوين نتيجة هذا الاختبار أن تلاحظ كذلك رائحة العينة وقوامها مثل ظهور رائحة عفنة أو لزوجة بها كما يفحص قاع الأنبوبة فإن وجد بها راسب يلاحظ لونه ونسبته إذ ربما أستدل من وجود راسب مصفر على إصابة بعض الماشية بالتهاب الضرع وفي الأحوال التي يجرى فيها اختبار الاختبار بالاشتراك مع اختبار الاختزال تترك الانابيب بعد انتهاء مدة الاختزال في نفس الحمام المائي إلى أن تنقضى الأربع والعشرين ساعة ثم تدون النتيجة ، وقد اتضح أن إضافة صبغة أزرق الميثيلين إلى اللبن لا تؤثر في نتيجة اختبار الاختبار لذلك فإن إجراء الاختبارين معا يؤدي إلى اقتصاد في الوقت والادوات .

٢-١- اختبار المنفحة

Rennet Test

يعتبر اختبار المنفحة (أو كما يعرف أحيانا باختبار الخثرة Curd Test) من الاختبارات المهمة كذلك في فحص الألبان المعدة لصنع الجبن وهو يجرى عادة بالاشتراك مع الاختبار المتقدم الذكر . ويمكن بواسطته الاستدلال على مقدار صلاحية الألبان التي ترد إلى المعمل من منتجين مختلفين لصنع الجبن فقد يتسبب عن اختلاط لبن ردي بالألبان الأخرى الجيدة صعوبة تخفيف الخثرة أو عدم تصفية الماء منها بسهولة .

ويخلص هذا الاختبار في إضافة كمية من المنفحة إلى عينة اللبن وحفظها مدة خاصة من الزمن على درجة حرارة معينة ثم فحص الخثرة الناتجة فحصاً دقيقاً من الخارج والداخل .

١ - الأدوات اللازمة للاختبار

الأدوات التي تستعمل في هذا الاختبار هي بذاتها المستعملة في الاختبار السابق ولكن يلزم إلى جانب ذلك بعض أقراص من المنفحة .

٢ - كيفية إجراء الاختبار

يجرى هذا الاختبار بعدة طرق أكثرها استعمالاً هي الآتية : —
تصب أربعون سقمتراً مكعباً من عينة اللبن في الأنبوبة ويضاف إليها مقدار مناسب من المنفحة (يذاب عادة قرص واحد من أقراص منفحة هانسن (Hansen's rennet tablets) في ٥٠٠ سم^٣ من الماء ويضاف منه نحو ١ سم^٣ إلى كل أنبوبة) وبعد أن تخلصت المنفحة باللبن جيداً توضع الأنبوبة في الحمام المائي على درجة ٣٧ سنجراد لمدة ١٢ ساعة ثم يفحص مظهر الخثرة وتستخرج من الأنبوبة وتقطع طويلاً بواسطة سكين نظيفة وتقارن النتائج بالانواع الآتية :

(أ) أما أن تظهر الخثرة بهيئة اسطوانة ملساء لا تحتوي من الداخل على فقاعات غازية .

(ب) أو تبدو ملساء نوعاً مع وجود بعض فقاعات غازية قليلة من الداخل .

(ح) أو تكون خشنة ومحتوية على فقاعات غازية كثيرة
(د) أو تظهر اسفنجية وتكون على هيئة كتلة ملتوية طافية على الشرش
(هـ) أو يتسبب عن شدة انتاج الغازات فيها تفككها أو تمزقها من بعضها
وتجبن اللبن بالحالة الاولى يدل على جودته وصلاحيته تماما لصنع الجبن في حين أن تجبنه بالحالة الثانية
يدل على ملامته نوعا للصناعة المذكورة أما تغيره بالحالات الثلاث الاخيرة فيستدعى بذل الهمة في تحسين
طرق الانتاج وحث الموردين على مضاعفة العناية باتخاذ الاحتياطات التى تضمن نظافة اللبن .
ويجرى اختبار المنفحة أحيانا بطريقة مخالفة للسابقة (تعرف باختبار وسكونسن (Wisconsin Test)
وهى شائعة الاستعمال فى أمريكا وتلخص فيما يلى :
تجمع العينات المراد اختبارها فى زجاجات متسعة الفوهة معقمة سعتها بيئت واحد (حوالى رطل ورابع)
وتملأ جيمها بالعينة ثم تسخن على درجة ٩٠ فهرنهايت (٣٠,٢ سنجراد) فى حمام مائى ويضاف اليها ١٠
نقط من المنفحة تخلط بها جيدا وحالما تتكون خثرة جامدة تقطع بسكين معقم إلى قطع صغيرة ويصفى منها
الشرش بمجرد تجمعه ثم يوضع الوعاء على درجة ٩٨,٦ فهرنهايت (٢٧ سنجراد) وتختبر الخثرة بعد مضي
١٠ - ١٢ ساعة فاذا كانت الخثرة صلبة ذات رائحة مقبولة بعد انقضاء المدة المذكورة دل ذلك على أن
عينة اللبن لا تحتوى غالبا على ميكروبات ضارة بصناعة الجبن أما أن احتوت على فقاعات غازية أو ظهرت
بها لزوجة أو كانت رائحتها غير مقبولة كان ذلك مدعاة للظن بأن اللبن يحتوى على ميكروبات غير المرغوب
فيها للصناعة المذكورة

هذا ولما كان اجراء اختبارى الاختار والمنفحة ومعرفة نقيجتهمما يستدعى انقضاء وقت قصير فانه لا يمكن
بواسطتهما استبعاد العينات الرديئة قبل صنع الجبن على أن قيمتهما كبيرة فى الوقوف على مصدر العينات
الرديئة ومعرفة مدى عناية كل مورد باتباع طرق الانتاج الصحيحة

ثالثا - تقدير الحموضة

Determination of Acidity

لتقدير حموضة اللبن أهمية كبرى فى المعامل التى تشتغل ببسترة الالبان وصنع اللبن المركز والمجفف لان
اللبن الذى تزيد حموضته عن حد معين يخشى تغيره أثناء البسترة والتركيز كما أن ارتفاع نسبة الحموضة فى
اللبن الحام تؤدى إلى انخفاض قابلية المسحوق الناتج للذوبان
وتقدر الحموضة بطرق شتى نذكر منها الطريقتين الآتيتين وهما أكثر استعمالا من بقية الطرق
الطريقة الاولى : وهى المتبعة غالبا فى إنجلترا وأمريكا ويعبر فيها عن درجة الحموضة بعدد الستيمترات
المكعبة من محلول أيدرات الصوديوم الاساسى الذى تلزم لمعادلة لتر من عينة اللبن أو بمعنى آخر عدد

الستيمترات المكعبة من محلول إيدرات الصوديوم العشر الاساسى $(\frac{N}{10} \frac{س}{١٠})$ اللازمة لمعادلة ١٠٠ سم^٣ من العينة

ولإجراء هذه الطريقة يوضع بواسطة ماصة نظيفة مقدار ١٠ سم^٣ من عينة اللبن في كل من كأسين زجاجين نظيفين ويضاف إلى كل منهما ١ سم^٣ من محلول الفينولفثالين « phenolphthalein » ويحضر هذا الدليل باذابة ٠,٥ جرام من الفينولفثالين في ١٠٠ سم^٣ من ٥٠ ٪ كحول متعادل) ثم تعادل محتويات إحدى الكأسين بمحلول إيدرات الصوديوم العشر الاساسى مع التقلب المستمر بواسطة قضيب زجاجي إلى أن يظهر باللبن لون وردي خفيف يميز ويستعمل الكأس الثانى للمقارنة أثناء إجراء التعادل وأخيرا يعرف بقراءة السحاحة مقدار المستعمل من محلول الصودا الذى لزم للتعادل وتقيد النتيجة ثم تعادل محتويات الكأس الثانى بالطريقة نفسها ويؤخذ متوسط النتيجةين وبضربه فى ١٠ نحصل على درجة الحموضة فمثلا اذا استعملت ٢ سم^٣ من محلول إيدرات الصوديوم العشر الاساسى لمعادلة ١٠ سم^٣ من عينة اللبن كانت درجة حموضة العينة $٢ \times ١٠ = ٢٠$

وفى بعض الاحيان يعبر عن الحموضة بما يقابلها من نسبة مئوية لحمض اللكتيك فى اللبن وذلك بضرب درجة الحموضة فى ٠,٠٠٩ وزيادة فى الفائدة نورد فيما يلى جدولا بدرجات حموضة اللبن والنسبة المئوية المقابلة لكل منها من حامض اللكتيك

درجة الحموضة	٪ لحامض اللكتيك	درجة الحموضة	٪ لحامض اللكتيك	درجة الحموضة	٪ لحامض اللكتيك
٨	٠,٧٢	١٧	١,٥٣	٢٦	٢,٣٤
٩	٠,٨١	١٨	١,٦٢	٢٧	٢,٤٣
١٠	٠,٩٠	١٩	١,٧١	٢٨	٢,٥٢
١١	٠,٩٩	٢٠	١,٨٠	٢٩	٢,٦١
١٢	١,٠٨	٢١	١,٨٩	٣٠	٢,٧٠
١٣	١,١٧	٢٢	١,٩٨	٣١	٢,٧٩
١٤	١,٢٦	٢٣	٢,٠٧	٣٢	٢,٨٨
١٥	١,٣٥	٢٤	٢,١٦	٣٣	٢,٩٧
١٦	١,٤٤	٢٥	٢,٢٥	٣٤	٣,٠٦

الطريقة الثانية : وهى المستعملة فى معظم الممالك الاوربية وفيها تقدر درجة الحموضة بمعرفة عدد السنتيمترات المكعبة من محلول ايدرات الصوديوم الربع الاساسى اللازمة لمعادلة ١٠٠ سم^٣ من اللبن أو بمعنى آخر عدد السنتيمترات المكعبة من محلول ايدرات الصوديوم بالأساسى التى تلزم لمعادلة ١٠ سم^٣ من العينة ويجرى التعادل فى هذه الطريقة بنفس الكيفية التى ذكرت فى الطريقة السابقة مع استعمال دليل الفينولفثالين والأرقام الناتجة تدل على درجات الحموضة بحسب مقياس سووكسلت هنكل (Soxhlet Henkel Scale) ويمكن تحويل هذه الدرجات كذلك الى ما يقابلها من نسبة مئوية لحامض اللاكتيك بضرها فى ٠.٢١٨ ،

تختلف حموضة اللبن الطازج بين ١٦ و ١٩ درجة (أى ٦.٤ — ٧.٦ من درجات سووكسلت هنكل) وإذا قلت درجة حموضة العينة عن ١٥ عزى ذلك إلى عدة أسباب منها أن تكون الماشية المنتجة قد قاربت نهاية فصل الحليب أو أنها مريضة أما إذا زادت الدرجة عن ٢١.٥ فلا ينصح باستعمال مثل هذا اللبن فى البسترة وإذا تجاوزت الحموضة ٢٧.٥ درجة تجبن اللبن عند غليه .
ولو أن ازدياد حموضة اللبن تدريجيا عند حفظه على درجة حرارة مناسبة ترجع إلى تحال سكر اللبن وتكوين حامض اللاكتيك بواسطة أنواع مختلفة من البكتيريا إلا أنه لا توجد علاقة ثابتة بين عدد البكتيريا فى العينة ودرجة حموضتها

رابعاً - اختبار الغليان

Boiling Test

ذكرنا فى الكلام عن اختبار الحفظ أن اللبن يفحص بطريقتين هما طريقة الغلى وطريقة استعمال حاستى الشم والذوق وأولى هاتين الطريقتين تستعمل أحيانا بمفردها كاختبار مستقل للوقوف على مدى صلاحية اللبن للاستعمال عند وصوله إلى المعمل .

ويجرى اختبار الغليان فى مثل هذه الأحوال بوضع ١٠ سم^٣ من العينة فى أنبوبة نظيفة وتسخينها فى ماء يغلى لمدة ١٠ دقائق فإن كانت حموضة اللبن مرتفعة بحيث تزيد عن ٢٧.٥ درجة (أى حوالى ١١ درجة سووكسلت هنكل) فيتجنب فى أثناء هذه المدة وقد يتجنب كذلك إذا احتوى على أنزيمات بكتيرية حتى ولو لم تصل حموضته إلى تلك الدرجة .

ولهذا الاختبار قيمة عملية محدودة فهو لا يصلح مثلا لفحص اللبن المعد للبسترة لأن اللبن لا يتجنب فى اختبار الغليان إلا إذا زادت حموضته عن ٢٧.٥ درجة كما قلنا ولكنه يتأثر بعملية البسترة متى زادت حموضته عن ٢٢.٥ درجة كما ذكر فى الاختبار السابق فعدم تجنب العينة فى هذا الاختبار لا يعد دليلا على صلاحيتها للبسترة .

٥-١-١٠ اختبار الكحول

Alcohol Test

يعتبر هذا الاختبار من أبسط الاختبارات وأسرعها وهو لا يستلزم من الأدوات والمواد غير أنابيب اختبار عادية ومقدار قليل من الكحول المخفف ويكثر استعماله على الأخص في فحص الألبان المعدة للبسترة كما يمكن الاستعاضة به عن طريقة الغلي في اختبار الحفظ .

ولإجراء اختبار الكحول يوضع مقدار من عينة اللبن بعد رجها كالمعتاد في أنبوبة اختبار نظيفة ويضاف إلى اللبن مقدار مساو له من كحول أثيلي متعادل ٦٨ ٪ (يؤخذ عادة من كل منهما ستمترا مكعبان أو أكثر) ويخلطان معا خاطا جيدا وتلاحظ النتيجة بإمالة الأنبوبة وإعادتها إلى وضع عمودي ببطء فان بقيت حوائط الأنبوبة راققة دون أن يعلق بها شيء دل ذلك على أن العينة طازجة أما إذا لوحظ ترسب الكازين والتصاقه بالحوائط المذكورة بحالة حبيبات صغيرة أو كبيرة كانت العينة رديئة ولا ينصح ببسترة مثل هذا اللبن أو تركيزه لأنه يتجنب غالبا على حرارة منخفضة .

ويعزى ترسب الكازين في هذا الاختبار إما إلى الحموضة المرتفعة أو إلى وجود أنزيمات بكتيرية لأن اللبن الذي تزيد حموضته عن ٢١ درجة يكون عادة راسبا دقيقا في حين أنه إذا زادت الحموضة عن ذلك كثيرا ظهر الراسب ثقيلًا ومحبيبا ، أما العينات التي تحتوي على عدد كبير من البكتيريا المفرزة لارينت فمنها كثيرا ما تتجنب بإضافة الكحول إليها حتى ولو لم تبلغ فيها الحموضة ٢١ درجة

ومن العوامل المهمة التي تسبب ترسب الكازين اختلال توازن الأملاح المعدنية في عينة اللبن . واللبأ (السرسوب Colostrum) وعينات الألبان الناتجة من مواش مصابة بالتهاب الضرع أو من حيوانات قاربت فصل الحليب (lactation period) تعطى كذلك نتيجة إيجابية في اختبار الكحول

وينبغي أن يكون الكحول المستعمل في هذا الاختبار من نوع جيد وأن يجري تخفيفه بإضافة الماء المقطر إليه بعناية ويلزم التأكد من خلوه من الأحماض فقد يحتوي الكحول أحيانا على آثار من حامض الخليك وهذا يؤثر في النتيجة ويجب أن يقاس اللبن والكحول بماصتين منفصلتين وأن يجري الاختبار على درجة الحرارة العادية .

وقد أدخلت أخيراً بعض تعديلات على الاختبار السالف الذكر نورد أهمها فيما يلي : —

(١) باستعمال كحول أثيلي متعادل ٤٤ ٪ بدلا من ٦٨ ٪ ، يمكن الحصول من هذا الاختبار على نتيجة مطابقة لنتيجة اختبار الغليان ولذلك يستعاض بهذه الطريقة أحيانا عن طريقة الغلي في اختبار الحفظ

(٢) باستعمال كحول أثيلي متعادل ٨٣ ٪ يحتوي على دليل أحمر الميثيل (Methyl Red) بنسبة ٠,٢ ٪ ،

ويمكن تقسيم عينات اللبن إلى جيد ومتوسط ورتدي وذلك بالكيفية الآتية : —

يؤخذ أربعون ستمترا مكعبا من عينة اللبن في أنبوبة غليان نظيفة معقمة وتوضع هذه الأنبوبة في حمام

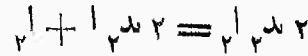
مائي وترفع حرارتها إلى ٣٧ سنتجراد ثم تحفظ بالمحضن على تلك الدرجة لمدة ٩ ساعات أو على درجة ٢٠ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة وأخيرا يبرد اللبن ويرج ويصب منه ٢ سم^٣ في أنبوبة اختبار نظيفة ويضاف إليها ٢ سم^٣ من الكحول السابق الذكر وترج الأنبوبة وتفحص فإذا لم يظهر راسب بالمخلوط وكان لونه أصفر (buff) دل ذلك على أن العينة جيدة ومثل هذه العينات تبقى غالبا مدة ثلاثة أيام أو أكثر دون أن تتغير وإذا ظهر به راسب دقيق يرتقلى اللون كانت العينة جيدة نوعاً .
أما العينات الرديئة فيتكون بها راسب ثقيل ويصير لونها أحمر ومثل هذه العينات تتغير عادة في مدة وجيزة .

وقد وجد أن الألبان الناتجة من مواش مصابة بالتهاب الضرع تتلون في هذا الاختبار أحيانا بلون أصفر وفي أحيان أخرى تتلون بلون أحمر داكن .

سادساً - اختبار الكاتالاز

Catalase Test

الكاتالاز إنزيم له القدرة على فصل الأوكسجين من فوق أوكسيد الايدروجين حسب المعادلة الآتية:

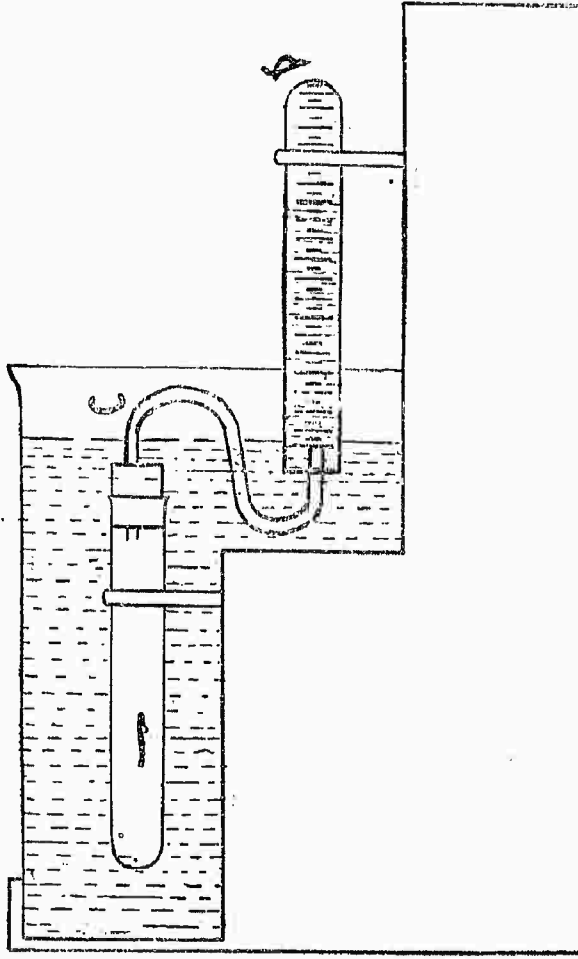


فوق أوكسيد الايدروجين = ماء + أوكسجين

ويوجد هذا الإنزيم في أنسجة النباتات والحيوانات وفي كرات الدم البيضاء (leucocytes) كما تنتجه جميع أنواع البكتيريا تقريباً ماعدا بكتيريا حامض اللكتيك الحقيقية (True Lactic acid bacteria) والبكتيريا الغير الهوائية مثل باسلس أميلوباكتري (B. amylobacter) .
وتختبر الألبان والقشدة والروبة (البادى) أحيانا بتقدير كمية الأوكسجين الناتج عند خلط مقدارين معينين من العينة ومن ثأى أوكسيد الايدروجين في جهاز خاص وحفظهما مدة معينة من الزمن على درجة حرارة خاصة . وغنى عن القول أن مقدار الأوكسجين الناتج يتوقف على نسبة الإنزيم في العينة .

كيفية إجراء الاختبار

يستخدم في هذا الاختبار إما جهاز هنكل (Henkel's apparatus) أو جهاز لند (Lind's apparatus)
ففي حالة استعمال أولهما (انظر شكل ٤٨)

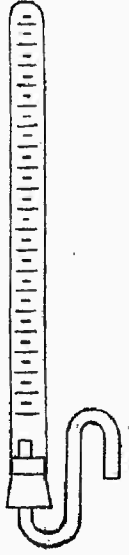


(شكل ٤٨)
جهاز هتكل المستعمل في اختبار الكاتالاز

ترج عينة اللبن أولا كالمعتاد ويصب منها ١٥ سم^٣ في أنبوبة الاختبار الخاصة (ا) ويضاف إليها ٥ سم^٣ من محلول فوق أكسيد الايدروجين ١ ٪ (يحضر بخاط جزء من فوق أكسيد الايدروجين ٢٠ حجما (20 volumes) مع خمسة أجزاء من الماء المقطر) ثم تخلط محتويات الأنبوبة بسرعة وتقلل بسدادة من المطاط تنفذ منها أنبوبة زجاجية ملتوية (ب) وتغمس أنبوبة الاختبار في ماء على درجة ٢٢ سفتجراد بحيث يكون فم الأنبوبة الملتوية العلوى تحت سطح الماء ثم يملا بخبار مدرج (ح) بالماء ويقلب فوق الأنبوبة الملتوية مباشرة ويثبت في الموضع المذكور (كما هو مبين بالشكل ٤٨) وأخيرا يوضع الجهاز بالمحضن على درجة ٢٢ سفتجراد لمدة ست ساعات فيتجمع الأكسجين الناتج في أثناء المدة المذكورة بالخبار ويمكن معرفة حجمه بسهولة من التدرج الموجود على الخبار .

أما جهاز لند (انظر شكل ٤٩) فعباره عن أنبوبة مدرجة سعتها ٢٠ سم^٣ تقل كذلك بسدادة من المطاط تنفذ منها أنبوبة زجاجية ملتوية وعند استعماله توضع ١٥ سم^٣ من العينة في الأنبوبة المدرجة ويضاف إليها ٥ سم^٣ من محلول فوق أكسيد الايدروجين السالف الذكر وبعد خلطهما تقلب الأنبوبة وتقلب

(بالوضع المبين بالشكل ٤٩) وتحفظ على درجة ٢٢ سنتجراد لمدة ٦ ساعات ويقدر الأكسجين الناتج في نهاية المدة من التدريج الموجود على الأنبوبة .



ويعرف أحيانا عدد السنتمترات المكعبة من الأكسجين الناتج من العينة في مدة الست ساعات برقم الكاتالاز (Catalase Number) وفي المعتاد لا يزيد رقم عينات اللبن الطازجة الناتجة من مواش سليمة عن ٣,٥ .

أما اللبأ (السرسوب) والألبان الناتجة من مواش مصابة بالتهاب الضرع فتعطي كميات من الأكسجين تزيد عن ذلك كثيرا بالنظر لاحتوائها على نسبة كبيرة من خلايا حيوانية كما أن تلوث العينة بعدد كبير من البكتريا يؤدي إلى زيادة الأكسجين الناتج . الفرز تحتوى دائما على نسبة من انزيم الكاتالاز تزيد عما يحويه اللبن والقشدة لأن حبيبات الدهن في القشدة تحمل معها عددا من الخلايا الحيوانية . وعينات اللبن التي لا تحتوى رئيسيا إلا على بكتريا حامض

(شکل ٤٩)

اللاكتيك لا ينتج غير كميات ضئيلة من الأكسجين ولذلك يستعمل جهاز لند المستعمل في اختبار الكاتالاز اختبار الكاتالاز كثيرا في فحص الروبه إذ المعروف أن الروبه الجيدة لا تشتمل إلا على مزرعة نقية من بكتريا حامض اللاكتيك فإن اعطت عينة من الروبه كمية كبيرة من الأكسجين دل ذلك على احتوائها على أنواع من البكتريا الغير المرغوب فيها ويتعين حينئذ عدم استعمالها . ولما كان انزيم الكاتالاز لا يتأثر بالتسخين فإن اللبن المبستر أو المعقم لا يحتوى إلا على نسبة صغيرة منه أو لا يحتوى عليه كلية إذا روعيت الدقة في معاملته ولذلك يستعمل هذا الاختبار أحيانا للوقوف على مدى دقة عملية البسترة أو التعقيم .

سادساً : اختبار البروم كريسول الأرجواني

Brom - Cresol Purple Test

تقدر أحيانا مدة حفظ عينات اللبن باستعمال أحد الأدلة (indicators) كالبروم كريسول الأرجواني والبروم ثيمول الأزرق . ووجود مثل هذين الدليلين باللبن يساعد على الأخص في ملاحظة التغيرات الطفيفة في الحموضة .

وعند استعمال الدليل الأول في اختبار اللبن توضع ثلاثة سنتمترات مكعبة من عينة اللبن في أنبوبة اختبار نظيفة معقمة ويضاف إليها نقطة واحدة من محلول مائي مشبع للبروم كريسول الأرجواني ويخلط اللبن والدليل خلطا جيدا مع اتخاذ جميع الاحتياطات التي تكفل عدم تلوث الأنبوبة أو اللبن أو الدليل بميكروبات

خارجية ثم تحفظ على درجة حرارة ١٨ — ٢٠ سنتجراد وتفحص في فترات منتظمة ويلاحظ تغير لون المخوط الذى يكون أولا أزرق مائل إلى الرمادى (grayish - blue) فى اللبن الطازج ثم يأخذ فى الأصفرار تدريجيا بازدياد الحموضة كما تلاحظ فى ذات الوقت التغيرات الأخرى مثل تجبن العينة وإنتاج الغازات فيها الخ .

وقد وجد كذلك أن لون الدليل المذكور لا يتأثر بمحوضة اللبن فحسب بل أنه يميل إلى الاصفرار فى وجود الفورمالدهيد فى حين أن لونه يكرن أغمق عما هو فى اللبن الطبيعى (أى اللون فى اللبن الطازج) فى العينات المضاف إليها الماء أو القواعد أو الأملح القاعدية .

ولإختبار البروم كريسول الأرجوانى أهمية خاصة فى فحص الألبان الناتجة من مواش مصابة بالتهاب الضرع على أن هذا الاختبار يفنى أن يعزى بفحص الراسب ميكروسكوبيا . ومثل هذه الألبان يكون تأثيرها قلويا فينتج مع الدليل المذكور لونا أرجوانيا .

وتسهلا لأجراء هذا الاختبار تحضر بعض الشركات التجارية أوراقا خاصة ملونة بدليل البروم كريسول الأرجوانى وعندما يحلب عليها قليل من الجزء الأول من اللبن المأخوذ من كل من أجزاء الضرع الأربعة يتغير لونها من الأصفر إلى الأرجوانى فى الحالات التى توجد بها الإصابة بالتهاب الضرع . على أن هذه القاعدة لا تخلو من الشواذ لأن اللبن الناتج من بعض الماشية التى وضعت حديثا أو فى نهاية فصل الحليب قد يكون قلويا التأثير فيعطى نتائج مماثلة للعينات السالفة الذكر كما أن اللبن الناتج من ماشية مصابة بالتهاب الضرع قد يكون أحيانا حمضى التأثير .

أما فى حالة استعمال دليل البروم ثيمول الأزرق فى إختبار مدة الحفظ فيحضر مرق بتركيب خاص مضاف إليه مقدار معين من محلول مائى للدليل المذكور قوته ٠,٠٤ . ويضبط التأثير إلى رقم pH ٧ ويضاف ١ سم^٣ من عينة اللبن المراد اختبارها إلى عشرة سنتمترات مكعبة من المرق فى انبوبة ويحفظ المخوط بالمحضن على درجة ٣٧ سنتجراد ويفحص كل ساعة مرة ويقارن بأنايب اللون النموذجية ويلاحظ سرعة تغير اللون بازدياد الحموضة حتى يصل التأثير إلى رقم pH ٨,٥ أو حتى تنقضى ثمان ساعات من وقت ابتداء الاختبار . وغنى عن القول أن العينات الرديئة تعطى نتائج سريعة فى هذا الاختبار بينما لا يلاحظ التغير فى لون المخوط فى حالة العينات الجيدة إلا بعد انقضاء وقت طويل نسبيا . وهذا الاختبار غير شائع الاستعمال على وجه العموم اذ يعاب عليه أن لون المرق لا يتغير فى الانبوبة كلها بانتظام بانقضاء المدة فيصعب لذلك الوصول إلى نتائج دقيقة .

سابعا — اختبار وجود البكتريا الحرارية

Detection of Thermophilic Bacteria

من أنواع البكتريا التى توجد باللبن أحيانا مالا تستطيع النمو على الأغذية العادية المستعملة لأحصاء.

العدد الكلى للبكتريا في اللبن بالنظر لعدم ملائمة الحرارة التي تحفظ عليها الأطباق المذكورة لنموها وتكاثرها، وأهم هذه الأنواع هي المعروفة باسم الميكروبات الحارة أو الثرموفيلية أى التى تنمو على درجات حرارة تزيد عن ٣٧ سنتجراد .

ولاختبار وجود هذه الأنواع أهمية كبيرة فى فحص الألبان المبسترة لا لأنها لا تقتل بعملية البسترة فحسب بل لأنها تنشط وتتكاثر بسرعة على درجات الحرارة العالية ولذا يكثر وجودها أحيانا فى أجهزة البسترة وهى تنتقل إلى اللبن من الغبار ومواد العلف والأواني الخ . وقد تسبب تغيرات غير مرغوب فيها فى اللبن .

وتختبر الألبان المبسترة عادة بطريقة الأطباق المعتادة كما تفحص بطريقة الميكروسكوب ثم يسقارن العدد الناتج على الأطباق بالعدد الذى ينتج من الفحص الميكروسكوبى فان ظهر ارتفاع الأخير بالنسبة للاول واتضح من الفحص الميكروسكوبى وجود عدد كبير من الخلايا العصوية الطويلة متجترمة أو غير متجترمة لزم عندئذ اختبار العينة لتقدير نسبة الميكروبات الثرموفيلية فيها .

ولإجراء الاختبار المذكور يلزم أن يكون المعمل مجهزاً بمحضن خاص درجة حرارته ٥٥ سنتجراد وأن يعنى باعداد المواد اللازمة كهيئة الآجار والأطباق والأنابيب والمصاصات الممقمة بالكيفية المشروحة فى الكلام عن عد البكتريا بطريقة الأطباق ومع أنه يمكن استعمال احدى البيئات التى ذكرت فى الكلام عن طريقة الأطباق فى هذا الاختبار كذلك إلا أنه وجد أن آجار اللبن « Milk Agar » أو الآجار العادى المضاف اليه سكر الجلوكوز وبعض مواد آزوتية خاصة أكثر ملائمة لنمو الميكروبات الثرموفيلية ويتركب آجار اللبن الذى أتينا على ذكره إجمالاً فيما سبق كالآتى : —

تذاب ثلاثة جرامات من اللسكر وخمسة جرامات من البيتون فى لتر من ماء الصنبور بتسخينها بالبخار (تستغرق هذه العملية نحو ساعة) ويضبط تأثير المرق الى رقم ٦,٨ p H ثم يسخن فى الأوتوكلاف إلى ضغط ٢٢,٥ رطل للبوصة المربعة ويضاف اليه ١٥ جراماً من الآجار ويعاد تسخين البيئة فى الأوتوكلاف إلى ضغط ٧,٥ رطل للبوصة المربعة لمدة ١٥ دقيقة ثم ترشح ويضاف لها ١٠ سم^٣ من اللبن الفرز الطازج التنظيف وتخلط بها جيداً وتعبأ البيئة فى الأنابيب وتعقم بالأوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلاً لمدة ٣٠ دقيقة أما البيئة الثانية فتتركب كذلك من خلاصة اللحم والبيتون والآجار ولكن يضاف إليها نسب خاصة من الجلوكوز والتربتون وخلاصة الخميرة

طريقة إجراء الاختبار :

يتبع فى تحضير الأطباق نفس الطريقة المتبعة فى تحضير أطباق عد البكتريا فى اللبن وتتخذ نفس الاحتياطات المذكورة فى تلك الطريقة لمنع تلوثها بميكروبات خارجية ثم تراعى النقاط الآتية بدقة :

- (١) تحفظ الاطباق بعد إعدادها وتجمد الآجار على درجة ٥٥ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة .
 - (٢) من المهم أن تصل حرارة الاطباق إلى الدرجة المذكورة في مدة لا تتجاوز الساعتين من وقت تحضيرها ويمكن بلوغ ذلك بتدفئة الاطباق قبل نقلها إلى المحضن وتجنب وضعها به في صفوف متلاصقة حتى تتخلل الحرارة هذه الصفوف بسهولة وسرعة
 - (٣) يوضع بالمحضن مع الاطباق كأس يحتوى على ماء وينبغي ألا يقل ما يحويه كل طبق عن ١٥ — ٢٠ سم^٣ من الآجار حتى لا تجف البيئة بسرعة فيتأثر نمو البكتيريا
- عند فحص عينات اللبن الخام لاختبار وجود الميكروبات الثرموفيلية يستحسن بعد أن تخفف العينة كالمعتاد أن يؤخذ مقدار معين من كل تخفيف ويوضع بأنبوبة تحتوى على لبن معقم ثم تحفظ الانابيب المذكورة على درجة ٥٥ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة وتصب في أطباق وتخلط بآجار اللبن وتحفظ على ٥٥ سنتجراد

الباب الخامس والعشرون

طرق الكشف عن الميكروبات المرضية في اللبن

يقتضى اجراء الاختبارات التالية مراعاة غاية الدقة في أخذ العينات وحفظها والاحتياطات التامة من تلوث أدوات المعمل بالميكروبات المرضية عند عزلها وانماؤها أو من وصولها الى الأيدي أو الفم أو الأنف الخ ولاختبار الميكروبات المرضية في اللبن أهمية كبرى عند الاشتباه في إصابة حيوان من ماشية الحليب بمرض معد أو ظهور أعراضه عليه وكذلك في حالة انتشار بعض الاوبئة الخطيرة كالتييفود والدفتريا ونحوهما وعلى الاخص بين الاطفال الذين يتركب الجزء الأكبر من غذائهم من اللبن ومشتقاته . والامراض التي تنتشر بواسطة اللبن كثيرة وقد شرحت في مكان آخر إلا أننا سنكتفي هنا بوصف طريقة الكشف عن بعض المهم منها كالميكروب المسبب لالتهاب الضرع وكالميكروبات السل والتييفود والدفتريا والاجهاض المعدي

أولاً - الكشف عن الميكروب المسبب لالتهاب الضرع

Strep. mastitidis

عند الاشتباه في إصابة إحدى مواشي الحليب بمرض التهاب الضرع ينبغي أن تفحص عينة من لبنها ميكروسكوبياً ويلزم في مثل هذه الاحوال أن تؤخذ العينة من الضرع مباشرة مع الاحتياط التام من تلوثها بميكروبات خارجية والطريقة المتبعة عادة في أخذ العينة هي الآتية : -

ينظف الضرع والحلمات ويذا الحلاب وذراعه بالماء الدافئ والصابون وتمسح جميعها بالقطن المعقم بعد غمره في الكحول وترك حتى تجف ثم يحلب أولاً جزء قليل من اللبن في إناء ويستغنى عنه ويحلب بعدئذ من كل حلمة من الحلمات الأربع نحو ٥ سم^٣ على حدة في زجاجة معقمة وتقلل الزجاجة مباشرة ، على أن البعض يفضل أخذ الجزء الأول من اللبن المحلوب ضمن العينة وعدم الاستغناء عن شيء منه نظراً لاحتوائه على عدد كبير من الميكروبات المسببة لالتهاب الضرع .

تعبأ كل عينة من عينات اللبن في أنبوبة من أنابيب الآلة المركزية الطاردة (تعقم الأنابيب المذكورة قبل الاستعمال) ثم تدار في الآلة كما أوضحنا في الكلام عن اختبار الراسب وبعد ملاحظة حجم الراسب ومظهره يحضر منه غشاء ويصبغ بأزرق الميثيلين أو بطريقة جرام (تلون الشريحة في هذه الطريقة بصبغة

الجفسيان البنفسجي لمدة دقيقتين ثم تعامل بمحلول جرام اليودي لفترة دقيقتين وتغسل بالكحول ثم بالماء وأخيراً تلون مرة أخرى بصبغة الفوكسين المخفف لمدة ١ دقيقة ويعاد غسلها بالماء وتجفف وتختبر بالعدسة الزيتية .

إذا شوهد بالغشاء الميكروب السبجي بهيئة سلاسل طويلة (بنفسجية اللون في الشريحة المصبوغة بطريقة جرام) مع عدد كبير من الكرات الدموية البيضاء كان ذلك دليلاً على إصابة الحيوان الذي أخذت منه العينة بالتهاب الضرع على أنه يعمد أحياناً إلى تعزيز الفحص الميكروسكوبي المتقدم الذكر بالاختبار بطريقة الزرع وفي هذه الطريقة يؤخذ جزء من الراسب المحضر بالكيفية السابقة وتلقح به بيئة آجار الدم (blood agar) بعد تسخينها وتبريدها بالطريقة المعتادة ثم تصب في الأطباق وتحفظ على درجة ٣٧ سقجراً لمدة ٤٨ ساعة ، وبفحص المجموعات التي تظهر على الأطباق يمكن تمييز الميكروب المسبب لالتهاب الضرع إذا وجد بالعينة .

وما تجدر ملاحظته في صدد هذا الاختبار ضرورة فحص عينة اللبن عقب أخذها مباشرة فإذا تعذر ذلك لسبب من الأسباب فينبغي حفظها محاطة بالثلج المجروش إلى أن تفحص كما لا يجب الاعتماد على نتيجة الفحص إلا إذا كان اللبن مأخوذاً من حيوان واحد أو من جزء من أجزاء الضرع الأربعة لأن وجود الميكروبات السبجية وكرات الدم البيضاء في عينة مخلوطة من ألبان عدة مواش لا تعتبر دليلاً قاطعاً على وجود الإصابة إذ يجوز أن تأتي الميكروبات من مصدر والكرات البيضاء من مصدر آخر .

ثانياً — الكشف عن ميكروب السل

B . tuberculosis

ينبغي في هذه الحالة كذلك أن يعنى بأخذ عينة اللبن من ضرع الماشية مباشرة مع اتخاذ الاحتياطات التي أسلفنا ذكرها في الطريقة السابقة . على أنه يتحتم الاستغناء عن الجزء الأول من اللبن المحلوب قبل أن يبدأ في أخذ العينة المراد اختبارها للبحث عن ميكروب السل .

تتبع طريقتان للكشف عن ميكروب السل في اللبن وهما : (١) طريقة الفحص الميكروسكوبي . (٢) طريقة حقن الحيوان وسننسط كيفية إجراء كل منهما فيما يلي :

١ — طريقة الفحص الميكروسكوبي :

قبل إجراء هذا الاختبار تعقم أنابيب الآلة المركزية الطاردة بالطواء الساخن وتعبأ كل منها بعينة من عينات اللبن وتفرز بالطريقة المعتادة ثم يحضر من الراسب الناتج غشاء على شريحة زجاجية نظيفة معقمة ويجفف في الهواء ويثبت بالحرارة ويصنع بالطريقة الآتية المعروفة بطريقة زيهل -- نيلسن (Ziehl - Neelsen) .

- ١ — يلون الغشاء أولاً بصبغة الفوكسين المركزة بعد ترشيحها (Carbol fuchsin) وذلك بوضع الصبغة المذكورة على الشريحة ساخنة (يجرى التسخين في أنبوبة اختبار) أو توضع عليها باردة وتسخن على فترات بواسطة مصباح بنزين ويستمر الصبغ لمدة ١٥ دقيقة مع ملاحظة عدم جفاف الصبغة على الشريحة.
 - ب — تصب الصبغة من على الشريحة وتغسل بالماء جيداً.
 - ح — تغمس الشريحة في حامض كبريتيك قوة ٢٠ ٪ لمدة دقيقة واحدة وتغسل بالماء الجارى لمدة دقيقة أخرى وتصفى ويعاد غمسها في الحامض ثم غسلها بالماء بالكيفية السابقة مرة ثانية وتكرر هذه العملية بضع مرات الى أن يظهر الغشاء بلون وردى باهت.
 - د — تغسل الشريحة جيداً بالماء لمدة خمس دقائق.
 - هـ — تعامل الشريحة بالكحول لمدة دقيقتين ثم تغسل بالماء (يفضل البعض غمس الشريحة في محلول كربونات الصودا المخفف بضع ثوان قبل الصبغ مباشرة بدلاً من معاملتها بالكحول).
 - و — تصبغ الشريحة بصبغة مضادة «Counter stain» لمدة دقيقتين والصبغة المستعملة عادة هي أزرق الميثيلين لوفلر «Loeffler's methylene blue» وتتركب هذه الصبغة كالآتى : يحضر محلول بوتاسا كاوية بـ ١ سم^٣ من محلول ١ ٪ الى ٩٩ سم^٣ من الماء ثم تضاف ٣٠ سم^٣ من محلول كحول مشبع لازرق الميثيلين في كحول الى ١٠٠ سم^٣ من محلول البوتاسا المذكور.
 - ز — تغسل الشريحة بعدئذ بالماء وتجفف وتختبر بالعدسة الزيتية ومن المستحسن معاملة الشريحة بالاثير لمدة بضع ساعات قبل صبغها لازالة الدهن منها.
- ويفضل البعض اتباع طريقة أخرى (طريقه دوجلاس ومينول) «Douglas & Meanwell» فى فحص عينات اللبن للبحث عن ميكروب السل وإتماماً للفائدة نلخصها فيما يلى :
- تعبأ ١٠ سم^٣ من عينة اللبن فى أنبوبة الالة المركزية الطاردة ويضاف اليها نصف سنتيمتر مكعب من محلول الترسين^(١) وتحفظ الانبوبة بالمحضر على درجة ٥٦ سنتجrad لمدة ٣ ساعات أو على درجة ٢٧ سنتجrad لمدة ٦ ساعات ثم تبرد وتضاف اليها ٥ سم^٣ من الاثير ويحكم سدها بسدادة خاصة من المطاط وترج جيداً ٢٠٠ مرة على الأقل ثم توضع بالالة وتدار لمدة ٢٠ دقيقة بسرعة ٤٠٠٠ دورة فى الدقيقة فيلاحظ أن اللبن الذى تحويه يتألف من ثلاث طبقات مميزة تظهر السفلية منها بيضاء سائل رائق وتركب السطحية من الاثير مذاب فيه الدهن ويفصل الطبقتين المذكورتين طبقة جيلائينيه رقيقة وهذه تفحص للثور على ميكروب السل فيلتقط منها جزء صغير بواسطة ابرة معقمة ذات عقدة ويوضع على شريحه نظيفة ويخلط بنقطه من الماء المقطر وينشر بشكل غشاء رقيق ثم يجفف فى الهواء وتوضع الشريحه فى كحول وأثير لمدة ساعتين على درجه الحرارة المادبة وأخيرا تصبغ بطريقه زيهل - نيلسن
- يشاهد ميكروب السل فى الغشاء المحضر بكلتا الطريقتين المذكورتين والمصبوغ بطريقه زيهل - نيلسن

(١) محلول محضر بواسطة محلات الن وهاندبوري بلندن (Allen & Handbury)

ملونا بلون أحمر وشكله عصوي نحيف مستقيم أو منحني قليلا وغير متجرح وأحيانا يكون مجعبا « granulated » فيرى في هذه الحالة غير منتظم التلوين ويلاحظ التحبيب واضحا في حين ترى خلايا الانسجة والميكروبات الأخرى ملونة بلون أزرق

ويحسن القول هنا بأن النتائج السلبية للفحص لاتضمن خلو اللبن تماما من ميكروب السل لأن هذا الميكروب قد يوجد في العينة بعدد قليل جدا فيتعذر كشفه ولهذا فإن طريقة الفحص الميكروسكوبى لايعول عليها كثيرا في اختبار العينات المختلطة من ألبان عدة. وانشى بالنظر لوجود الميكروب عادة في مثل تلك العينات بقلّة ولكن هذه الطريقة مهمة في فحص العينات الفردية المأخوذة مباشرة من حيوان مشتبّه فيه أو من جزء من أجزاء الضرع الأربعة .

ومن أهم ميزات هذه الطريقة إمكان الحصول على نتيجة في وقت قصير ولو أنه لاينبغى الاعتماد على تلك النتيجة اعتمادا تاما فقد يشاهد أحيانا في غشاء زهيل - نيلسن بعض ميكروبات تشبه ميكروب السل في مظهرها إلا أنها غير ممرضة لذلك يفضل دائما تعزيز نتيجة الفحص الميكروسكوبى باختبار الحقن في حيوانات التجارب .

٢ - طريقة حقن الحيوان

يؤخذ مائة سقمتر مكعب من عينة اللبن المراد اختباره وتقسم هذه الكمية إلى أربعة أقسام متساوية يوضع كل منها في أنبوبة معقمة من أنابيب الآلة المركزية الطاردة وتدار الأنابيب الأربعة في الآلة المذكورة لمدة نصف ساعة بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة ثم ترفع من الآلة وتفصل طبقة القشدة من كل منها ويصب السائل الموجود تحتها باحتراس ويترك الجزء المهم وهو الراسب في الأنبوبة . وعملية الفرز تؤدي إلى سقوط الميكروبات إلى قاع الأنبوبة ولو أنه في أحوال قليلة ترتفع بعض الميكروبات مع حبات الدهن وتطفو معها على السطح .

يصب بعدئذ الراسب الناتج من الأنابيب الأربعة باحتراس شديد في أنبوبة معقمة ذات طرف مدبب مع اتخاذ الاحتياطات التي تضمن عدم تلوثه بميكروبات خارجية أثناء هذه العملية ، ثم توضع الأنبوبة المذكورة في الآلة وتدار لمدة ربع ساعة بالسرعة المستعملة في الحالة الأولى وبعدها يصب السائل العلوى ويكمل الراسب بالمحلول الملحي المعقم إلى ٣ سم^٣ ويمزج جيدا ثم تسحب الكمية المذكورة جميعها في محقنته (syringe) معقمة ليتلقح بها الحيوان (وأحيانا يفضل استعمال القشدة الناتجة مع الراسب في التلقيح) . وطريقة حقن الحيوان للتحقق من وجود ميكروب السل في العينة هي أهم وأفضل الطرق المعروفة حتى الآن وتلخص فيما يلي : -

يختبأ أرنبان هنديان (guinea - pig) من وزن وحجم واحد تقريبا ويقص الشعر الموجود على جزء من السطح الداخلى للفخذ الأيسر لكل منهما ثم ينظف هذا الجزء أى موضع الحقن جيدا بالكحول

وتحقن نصف الكمية التي تحويها المحقنة أى ١,٥ سم^٣ تحت الجلد ثم تسحب الابرة ويضغط بإبهام اليد اليسرى على موضع الحقن وأخيرا تحقن الكمية الباقية فى الارنب الثانى بنفس الطريقة .

وطريقة الحقن فى الفخذ مفضلة على الحقن فى البريتون لجملة أسباب منها امكان تشخيص المرض بسرعة اكبر فى الطريقة المتقدمة إذ يتيسر جس الغدد الليمفاوية القريبة من موضع الحقن باليد بسهولة .

بعد اتمام الحقن تربط بكل ارنب بطاقة تحتوى على المعلومات الاتية :

ا — الالوان المميزة وجنس الارنب (ذكر أو أنثى) ومكان الحقن .

ب — تاريخ الحقن .

ج — ملاحظات عن الاعراض التى تظهر على الحيوان فى مدة الاختبار .

د — الاوزان الاسبوعية التى يستدل بها على صحة الحيوان .

يوضع الارنبان بعدئذ فى قفص واحد ويؤذيان بالغذاء العادى لمدة ستة أسابيع على أن يوزنا ويفحصا اسبوعيا. وتراقب حالتهم الصحية العامة وتعطى عناية خاصة لإختبار مكان الحقن وملاحظة وجود أورام أو تكون صديد به كما تجس الغدد الليمفاوية القريبة ويلاحظ تضخمها .

فان لوحظ تكون صديد حضر منه غشاء وفحص لوجود ميكروب السل فاذا وجد الميكروب بالغشاء أعدم الارنب وأجرى تشريحه فى الحال أما إذا لم تظهر أعراض مرضية مبكرة فيجب اعدام أحد الارنيين بعد مضى ستة أسابيع وتشريحه وفحص مكان الحقن والغدد القريبة منه والكبد والطحال بعناية وتحضر أغشية من القرع التى قد توجد عليها وتصبغ وتفحص ميكروسكوبيا بالطريقة السالفة الذكر . فاذا كانت عينة اللبن ملوثة بميكروب السل أمكن تمييز الميكروب المذكور فى الغشاء وإعادة عزله من الاجزاء المصابة أما إذا كانت النتائج سلبية فيجب قتل الارنب الثانى بعد مضى أسبوعين آخرين ثم فحصه بنفس الطريقة .

وهذا الاختبار ولو أنه أضمن الطرق المعروفة حتى الآن للتحقق من تلوث عينات اللبن بميكروب السل كما قلنا من قبل إلا أنه لا يخلو من عيوب فنفقات اجرائه باهظة نسبيا إذا قورنت بنفقات طريقة الميكروسكوب ، كما أنه يستغرق وقتا طويلا للحصول على نتائج حاسمة منه ، وعلاوة على ذلك فقد يصاب الحيوان بأمراض أخرى تؤدى الى موته قبل انتهاء الاختبار ، على أن العيب الاخير يمكن تلافيه بحقن أرنيين أو أكثر بكل عينة الا أن هذا من جهة أخرى يزيد نفقات اجراء الاختبار .

ثالثا : الكشف عن ميكروب التيفود

Bact. or Bac. typhosus

عند فحص اللبن للكشف عن ميكروبات التيفود يؤخذ مقدار من العينة ويدار فى الآلة المركزية الطاردة بالطريقة الانفة الذكر ثم ينقل جزء من الراسب الناتج بواسطة ابرة ألومنيوم معقمة ويسحب على سطح بيئة آجار ما كونكى المتعادل الحمرة (وهو يعرف أيضا باسم آجار ملح الصفراء اللكتوزى المتعادل الحمرة (bile - salt neutral red lactose agar) بعد إذابتها وصبها فى الاطباق ثم تجمد ، ومن المهم

جدا أن يكون سطح البيئة المذكورة تام الجفاف قبل التلقيح ويتم ذلك بوضع الأطباق في المحضن مقلوبة (أى غطاؤها إلى أسفل) على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤ — ٥ ساعات قبل تلقيحها .

وتتركب البيئة المذكورة من مرق ماكونسكى السابق وصفه في اختبار ميكروبات القولون في اللبن ، ولكن يضاف إليها ١ ٪ آجار ويذاب بالتسخين لمدة ١٥ دقيقة تحت ضغط ٧,٥ رطل للبوصة المربعة ويرشح ثم يضاف اللاكتوز بعد اذابته في قليل من الماء إلى الآجار المرشح (بدلا من إضافته إلى المرق أولا) كما تضاف كمية كافية من محلول الحمرة المتعادلة لجعل لون البيئة بنى شم (reddish - brown) (حوالى ١٠ سم^٣ من محلول مائى ٥,٥ ٪ للحمرة المتعادلة لكل لتر من البيئة) ثم تعبأ البيئة في الأنابيب كالمعتاد وتسد الأنابيب وتعقم لمدة ٣٠ دقيقة تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة .

توضع الأطباق بعد تلقيحها بالطريقة السابقة في المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد فإذا كانت العينة ملوثة بميكروب التيفود فتظهر مجموعات باهتة اللون على الآجار في حين أن مجموعات باسلس القولون ذات لون وردي ويكون ظهور مجموعات ميكروب التيفود عادة بعد مضى ١٨ — ٢٤ ساعة من وقت التلقيح . واثما للتشخيص ينبغى أن يشغل جزء صغير من كل مجموعة من المجموعات المشتبه فيها إلى أنبوبة آجار ماكونسكى المائل ثم يعزل الميكروب الذى يوجد بها بحالة نقية وتختبر قدرة كل منها على تخمير أنواع السكر المختلفة .

وتتبع في بعض الأحيان طريقة أخرى لانماء ميكروب التيفود وسهولة تمييزه وتستعمل في هذه الطريقة بيئة خاصة تشتمل على نسب متفاوتة من صبغة الأخضر اليانع (brilliant green) ووجود هذه الصبغة في البيئة يسمح لميكروبات التيفود والباراتيفود بالنمو في حين أنه يثبط نمو الميكروبات الأخرى ويعوق نمو باسلس القولون إلى درجة كبيرة .

وزيادة في الفائدة نورد فيما يلى تركيب هذه البيئة :

بيتون	٢٠ جرام
ملح الطعام	٥
ماء مقطر	١٠٠٠ سم ^٣

يذاب البيتون والملح في الماء بالتسخين ويضبط تأثير البيئة إلى رقم pH ٦,٥ وتعبأ في الأنابيب بنسبة ١٠ سم^٣ في كل أنبوبة ثم تعقم في الأوتوكلاف تحت ضغط ١,٥ جوى . ويحضر محلول مائى بـ بـ بـ بـ لصبغة الأخضر اليانع (لسهولة تحضير هذا المحلول يحتفظ بمحلول ١ ٪ للصبغة المذكورة وعند إعداد المحلول المخفف السالف الذكر يضاف بـ بـ سم^٣ من محلول ١ ٪ إلى ١٠ سم^٣ من الماء المعقم قبل الاستعمال مباشرة) . تضاف إلى إحدى أنابيب البيئة ٢٥ سم^٣ من محلول الصبغة المخففة كما يضاف منه إلى أنبوبة أخرى ٤٠ سم^٣ وإلى أنبوبة ثالث ٧٠ سم^٣ بواسطة ماصة معقمة .

تلقح كل من الأنابيب الثلاث المذكورة بنقطة أو نقطتين من الراسب المتحصل عليه من عينة اللبن المراد

اختبارها بواسطة ابرة معقمة ذات عقدة وتوضع الانايب في المحضن على درجة ٣٧ سنتجـاد لمدة ١٢ ساعة .

يلاحظ بعد انقضاء مدة الحضانة تكثير السائل في الانايب إذا كانت العينة ملوثة بميكروبات التيفود أو الباراتيـفود وفي العادة يمكن عزل الميكروبات المذكورة بسهولة من بعض هذه الانايب لأنها توجد فيها غالباً بحالة نقية تقريباً .

ولزيادة الوثوق من احتواء السائل العسـكر على هذه الميكروبات تنقل نقطة منه بواسطة ابرة معقمة ذات عقدة وتسحب على سطح أطباق آجار ما كونيكي المتعادل الحمرة وتميز المجموعات وتنقى كما ذكرنا في الطريقة السابقة ، على أنه يستعاض في بعض الأحوال عن آجار ما كونيكي ببيئة أخرى تعرف باسم آجار إيوسين أزرق الميثيلين (Eosine - methylene blue agar) وهي تتركب من ١٠٠ سم^٣ من الآجار المغذى المعقم (وهو مركب من ١٠ جرام لمسكو ، ١٠ جم بيتون ، ٥ جرام ملح الطعام ، ١٥ جرام آجار ، ١٠٠٠ سم^٣ ماء الصنبور) يضاف إليها ٢ سم^٣ من محلول إيوسين ٢ ٪ ، ٢ سم^٣ من محلول لاكتوز قوة ٢٠ ٪ ، ٢ سم^٣ من محلول أزرق الميثيلين قوة ٥ ٪ . ويشترط أن تعقم جميع هذه المحاليل قبل الإضافة وأن تضاف إلى الآجار بواسطة ماصات معقمة ثم تخلط به جيداً وتصب البيئة بعدئذ في الأطباق وتجمد وتوضع في المحضن لتجفيفها كما ذكرنا في وصف آجار ما كونيكي وأخيراً تُلغـح بنقطة من السائل العسـكر السالف الذكر وتوضع على درجة ٣٧ سنتجـاد لمدة ٢٤ ساعة .

تميز مجموعات باسلس القولون من مجموعات ميكروب التيفود على آجار إيوسين أزرق الميثيلين بكونها كبيرة الحجم حمراء اللون ذات بريق معدني (mettalic lustre) في حين تظهر الثانية صغيرة ومنظمة ولونها وردي فاتح وينبغي في هذه الحالة كذلك أن تلتخب المجموعات المشتبه فيها وتعزل الميكروبات التي تحويها وتنقى وتختبر قدرتها على تخمير أنواع السكر المختلفة . ومن الجدول الاتي يمكن تمييز ميكروبي التيفود والباراتيـفود من باسلس القولون النموذجي (typical B. Coli)

نوع السكر	ميكروب التيفود	ميكروب الباراتيـفود	باسلس القولون
لاكتوز	لا يحدث تغيير	لا يحدث تغيير	يتكون حامض وغاز
جلوكوز	يتكون حامض	يتكون حامض وغاز	» » »
مانيت	» »	» » »	» » »
دالست	لا يحدث تغيير	» » »	» » »
ملتوز	يتكون حامض	» » »	» » »

وما يجدر ذكره أن ميكروب التيفود عند فحصه ميكروسكوبياً يظهر بشكل عصوي قصير مستدير الطرفين

على أنه يبدو أحيانا بشكل خيوط (Threads) أو أشكال رجعية غير منتظمة (involution forms) وهو متحرك وسابى التلوين لصبغة جرام وغير متجشّم .

رابعاً : الكشف عن ميكروب الدفتريا

Bact. or Corynebacterium diphtheriae

يكشف عن ميكروب الدفتريا في اللبن المشتبّه فيه عادة بالزرع وبالحقن في الحيوان ، وطريقة ذلك أن تفرز العينة في الآلة المركزية الطاردة كالمعتاد ثم تلمح أنابيب مصل لوفلر المائية (Loefflers serum slopes) ، يجزء من الراسب وتحفظ على درجة ٣٧ سنتجرا لمدة ١٨ — ٢٤ ساعة وتحضر بيئة المصل المذكورة كالآتي : —

يجمع باحتراس مقدار من الدم البقرى (نحو لترين) من المذبذب بحيث لا يعرض للتلوث بميكروبات خارجية ويوضع في وعاء زجاجي أسطوانى كبير معقم ويغلى ويترك دون اهتزاز حتى يتجمد ، ثم يفصل الجزء المتجمد الملتصق بالزجاج بعناية بواسطة سلك أو مرود زجاجى صغير معقم ويوضع الوعاء في الثلاجة لمدة ٢٤ — ٣٦ ساعة وبعدها يشطف المصل الرائق بماءة معقمة وينقل إلى قنينات معقمة .

يجهز مرق خاص بالتركيب الآتى : —

٣	جرام	خلاصة اللحم
١٠	جرام	جلوكوز
١٠	جرام	بيتون (ويقى أودفكو)
٥	جرام	ملح الطعام
١٠٠٠ سم ^٣		ماء مقطر

تخلط العناصر المذكورة جميعها ونذاب بالحرارة ثم ترشح في ورق الترشيح وعندما يبرد المرق يضاف إلى المصل بنسبة جزء واحد من المرق إلى ثلاثة أجزاء من المصل ثم يعبأ في الأنابيب بمعدل ٣ — ٥ سم^٣ في كل أنبوبة (مع ملاحظة منع تكون فقاعات غازية أثناء التعبئة) وتوضع الأنابيب في وضع مائل وتعقم على درجة حرارة منخفضة في الجهاز المعروف باسم المدقد (inspissator) (وهو صندوق نحاسى مزدج الجدران ذو غطاء ومغلف بالأسبستوس ومحاط بالماء ويسخن بمصباح بزن أو بالكهرباء) ويوضع مع الأنابيب في الجهاز المذكور وعاء غير مغطى يحتوى على ماء لكى يبقى هواؤه رطبا أثناء عملية التعقيم . ترفع حرارة المدقد تدريجيا إلى درجة ٧٠ — ٧٥ سنتجرا وتحفظ على تلك الدرجة لمدة ساعتين ثم تكرر العملية في ستة أيام متعاقبة ويستحسن ألا تحرك الأنابيب أو ترفع من الجهاز طوال المدة المذكورة . يحضر غشاء من النمو الذى يظهر على سطح البيئة المذكورة ويصبغ بمحلول لوفلر لورقة المثيلين أو بصبغة أزرق التوليودين (toluidine blue) (وهذه الصبغة تحضر بإذابة جرامين من أزرق التوليودين في ٢٠ سم^٣)

من الكحول النقي ثم إضافتها إلى سائل مركب من ٥٠ سم^٣ من حامض الخليك الجليدي، ٩٥٠ سم^٣ من الماء المقطر). وللتلوين بهذه الصبغة يجب وضعها على الغشاء بعد تجفيفه ثم تسخن ببطء حتى يتصاعد البخار وتترك عليه لمدة ١ — ٣ دقائق ثم يغسل الغشاء بالماء ويجفف قبل فحصه.

يرى ميكروب الدفتيريا عند فحصه ميكروسكوبيا بشكل عصوي نحيف مستقيم أو مقوس قليلا ومستدير الطرفين ويرى غالبا متجمعا كل أربعة أو خمسة خلايا في مجموعة وتكون هذه الخلايا متوازية أو متقاطعة ومكونة شكل حرف ٧ أو حرف V ويختلف طوله باختلاف الظروف فيرى أحيانا طويلا أو متوسط أو قصير وهو غير متحرك واجباى لصبغة جرام وغير متجثر.

ولزيادة الوثوق من وجود الميكروب المذكور يفصل وينقى باعادة زرعته على البيئة السابق وصفها ثم يحقن به الحيوان إذا أنه يوجد أحيانا في اللبن ميكروبات تشبه ميكروب الدفتيريا شكلا وزرعا في حين أنها غير ممرضة، ولاجاء ذلك يحقن بالميكروب بعد عزله أرنب هندي في الجلد فيظهر في موضع الحقن التهاب، أما إذا حقن الحيوان في العضل أو في التجويف البريتوني فإنه يموت عادة بعد يوم أو يومين وإذا شرح بعدئذ وفحص شوه التهاب في الكلى وتضخم في غدتى فوق الكليتين وكذا التهاب في بعض الأعضاء الداخلية الأخرى.

خامسا : الكشف عن ميكروب الاجهاض المعدي

Bact. or Brucella abortus

يمكن فحص اللبن للكشف عن ميكروب الاجهاض المعدي إما بطريقة الزرع على بيئات مناسبة أو بطريقة حقن الحيوان. وفي كلتا الحالتين تؤخذ العينة من الماشية المشتبه فيها في زجاجة معقمة بعد الاستغناء عن الجزء الأول من اللبن المحلوب أو تحلب ٥٠ سم^٣ من اللبن في أنبوبة الراسب المعقمة مباشرة وتدار في الآلة المركزية الطاردة للمعادن ويستعمل الراسب الناتج في الزرع أو في التلقيح بعد صب السائل العلوي (Supernatant fluid) وخلط الراسب بمقدار ١ سم^٣ من الماء المعقم.

يزرع ميكروب الاجهاض إما على بيئة آجار الكبد (liver agar) المحتوى على الجنسيان البنفسجي (أو بنفسج الجنسيان) (gentian violet) أو على بيئة الآجار المصلى (Serum agar) وتركب هاتان البيئتان كما يلي :—

(١) آجار الكبد : ٥٠٠ جرام من الكبد البقرى المفروم، ١٠ جرام بيتون، ٥ جرام ملح الطعام، ٢٠ جرام آجار، ١٠٠٠ سم^٣ من ماء الصنبور ويضبط تأثير البيئة إلى رقم PH ٧ ثم تعقم ويضاف إليها الجنسيان البنفسجي قبل الاستعمال بنسبة ١/١٠ سم^٣ من محلول كحول مشبع للصبغة المذكورة إلى كل لتر من البيئة.

(٢) بيئة الآجار المصلى : ١٠٠٠ سم^٣ من الآجار المغذى المعقم (السالف الذكر في الكلام عن ميكروب التيفود) يضاف إليها ٥٠ سم^٣ من مصل الدم المعقم (ويمكن الحصول عليه من بعض الحال

الأجنبية (١) أو يحضر من دم أرنب بالكيفية المذكورة في تحضير مصل لوفلر ويحفظ في أنابيب معقمة ويستخن على درجة ٥٧ سنتجراد في ثلاثة أيام متعاقبة ثم يحكم سد الأنابيب لحين الحاجة إليه .
يذاب الآجار المغذى ويرد إلى درجة ٥٠ سنتجراد ويضاف $\frac{1}{4}$ سم^٣ من المصل لكل ٥ سنتمترات مكعبة من الآجار بعناية .

عند اختيار اللبن يذاب الآجار بالنسخين ثم يرد إلى درجة ٥٠ سنتجراد ويضاف إلى إحدى الأنابيب نقطة من الراسب بواسطة إبرة معقمة ذات عقدة وإلى أنبوبة ثانية نقطتان وإلى أنبوبة ثالثة خمس نقط وإلى أنبوبة رابعة عشر فقط بنفس الطريقة ثم تصب محتويات كل أنبوبة في طبق بترى معقم وبعد أن تجمد البيئة توضع الأطباق في وعاء مقفل يحتوى هوائه على ٥ — ١٠ ٪ من ثاني أكسيد الكربون وتحفظ الأطباق على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة أربعة أيام (يمكن جعل هواء الوعاء المذكور مناسباً لميكروب الإجهاض أما بحرق ١٥ سم^٣ من الكحول النقي في زجاجة ساعة في وعاء سعته ٣ لتر أو بوضع الوعاء قبل قفله مزرعة آجار لباسلس ستلس (B. subtilis) بنسبة سنتمتر مربع من سطح المزرعة إلى ١٥ سم^٣ من الحين داخل الوعاء) .

وفي بعض الأحيان تلتصق بعض الأطباق من قشدة العينة المشتبه فيها وطريقة ذلك أن تحفظ العينة بعد وصولها إلى المعمل دون اهتزاز على درجة ٥ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة ثم يبسط $\frac{1}{4}$ سم^٣ من طبقة القشدة المتكونة على اللبن على سطح البيئة بعد صبها في الأطباق وتجميدها وتحفظ الأطباق في المحضن بالكيفية السابقة .

إذا كانت عينة اللبن ملوثة بميكروب الإجهاض فتظهر على الأطباق بعد انقضاء مدة الحضانة المذكورة بمجوعات صغيرة شفافة يبلغ قطرها نحو ١ — ٢ ملمتر وعند فحصها ميكروسكوبياً يشاهد بها ميكروب عصوي قصير غير متجشم وغير متحرك وسلبى التلوين لصبغة جرام وعند إعادة زرعها على نفس البيئة وتنقيته يمكن أنماؤه تحت شروط هوائية صرفه .

أما عن طريقة الكشف عند ميكروب الإجهاض بمحقن الحيوان وهى أضمن من الطريقة السابقة فتتلخص فيما يلي : —

يؤخذ جزء من الراسب الناتج من فرز العينة المشتبه فيها بالآلة المركزية الطاردة ويلقح بها أرنب هندي أو أرنبان فإذا كانت العينة ملوثة بالميكروب المذكور أمكن زرعها من طحال الحيوان الملقح وعزله وتنقيته .

ويمكن اختبار مصل الارنب الملقح بواسطة تفاعل التلبد (Agglutination test) ولإجراء هذا الاختبار يتبع عادة النظام الآتى :

تؤخذ حوالي ٢ سم^٣ من دم الارنب الملقح وتحفظ حتى تتجمد ويفصل المصل بالآلة المركزية الطاردة وهذا المصل يحتوى على الاجسام الضدية أو المضادة (Anti - bodies)

يسحب مقدار معين من المصل بواسطة ماصة معقمة جافة وتخفف في أنبوبة معقمة بكمية معلومة من المحلول الملحي المعقم (يؤخذ عادة ١ سم^٣ من المصل أولا ويضاف إليه ٤ سم^٣ من المحلول الملحي لتحضير تخفيف ١/٥ على أنه إذا كانت كمية المصل قليلة يستعمل مقدار أقل من ١ سم^٣ في التخفيف ويضاف إليه مقدار مناسب من المحلول الملحي لتحضير تخفيف ١/١٠) ثم تحضر أنبوبة تخفيف ثانية (١/١٠) من الأنبوبة الأولى وتكرر هذه العملية الى أن يتحصل على التخفيف المطلوب (يبدأ عادة بتخفيف ١/١٠ وينتهي بتخفيف ١/١٠٠٠٠٠) . يحضر مستحلب من ميكروب الاجهاض بعد انمائه على آجار مائل لمدة يوم أو يومين ثم يغسل النمو الموجود على سطحه في كل أنبوبة بمحلول ملحي يحتوي على ١/١٠ من الفينول ويصب المستحلب المذكور في زجاجات معقمة ذات أغشية زجاجية محكمة ويرج بين حين وآخر وتحفظ كذلك لمدة يوم أو يومين ثم يترك دون اهتزاز لمدة ساعة ويفصل السائل العكبر من الراسب باحتراس بواسطة ماصة معقمة وتضبط كثافته الى الدرجة المطلوبة بتخفيفه بالمحلول الملحي المحتوي على الفينول ومقارنته بأنبوبة مستحلب قياسي (Standard) .

يضاف الى كل من أنابيب المصل المخفف مقدار معادل من مستحلب البكتريا وتحفظ الانابيب على درجة ٥٠ — ٥٥ سنتجراد لمدة ٤ — ٥ ساعات أو على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة ثم تفحص فإن كان دم الحيوان محتويا على دلبات (Agglutinins) لوحظ احتواء الانابيب على سائل رائق نتيجة تلبد الميكروبات وترسبها الى القاع .

ويدون في النتيجة أعلى تخفيف يظهر به التلبد ولا تعتبر النتيجة إيجابية إلا إذا حدث التفاعل المذكور كاملا في تخفيف يزيد عن ١/١٠٠ أما إذا حدث التفاعل في تخفيف ١/١٠٠ ولم يحدث في تخفيف ١/١٠٠٠ اعتبر مشكوكا فيه وتعتبر النتيجة سلبية إذا لم يحدث التفاعل في تخفيف ١/١٠٠ .



الباب السادس والعشرون

طريقة تدوين النتائج ومراقبة إنتاج اللبن ومعامليته

بالاختبار البكتريولوجي

أولاً: تدوين نتائج الفحص البكتريولوجي واعتماد التقارير

ينبغي أن يعنى بتدوين نتائج الفحص البكتريولوجي لعينات الألبان المختبرة بدقة تامة وبطريقة منظمة عقب انتهاء كل اختبار مباشرة ويجب أن ترفق النتائج ببيانات وافية عن مصدر العينة واسم منتجها وتاريخ ووقت إنتاجها واختبارها ودرجة الحرارة التي حفظت عليها وعلامتها المميزة الخ ويفضل أن تدون البيانات والنتائج المذكورة في بطاقات أو يخصص سجل لهذا الغرض يشتمل على أسماء المنتجين أو الموردين مرتبة حسب الأحرف الهجائية كي يتسنى الوصول إلى ما به من بيانات دن كبير عناء . وإتماماً للفائدة نورد فيما يلي أنموذجاً لبطاقة ذات وجهين تستعمل في تدوين أهم البيانات الخاصة بالعينة وتفصيل نتائج الاختبارات التي أجريت عليها .

وجه البطاقة

بيانات خاصة بالعينة

...	...	...	اسم صاحب العينة وعنوانه (يذكر إذا كان منتجاً أو مورداً)
...	...	...	ثمرة العينة
...	...	...	تاريخ ووقت حلب اللبن
...	...	...	» أخذ العينة
...	...	...	درجة حرارة اللبن عند أخذ العينة
...	...	...	مقدار العينة
...	...	...	تاريخ ووقت فحص العينة
...	...	...	درجة حرارة العينة وقت فحصها

ظاهر البطاقة

بيانات خاصة بنتيجة الفحص

درجات التخفيف	عدد المجموعات على أطباق الآجار	وجود ميكروبات القولون
١ سم		
١/١٠		
١/١٠٠		
١/١٠٠٠		
١/١٠٠٠٠		
١/١٠٠٠٠٠		

النتيجة : العدد الكلى للبكتريا فى الستيمتر المكعب بطريقة

الأطباق

....
....

نسبة وجود ميكروبات القولون

يراعى عند تدوين النتائج بالجدول السابق أن يكتب متوسط العدد الناتج على طبق كل تخفيف ولكن لا يدون فى النتيجة النهائية إلا متوسط العدد فى الطبقين الذين لا يزيد عدد المجموعات فيهما عن ٣٠٠ مجموعة كما يكتب فى موضع حرف ح للدلالة على إنتاج الحامض وحرف غ ليستدل منه على إنتاج الغاز فى أاييب بيئة ما كونى وبدون فى النتيجة أعلى تخفيف ظهر به حامض وغاز

يقتصر فى أغلب معامل الفحص على إجراء الاختبارين السابقين الذكر ولكن فى الحالات التى تجرى فيها بعض الاختبارات الأخرى التى أتينا على وصفها فيما سبق يذكر فى الجدول المخصص للبيانات نوع هذه الاختبارات ونتائجها . على أن المعتاد أن يشمل جدول النتائج فى حالة السجلات بيان الاختبارات الأخرى المهمة كاختبار الاختزال واختبار الحفظ وغيرهما ويخصص به موضع للصق القرص الناتج من اختبار الراسب .

أما من حيث اعداد التقارير التي ترسل لاصحاب العينات فيراعى فيها عادة البساطة والاختصار إذ يكتبنى بذكر اسم صاحب العينة وعلامتها المميزة أو نمرتها وتاريخ أخذها مع بيان النتائج النهائية للاختبارات التي أجريت عليها ويخصص جزء من التقرير للملاحظات التي يرى المعمل ضرورة ابدائها لاصحاب العينة وفيما يلي النموذج لمثل هذه التقارير .

تقرير عمه نتيجة الفحص البكتريولوجى لعينات اللبن

اسم صاحب العينة .
نمرة العينة أو علامتها المميزة
تاريخ أخذ العينة
... ..
... ..
... ..

العدد الكلى للبكتريا
ميكروبات القولون موجودة فى
ملاحظات :
... .. فى السنتيمتر المكعب
... .. من

الإمضاء

وتشمل الملاحظات بيان الاختبارات الإضافية التي أجريت ونتائجها وأحيانا رأى المعمل فيما اذا كانت نتائج الفحص مرضية أو توجب زيادة العناية بنظافة الانتاج وفى بعض الاحوال يستماض عن ذلك بذكر الحدين الاقصى والادنى اعدد البكتريا فى كل من عينة اللبن الجيدة والمتوسطة والردئية ليتيسر للمنتج مقارنة هذه الأرقام بالنتيجة المدونة بالتقرير فيعرف درجة نقاوة العينة التي أجرى فحصها .
ويتبع أحيانا نظام آخر فى إعداد التقارير بمعامل الفحص التابعة لمصانع كبيرة التي تستورد ألبانها من موردين عديدين وذلك بأن يعطى لكل مورد رقم خاص لا يعلمه أحد غيره سوى المصنع وتؤخذ عينة من لبن كل مورد مرة فى كل أسبوع أو مرتين شهريا ويعد فى نهاية كل شهر تقرير شامل تبين به أرقام جميع الموردين دون الاسماء ويذكر أمام رقم كل منهم نتيجة تحليل العينات التي أخذت من ألبانه كما يبين به أسماء الموردين الذين نالوا قصب السبق فى نظافة الانتاج وترسل نسخة من هذا التقرير لكل مورد . وفضلا عن أن هذا النظام يؤدى إلى اقتصاد فى الوقت والنفقات فإنه كذلك يطلع كل مورد على مبلغ عناية زملائه بنظافة الانتاج وبذا يبت فىهم جميعا روح التنافس والعمل على مضاعفة العناية بتوريد ألبان على درجة كبيرة من الجودة والنقاوة .

ثانياً - مراقبة انتاج اللبن ومعاملة البكتيريا بولوجي

لما كانت العوامل التي تسبب تلوث اللبن بالميكروبات منذ تسكوته في داخل الضرع إلى وقت استهلاكه متعددة فإن جودة العينات ونقاوتها تتوقف إلى حد كبير على مدى الدقة والعناية التي تتخذ في إنتاجها ومعاملتها ولذا كان من الضروري خصوصاً في الأحوال التي يتم فيها بيع اللبن النقية الممتازة أن يراقب إنتاج اللبن بفحص عينات منه بكتريولوجيا في كل درجة من درجات الإنتاج وأن يستوثق من دقة عمل الأجهزة وانتظام سيرها في حالة معاملة اللبن بالحرارة باختبار عينات أخرى من جميع أدوار العملية وعقب معاملته للوقوف على مقدار التلوث الذي عرض له في كل من الأدوار المذكورة ومدى تأثير المعاملة في خفض عدد البكتيريا الموجودة به أصلاً .

وقبل أن نتكلم عن طرق مراقبة إنتاج اللبن وسير العمل بمعمل اللبن بواسطة الفحص البكتريولوجي يحسن أن نذكر أن الاختبارات المستعملة في هذا الغرض . تنقسم كما يلاحظ من الشرح السابق ، إلى عدة أقسام بحسب وظيفة كل منها كما أنها تختلف في طول الوقت الذي تستغرقه أعداد في الأدوات والمواد اللازمة لإجرائها وكذلك في مدى الدقة والعناية التي تتخذ أثناء القيام بها وقد تقسم الاختبارات البكتريولوجية للبن عموماً إلى أربعة أقسام هي :

أ - ما يقصد منها الوقوف على العدد الكلي للبكتيريا التي تحويها العينة ومثالها طريقة الأطباق وطريقة الميكروسكوب المباشرة الخ .

ب - ما يكشف بها عن وجود نوع معين من الميكروبات في العينة وبالاخص الأنواع التي تحدث تغيرات غير مرغوب فيها في اللبن نفسه أو أحد منتجاته وكذا الأنواع الضارة من الوجهة الصحية . وهذه الاختبارات يستدل منها كذلك على تلوث اللبن من مصادر معينة، ومثالها اختبار وجود الميكروبات المكونة للغازات والكشف عن المكروبات المرضية الخ .

ج - ما ترمى إلى الكشف عن الحاصلات الناتجة عن نمو الميكروبات في اللبن ومثل هذه الحاصلات تغير من طعم اللبن ورائحته أو تزيد في حموضته ومن الاختبارات التي تنتمي لهذا القسم اختبارات الطعم والرائحة واختبار الكحول الخ .

د - ما تقدر به سرعة التغيرات التي تحدثها الميكروبات في اللبن ومثال هذه الاختبارات اختبار الحفظ .

وسنبسط فيما يلي كيفية مراقبة الإنتاج كما نتناول الكلام عن مراقبة سير العمل بمعمل اللبن .

(١) مراقبة المعمل بمعمل الإنتاج

لكي تبقى هذه المراقبة بالغرض المقصود منها تماماً يجدر بالمنتج أو بمن يستورد ألبانه من مستجين مختلفين أن يعنى بفحص عينة من اللبن بعد تمام إنتاجه وذلك بإحصاء عدد ما تحويه من بكتيريا بطريقة الاطباق

وتقدير نسبة وجود ميكروبات القولون بها فإن ثبت من فحص عدة عينات من مصدر واحد ارتفاع عدد البكتريا فيها جميعا أو في أغلبها وجب اختبار عينات من مختلف درجات الانتاج بنفس الطريقة للوقوف على مصدر التلوث الذى نشأ عنه ازدياد عدد البكتريا في اللبن زيادة غير عادية . وتؤخذ عادة العينات بالنظام الآتى :

أ - بعد الحليب مباشرة .

ب - بعد التصفية وقبل التبريد .

ج - بعد التبريد مباشرة .

فمن نتيجة فحص العينة الاولى يمكن الاستدلال رئيسياً على مبلغ نظافة الماشية وأواني الحليب ومن مقارنة تلك النتيجة بنتيجة فحص العينة الثانية يعرف مدى دقة عملية التصفية ودرجة نظافة الجهاز المستعمل فيها ، أما نتيجة فحص العينتين الثانية والثالثة فيستدل من مقارنتهما على مقدار العناية التى اتخذت في تنظيف المبرد وتعقيمه وبالجملة يمكن الحكم من هذه النتائج على أثر كل درجة من الدرجات المذكورة في تلوث اللبن وازدياد عدد البكتريا الموجودة به

ويستحسن أن يشمل فحص العينة الاولى تقدير نسبة ما تحويه من رواسب لمعرفة مقدار ما وصل الى اللبن من مواد غريبة أثناء عملية الحليب .

هذا ولما كان ارتفاع عدد البكتريا في اللبن يتوقف على بضع عوامل أخرى الى جانب العناية بنظافة الانتاج فانه يجب التحقق من الاسباب التى أدت الى ارتفاع العدد الكلى للبكتريا في العينة بعد انتاجها . ومن أهم هذه الاسباب عدم العناية بحفظ اللبن على درجة حرارة منخفضة الى أن يحين وقت توزيعه أو استهلاكه فالبكتريا كما هو معلوم تتكاثر بسرعة كبيرة على درجات الحرارة المرتفعة ، لذلك يعزى ارتفاع عدد البكتريا باللبن في أغلب الاحيان الى حرارة الحفظ أكثر مما يعزى الى التلوث أثناء الحليب . ومن الاسباب الاخرى طول مدة الحفظ أو ما يعبر عنه أحياناً « بعمر العينة » ، فكلما طالت هذه المدة كلما ازداد عدد البكتريا ، على أنه لا يغيب عن البال أن هذا العامل وثيق الارتباط بالعامل السابق بمعنى أنه اذا ارتفعت حرارة الحفظ وطالت مدتها كانت الزيادة في عدد البكتريا أعظم .

والمتبع عادة في بحث مدى تأثير هذين العاملين أن يحصى عدد البكتريا وتقدير نسبة ميكروبات القولون في عينات اللبن عند وصولها من محل الإنتاج الى المعمل أو الى المستهلك فان لوحظ احتواؤها على عدد كبير من البكتريا رغم ما اتخذ في إنتاجها من عناية كان ذلك دليلاً على عدم اتخاذ الحيلة الكافية في حفظها على درجة حرارة منخفضة أثناء النقل أو على انقضاء وقت طويل منذ إنتاجها ومن هنا تظهر أهمية العناية بتدوين البيانات الوافية عن وقت حلب العينة ووقت فحصها ودرجة حرارتها عند أخذها وعند اختبارها .

وقد يكون ارتفاع عدد البكتريا أحياناً في عينات اللبن التى روعيت العناية في إنتاجها مسبباً عن إصابة ضرع الماشية بمرض من الأمراض . وهذا العامل قد يكون من الخطورة بمكان خصوصاً اذا كان مظهر الضرع من الخارج سليماً فقد يحدث أن يصاب الحيوان بالتهاب بسيط في الضرع لا يظهر له أعراض

خارجية ولكن يتسبب عنه زيادة كبيرة في عدد البكتريا باللبن النسيج ، واختبار عينات من اللبن مأخوذة من الضرع مباشرة في زجاجات معقمة يفيد كثيرا في الوصول الى مذهباً هذه الزيادة ، ومثل هذه العينات ينبغي فحصها بطريقة الميكروسكوب المباشرة كما ذكرنا في مناسبة سابقة الى جانب عدد محتوياتها من البكتريا بطريقة الأطباق .

بقي علينا أن نذكر أن ظهور عدد كبير من المجموعات الدقيقة جداً على الأطباق المحضرة من عينات اللبن الخام يستدل منه غالباً على عدم العناية بتعقيم الأواني أو على كثرة الغبار المنتشر في جو حظيرة الحليب أو معمل الألبان ، وأن ارتفاع نسبة ميكروبات القوالون في العينة ينشأ على العموم عن عدم نظافة أواني الحليب أو عدم تعقيمها بدقة وكذلك عن الإهمال في نظافة ماشية الحليب أو تلوث الماء المستعمل في غسل الماشية والأواني .

٢ - مراقبة العمل بمعمل الألبان

ينبغي ألا يقتصر الاهتمام بمراقبة الانتاج على فحص اللبن المستعمل في الاستهلاك المباشر دون تسخين أو معاملة خاصة بل يجب أن يشمل كذلك اختبار الألبان المعدة للبسترة وصنع الجبن ومنتجات اللبن الأخرى ، فالتحقق من جودة مثل تلك الألبان ونقاوتها يتضمن الحصول على منتجات ممتازة .

وما دام الوقت الذي يمضي عادة بين وصول اللبن الى المعمل ومعاملته قصيراً فالأفضل أن يفحص بطرق الاختبار السريعة السهلة الاجراء حال وصوله حتى يتسنى استبعاد العينات الرديئة منه قبل الاستعمال والمتبع غالباً هو اختبار العينة بالمذاق والشم أولاً ثم تقدر درجة حوضتها ومدة اختزالها لزرق الميثيلين ونسبة ماتخونه من رواسب ويحصى عدد ما بها من ميكروبات بطريقة الميكروسكوب ، وفي الاحوال التي يستورد فيها اللبن من منتجين عديدين تختبر عينات من اللبن كل مورد أسبوعياً بعد محتوياتها من البكتريا بطريقة الأطباق وتقدير نسبة وجود ميكروبات القوالون في كل منها .

وينبغي أن تولى معامل التعقيم الجزئي أهمية كبرى الى مراقبه سير أجهزة البسترة ودقة عملها اذ من البديهي أن مجرد اعداد المعمل بأجهزة عالية الثمن ومن نوع جيد لا يضمن انتاج ألبان مبسترة من الدرجة الاولى الا اذا روعيت العناية التامة بتنظيف هذه الاجهزة وتعقيمها وضبطها ومراقبة العملية في جميع أدوارها مراقبة دقيقة .

وأول ما يجب أن تعنى به معامل التعقيم المذكورة كما ذكرنا هو التثبت من جودة اللبن الخام المعد للبسترة ومقدار صلاحيته لتلك العملية بالنظام السائب الذكر ونضيف هنا أنه في الاحوال التي يجمع فيها اللبن من عدة موردين بواسطة « محطات استلام » خاصة حيث يجري خلطه وتبريده ثم يرسل في صهاريج كبيرة الى المعمل يجب أن تجري الاختبارات التي نوهنا عنها فيما سبق لتلك المحطات على أن يكتفى باختبار عينة من كل صهرج عند وصوله الى المعمل فتقدر درجة حوضتها ومدة اختزالها لزرق الميثيلين فان اتضحت صلاحيتها للعملية أجريت بسترة اللبن وإلا استعمل في أغراض أخرى كصنع الجبن أو الزبد الخ .

وعملية البسترة كما هو معروف إذا أجريت بعناية تامة نتج عنها إبادة ما لا يقل عن ٩٩ ٪ من عدد البكتيريا التي وجدت باللبن الخام قبل بسترته لهذا كان من الميسور الوقوف على مدى دقة العملية المذكورة بمقارنة نتيجة فحص عينتين من اللبن تؤخذ أحدهما قبل البسترة مباشرة والأخرى بعد انتهاء مدة التسخين ولكن لما كانت العمليات التي تعقب البسترة تؤدي في الغالب إلى ازدياد عدد البكتيريا في اللبن المبستر فقد أصبح من الضروري مراقبة الأدوار المختلفة التي يمر بها اللبن بعد تسخينه بالاختبارات البكتريولوجية المتكررة لمعرفة أثر كل منها في درجة تلوث اللبن

ويجدر بنا أن نذكر هنا أن أغلب التلوث يحدث نتيجة عدم العناية بتنظيف وتعقيم الأنايب (المواسير) التي يمر بها اللبن وجهازى التبريد والتعبئة وكذلك لعدم دقة عمل جهاز غسل الزجاجات على أن تلوث اللبن عند مروره بالأنايب أو المضخات قبل أن يصل إلى صهريج الحفظ ليس من الأهمية بدرجة التلوث الذي يعقب التسخين والحفظ وعلى العموم يستحسن أن تؤخذ العينات بالنظام الآتى إذا أريد مراقبة عملية البسترة في جميع أدوارها :

- (١) من اللبن الخام قبل دخوله المسخن مباشرة
- (٢) بعد التسخين وانتهاء المدة المقررة للحفظ مباشرة
- (٣) بعد التبريد
- (٤) بعد التعبئة في الزجاجات
- (٥) بعد الحفظ في الخزن البارد وقبل التوزيع
- (٦) من زجاجات اللبن المبستر قبل مغادرتها مراكز التوزيع
- (٧) « « « أثناء عملية التوزيع
- (٨) « « « المرتجعة

ويفضل أخذ عدة عينات من الدرجات ١ إلى ٤ في فترات منتظمة أثناء إدارة الجهاز . وتفحص العينات جميعها لعد محتوياتها من البكتيريا بطريقة الاطباق والتقدير نسبة وجود ميكروبات القولون بها كاختبار مدة اختزالها لزرق المثلين ويعنى عناية خاصة باختبار وجود الميكروبات الثرموفلية التي يكثر عددها أحيانا في أجهزة البسترة التي تزيد مدة ادارتها عن خمس أو ست ساعات في كل مرة خصوصا إذا لم يعن بتنظيفها وتعقيمها بعد انتهاء العملية وقبل إعادة استعمالها

ومثل هذه الاختبارات تمكن من الاستدال على درجة نظافة أجزاء الجهاز المختلفة ومعرفة الأدوار التي يحدث فيها زيادة تلوث اللبن بالبكتيريا .

الباب السابع والعشرون

الفحص البكتريولوجي للماء والأواني والأدوات

أولاً - الفحص البكتريولوجي للماء

الماء من أهم المواد المستعملة في إنتاج اللبن فهو ضروري لتنظيف أيدي الحلابين وماشية الحليب والأواني المستعملة في تعبئة اللبن وصيانته ونقله الخ . ولما كان الماء عرضة للتلوث بالميكروبات المختلفة فمن الضروري التحقق دائماً من نقاوته بالاختبارات البكتريولوجية والامتناع كلية عن استعمال مياه من موارد مشكوك في نقاوتها إذ ربما أدى ذلك إلى إنتقال ميكروبات مرضية خطيرة إلى اللبن ومستخرجاته من جراء استعمال هذا الماء في أحد الأغراض السالفة الذكر

والمياه المرشحة المستمدة من موارد عمومية تشرف عليها وتراقبها الهيئات الصحية كياه المدن هي أصلح ما يستعمل في هذه الأغراض إلا أن الحصول على مثل هذه المياه متعذر في الجهات الريفية النائية التي يكثر فيها إنتاج اللبن ولهذا يستعاض عنها غالباً بمياه الآبار والترع ونحو ذلك ، على أن هذه المياه كثيراً ما تعرض للتلوث بالميكروبات من باطن الأرض عندما يكون المورد المائي كالبئر قريباً من مصدر تلوث أو عندما يحتوي ماء النهر أو الترعة على بقايا مواد حيوانية أو روث فتتقل ما تحمله هذه المواد من ميكروبات إلى الماء ومن ثم إلى اللبن .

والميكروبات التي يتلوث بها الماء وتقل منه إلى اللبن قد تسبب أحياناً انتشار بعض الأمراض الخطيرة أو تؤدي إلى سرعة حموضة اللبن أو تغير طعمه ورائحته ولهذا تعلق أهمية كبرى على قياس النقاوة البكتريولوجية للماء المستعمل في محال إنتاج اللبن وفي معامل الألبان والتحقق من جودته بفحصه على فترات متقاربة وبحث الجهات المجاورة لمورد الماء ومعرفة طبيعتها وسفشرح فيما يلي مختلف الخطوات المتبعة في إختيار الماء بكتريولوجياً .

طرق أخذ العينة

من أهم ما يشترط في زجاجات العينة التي تستعمل في هذا الغرض أن يكون زجاجها من صنف جيد وأن تكون ذات حجم مناسب بحيث تسع كمية من الماء تكفي لإجراء جميع الاختبارات اللازمة وأن تكون

سهولة التنظيف والتعقيم . والأشواغ التي وصفناها في الكلام عن إختبار اللبن تنى بجميع هذه الاشتراطات ولذا فهى تستعمل غالبا فى إختبار الماء كذلك .

وينبغى أن تتخذ الاحتياطات التى تسكفل عدم تلوث الماء أو الزجاجاة أو السدادة عند أخذ العينة ، ومن المهم ألا ترفع السدادة عن الزجاجاة حتى يحين وقت تعبئتها وألا يلامس الجزء السفلى للسدادة سطوحا غير معقمة وأن تسد الزجاجاة عقب التعبئة مباشرة ، وبالجملة تراعى جميع الاشتراطات التى أسلفنا ذكرها فى الكلام عن أخذ عينات اللبن .

تؤخذ العينة عادة فى زجاجاة معقمة ذات غطاء زجاجى تسع على الأقل حوالى ٥٥٠ سنتمرا مكعبا من الماء وتتوقف طريقة أخذ العينة على نوع المورد المائى وسنبين فيما يلى كيفية أخذ العينة من الموارد المختلفة .

١ - منه صبور - (منفيق) أو مضخة (طلمحة) :

إذا أخذت العينة من صبور أو مضخة فيفتح الصبور لمدة ٣ - ٤ دقائق أو تدار المضخة ربع ساعة أو نصف ساعة كى يسحب الماء من دائرة كبيرة ثم تنظف فوهة الصبور أو المضخة وتعقم بواسطة قطعة قطن تغمس فى كحول وتشعل عند فوهة الصبور، وبعد أن يمر الماء فترة وجيزة تملأ زجاجاة العينة باحتراس مع ملاحظة تعقيم فوهتها عند فتحها وقبل سدها .

٢ - منه ترعة أو نهر أو بركة :

عند أخذ العينة من ترعة أو نهر أو بركة أو نحو ذلك يجب الاحتراس من لمس قاعها إذا كانت قليلة الغور حتى لا يختلط الماء بالطين فيصبح غير صالح للاختبار . وفى هذه الحالة أما أن تغمس الزجاجاة فى الماء وهى مقفلة ثم ترفع عنها السدادة وبعد أن تملأ يعاد سدها وهى تحت سطح الماء أو ترفع السدادة عن الزجاجاة أولا بأحتراس وتغمس فى الماء مقلوبة ثم تعدل وتترك برهة حتى تمتلئ وأخيرا ترفع من الماء ويعاد سدها ومن المهم جدا فى كلتا الحالتين الاحتياط التام من دخول مواد نباتية أو خلافاها من التى تطفو على سطح الماء أحيانا فى الزجاجاة أثناء أخذ العينة .

٣ - منه بئر :

إذا كان البئر سطحيا أى قليل العمق فيرفع الماء عادة بواسطة دلو وتؤخذ منه العينة فى الزجاجاة الخاصة أما إن كان البئر عميقا فتتبع طريقة أخرى وفيها تربط الزجاجاة بسلك أو خيط مثقل وتربط السدادة بخيط، آخر وتندل الزجاجاة إلى عمق مناسب (وهو فى المعتاد ٣٠ سنتمرا تحت سطح الماء) ثم يسحب الخيط المحيط بالسدادة فتملأ الزجاجاة بالماء وعندئذ ترفع الزجاجاة بسرعة ويعاد سدها مباشرة ، وفى بعض احوال تستعمل لهذا الغرض زجاجاة خاصة ذات رأس مذهب ويستعمل معها جهاز ميكانيكى خاص يمكن بواسطته كسر الرأس المذهب عند وصول الزجاجاة الى العمق المطلوب فتملأ بالماء المراد إختباره دون أن تتعرض للتلوث .

بعد أخذ العينة بأحدى الطرق المتقدم ذكرها ينبغى أن يكتب على الزجاجاة أو على بطاقة مرفقة بها

اسم صاحبها وعنوانه وتاريخ وساعة أخذ العينة وموضع أخذها كما يذكر مصدر الماء وبيانات وافية عن الجهة التي أخذت منها العينة .

ولما كانت محتويات العينة من البكتيريا معرضة لتغيرات كثيرة عند حفظها فانه من المهم اختبارها بأسرع ما يمكن ، وعلى كل حال لا ينبغي أن يزيد الوقت الذي يمضي بين أخذ العينة واختبارها عن ٦ — ٨ ساعات ويجب مراعاة حفظها في أثناء تلك المدة على درجة حرارة منخفضة حوالى ٥ إلى ١٠ مئةجراد والافضل أن توضع زجاجة العينة في صندوق التبريد محاطة بالثلج المجروش وترسل الى المعمل عقب أخذها مباشرة .

طرق اختبار الماء

يختبر الماء بكتريولوجيا بجملة طرق غير أن المهم منها اثنتان هما :

(أ) تقدير العدد السكلى للبكتيريا التى تنمو على الآجار فى الاطباق

(ب) اختبار وجود ميكروبات القولون

وسنبين فيما يلى أهمية كل منهما ثم نشرح كيفية اجرائهما بالتفصيل .

فالاختبار الاول يستدل منه على مدى تلوث الماء بالمواد العضوية وعلى قرب مورد الماء أو بعده من أحد مصادر التلوث ، أما الاختبار الثانى وهو على جانب كبير من الاهمية فيقصد منه الاستدلال على وجود تلوث برازى بالماء لان ميكروبات القولون وبالاخص منها كولاى تعيش فى الامعاء ، فوجودها فى الماء يدل على تلوثه بالمواد البرازية ، ولما كانت أغلب الميكروبات المرضية التى يحملها الماء وأشدّها خطورة كميكروبات التيفود والباراتيفود والدوسنتاريا والسكوليرا هى معوية فى نشأتها فان التحقق من خلو الماء من ميكروبات القولون وعدم تلوثه بالمواد البرازية يبرر صلاحيته للشرب والاستعمال فى الأغراض المختلفة التى سبق الإشارة إليها . أما اذا كان المورد المائى كالبئر مثلاً قريباً من أحد مصادر التلوث الخطيرة كخزان مرحاض أو ماشابه ذلك وكانت الارض غير صالحة لحجز الميكروبات التى يحملها الماء عند مروره بها فانها تمر معه وتصل الى مورد الماء وعندئذ يلاحظ ارتفاع العدد السكلى للبكتيريا كما يشاهد ازدياد نسبة ميكروبات القولون فى عينات هذا الماء ، وإذ ذاك يكون من المحتمل وصول الميكروبات المرضية كالتيفود وغيره الى مورد الماء اذا ماسمح لاشخاص مصابين بهذه الامراض باستعمال المرحاض المذكور ، ولهذا السبب كان من الضرورى فى مثل هذه الاحوال دراسة المنطقة التى يوجد بها المورد المائى والتحقق من عدم وجود خزان أو مجرور أو أى مصدر آخر قريب مما يحتمل تلوث الماء منه .

وهناك اختبارات أخرى ثانوية يقصد منها التثبت من تلوث الماء بالمواد البرازية وسنشرح هذه الاختبارات باختصار بعد الكلام عن الاختبارين الرئيسيين المذكورين .

(أ) أهمية العدد السكلى للبكتيريا فى الماء

يقصد بهذا الاختبار كما قلنا معرفة مدى تلوث الماء بالمواد العضوية ، وهذه المواد تحتوى على أنواع

كثيرة متباينة من الميكروبات بعضها يفضل النمو على درجة حرارة الدم أى ٣٧ سنتجراد ويعبر أحيانا عن النوع الاول باسم « الميكروبات الباردة » كما يعرف النوع الثانى باسم « الميكروبات الحارة » والمتبع عادة هو تقدير العدد الكلى لكلا النوعين على بيئة صناعية تناسب كلا منهما .

(١) الأدوات والمواد اللازمة للزراعة

يمكننا أن نجمل الأدوات اللازمة لهذا الاختبار فيما يلى :

مصاصات سعة سنتيمتر مكعب — أنابيب للتخفيف أو زجاجات مدرجة تستعمل فى نفس الغرض — أنابيب للبيئة — أطباق بترى . وجميع هذه الأدوات تنطبق عليها الأوصاف التى ذكرت فى الكلام عن احصاء العدد الكلى للبكتريا فى اللبن ، وتعقم إما بالهواء الساخن على درجة ١٦٠ — ١٧٠ سنتجراد لمدة ساعة أو تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ١/٢ ساعة

وتحضر أنابيب التخفيف بحيث تحوى كل منها تسعة سنتيمترات مكعبه من الماء المعقم أو المحلول الملحى المعقدين أو يوضع سائل التخفيف المعقم فى الجهاز الخاص وتستعمل زجاجات التخفيف المعقمة إذا أريد إجراء التخفيف بإضافة ١ سم^٣ من الماء المختبر إلى ٩٠ سم^٣ من سائل التخفيف وينبغي أن تكون المواد التى تدخل فى تركيب البيئة المستعملة غاية فى النقاوة والبيئات الأكثر شيوعا فى تقدير العدد الكلى للبكتريا فى الماء هى الآتية : —

الاجار المغذى (Standard nutrient agar) وقد سبق أن بينا تركيبه وطريقة تحضيره

بيئة الجيلاتين التى تتركب كالآتى : —

٣	جرامات خلاصة اللحم
٥	د بيتون
١٢٠	جراما جيلاتين
١٠٠٠	سم ^٣ ماء مقطر

تسخن هذه المواد ببطء البخار على درجة ٦٥ سنتجراد حتى تذوب ثم يعوض الماء المفقود بالتبخير بإضافة الماء المقطر ويضبط التفاعل بحيث يصل بعد تعقيم البيئة إلى رقم ٦,٤p H — ٧ ثم تغلى البيئة وتقلب وتكمل بالماء المقطر وترشح وتعبأ فى الانابيب وتعقم بالطريقة المتقطعة أى لمدة ١/٢ ساعة فى ثلاثة أيام متعاقبة .

يستعمل الآجار المغذى غالبا فى تقدير عدد البكتريا التى تنمو على درجتى ٢٢ و ٣٧ سنتجراد غير أن البعض يفضل استعمال الجيلاتين فى تقدير عدد الميكروبات الباردة إلا أن التجارب قد دلت على أن الغدد الذى ينمو على البيئتين يكون متماثلا علاوة على أن استعمال بيئة الجيلاتين قد يؤدى إلى التبركير فى عد المجموعات التى تظهر على الاطباق وانها الاختبار قبل مواعده إذا كان الكثير من هذه المجموعات مذيبا للجيلاتين .

٢ — كيفية إجراء الاختبارات

يجب أن ترج زجاجة العينة أولاً ٢٥ مرة ثم تفتح باحتراس ويمر بفوهتها في اللهب وينقل بواسطة ماصة معقمة سقمتر مكعب من عينة الماء إلى إحدى أنابيب التخفيف المعقمة وتمزج محتوياتها جيداً (وفي حالة استعمال زجاجات التخفيف تنقل عشرة سقمترات مكعبة من العينة إلى الزجاجاة ثم تسكب إلى ١٠٠ سم^٣ بالسائل المستعمل في التخفيف ويرج المحلول جيداً) وبذلك يحضر تخفيف ١/١٠٠ ، ثم ينقل سقمتر مكعب من أنبوبة التخفيف المذكورة إلى أنبوبة تخفيف ثانية بواسطة ماصة ثانية معقمة وتمزج محتوياتها كذلك وبدأ يحضر تخفيف ١/١٠٠

ينقل بعدئذ سقمتر مكعب من كل من زجاجة العينة الأصلية وأنبوبة تخفيف ١/١٠٠ وأنبوبة تخفيف ١/١٠٠ إلى أربعة أطباق بترى معقمة ويجوز استعمال ماصة واحدة معقمة في تحضير جميع الأطباق على أن يبدأ أولاً بتحضير أطباق ١/١٠٠ ثم أطباق ١/١٠٠ وأخيراً تحضير أطباق ١/١٠٠ سم^٣

تصب محتويات أنبوبة آجار (بعد تسخينه إلى درجة غليان الماء وتبريده إلى درجة ٥٠ سقمتر) في كل من الأطباق المذكورة ويهرط الطبقة في كل مرة باحتراس لكي يختلط الآجار بالماء جيداً ثم تترك الأطباق على سطح المنضدة إلى أن يتجمد الآجار . وفي الأحوال التي يستعمل فيها الجيلاتين تصب محتويات أنبوبة جيلاتين (بعد تسخينه وتبريده) في كل من طبقتين من الأنواع الثلاثة المبينة وتصب محتويات أنبوبة آجار في كل من الطبقتين الآخرين من كل نوع .

وفي بعض الأحيان يفضل تسهيل العمل أن يجري التخفيف وتحضير الأطباق في آن واحد بمعنى أنه ينقل من زجاجة العينة الأصلية سقمتر مكعب واحد بواسطة ماصة معقمة إلى كل من أربعة أطباق بترى ثم ينقل بنفس الماصة سقمتر مكعب آخر إلى أنبوبة التخفيف الأولى (١/١٠٠) ، وينقل بماصة ثانية معقمة سقمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الأولى إلى كل من أربعة أطباق بترى أخرى كما ينقل بنفس الماصة سقمتر مكعب آخر من الأنبوبة ذاتها إلى أنبوبة التخفيف الثانية (١/١٠٠) وأخيراً ينقل بماصة معقمة ثالثة سقمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الثانية إلى كل من أربعة أطباق بترى معقمة ثم يصب الجيلاتين أو الآجار في الأطباق ويحاط بالماء الموجود بها ويترك حتى يتجمد .

ترقم الأطباق بعلامات مميزة وتدون عليها درجة تخفيف كل منها ثم يحفظ طبقان من كل نوع على درجة ٣٧ سقمتراد لمدة ٧٢ ساعة وتحفظ الأطباق الأخرى على درجة ٢٢ سقمتراد لنفس المدة إذا كانت محتوية على آجار أو لمدة ٤٨ ساعة إذا كانت محتوية على جيلاتين (راجع الجزء العلوي من شكل ٥٠) .

هذا وغنى عن القول أنه لضمان حسن نتيجة الاختبار ينبغي اتخاذ جميع الاحتياطات التي تضمن عدم تلوث أنابيب التخفيف أو الأطباق وقد سبق أن أشرنا إليها بالتفصيل في الكلام عن تقدير عدد البكتيريا الكلى في اللبن على أنه تجدر الإشارة هنا إلى وجوب حفظ الأطباق في المحضن مقلوبة وغير مزدحة وإلى

أنه يشترط في المحضنين المستعملين أن يكونا مظلّمين وأن تكون تهيئتهما جيدة وجوهما مشبع بالطوبة تقرّيباً.

ويعد انقضاء مدة الحضانة تفحص الأطباق مباشرة ويستحسن الاستعانة بجهاز للاضاءة وبعدسة يدوية في الفحص ، وتخصى المجموعات التي تظهر على كل طائفتين من النوع الواحد ويؤخذ متوسط العدد ، وينبغي أن يقتصر اجراء العدد على الأطباق التي يبلغ عدد المجموعات فيها من ٣٠ - ٣٠٠ مجموعة على أنه يجوز استعمال الأطباق التي يدر العدد فيها عن ٣٠ مجموعة إذا لم توجد أطباق أخرى مناسبة ولكن يجب أن تذكر في هذه الحالة على أنها تقريبية .

ويمكن الاستنتاج السكلي في السنتمتر المسكب من عينة الماء بضرب متوسط عدد المجموعات في درجة التخفيف وتدون عدد الميكروبات الباردة وعدد المجموعات الحارة كل على حدة

٣ - مظهر نظام نتائج الاختبار

يختلف العدد السكلي للبكتريا في عينات الماء باختلاف مصدرها ودرجة التلوث التي عرضت لها فالمياه النقية الجيدة كياه المدن المرشحة ومياه العيون والآبار العميقة لا تحتوى إلا على عدد قليل جداً من البكتريا يتراوح بين ١٠٠ ميكروب في السنتمتر المسكب أما المياه السطحية كياه الأنهار والآبار القليلة الغور فتزيد محتوياتها البكتيرية كثيراً عن ذلك إذ تصل أحياناً إلى ٥٠٠ ميكروب في السنتمتر المسكب . وتبلغ عادة نسبة عدد الميكروبات الباردة (وهي ميكروبات الماء غير الضارة) إلى عدد الميكروبات الحارة في المياه العادية ١ إلى ١ وقد يقل عدد الأنواع الأخيرة فتصل النسبة إلى ٤ إلى ١ ، أما في المياه الملوثة فنظراً لوجود الكثير من الميكروبات الحارة ، كالأنواع المعوية وغيرها التي تنقل اليها من الأقدار فإن النسبة المذكورة تكون حوال ٨ إلى ١ وقد تبلغ أحياناً ٥ إلى ١ أو ٣ إلى ١

وقد أجريت تجارب كثيرة في جهات مختلفة حول تقدير عدد البكتريا الكلي في المياه العميقة والمياه السطحية فوجد أنها تختلف اختلافاً كبيراً باختلاف الجهات والظروف على أنه يمكن القول عموماً أن ارتفاع العدد الكلي للبكتريا في عينه من الماء يدل على احتوائها على كمية كبيرة من المادة العضوية ولو أنه لا يمكن الحكم بصفة قاطعة على صلاحية الماء للشرب من مجرد تقدير العدد الكلي للبكتريا فيه كما أنه ليس لهذا الاختبار قيمة حقيقية إلا إذا أجرى فحص عدة عينات من نفس المصدر في فترات منتظمة لمدة طويلة وقد اعتمدت بعض البلدان القياس البكتريولوجي الآتي للمياه الجيدة :

أولاً : مياه العيون والآبار العميقة : ينبغي ألا يتجاوز عدد الميكروبات الباردة ٥٠ في السنتمتر المسكب وألا يتجاوز عدد الميكروبات الحارة ١٠ في السنتمتر المسكب

ثانياً : مياه الأنهار والآبار القليلة الغور : يجب ألا يزيد عدد الميكروبات الباردة عن ٥٠٠ في السنتمتر المسكب وعدد الميكروبات الحارة عن ٥٠ في السنتمتر المسكب

أما في مصر فالمستوى المعمول به هو ألا يزيد عدد الميكروبات العادية في السنتمتر المسكب من العينة عن ١٠٠

(ب) اختبار وجود ميكروبات القولون

يجرى هذا الاختبار دائماً مع تقدير العدد الكلى للبكتيريا عند فحص عينات الماء وهو يعتبر أفضل مقياس لنقاء الماء اذ يستدل منه كما أسلفنا القول على مدى تلوث الماء بالمواد البرازية واحتمال احتوائه على ميكروبات ضارة قد تسبب انتشار بعض الامراض الخطيرة .

ويفحص الماء لوجود ميكروبات القولون بطريقة مشابهة لما ذكرنا في اختيار اللبن على أنه يوجد بعض الاختلاف في الطريقتين سنبينه فيما يلي مع شرح كامل للطريقة المتبعة غالباً في فحص الماء وقبل أن نشرح الطريقة تحسن الإشارة هنا إلى أن المقصود بميكروبات القولون هو المجموعة من الميكروبات المعروفة باسم طائفة القولون أو طائفة كولاي إيريوجينيس (Coli - aerogenes group) وهي تشمل البلاتريا الهوائية والغير الهوائية اختصاراً العصوية الشكل الغير المتجذمة السلبية التلوين لصبغة جرام التي تخمر سكر اللبن مع انتاج حامض وعاز وأهمها باسلس القولون الحقيقي أو المثلالي (True or typical B, coli) وبكتريوم إيريوجينيس التي تعرف أحياناً باسم باسلس القولون غير المثلالي (Atypical Coli) وأنواع أخرى وسطية (intermediates) تعرف إجمالاً باسم ستروباكترا (Citrobacter) وهذه تشترك في كثير من خواصها مع النوعين السابقين ويمكن التفرقة بين ميكروبات القولون بواسطة اختبارات خاصة سنشير إليها فيما بعد .

وأهم الاختبارات المتبعة في فحص ميكروبات القولون بالماء هو المعروف باسم الاختبار التخميني (Presumptive test) الذي سبقت الإشارة إليه في الكلام عن فحص اللبن ، وفيه تستعمل بيئة ما كونكي السائلة ويعتبر إنتاج الحامض والغاز بها بعد مضي ثمان وأربعين ساعة دليلاً تخمينياً على وجود ميكروبات القولون بالبيئة ، والنتيجة الإيجابية لهذا الاختبار إما أن تحدث من باسلس القولون المثلالي الذي يوجد بعدد كبير في أمعاء الحيوانات ولذا يكثر وجوده في الروث أو من ميكروبات القولون الأخرى التي وإن وجدت بقلّة في الروث إلا أنها توجد بوفرة في التربة والغبار وعلى النباتات الخ ، ولهذا توجه أهمية كبيرة أحياناً إلى تمييز الأنواع التي أحدثت النتيجة الإيجابية للاختبار التخميني وقد سبق أن بينا طريقة ذلك وسنعود إلى بعض تفصيلات خاصة بها فيما بعد .

(١) اللدوات والمواد اللازمة للاختبار

يلزم لهذا الاختبار بضعة ماصات معقّدة ذات ساعات مختلفة وهي ١ سم^٣ ، ٥ سم^٢ ، ١٠ سم^٣ ، ٢٥ سم^٣ كما تلزم أنابيب للتخفيف كالتى تكرر ذكرها فيما مضى تحتوى على تسعة سنتترات مكعبة من محلول ونجر أو المحلول المالحى أو الماء المعقم .

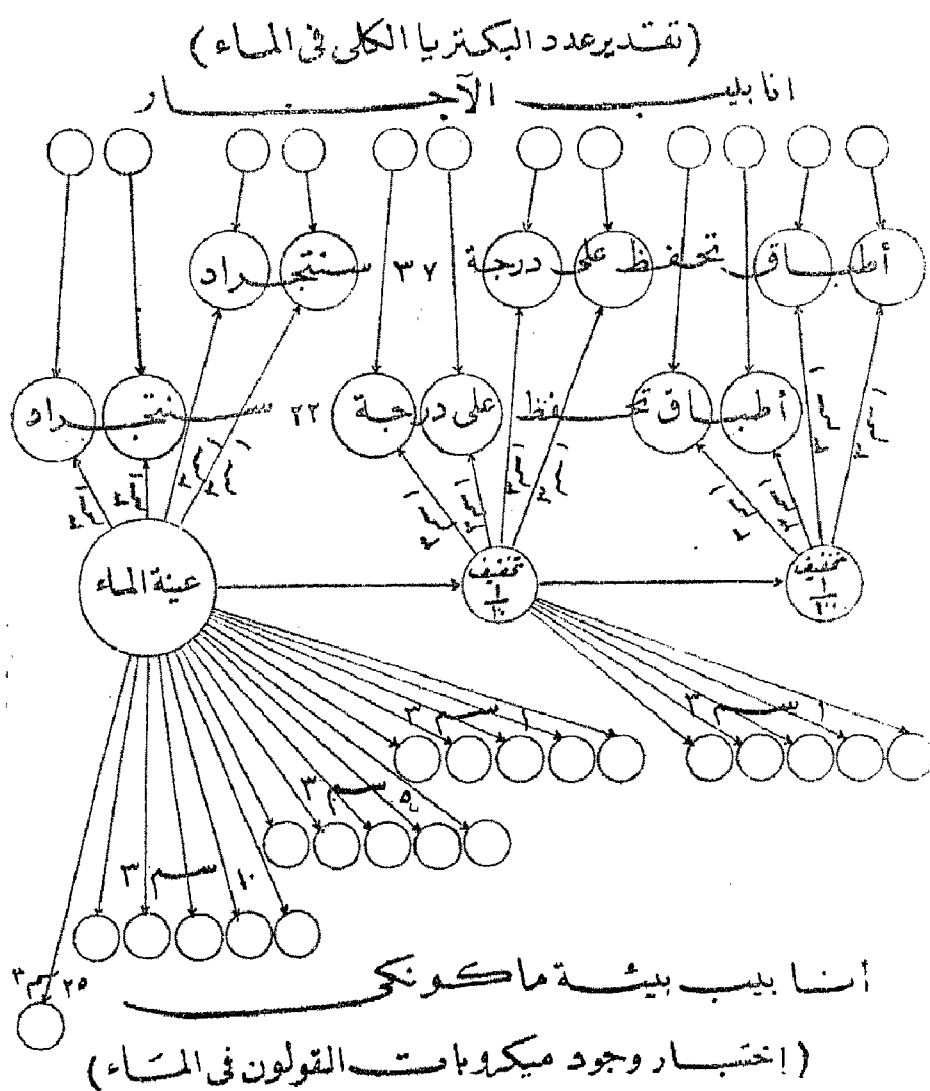
أما البيئة المستعملة في هذا الاختبار فهي بيئة ما كونكي السائلة المحتوية على دليل مناسب وقد سبق وصف تركيبها وطريقة تحضيرها وهذه تعبأ في أنابيب بمعدل ٥ — ٦ سم^٣ في كل أنبوبة وتوضع معها أنبوبة اختبار صغيرة وتعقم كالمعتاد وهذه تعرف بالبيئة الفردية القوة (Single strength) .

ويعتبر مقدار آخر من نفس البيئة ولكن يراعى أن تحتوى على ضعف كمية المواد الصلبة التي تتركب منها البيئة السابقة أو بمعنى آخر نصف كمية الماء الذى تحويه وهى تعرف باسم بيئة ماكونكى المزدوجة القوة (double - strength) وهذه تعبأ فى أنابيب اختيار وأنابيب غليان (boiling tubes) بالمقادير الآتية : —

أنايب اختبار تحتوى على ٥ مم^٣ وعلى أقنوبة اختبار صغيرة .

أناييب غليان تحتوي على ١٠ سم^٣ وعلى أنيوبة اختمار كبيرة

2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1007 1008 1009 1010 1011 1012 1013 1014 1015 1016 1017 1018 1019 1020 1021 1022 1023 1024 1025 1026 1027 1028 1029 1030 1031 1032 1033 1034 1035 1036 1037 1038 1039 1040 104



(٢) كيفية إجراء الاختبار التخميني

ترج عينة الماء جيداً وينقل منها بماصة معقمة سنتيمتر مكعب إلى إحدى أنابيب التخفيف وبذلك يحضر تخفيف $\frac{1}{10}$ كما ينقل بنفس الماصة من عينة الماء سنتيمتر مكعب إلى كل من خمس أنابيب من البيئة الفردية القوة ، ثم ينقل بماصة أخرى معقمة سنتيمتر مكعب من أنبوبة تخفيف $\frac{1}{10}$ إلى كل من خمس أنابيب أخرى من نفس البيئة .

ينقل بماصة ثالثة معقمة ٥ سم^٣ من عينة الماء إلى كل من خمس أنابيب تحتوي كل منها على ٥ سم^٣ من البيئة المزدوجة القوة ، كما ينقل بماصة رابعة ١٠ سم^٣ من العينة إلى كل من خمس أنابيب تحتوي كل منها على ١٠ سم^٣ من نفس البيئة وأخيراً ينقل بماصة خامسة ٢٥ سم^٣ من العينة إلى أنبوبة بها مقدار مماثل من البيئة المذكورة (راجع الجزء السفلي من شكل ٥٠)

يتبع النظام السابق عادة عند اختبار عينات من المياه السطحية أو القليلة الغور أما في حالة اختبار المياه المرشحة أو العميقة فيكتفى غالباً بإضافة مقادير كبيرة من العينة مثل ١٠، ٥، ١ سم^٣ إلى مقادير مماثلة من البيئة المزدوجة القوة .

وتجدر الإشارة هنا إلى أنه يمكن إجراء اختبار العدد الكلي مع اختبار نسبة ميكروبات القولون في آن واحد (كما هو مبين بالشكل ٥٠) وهذا يؤدي إلى اقتصاد في الوقت وفي الأدوات والمواد

بعد تمام تلقیح الانابيب تحفظ جميعها على درجة ٣٧ سنتجرا لمدة ٤٨ ساعة ثم تفحص ويلاحظ إنتاج الحامض والغاز ويدون في النتيجة الانابيب التي كان لها أقل نصيب من الماء وظهر بها الحامض والغاز مع العلم بأن ظهور الحامض والغاز في أنبوتين من الانابيب الخمس من النوع الواحد يعتبر دليلاً تخمينياً على وجود ميكروبات القولون في كمية الماء التي لقيحت بها .

(٣) كيفية التحقق من وجود ميكروبات القولون بالبيئة

للتحقق من النتيجة الإيجابية للاختبار التخميني أما أن تعزل الميكروبات التي أنتجت الحامض والغاز ثم تميز وذلك بتلقيح أطباق آجار ماكونكي بجانب منها واختبار المجموعات التي تظهر عليها ميكروسكوبياً وفصل الأنواع التي تحويها وتميزها بالطريقة المشروحة في اختبار اللبن وهي المتبعة عادة في انجلترا أو تجري الطريقة الآتية وهي الأكثر استعمالاً في أمريكا وتألف من جزئين يعرف الأول منهما بإسم الاختبار المؤكد (Confirmed test) ويعرف الثاني بإسم الاختبار المكمل (Completed test) ويتلخص الأول فيما يلي :

تنتخب إحدى الأنابيب المحتوية على أقل مقدار من عينة الماء المختبرة وأعطت نتيجة إيجابية في الاختبار السابق وتلقيح منها أنبوبة أو أكثر تشتمل على سائل مناسب أو تلقيح منها أطباق تحتوي على بيئة صلبة خاصة ، على أن يجري هذا التلقيح عقب ظهور الغاز مباشرة .

ومن السوائل الكثيرة الإستعمال في هذا الاختبار مرق اللاكتوز المحتوى على البنفسج البلورى (Crystal violet lactose broth) ومن البيئات الصلبة المهمة آجار أيوسين أزرق الميثيلين (Eosin - methylene blue)

وتتألف البيئة السائلة المذكورة من لتر من الماء المقطر تضاف اليه خمسة جرامات من كل من الببتون واللاكتوز والفوسفات الثنائى البوتاسيوم (بود م فوا ٤) وجرام واحد من الفوسفات الأحادى البوتاسيوم (بود م فوا ٤) وطريقة تحضيرها هى أن نذاب المواد المذكورة فى الماء بالتسخين البطيء على حمام مائى مع التقليب المستمر ثم يبرد ويضبط التأثير بحيث يصل بعد التعقيم الى رقم $pH = 7.5 - 7.0$ وأخيرا يضاف اليها ١٠ سم^٣ من محلول البنفسج البلورى المركب من ١.٤٣ جم فى لتر من الماء المقطر ويعوض الفقد الناتج من التبخير بإضافة الماء المقطر حتى تبلغ كمية السائل لترا وتعبأ الانابيب التى بها أنابيب الاختبار وتعقم كالمعتاد

أما بيئة أيوسين أزرق الميثيلين المناسبة لفحص المياه فتحضر كما يأتى :

يحضر أولا الآجار المركب من ١٠ جرامات من الببتون وجرامين من الفوسفات الثنائى البوتاسيوم ١٥ جراما من الآجار ولتر من الماء المقطر ثم يغلى المخلوط حتى تذوب الاجزاء الصلبة وتكمل بالماء المقطر الى لتر وليس من الضرورى فى هذه الحالة أن يضبط التأثير

تصب كل ١٠٠ سم^٣ من بيئة الآجار فى قنينة وتسد القنينات وتعقم فى الاوتوكلاف كالمعتاد وعند تحضير الاطباق يذاب الآجار بتسخين القنينة ويضاف الى كل ١٠٠ سم^٣ من البيئة ٥ سم^٣ من محلول مائى معقم من اللاكتوز قوة ٢٠ ٪ ٢ سم^٣ من محلول مائى أيوسين قوة ٢ ٪ ، ٢ سم^٣ من محلول مائى أزرق الميثيلين قوة ٥ ٪ وبعد أن تملط جيدا تصب البيئة فى الاطباق وتجمد ويمكن إضافة جميع العناصر السالفة الذكر الى الآجار عند تحضيره ثم توضع فى القنينات وتعقم وتصب فى الاطباق مباشرة عند الحاجة غير انه يلاحظ فى هذه الحالة أن لون البيئة يزول عند التعقيم ولسكنة يظهر مرة ثانية عند ما تبرد .

وعند تلقيح البيئة يؤخذ بواسطة ابرة معقمة مل عمقه من احدى أنابيب الاختبار التخمينى الإيجابية وتسحب نقطة السائل على سطح الآجار فى طبق أو تكرر العملية فى جملة أطباق إذا تكون غاز وحامض على درجة ٣٧ ستنجراد بعد مضى ٤٨ ساعة من وقت تلقيح البيئة السائلة وكذلك إذا ظهرت مجموعات مثالية (typical) لميكروبات القولون على أطباق أيوسين أزرق الميثيلين بعد حفظها على درجة ٣٧ ستنجراد لمدة ١٨ — ٢٤ ساعة اعتبرت هذه النتيجة معززة لنتيجة الاختبار التخمينى، أما إذا كانت المجموعات التى ظهرت غير نموذجية (atypical) فلا يصح الجزم بأن النتيجة سلبية لان بعض أنواع طائفة القولون قد لا تنتج مجموعات مثالية على البيئة المذكورة والبعض الآخر قد لا ينمو عليها الا ببطء شديد .

ويلخص الاختبار المكمل فيما يلي :

يعمل زرع ثانوى على أطباق أيوسين أزرق الميثيلين السالفة الذكر من إحدى الأنايب الإيجابية للبيئة السائلة المستعملة فى الاختبار السابق (أى مرق اللاكتوز) وتحفظ الأطباق على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ١٨ — ٢٤ ساعة وعند ظهور المجموعات عليها تلتقط بمجموعة أو أكثر من المجموعات المثالية لميكروبات القولون بواسطة ابرة معقمة ويلقح بها آجار مائل أو مرق اللاكتوز وتحفظ البيئة الاولى على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة أما الثانية فتحفظ على نفس الدرجة ولكن لمدة ٤٨ ساعة .

بعد انقضاء مدة الحضانة يحضر غشاء من مزرعة الآجار ويصبغ بطريقة جرام ويفحص ميكروسكوبيا فإذا شوهدت به ميكروبات عسوية قصيرة غير متجزمة وسلبية التلون لصبغة جرام مع ظهور غاز فى مرق اللاكتوز أصبح من المحقق احتواء عينة الماء على ميكروبات القولون .

هذا ولا يقتصر فى بعض الأحيان على اتباع النظام السابق للتحقق من نتيجة الاختبار التخمينى بل تجرى اختبارات أخرى يقصد بها تمييز ميكروبات القولون التى توجد بالعينة وتعرف هذه الاختبارات عادة باسم الاختبارات المميزة (differential tests) وسيأتى الكلام عنها بالتفصيل فى القسم الخاص بدراسة خواص ميكروبات اللبن على أننا نرى من المفيد أن نشير هنا إلى بعض هذه الاختبار ونتائجها باختصار تام .

(٤) كيفية تمييز ميكروبات القولون بواسطة التفاعلات الكيميائية الحيوية

تستعمل فى تمييز أنواع طائفة ميكروبات القولون بضع تفاعلات حيوية كيميائية (biochemical reactions) من أهمها اختبار بعض أنواع السكر كالسكروز والدلسيت (dulcite) وتأثيرها فى بعض المواد الكيميائية وقد استعملت اختبارات خاصة توضح هذه التفاعلات من أهمها اختبارات الاندول (indol) وفوج وبروسكاور (Voges & Proskauer) وأحمر الميثيل (Methyl red) وكوسر (Koser) وسابين فى الجدول التالى نتيجة الاختبارات المذكورة فيما يتعلق ببسلس القولون المثالى .

اسم الميكروب	إختبار السكروز	إختبار الدلسيت	أحمر الميثيل	كوسر	فوج بروسكاور	الاندول
ببلس القولون B . Coli	-	ح غ	+	-	-	+
بيكتريوم ايروجينيس B . aerogenes	ح غ	-	-	+	+	-

علامة + تدل على تفاعل إيجابى

» - » » » سلبى

ح = انتاج الحامض

غ = الغاز

(٥) اختبار وجود الميكروبات السبحية وباساس واسمى

يجرى هذا الاختبار في أحيان كثيرة بغرض التأكد من تلوث الماء بالمواد البرازية ويجرى عادة بالاشتراك مع الاختبارات السابقة .

والميكروبات السبحية التي تعرف باسم الاستربتوكوكس البرازي أو ستربتوكوكس فيكالس (*Streptococcus faecalis*) كثيرة الوجود في المواد البرازية الحديثة ولذلك يعتبر وجودها في الماء دليلا على تلوثه بهذه المواد ، ولكن لما كانت هذه الميكروبات تموت بسرعة في الماء فإنه لا يجب أن تعلق أهمية كبرى على النتيجة السلبية لهذا الاختبار .

والميكروب المذكور كروي الشكل ويوجد غالبا بحالة زوجية أو في سلاسل قصيرة وهو إيجابي لصبغة جرام وأكثر مقاومة للحرارة من معظم البكتيريا الخضرية الأخرى (*Vegetative bacteria*) ومن خواصه قدرته على تخمير المانيت (*mannite*) مع إنتاج حامض منه ولكنه لا ينتج غازا . ولا يجرى هذا الاختبار عادة إلا في الأحوال التي يتعذر فيها الحصول على نتائج حاسمة من الاختبارات السابقة وتلخص طريقة اجرائه فيما يلي :

ينقل سنتمر مكعب من إحدى الأنابيب الإيجابية للاختبار التخميني إلى أنبوبة تحتوي على ٩ سم^٣ من المحلول الملحي المعقم وتخلط محتويات الأنبوبة الأخيرة بإدارتها باحتراس بين راحتي اليدين ثم توضع في حمام مائي على درجة ٦٠ سنتجراد وتبقى على هذه الدرجة لمدة ربع ساعة مع ملاحظة أن يكون سطح الماء في الحمام أعلى من سطح السائل في الأنبوبة .

تصب في أثناء هذه العملية أنبوبة آجار مغذى في طبق بترى معقم وبعد أن يجمد الآجار تنقل بارة معقمة ذات عقدة نقطة من السائل المسخن إلى وسط الآجار وتبسط عليه بانتظام بواسطة قضيب زجاجي ملئ معقم ثم يحفظ الطبق على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة وتفحص المجموعات التي تظهر عليه ويحضر منها غشاء يصبغ بطريقة جرام ويختبر تحت الميكروسكوب وتقارن خواصه بالأوصاف السابقة كما تختبر قدرته على تخمير المانيت .

أما باسلس واشياي (*B. Welchii*) فهو من الميكروبات التي توجد بالقناة الهضمية ولذا فيدل وجوده بالماء على تلوثه بالمواد البرازية كذلك ومن أهم خواصه أنه عصوي سميك غير متحرك ومتجهم جرثومة وسطية أو قريبة من الطرف مع إحداث انتفاخ في موضع تكوينا كما أنه إيجابي للتلوين لصبغة جرام ويخمر اللاكتوز تحت شروط غير هوائية مع إنتاج حامض وغاز ولإختبار وجود هذا الميكروب في الماء تجزئ ثلاث قنينات سعة كل منها ٣٥٠ سم^٣ وتحتوى على ١٠٠ سم^٣ من اللبن المعقم المضاف إليه دليل عباد الشمس وتلقح أحداها بمائة سنتمر مكعب والثانية بخمسة وعشرين سنتمرا مكعبا والثالثة بعشرة سنتمترات مكعبة من عينة الماء المراد إختبارها ثم يضاف إلى كل منها ٢٠ سم^٣ من البرافين السائل (*liquid paraffin*) وتسخن القنينات الثلاث في حمام مائي على درجة ٨٠ سنتجراد لمدة ٢٠ دقيقة ثم تبرد وتحفظ على درجة ٣٧

سنتجراد لمدة ٧٢ ساعة فإذا تجبن اللبن وتكونت فيه غازات بشدة كان ذلك دليلا على وجود باسلس أو كلوستريديم ولشياى بالعينة .

ويمكن اختبار هذا الميكروب كذلك بخلط مقدار من آجار مغذى خاص بحتوى على كبريتيت الصوديوم بمقدار مماثل من عينة الماء المراد اختبارها فى قنينة ثم تصب محتوياتها فى طبق بترى كبير ويحمد الاجار ويحفظ على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٣٦ ساعة ويفحص الطبق وتحصى المجموعات السوداء (التى يزيد قطرها عن ٣ ملليمترات) التى تظهر تحت سطح البيئة .

واحتواء الأطباق الملحقة بأربعين سنتمرا مكعبا من عينة الماء على مجموعة واحدة أو أكثر من هذه المجموعات السوداء يستدل منه على تلوث الماء بالمواد البرازية .

(٦) ملاحظات عمه نتيجة هذا الاختبار

سبق أن بينا أهمية هذا الاختبار وقيمة النتائج المتحصل عليها منه فى الحكم على صلاحية الماء للشرب أو للاستعمال فى الأغراض المختلفة ، على أنه ينبغى أن نشير هنا إلى أنه وإن كان من الأفضل والمرغوب فيه دائما خلو الماء من ميكروبات القولون كلية إلا أنه من الوجهة العملية يسمح بوجود نسبة بسيطة منها فى الماء نظرا لكثرة انتشارها فى الطبيعة ووجودها فى براز جميع الحيوانات .

ويختلف المقياس المعمول به فى مختلف البلدان اختلافا بينا فى بعضها مثلا يشترط الآتى :

أولا — مياه العيون والآبار العميقة : ينبغى أن لا توجد ميكروبات القولون فى ١٠٠ سم^٣ منها .

ثانيا — المياه السطحية كمياه الآبار القليلة الغور : يلزم أن تكون هذه الميكروبات غير موجودة فى ١٠ سم^٣ منها .

وتعتبر على وجه العموم عينات الماء العادية التى لا تظهر بها ميكروبات القولون فى ٥٠ سم^٣ غاية فى النقاوة البكتريولوجية .

هذا والمتبع فى بعض الجهات التى تعنى بانتاج الألبان النظيفة أن ينظر بعين الشك إلى المياه التى تعطى نتيجة إيجابية فى الأنابيب المحتوية على أقل من ٢٥ سم^٣ من العينة عند فحصها بالاختبار التخمينى . وفى مثل هذه الأحوال تجب الدقة فى بحث حالة المياه المذكورة فتجرى الاختبارات الثانوية بقصد تعيين الأنواع التى توجد بالعينة فإن ظهر وجود باسلس القولون المثلالى كان هذا الماء غير صالح للاستعمال فى معمل اللبن أو محل إنتاجه .

ولا يغيب عن البال إنه وإن كان وجود ميكروبات القولون غير المثالية بالماء لا يدل حتما على تلوثه بمواد برازية إلا أن ارتفاع نسبتها فيه قد يكون من العوامل المهمة التى يتسبب عنها حدوث تغيرات كثيرة غير مرغوب فيها باللبن كاللزوجة وغيرها .

الكشف عن الميكروبات المرضية في الماء

وقبل أن نختم الكلام عن فحص المياه تجدر الإشارة إلى أنه كثيرا ما يقتضى الأمر الكشف عن الميكروبات المرضية في الماء خصوصا في الأحوال التي تنتشر فيها أمراض معينة كالتيفود على أن الاختبارات التي يقصد منها العثور على الميكروبات المرضية في عينات الماء المحتوية على عدد قليل نسبيا من البكتيريا غير مضمونة النتيجة ، ويجرى الكشف عن ميكروب التيفود في الماء عادة بطريقة مماثلة لما سبق وصفه في الكلام عن إختبارات اللبن .

ثانيا - الفحص البكتريولوجى للأوانى والأدوات

كثيرا ما يتسبب عن الإهمال في نظافة وتعقيم الأوانى والأدوات ووقايتها من الغبار والأقذار الأخرى شدة تلوث اللبن الذى يوضح بها وازدياد عدد ما تحويه من ميكروبات زيادة كبيرة لذلك تنص الاشتراطات الخاصة بإنتاج اللبن النقي الممتاز على ضرورة مراعاة العناية الشاملة بتنظيف أوانى اللبن وأدواته وتعقيمها بالبخار وصيانتها في مكان نظيف مقفل لحين الحاجة إليها ويجرى فحصها بكتريولوجيا بين حين وآخر للوقوف على مدى دقة هذه العمليات . وسنذكر فيما يلي المواد اللازمة للفحص والطرق المتبعة في أخذ العينة من الأنواع المختلفة للأوانى والأدوات المستعملة في إنتاج اللبن ثم نشرح طريقة الفحص .

الأدوات والمواد اللازمة لفحصها :

(١) ماصات معقمة سعة ١ سم^٣ وأنايب من بيئة الآجار المستعملة في تقدير عدد البكتيريا في اللبن ، وأنايب بيئة ماكونسكى ، وأطباق بترى معقمة . وهذه الأدوات جميعها قد سبق وصفها وطريقة اعدادها في الكلام عن اختبارات اللبن .

(٢) قنينات تحتوى كل منها على ١٠٠ سم^٣ من الماء المعقم .

(٣) أقراص من المستعملة في سد زجاجات اللبن مصنوعة من الورق المقوى ، وهذه توضع في طبق بترى نظيف وتعقم في الأوتوكلاف .

(٤) ماسح (Swabs) معقمة من أحجام مختلفة تجهز بالطريقة الآتية :

يؤتى بسلك نحاسى سميك ويقطع إلى قطع بعضها صغير لا يتجاوز طوله ١٥ — ١٨ سم والبعض طويل يبلغ ٦٠ سم وتلف قطعة قطن مناسبة حول أحد طرفي كل منها ويستحسن أن يلف حول قطعة القطن قطعة الشاش ويحكم ربطها بسلك رفيع في حالة الماسح الكبيرة وقبل استعمال الماسح الصغيرة يوضع كل منها في أنبوبة غليان زجاجية (boiling tube) وتسد الأنبوبة بغطاء قطنى وتعقم في الأوتوكلاف ، أما الماسح الكبيرة فتناق قبل الاستعمال بطبقة أو طبقتين من ورق الزبد وتوضع في سلة (سبت) من السلك وتعقم كذلك في الأوتوكلاف .

طرق أخذ العينة :

(١) من زجاجات اللبن : يصب في كل زجاجة ١٠٠ سم^٣ من الماء المعقم وتسد الزجاجاة بأحد الاقراص المعقمة ثم ترج ٢٥ مرة بشدة بحيث يبلل الماء جميع سطحها الداخلي ثم يؤخذ سنتمتر مكعب من ماء الغسيل بواسطة ماصة معقمة ويختبر .

(٢) من صفائح اللبن الصغيرة والكبيرة وأواني (جرادل) الحليب :

تصب ٥٠٠ سم^٣ من الماء المعقم في كل من الصفائح الصغيرة وتسد بغطائها الاصلى ثم ترج بشدة ٢٥ مرة أما الصفائح الكبيرة وأواني الحليب فيصب في كل منها لتر أو لتران من الماء المعقم بحسب حجمها ويدار الماء في الوعاء بحيث يبلل سطحه الداخلي أولاً ثم يمسح السطح المذكور بمسحة معقمة (يتناسب طولها مع ارتفاع الوعاء) ويدار الماء في الوعاء مرة أخرى وتغسل فيه الممسحة ثم يصب في وعاء معقم ويؤخذ منه سنتمتر مكعب ليختبر .

(٣) من صهاريج الاستلام (Receiving tanks) : يصب لتران من الماء المعقم في الصهريج وتمسح جميع أجزائه الداخلية بمسحة معقمة كبيرة ويجمع ماء الغسيل من صنبور الصهريج في وعاء معقم ويختبر .

(٤) من المبرد (Cooler) : تنغمس الممسحة في الماء المعقم ويمسح بها سطح المبرد ثم تغسل الممسحة في الماء ويصب هذا الماء الذي يبلغ مقداره عادة لتران فوق المبرد وبعد أن يمر على سطح التبريد يجمع في إناء معقم ويختبر .

(٥) من آلات الحليب (milking machines) يصب لتران من الماء المعقم في سطل (جردل) معقم وتنغمس فيه أكواب الحلميات (teat cups) ثم تدار مضخة التفريغ فيسحب الماء من السطل ماراً في الانابيب ويصل إلى سطل الآلة وأخيراً يمسح السطح الداخلي للسطل الأخير بمسحة معقمة ويصب الماء في وعاء معقم ويختبر .

كيفية إجراء الاختبار :

يجب أن يجرى اختبار ماء الغسيل المتحصل عليه بالطرق السابقة بأسرع ما يمكن ولا يجب أن يتجاوز الوقت بين عمليتي الغسيل والفحص ١٥ دقيقة ويجرى الفحص بالكيفية الآتية : —
(١) تقدير عدد البكتيريا الكلى في الإناء .

يؤخذ سنتمتر مكعب من ماء الغسيل بواسطة ماصة معقمة ويصب في كل من طبقين بترى معقمين وتضاف إليه محتويات أنبوبة آجار بعد تسخينه وتبريده كالعتاد ثم يخلط الماء بالآجار ويجمد الخليط ويحفظ الطبقان على درجة ٢٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة وتحصى المجموعات التي تظهر على كل منهما ويحسب متوسط العدد في الطبقين ويضرب في عدد السنتمترات المسكبة من الماء الذي استعمل في الغسيل فينتج عدد الميسكروبات التي يحويها الإناء .

ويجرى الاختبار أحيانا بطريقة أخرى تملخص فيما يلي : —

تستعمل عدة أنابيب محتوية على آجار مغذى (يحتوى على ٢,٥ ٪ من الآجار) ثم تبرد إلى درجة ٥٠ سلفجراد وتصب محتويات أنبوبة منها على مساحة صغيرة من السطح الداخلى لكل من الآنية المراد اختبارها ويترك الآجار ليتجمد وفى هذه الاثناء يغمس ملوق معدن كبير فى كحول ويعقم بامراره فى اللهب فيحترق الكحول الموجود عليه ثم يبرد . تفصل طبقة الآجار من سطح الوعاء بامرار الملوق المعقم بينهما مع الاحتراس من تكسبر الآجار أثناء هذه العملية ثم ينقل الآجار بنفس الملوق ويقلب ويوضع فى طبق بترى معقم ويحفظ على درجة ٣٠ سلفجراد لمدة ٥ أيام وبعدها تحصى المجموعات التى تظهر ويحسب عددها فى السنتيمتر المربع من سطح الوعاء .

ويجب عند فحص الاوانى المعدنية بهذه الطريقة أن تكون سطوحها باردة وغير مبللة بالماء .

(٢) اختبار وجود ميكروبات القولون .

يفحص ماء الغسيل فى أحيان كثيرة للوقوف على مدى تلوث أوانى اللبن بميكروبات القولون وذلك فى الحالات التى ترتفع فيها نسبة هذه الميكروبات فى اللبن ويراد الوقوف على المصدر الذى تنقل منه اللبن ويجرى هذا الفحص بنفس الطريقة المشروحة فى الكلام عن اختبار اللبن والماء . هذا ويشمل الفحص فى مثل هذه الأحوال الماء المعقم المستعمل فى غسيل الضرع وأيدى الحلايين الخ .

ملاحظات عامة نتيجة هذا الاختبار :

تقاس درجة نقاوة الأوانى والأدوات المستعملة فى إنتاج اللبن ومدى العناية التى اتخذت فى تنظيفها وتعقيمها بعدد ماتحويه من ميكروبات بعد تقديره بطريقة الأطباق السالفة الذكر ، والقياس المعمول به فى أمريكا هو الآتى : —

(١) زجاجات اللبن : ينبغى ألا يزيد عدد البكتريا فى جملة الماء المستعمل فى غسل الزجاجات عن ١٠٠

(٢) صفايح اللبن : وألا يزيد عددها فى الماء المستعمل فى غسيل :

الصفايح الصغيرة (سعة ٢٥ رطل تقريبا) عن ٢٥٠٠٠

» المتوسطة (٥٠ » » ») ٥٠٠٠٠

» الكبيرة (١٠٠ » » ») ١٠٠٠٠٠

وتعتبر الأوانى التى لا تتجاوز فيها البكتريا الحدود المذكورة على جانب كبير من النقاوة البكتريولوجية

الباب الثامن والعشرون

الفحص البكتريولوجي لمنتجات اللبن

ذكرنا فيما سبق أن الفحص البكتريولوجي بهم صانع منتجات اللبن كما يهم المنتج لأن جودة هذه المنتجات ورائحتها وطعمها تتوقف على نشاط ما بها من ميكروبات ونشرح فيما يلي طرق الفحص الرئيسية المتبعة في اختبار منتجات الألبان .

أولاً - فحص الزبد

(١) إحصاء العدد الكلي للبكتيريا :

تستعمل طريقة الأطباق في هذا الغرض وتستخدم لأجرائها أدوات تماثل ما سبق وصفه في الكلام عن اختبار اللبن . غير أن عمل التخفيف وتحضير الأطباق من الزبد أصعب بكثير من تحضيرها من اللبن لأن هذه المادة تكون جامدة على درجة الحرارة العادية ولأنها عسيرة الخلط بالماء أو بالآجار حتى وهي سائجة ولهذا يراعى دائما تدفئة الماء المستعمل في التخفيف وكذا الماصات والأطباق إلى درجة حرارة تزيد عن درجة سيحان الزبد .

ويمكن استعمال بيثين في هذا الاختبار احدهما هي بيئة آجار الدكستروز التي سبق وصفها في اختبار اللبن والثانية تعرف باسم بيئة آجار الشرش (Whey agar) المضاف إليه دليل اندرادى وهي تحضر كالآتى :

يجب مقدار من اللبن بالمنفحة ويصفى منه الشرش ويضاف إليه ١ ٪ . بيتون ٥ ٪ . ملح الطعام ثم يضبط تأثيره ويسخن ويرشح ويضاف إليه ١,٥ ٪ . آجار ١ ٪ . دليل اندرادى ثم تصب البيئة في الأنابيب وتعقم كالمعتاد .

طريقة أخذ العينة : من أهم ما يراعى في أخذ العينة ألا يدمج فيها الجزء السطحي المعرض للجو أو

الملاصق لورق الكاف بل يجب أن يكشط السطح بواسطة مشرط معقم أو ثقب قطعة الزبد المراد اختبارها وتؤخذ العينة من أجزائها المختلفة إما بواسطة ثاقب أو مجس معقم (Sampler or trier) أو بواسطة ملعقة معقمة وتوضع القطع الصغيرة المتحصل عليها بهذه الطريقة في زجاجة عينة معقمة أو توزن مباشرة

والطريقة الأولى هي الأكثر استعمالاً خصوصاً عند تعذر فحص العينة مباشرة . وينبغي في هذه الحالة أن تقفل الزجاجات بأحكام وتحفظ معاطة بالثلج إلى أن يحين وقت فحصها . ويعقم المشروط والثاقب أو الملاعقة في الأوتوكلاف بعد وضعها في زجاجات وسدها بالقطن أو لفها بورق الزبد .

طريقة إهرء الاختبار : يؤخذ مقدار معين من الزبد إما بالوزن أو بالعيار ويخفف بكمية معلومة من الماء ثم يكمل التخفيف كما هو متبع في اختبار اللبن ولكن تراعى في هذه الحالة اشتراطات خاصة تكفل دقة الاختبار وصحة النتائج المتحصل عليها وأهم هذه الاشتراطات هي :

ا - أن ترفع حرارة ماء التخفيف إلى درجة ٥٤ سنجراد وتحفظ على هذه الدرجة في حمام مائي طول مدة اجراء التخفيف .

ب - أن تدفأ الماصات وأطباق بترى التي تستعمل في الاختبار وذلك بوضعها في محضن درجة حرارته ٣٧ سنجراد مدة من الزمن أو بامرارها فوق اللهب

ج - أن تغسل الماصات جيداً بماء التخفيف بعد النقل بأن يسحب فيها قليل من الماء المذكور ويعاد إلى الأنبوبة بضع مرات .

د - أن ترج كل أنبوبة من أنابيب التخفيف قبل أن ينقل منها السائل إلى الأنبوبة التالية لأن حميديات الدهن تطفو على سطح السائل بسرعة وهذه العملية تنظم توزيعها في السائل

إذا اتبعت طريقة الوزن في عمل التخفيف الأول فيجرى الآتي : يعقم مع بقية الأدوات طبق بترى يحتوي على قطعتين مربعتين من الورق طول ضلع أحدهما نحو تسعة سنتيمترات وطول ضلع الأخرى حوالي سبعة سنتيمترات وقبل وزن الزبد توضع قطعة الورق الكبيرة بواسطة ملقط معقم على كفة الميزان اليسرى ثم توضع فوقها القطعة الصغرى وتوضع في الكفة اليمنى أوزان تعادلها ثم تؤخذ بواسطة ملاوق معقم خمسة جرامات من الزبد وتوزن على الورقة (وفي بعض الاحوال يفضل وزن جرام واحد بدلاً من خمسة) ثم تنقل الورقة العلوية بما عليها بواسطة الملقط المعقم وتوضع في فنيئة تحتوي على ٤٩٥ سم^٣ من الماء المعقم الدافئ . وبذلك يحضر تخفيف بـ ١٠ ثم تكمل عملية التخفيف باستعمال أنابيب تحتوي الواحدة منها على ٩ سم^٣ من الماء المعقم أو المحلول المائي أو محلول رنجر الدافئ كالمعتاد .

أساً إذا اتبعت طريقة العيار فتوضع زجاجة العينة المحتوية على الزبد في ماء ساخن حرارته ٤٥ - ٥٠ سنجراد حتى تسيح ثم تخرج جيداً بالرج وينقل منها سنتيمتر مكعب إلى إحدى أنابيب ماء التخفيف الدافئ . وتكمل عملية التخفيف

ومن المهم في هذه الطريقة أن يقلل تلوث السطح الخارجى الماصة بالزبد السائح بقدر الامكان

وعقب انتهاء عملية التخفيف مباشرة ينقل سنتمتر مكعب من كل أنبوبة من أنابيب التخفيف ببلي. إلى كل من طبقى بترى معقمين وتحفظ الاطباق على درجة ٢٢ سنتجراد لمدة ٨ أيام أو على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة ٥ أيام ثم تحصى المجموعات على الاطباق الصالحة للعد ويضرب عددها فى نسبة التخفيف ويستنتج العدد الكلى فى الجرام الواحد من الزبد اذا اتبعت طريقة الوزن أو فى السنتمتر المكعب اذا اتبعت طريقة العيار

وفى حالة استعمال آجار الشرش فى هذا الاختبار يمكن تقدير عدد الميكروبات المكونة للحامض (وهى التى تلون مجموعاتها البيئة باللون الاحمر) إلى جانب تقدير العدد الكلى للميكروبات وحساب النسبة المثوية للأصناف الأولى بسهولة

(٢) تقرير نسبة ميكروبات القولون

تستعمل فى هذا الاختبار نفس البيئة وذات الطريقة المشروحة فى اختبار اللبن ولكن يراعى تسييح الزبد وتدقئة ماء التخفيف والمصاصات عند اجراء الاختبار ، وينقل سنتمتر مكعب من عينة الزبد ومن أنابيب التخفيف ببلي. إلى كل من أنبوتى بيئة ما كونكى وتحفظ الانابيب المذكورة على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة ٣ أيام أو على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة يومين ثم تدون النتيجة

(٣) الاختبار الميكروسكوبى

توضع عشرة جرامات من الزبد مع ١٠٠ سم^٣ من الماء المعقم فى كأس صغير معقم ويسخن المخلوط على درجة ٧٠ سنتجراد ويقاب جيداً ثم يصب فى أنابيب الآلة المركزية الطاردة وتدار بسرعة ٣٠٠ دورة فى الدقيقة لمدة ١٠ - ١٥ دقيقة (مع مراعاة جميع الاحتياطات السالف ذكرها فى اختبار الراسب) ثم يصب السائل الراثق من الانابيب ويحضر غشاء من الراسب ويثبت ويصبغ باحدى الطريقتين السالفتى المذكور فى اختيار اللبن ميكروسكوبياً

وهنا يحسن ان نقول أنه لا يكاد يرى فى الغشاء المحضر من الزبد الجيد غير ميكروبات كروية زوجية أو سبجية (ستربتو كوكس لاكتيس Str. lactis) ولا ترى الميكروبات العصوية إلا بقلّة أو تكون معدومة

(٤) اختبار وجود ميكروب السل

توضع قطعة كبيرة نوعاً من الزبد المراد اختبارها فى وعاء معقم ويضاف إليها مقدار مائل من الماء المعقم (أو محلول الملح الفسيولوجى) ويذاب الزبد ويوزع بانتظام فى الماء بتدقئة المخلوط ثم رجه جيداً لمدة ١٥ - ٢٠ دقيقة ويبرد وتفصل قطع الزبد المتجمدة ثم يدار المحلول فى الآلة المركزية الطاردة لمدة ٢٠ دقيقة ويحقن بالراسب الناتج أرانب هندية كما ذكرنا فى اختبار اللبن.

ثانياً - فحص الروبة

الروبة أو (البادى Starter) هى عبارة عن مزرعة نقية من بكتيريا حامض اللاكتيك فى لبن معقم

تلقح بها القشدة المعدة لصنع الزبد أو اللبن المستعمل في صنع الجبن فتكون فيهما نسبة خاصة من حامض
اللاكتيك تساعد في صنع أنواع من الزبد والجبن تمتاز بصفاتها الجيدة وطعمها ونكهتها الطيبة .
يستعمل في اختبار الروبة جملة طرق من أهمها اختيار المذاق والرائحة ومظهر الخثرة ونسبة الحموضة
على ان هناك طرقاً بكتريولوجية تستعمل أحياناً للوثوق من صلاحية الروبة للاستعمال وهي :

(١) اختبار العدد الكلى

يجرى التخفيف كالمعتاد ويحضر طبقان من كل من أنابيب التخفيف الآتية
ويستعمل في هذا الاختبار آجار الشرش أو آجار الدكستروز السالى الذكر ثم تحفظ
الاطباق على درجة ٣٠ سنجراد لمدة خمسة أيام ويحصى المجموعات الناتجة على الاطباق المناسبة للعدد
ويضرب عددها في نسبة التخفيف فينتج العدد الكلى في السنتيمتر المكعب من عينة الروبة .

(٢) تقرير نسبة ميكروبات القولون

يحضر التخفيف كالمعتاد وتلقح أنبوبتان من بيئة ما كونكى السائلة كل منهما بسنتيمتر مكعب من العينة
كما تلقح أنبوبتان بنفس الطريقة من كل من تخفيف ١ : ١٠ ، ١ : ١٠٠ ، وتحفظ الأنابيب على درجة ٣٧
سنجراد لمدة يومين أو على درجة ٣٠ سنجراد لمدة ٣ أيام .

(٣) الامتحان الميكروكوبى

يحضر غشاء من الروبة ويصبغ بطريقة جرام ويفحص ميكروسكوبياً فاذا كان محضراً من عينة جيدة
فلا يكاد يشاهد به سوى ميكروبات كروية زوجية أو سبجية إيجابية التلوين لصبغة جرام .

ثالثاً — فحص الالبان المخمرة

يقصر غالباً في فحص الالبان المخمرة (وأهم المستعمل عندنا منها لبن الزبادى) على تقدير نسبة
ميكروبات القولون والامتحان الميكروسكوبى وأولها ذو أهمية خاصة في هذه الحالة لأن تلك الميكروبات
كثيراً ما تحدث تغيرات غير مرغوب فيها تضر بهذه الصناعة ضرراً بليغاً . أما ثانيهما فيستدل منه على نسبة
الميكروبات التى تتألف منها الخثرة بعضها إلى بعض وعلى وجود أنواع ملوثة بينها ويجرى الاختباران
المذكوران كالآتى : —

(١) تقرير نسبة ميكروبات القولون :

يجرى بنفس الطريقة المشروحة في اختبار الروبة .

(٢) الامتحان الميكروسكوبى :

يحضر غشاء من عينة اللبن المختمر ويصبغ أحدهما بأزرق الميثلين والثانى بطريقة جرام ويفحصان

بالعدسة الزيتية فيلاحظ في العينات الجيدة وجود ميكروبات عصوية طويلة (Lactobacillus) وميكروبات كروية سبجية ، ويزداد عدد الأخيرة في الأحوال التي يتجبن فيها اللبن على درجات حرارة منخفضة نسبيا (أى حوالى ٢٠ سنتجراد) في حين ترتفع نسبة النوع المتقدم عند تبين اللبن على درجات عالية نوعا كما يشاهد بالغشاء بعض خلايا الخميرة (Ycast) ولكن بعدد أقل نسبيا من النسمعين السابقين . ولا يجب أن يشاهد بالغشاء ميكروبات عصوية قصيرة سلبية التلوين لصبغة جرام أو ميكروبات عصوية متجزمة إيجابية التلوين للصبغة المذكورة

رابعاً - فحص الجبن

(١) امحاء العمد السطحي للميكريا

يستعمل في هذا الاختبار طريقة الأطباق ويلزم لاجرائها أدوات تماثل المستعملة في اختبار الزبد ولكن يرااد عليها الآتى :

هاون من الصيني قطره نحو ٧ سم واليد الخاصة به يلفان في ورق الزبد أنبوبة اختبار تحتوى على نحو عشرة جرامات من الرمل تقفل بسدادة قطنية . قنينة سعتها ١٥٠٠ سم^٣ تحتوى على ١٠٠٠ سم^٣ من الماء تقفل بسدادة قطنية (قنينة رقم ١) . قنينة سعتها ١٥٠٠ سم^٣ فارغة مقفلة بسدادة قطنية (قنينة رقم ٢) سدادة من المطاط لقفل القنينة الفارغة تلف في ورق الزبد تعقم الأدوات المذكورة في الاوتوكلاف

وفي هذا الاختبار يمكن استعمال آجار الشرش أو الآجار المغذى أو آجار دكستروز — الايست (dextrose - yeast agar) أى آجار الدكستروز المحتوى على الخميرة .

طريقة أخذ العينة : ينبغي ألا تؤخذ العينة من الجزء السطحي وأن تمثل جميع الجبن المراد اختباره . ولذلك يستعمل ثاقب أو مجس معقم لأخذ العينة من أجزاء الجبن المختلفة أو تقطع الجبن إلى قطع بسكين معقم ويكشط المقدار اللازم من سطوح القطع المذكورة .

طريقة امحاء الامعاء : توزن عشرة جرامات من الجبن المتحصل عليه بالطريقة السابقة على ورقة معقمة كالمتبع في حالة الزبد على أن تنقل قطع الجبن الى الورقة بواسطة ملقط معقم ان كانت العينة جافة أو بواسطة ملوق أو ملعقة معقمة إن كانت من الأنواع الطرية . وأحيانا يفضل اجراء الوزن في زجاجة معقمة لتقليل تعرض الجبن للتلوث أثناء هذه العملية

ينقل نحو جرامان من المقدار المذكور بواسطة الملقط المعقم الى الهاون ويضاف اليهما مقدار مماثل من الرمل المعقم وتصب عليهما كمية قليلة من الماء الذى تحويه القنينة رقم ١ ثم يصحن المخلوط بيد الهاون

لمدة بضع دقائق ويصب السائل في القنينة الفارغة رقم ٢ ثم تنقل قطعة جبن أخرى وقليل من الرمل والماء الى الهاون وتطحن بنفس الطريقة وتكرر العملية حتى يتم طحن جميع الجبن ثم يغسل الهاون بالماء المعقم ويصب ماء الغسيل في القنينة رقم ٢ مع الماء الباقي بالقنينة رقم ١ وتنقل الأخيرة بالسداة من المطاط المعقمة وترج هذه القنينة لمدة بضع دقائق ويكمل التخفيف بالطريقة المعتادة من المزيج السالف الذكر ويحضر طبقان من أنابيب التخفيف الآتية $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{1000}$ وتحفظ الأطباق على درجة ٢٢ س لمدة ٨ أو ١٠ أيام أو على درجة ٣٠ س لمدة ٥ أيام ويقدر العدد الكلى

وفي بعض الأحوال يحصى على وجه التقريب عدد البكتريا التي لا يوجد نموها على الأطباق (مثل لاكتوباسيلس كازي L. casei) وذلك بملقح أنابيب ابن معقم بمقادير مختلفة من الجبن نقلت من أنابيب التخفيف المخضرة في الاختبار السابق ثم تحفظ أنابيب اللبن على درجة حرارة مناسبة لمدة أسبوع أو أسبوعين وتختبر بالعين المجردة لمشاهدة التغيرات التي تحدث بها كما تفحص ميكروسكوبيا للوقوف على أنواع الميكروبات الموجودة بها وتقدير عددها التقريبي .

(٢) تقدير مرقسيز ميكروبوات القملوس :

يجرى بالطريقة المستعملة في اختبار الروبة

(٣) الامتحان الميكروسكوبى :

تقطع من عينة الجبن قطعة رقيقة وتضغط بين شريحتين نظيفتين ثم ترفع الشريحتان وتزال من عليهما قطع الجبن الصغيرة اللاصقة بها ويجفف الغشاءان ويثبتان ويصبغان بأزرق المثيلين بالطريقة المشروحة في اختبار اللبن وينحصان بالعدسة الزيتية

يلاحظ في الأغشية المخضرة من الجبن الطرى أو الحديث الصنع أن الأنواع الغالبة هي السكروية الزوجية أو السبحية وأنها موزعة في الغشاء بانتظام بخلاف الحال في الأغشية المجهزة من الجبن الجاف إذ تغلب فيها الأنواع العصوية (اللاكتوباسيلس) وترى الميكروبوات في مثل هذه الأغشية غالبا متجمعة في مجموعات (يطلق عليها أحيانا اسم مراكز النضج Ripening samples)

(٤) اختبار وجود ميكروب الصل

تستعمل عدة طرق في هذا الاختبار إلا أن أصلحها هي الآتية :

توضع ٣٠ جراما من الجبن في كأس زجاجى معقم ويوضع السكاس في ماء دافئ حرارته ٣٥ - ٤٠ س. تستجراد ويصب عليه ببطء ١٧٠ سم^٣ من محلول صودا كاوية قوة ٢ ٪ إذا كان الجبن المراد اختباره طريا أو ٣٤٠ سم^٣ إذا كان جافا ويحرك المخلوط فيصير بعد ٢٠ دقيقة محلولاً عكرا يعبأ في أنابيب الآلة المركزية الطاردة ويدار لمدة ١٥ دقيقة ثم يحقن الراسب في الأرناب الهندية .

فصل ١٠ --- فحص المثلجات

توجه لفحص المثلجات ، الدندمة ، أهمية أكبر بكثير مما توجه لفحص منتجات الألبان الأخرى نظراً لكثرة استعمالها في زمن الصيف وهو الوقت الذي تسكن فيه الإصابة بالحميات المعوية ولأنها قد تكون من أخطر العوامل التي تسبب انتقال العدوى بهذه الأمراض

وغالباً يمكن الحكم على مقدار العناية التي اتخذت في صنع المثلجات وتوزيعها من احصاء العدد الكلي للبكتيريا التي تحويها وتقدير نسبة ميكروبات القولون فيها وأحياناً تفحص للكشف عن وجود ميكروبات مرضية خاصة في الأحوال التي يشتبه فيها أن انتشار بعض الاوبئة ناتج عن التغذية على مثلجات من مصدر معين

(١) احصاء العدد الكلي للبكتيريا (طريقة الطباق)

يلزم لهذا الاختبار أدوات مماثلة للمستعملة في اختبار اللبن والزبد ويمكن استعمال بيئة آجار الدكستروز السابق وصفها في هذه الحالة

طريقة أخذ العينة : تؤخذ العينة إما في طبق بترى معقم أو في زجاجة عينة ذات غطاء زجاجي أو معدني محوى وتتوقف طريقة أخذها على نوع الوعاء الذي تؤخذ منه فإن كانت المثلجات معبأة في أوعية كبيرة كالصفايح مثلاً وكانت جامدة فيستعمل ثاقب أو مجس في أخذ العينة من أجزائها المختلفة أو تكشف الطبقة السطحية بملعقة معقمة ثم يؤخذ القدر اللازم بملعقة أخرى معقمة أما إذا أريد أخذ العينة من الدرجات الأولى من العملية أى من آلة التجنيس (homogeniser) مثلاً فوضع الزجاجة تحت فتحة الجهاز المذكور وتؤخذ كمية قليلة في فترات متقاربة

وفي جميع هذه الأحوال يجب العناية لعدم تلوث العينة بميكروبات خارجية عند أخذها كما يجب ألا يقل حجمها عن ٥ سم^٣ وأن تحفظ محاطة بالثلج لحين فحصها .

طريقة إجراء الاختبار : توضع الزجاجة المحتوية على العينة في حمام مائي على درجة ٤٠ س لمدة دقيقة

وتمزج العينة في أثناء التسخين ويلاحظ عدم رفع درجة الحرارة كثيراً عند التسخين لأن ذلك قد يقلل من عدد البكتيريا كما يجب ألا تسيح على درجة منخفضة نسبياً وإلا استغرقت هذه العملية مدة طويلة تتكاثر في أثناءها البكتيريا فيزيد عددها

يؤخذ سنتيمتر مكعب من العينة السائلة بواسطة ماصة معقمة ويخلط بتسعة سنتيمترات مكعبة من الماء المعقم على أنه يفضل أحياناً في عمل التخفيف الأول أن تؤخذ كمية أكبر لكي تكون بمثابة للعينة تماماً فنقل ١٠ سم^٣ وتضاف إلى ٩٠ سم^٣ ثم يكمل التخفيف كالعناد ويحضر طبقان من كل من تخفيف ١ : ١٠ و ١ : ١٠٠ و ١ : ١٠٠٠ وتحفظ الأطباق على درجة ٣٠ ستجراد لمدة ٥ أيام وتخصى المجموعات ويقدر عدد البكتيريا الكلي

(٢) اعداد العدد السطحي للبكتريا (طريقة الميكروسكوب المباشرة)

هذه الطريقة غير شائعة الاستعمال كالطريقة السابقة وخصوصا لأن انتشار صنع المثاقبات من مواد مبيطرة قد جعل فائدتها محدودة غير أنها تفيد في تعزيز نتيجة الفحص بطريقة الاطباق كلما أمكن تؤخذ العينة بالطريقة السالفة الذكر ويحضر الغشاء منها بعد تسييحها بأن يشر به $\frac{1}{10}$ سم 3 منه في مربع مساحته سنتيمتر على شريحة نظيفة بالطريقة التي سبق شرحها في اختبار اللابن ثم تغمس الشريحة في زيلول لازابة الدهن وتصفى وتجفف ثم تغمس في كحول لمدة بضعة دقائق وتسمى وتخفف وتصبغ وتفحص بالعدسة الزيتية

لا يرى بالغشاء المحضر من مثالج جيد أكثر من خلية في المجال

(٣) تقدير نسبة ميكروبات الفولورة

يجرى هذا الاختبار بالطريقة المشروحة في اختبار اللابن ويستدل من نتيجته على مبلغ العناية التي اتخذت في الإنتاج ومدى دقة عملية البسترة لأن هذه الميكروبات لا تقتل كلها في المثاقبات بالعملية المذكورة ولو أنها عادة تبستر على حرارة أعلى من الدرجة التي يبستر عليها اللابن وكذلك يستدل من نتيجتها على مقدار التلوث الذي حدث بعد العملية المذكورة

(٤) اختبار وجود ميكروبات الصل :

إما أن تحقن الأراناب الهندية بالمثالج بعد تسييحه مباشرة أو يجرى حقن الراسب والقشدة التي تطفو على السطح بعد إدارته في الآلة المركزية الطاردة كالمعتاد

سادسا - فحص اللبنة المركز

(١) اعداد العدد السطحي للبكتريا

يقدر العدد الكلى للبكتريا في هذا اللابن عادة بطريقة الاطباق ولكن تراعى نقط خاصة في أخذ العينة واجراء الاختبار المذكور سنسطها فيما يلي ، أما الأدوات اللازمة فهي مائلة لما ذكر في اختبار اللابن والعينة المستعملة عادة هي آجار الدكستروز

طريقة أخذ العينة . يجب أن تكون العينة ممثلة لجميع اللابن المراد اختباره فاذا أخذت من صفائح كبيرة أو براميل مثلا استعملت أنبوبة زجاجية متسعة مفتوحة الطرفين ومعقمة واتبعت في أخذ العينة نفس الطريقة المشروحة في أخذ عينة اللابن . أما اذا أخذت من صفائح صغيرة مقفلة فترج الصفيحة جيدا لتخرج محتوياتها ثم تعقم بالهيب أو تغمس في محلول مطهر كالسليماني لمدة بضعة دقائق وترفع منه وتصفى ويفسل طرفها بالماء المعقم ثم تعمل فيه فتحة طولها 2 سم بواسطة آلة حادة (كفاتحة العلب العادية) فاذا كانت العلبية غير متجانسة أجرى خلطها بواسطة ملعقة معقمة

طريقة إجراء الاختبار . يحضر التخفيف الأول اما بنقل ١ سم^٣ من اللبن المركز بواسطة ماصة معقمة ذات فوهة متسعة نظرا لكثافته وتصب في أنبوبة تحتوي على ٩ سم^٣ من الماء المعقم ويخلط اللبن بماء وتغسل الماصة بسحب السائل وإرجاعه بضع مرات . أو توزن عشرة جرامات من اللبن في زجاجة تخفيف تحتوي على ٩٠ سم^٣ من الماء المعقم ثم ترج الزجاجة جيدا ويحضر تخفيف بـ ١/١٠ من التخفيف الأول كالمعتاد ثم يحضر طبقان من كل من تخفيف بـ ١/١٠ بـ ١/١٠ ويستحسن أحيانا تحضير طبقين من اللبن نفسه وتوضع جميع الأطباق على درجة ١٠ س لمدة ٥ أيام أو على درجة ٣٧ س لتجrad لمدة يومين وتحصى المجموعات ويستنتج العدد في السنتيمتر المكعب اذا أجرى التخفيف بطريق العيار أو في الجرام اذا أجرى بالوزن

وقد يحصى العدد بطريقة الميكروسكوب المباشرة بأن يخلط اللبن بمقدار مناسب من الماء المعقم بحيث يشبه المخلوط في تركيبه اللبن الطبيعي ويحضر منه غشاء ويصبغ ويفحص بالطريقة المعتادة وتقدر أحيانا في هذا اللبن عدد الميكروبات المذبية للجيلاتين (Gelatine liquefying) بأن تحضر الأطباق كما في الاختبار السالف الذكر ولكن تستعمل بيئة الجيلاتين المخذى بدلا من آجار الدكستروز ثم يحفظ على درجة ٥٥ س لمدة ٧ - ١٠ أيام وتختبر الأطباق في أثناء هذه المدة كل يوم مرة وتحصى عدد المجموعات المذبية للجيلاتين ويستنتج عددها في السنتيمتر المكعب أو في الجرام

(٢) تقدير نسبة ميكروبات القولون

يجرى الاختبار بالطريقة المشروحة في اختبار اللبن

سابعاً - فحص اللبن المخفف

(١) إجراء العدد السطحي للبكتريا

يحصى عدد البكتريا في مسحوق اللبن عادة بطريق الأطباق وتستخدم فيه أدوات تماثل المستعملة في اختبار اللبن الطبيعي وتستخدم بيئة آجار الدكستروز .

طريقة إجراء الاختبار . تخلط محتويات الصفيحة أو البرميل وتؤخذ منها عينة في زجاجة معقمة ثم توزن عشرة جرامات من عينة المسحوق على ورقة معقمة وتضاف الى زجاجة تخفيف على ٩٠ سم^٣ من الماء المعقم ويرج المخلوط جيدا حتى يصير متجانسا ثم يكمل التخفيف كالمعتاد ويحضر طبقان من ١ سم^٣ ومن كل من تخفيف بـ ١/١٠ وتخفف الأطباق على درجة ٣٠ س لتجrad لمدة خمسة أيام ثم تحصى المجموعات ويستنتج العدد في الجرام الواحد

وقد يحصى العدد كذلك بطريقة الميكروسكوب المباشرة وفي هذه الحالة توزن كمية من العينة على ورقة

معقمة ثم تخرج بمقدار من الماء المعقم بحيث تصير النسبة المئوية للواد الصابئة في المخلوط مساوية تقريبا لنسبتها في اختبار اللبن .

وقد تفحص أحيانا بعض أنواع خاصة من البكتريا التي توجد بالمسحوق لاحصاء عددها وتستعمل في هذا الغرض بيئة آجار خلاصة اللحم مضافا إليها ٢ ٪ من اللاكتوز ودليل مناسب . كما تختبر الانواع التي تحلل البروتين وذلك بنقل المجموعات التي تظهر على أطباق الآجار ، كل الى أنبوبة تحتوى على لبن فرز معقم وملاحظة حدوث تحلل البروتين في الانابيب المذكورة

وللتحقق من وجود هذا الأنواع اما أن تنقل جميع المجموعات التي تنمو على الاطباق بالكيفية المذكورة او يكتمل بنقل المجموعات الموجودة على قسم منه فقط ثم تحسب نسبتها في الطبق كله وقد تخصي هذه البكتريا على الاطباق بالطريقة العادية باستعمال بيئة آجار خلاصة اللحم وازدادة در. سم³ من اللبن الفرز الى كل طبق ، ويكثر وجود هذه البكتريا في المسحوق اذا أنها متجزئة فتقاوم الحرارة التي يعرض لها اللبن عند صنعه .

(٢) تقرير نسبة ميكروبات الفولور

يجرى الاختبار بالطريقة المشروحة في اختبار اللبن

(٣) اختبار وجود ميكروب العمل

يخاط مقدار من المسحوق بالماء المعقم بحيث يشبه المخلوط في تركيبه اللبن الطبيعي ثم يدار في الآلة المركزية الطاردة وتحتن بالراسب أو الراسب والقشدة التي تطفوا على السطح أرانب هندية كالمعتاد .

أهم المراجع

- (١) محمود سليم : تعقيم اللبن — صحيفة التجارة والصناعة — العددان الأول والثاني من السنة الحادية عشرة (يناير فبراير سنة ١٩٣٥) .
- (٢) محمود سليم : تجفيف اللبن — المجلة الزراعية المصرية — الأعداد الثالث والرابع والخامس والسابع من السنة السادسة عشرة (مارس وابريل ومايو ويوليو وأغسطس سنة ١٩٣٨)

-
- 3 — American Public Health Association. Standard Methods of Milk Analysis, 1934
 - 4 — American Public Health Association. Standard Methods of Water Analysis, 1936
 - 5 — Chalmers, C.H., Bacteria in Relation to the Milk Supply. 1935
 - 6 — Cunningham, A., Practical Bacteriology, 1934
 - 7 — Dalrymple - Champneys. W, The Supervision of Milk Past. Plants, Rep. Health & Med. Subjects. No 77. Pub. H. M. S. O. London 1937
 - 8 — Dukes, C, The Bacteriology of Food. 1925
 - 9 — Economic Advisory Council. Rep. on Cattle Diseases. Pub. H. M. S. O. London 1934
 - 10 — Hammer, B. W. Dairy Bacteriology. 1928
 - 11 — Harvy, W. C., & Hill, H., Milk Production and Control 1936.
 - 12 — Holt, Harris, & Teague. Jour. Inf. Diseases. V. 18 p. 596, 1916
 - 13 — House, A. G., Bacteriological Control of Milk. 1931
 - 14 — Jordan, L., Med. Res. Council, The Eradication of Bovine Tuberculosis, Pub. H. M. S. O., 1933.
 - 15 — Kay, H. D., Pasteurisation of Milk, Nutrition Abstracts & Reviews, Vol. 9 No. 1, 1933
 - 16 — Kay, H. D., Aschaffenburg, R., & Neave, F. K. The Phosphatase Test for Control of Efficiency of Pasteurisation Pub. Imp. Bureau of Dairy Science, 1939
 - 17 — Levine, M., Iowa State Coll. of Agric, No. 62, 117 , 1921.
 - 18 — Levine, M., Jour. Inf, Dis. V. 23. p. 43, 1918
 - 19 — Mattick, A. T. R. , Progress in Pasteurisation, The Milk Industry, Jan. 1935.
 - 20 — Mattick, A. T. R., The Production and Distribution of Clean Milk The Dairyman. Ltd. 1927.]
 - 21 — Mattick, A. T. R. & Hiscox, E. R., H. T. S. T. Pasteurisation. Medical Officer, 1939. 61 p. 177.
 - 22 — Mattick, A. T. R. & Proctar, F., The Production of Milk of Low Bacterial Content by Means of Milking Machines. Jour. Hygiene, Vol. 27. No. 2. 1928.
 - 23 — Med Res. Council. Tuberculosis Infection in Milk. Sp. Rep Series No. 189. Pub. H. M. S. O. London. 1933.
 - 24 — Milk Nutrition Committee, Milk & Nutrition, Parts I, II, III & IV Pub. Poynder, Reading. 1938—9.
 - 25 — Min. of Agric. & Fisheries, Guide to the Conduct of Clean Milk Competitions Mis. Pub. No. 46. Pub, H. M. S. O. London, 1934.

- 26— Min. of Agric. & Fisheries, Modern Milk Production, Bull No. 52 Pub, H. M. S. O. London. 1932.
- 27— Min. of Agric. & Fisheries, Studies Concerning the Handling of Milk. Bull. No. 31. Pub. H. M. S. O. London 1931
- 28— Min. of Agric. & Fisheries The Construction of Cow-Mouses Bull. No. 40 Pub. R. M. S. O. 1934
- 29— Min. of Health, Bacteriological Exam. of Water Supplies Bull No. 71 Pub. R. M. S. O. London 1934
- 30— Min. of Health, Bacteriological. Tests for Graded Milks, Memo, 139 Foods, Pub. R. M. S. O. 1937
- 31— Min. of Health, Bovine Tuberculosis in Man, Rep. Pub. Health & Med. Subjects No. 63, Pub. R. M. S. O. London 1931
- 32— Min. of Health, The Milk (Special Designations) Order 1936 Pub. R. M. S. O. London 1936
- 33— Sorensen - Jensen, Dairy Bacteriology 1931
- 34— State Exp, Dairy, Denmark, 8 th Rep on the Sterilising Plant for Milk
- 35 Stirling, J. D. & Blackwood, J. M. , The Nutritive Properties of Milk in Relation to Pasteurisation, 1933.
- 36— Wilson, G. S. Bacteriological Exam. of Milk, Med, Res. Council Pub. R. M. S. O, London 1935

أبواب الكتاب

صفحة

مقدمة

٣

تمهيد

٤

نبذة تاريخية عن بكتريولوجيا الالبان (٤) أهمية بكتريولوجيا الالبان (٥) وصف عام للبكتريا (٧)

الجزء الأول

٢٢

الباب الأول — أهمية النظافة في إنتاج اللبن ومعاملته

اللبن النظيف وكيف يحصل عليه (٢٢) — مدى اهتمام الأمم المختلفة بنظافة اللبن (٢٤) — أساليب الإنتاج في مصر ونصيبها من النظافة (٢٥) — هل يغنى استعمال الحرارة عن النظافة (٢٧) — قيمة المعدات في إنتاج اللبن النظيف (٢٧) — مصادر تلوث اللبن بالميكروبات (٢٨)

٢٩

الباب الثاني — تلوث اللبن من الماشية المنتجة

التلوث الناشئ من داخل الضرع (٢٩) — تأثير صحة الحيوان المنتج في نقاوة اللبن (٣١) — تلوث اللبن من الاقدار العالقة بجسم الحيوان (٣٢) — نظام حظائر الماشية وعلاقته بنظافة الماشية (٣٦)

٤٣

الباب الثالث — تلوث اللبن في أثناء الحلب

التلوث من الهواء (٤٣) — التلوث من الحلاب (٤٥) — الحلب الآلي وعلاقته بإنتاج اللبن النظيف (٤٨)

٥٩

الباب الرابع — التلوث من الأواني

أنواع البكتريا في الاواني الغير النظيفة (٥٩) — الاحتياطات التي تتخذ لتجنب التلوث من الاواني (٦٠) — تلوث اللبن من الباب (٦٤)

٦٧

الباب الخامس — العمليات التي تعقب الحلب وأثرها في تلوث اللبن

التصفية والتنقية (٦٧) — تبريد اللبن (٧١) — نقل اللبن (٧٥) — المباني المخصصة للعمليات التي تعقب الحلب (٧٦)

٨٠

الباب السادس — أثر التوزيع في تلوث اللبن

عوامل التلوث التي يتعرض لها اللبن في أثناء اعدادته للتوزيع (٨٠) — إمكانية التوزيع (٨٠) — معدات التوزيع (٨١) — عمال التوزيع (٨٦) — العناية باللبن في المنزل (٨٧)

٨٩

الباب السابع — القوانين والمماريات الخاصة بإنتاج اللبن النظيف ورتب اللبن

القواعد الخاصة بإنتاج الالبان (٨٩) — مماريات اللبن النظيف (٩٣) — رتب اللبن (١٠١)

١٠٧

الباب الثامن — الطرق المتبعة في حفظ اللبن — معاملة اللبن بالحرارة

التعقيم الكامل (١٠٨) الغلي (١١٠) التعقيم الجزئي بطريقة باستور (١١٢) التعقيم الجزئي بطريقة استاسانو (١٤٠) اختبارات اللبن المسخن (١٤٣)

الباب التاسع — الطرق المتبعة في حفظ اللبن — تسكيف اللبن وتخفيفه ومعالجته بالكهرباء وبعض

١٥٢

الطرق الأخرى

تسكيف اللبن (١٥٢) تخفيف اللبن (١٥٥) معاملة اللبن بالكهرباء (١٦٠) معاملة اللبن بالأشعة فوق البنفسجية (١٦١) إضافة المواد الحافظة (١٦٤)

الباب العاشر — الأمراض التي تنتقل بواسطة اللبن

الأمراض التي تنتقل من الحيوان إلى الإنسان أو الحيوان (١٧٠) السل البقري (١٧٠) الحمى المالطية (١٧٧) الإجهاض المعدى (١٧٧) الحمى القلاعية (١٧٨) الحمى الفحمية (١٧٨) التهاب الضرع (١٧٨) الأمراض التي تنتقل من الإنسان إلى إنسان آخر (١٧٩) السل الأدمى (١٧٩) حمى التيفود (١٧٩) الدفتريا (١٨٠) الحمى القرمزية (١٨١) مرض الزدر العفن (١٨١) اسهال الاطفال (١٨٢) التسمم الناشئ من اللبن ومنتجاته (١٨٣)

الجزء الثاني

الباب الحادى عشر — أنواع الميكروبات التي توجد باللبن والعوامل التي تؤثر في نموها ونشاطها

أنواع البكتريا التي توجد باللبن (١٨٦) العوامل التي تؤثر في نمو البكتريا باللبن (١٨٧) أدوار نشاط البكتريا في اللبن (١٩٣)

الباب الثانى عشر — اختيار حامض اللاكتيك

بكتريا حامض اللاكتيك (١٩٦) طائفة سترپتوكوكس لاكتيس (١٩٧) عائقة لاکتوباسيلس (١٩٩) طائفة كولاي — ايروجينيس (٢٠٣)

الباب الثالث عشر — التغيرات غير العادية التي تحدث باللبن

التغيرات التي تحدثها الميكروبات (٢٠٨) لزوجة اللبن (٢٠٨) تلون اللبن (٢١٠) انتاج الغازات باللبن (٢١٢) تخثر اللبن (٢١٣) هضم كازين اللبن (٢١٥) تغير طعم اللبن ورائحته (٢١٦) انتاج الإجهاض الطيارة والكحول باللبن (٢١٨) التغيرات الناتجة عن عوامل غير ميكروبية (٢١٩) مميزات التغيرات التي تحدثها البكتريا باللبن (٢٢١) كيفية اختيار التغيرات البكتريولوجية والوقوف علي منشأها (٢٢٢)

الباب الرابع عشر — بكتريولوجيا القشدة والزبد

القشدة (٢٢٥) اعداد القشدة لعمل الزبد (٢٢٧) الزبد (٢٤٠) عدد وأنواع الميكروبات التي يحويها الزبد (٢٤٠) مصادر تلوث الزبد بالميكروبات (٢٤٣) التغيرات التي تحدث بالزبد (٢٤٤) الوسائل المؤدية الى تفسخ قابلية الزبد للحفظ (٢٤٩) الميكروبات المرضية بالزبد (٢٥١)

الباب الخامس عشر — بكتريولوجيا الالبان المختمرة

اليوغورت (٢٥٣) لبن الاسيدوفيلس (٢٥٧) الكفير (٢٥٩) الكوميس (٢٦١) الميكروبات المرضية في الالبان المختمرة (٢٦٢)

الباب السادس عشر — بكتريولوجيا الالبان المكشفة والمجففة

الالبان المكشفة (٢٦٤) اللبن المكشوف غير المحلى (٢٦٤) اللبن المكشوف المحلى (٢٦٩) الالبان المجففة (٢٧٥) الميكروبات المرضية في الالبان المكشفة والمجففة (٢٨٠)

الباب السابع عشر — بكتريولوجيا المتلجعات اللبنية

عدد وأنواع البكتريا التي توجد بالمتلجعات (٢٨٣) مصادر تلوث المتلجعات بالبكتريا (٢٨٤) أثر العمليات المختلفة في عدد البكتريا بالمتلجعات (٢٨٧) الاحتياطات المؤدية الى انخفاض عدد البكتريا بالمتلجعات (٢٨٩) الميكروبات المرضية في المتلجعات (٢٨٩)

الباب الثامن عشر — بكتريولوجيا الجبن

انتخاب اللبن المستعمل في الصناعة (٢٩٢) انضاج اللبن (٢٩٢) التفتيح ومعاملة الحنة (٢٩٣) انضاج الجبن (٢٩٤) جبن تشدر (٢٩٦) جبن امثال (٢٩٨) جبن روكتفور (٣٠٠) جبن كاممبير (٣٠١) عيوب الجبن (٣٠٣) أثر البثرة في صناعة الجبن (٣٠٤) الميكروبات المرضية في الجبن (٣٠٥)

الجزء الثالث

- ٣٠٨ الباب التاسع عشر — أهمية الفحص البكتريولوجي ونظام معاملة
أهمية الفحص البكتريولوجي (٣٠٨) المعدات اللازمة للتحاليل البكتريولوجية (٣٠٩) كيفية اعداد
الادوات والمواد لاستعمالها في الأشغال البكتريولوجية (٣١٢) تأييد عمل التحاليل البكتريولوجية
(٣١٥) القواعد الواجب مراعاتها في معمل الفحص (٣١٦)
- ٣١٨ الباب العشرون — طرق أخذ عينات اللبن للفحص البكتريولوجي
الادوات اللازمة لأخذ العينة (٣١٨) طرق أخذ العينة (٣٢٠) تدوين البيانات الخاصة بالعينة (٣٢٣) نقل
العينات إلى المعمل وحفظها حين الفحص (٣٢٣)
- ٣٢٥ الباب الحادى والعشرون — تقدير عدد البكتريا في اللبن
طريقة الاطباء (٣٢٥) طريقة بريد (٣٤٦) طريقة فروست (٣٥٥) طريقة بورى (٣٥٦)
- ٣٥٨ الباب الثانى والعشرون — اختبارات وجود الميكروبات المسكونة لغازات في اللبن
- ٣٦٧ الباب الثالث والعشرون — اختبار اللبن بالطرق البسيطة
اختبار اختزال أزرق الميثيلين (٣٦٧) اختبار الراسب (٣٧٢) اختبار الحفظ (٣٧٦)
- ٣٨٠ الباب الرابع والعشرون — اختبارات متنوعة تستعمل لفحص اللبن في أحوال خاصة
اختبار الاختار (٣٨٠) اختبار المنفعة (٣٨١) تقدير الحموضة (٣٨٣) اختبار الغليان (٣٨٥) اختبار
الكحول (٣٨٦) اختبار الكاتالاز (٣٨٧) اختبار البروم كريسول الارجوانى (٣٨٩) اختبار وجود
البكتريا الترموفيلية (٣٩٠)
- ٣٩٣ الباب الخامس والعشرون — طرق الكشف عن الميكروبات المرضية في اللبن
الكشف عن الميكروب المسبب لالتهاب الضرع (٣٩٣) الكشف عن ميكروب السل (٣٩٤) الكشف
عن ميكروب التيفود (٣٩٧) الكشف عن ميكروب العفريا (٤٠٠) الكشف عن ميكروب الاجهاض
المعدى (٤٠١)
- ٤٠٤ الباب السادس والعشرون — طريقة تدوين النتائج ومراقبة انتاج اللبن ومعاملته بالاختبار البكتريولوجى
تدوين نتائج الفحص البكتريولوجى وإعداد التقارير (٤٠٤) مراقبة انتاج اللبن ومعاملته بالاختبار
البكتريولوجى (٤٠٧)
- ٤١١ الباب السابع والعشرون — الفحص البكتريولوجى للماء والأتانى والادوات
الفحص البكتريولوجى للماء (٤١١) الفحص البكتريولوجى للادوات والادوات (٤٢٤)
- ٤٢٧ الباب الثامن والعشرون — الفحص البكتريولوجى لمنتجات اللبن
خمس الزبد (٤٢٧) خمس الروية (٤٢٩) خمس الالبان المختمرة (٤٣٠) خمس الجبن (٤٣١) خمس المشروبات
(٤٣٣) خمس اللبن المركز (٤٣٤) خمس اللبن المجفف (٤٣٥)
- ٤٣٧ المراجع

مراقب الطبع : محمد القناوى عبد الحافظ
مساعد قسم البكتريولوجيا

تم طبع هذا الكتاب بحمد الله
مطبعة العلوم
بالقاهرة