الباب السادس عشر

بكتريولوجيا الالبان المكثفة والمجففة

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

أولا — الألبان المكثفة

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

١ — اللبن المكثف غير المحلى

لما كان هذا اللبن صالحا لنمو أصناف مختلفة من الميكروبات نظرا لاحتوائه على الماء والمواد الغذائية اللازمة لها مع خلوه من المواد الحافظة فان من أهم ما يراعى لضمان بقائه بحالة جيدة مدة طويلة تعريضه لحرارة تكفل إبادة ما يحويه من ميكروبات عقب الصنع أى تعقيمه تعقيما كاملا مع أحكام سد اوانيه بحيث لا يتعرض للتلوث عقب التعقيم ، فاذا أهمل أحد هذين الامرين أصبح اللبن المتبخر عرضه للتلف .

وقد تظهر التغيرات التى تحدث باللبن المتبخر عقب صنعه بمدة قصيرة إلا أنها فى أحيان كثيرة لا تلاحظ إلا بعد انقضاء بضعة أسابيع من وقت الصنع فيكون اللبن قد وصل حينئذ إلى الموزع أو المستهلك ، وهذا ينشأ فى الغالب عن بطء نمو الميكروبات التى قاومت حرارة التعقيم بسبب ارتفاع تركيز مواد اللبن الصلبة أو عدم ملاءمة درجات الحرارة التى حفظ عليها اللبن لنمو الميكروبات ، فاذا نقل الى مكان مرتفع الحرارة كأمكنة التوزيع أو المنازل أدى ذلك الى زيادة نشاط الميكروبات وسرعة ظهور التغير تبعا لذلك .

وأحيانا يلاحظ حدوث التغير فى جميع الصفائح التى صنعت فى نفس الدفعة وفى أحيان أخرى لايظهر الا ببعض الصفائح فقط دون البعض الاخر وغالبا تتسبب الحالة الاولى عن عدم تمام عملية التعقيم أو شدة مقاومة الميكروبات التى أحدثت التغير لتأثير الحرارة المستعملة ، أما الثانية فتنشأ فى الغالب عن عدم انتظام توزيع الحرارة فى المعقم أو عن وجود عيوب ببعض الصفائح .

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

أولا : التجبن (Curdiness)

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

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

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

ومن الانواع المسببة للتجبن البكتريا العصوية المتجرثمة الهوائية المعروفة بقدرتها على إنتاج التجبن الحلو فى اللبن السائل مثال ذلك باسلس سريس (B. cereus) التى دلت الابحاث على أنها تسبب تجبن اللبن المتبخر عند حفظه على درجة ٩٨,٦ ف بعد انقضاء وقت قصير من تعقيمه دون أن تؤثر فى درجة حموضته.

وقد عزل هامر (Hammer) ميكروبا آخر من لبن متبخر متجبن أطلق عليه اسم باسلس كواجيولانس (B. coagulans) ولاحظ أن هذا الميكروب يؤدى إلى ارتفاع الحموضة وينتج خثرة صلبة يعلوها فى الغالب قليل من الشرش ولها طعم ورائحة جبنية ، كما ظهر أنه يجبن اللبن المتبخر فى مدة ٤ — ٦ أيام عند حفظه على درجة ١٣١ ف ولكنه لا يحدث هذا التغير إلا بعد انقضاء ٩ — ١٤ يوما إذ حفظ على درجة ٩٨,٦ ف وبعد انقضاء ١٩ يوما على حرارة الحجرة .

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

وباسلس كواجيولانس كبير المقاومة لتأثير الحرارة ، فقد وجد أنه يتحمل التعرض لدرجة ٢٢٣ ف (١٠٦,١ س) لمدة دقيقتين ولكن التسخين على درجة ٢٣٤ ف (١١٢,٢ س) لمدة ٦ دقائق يضمن إبادته .

وقد وجد هامر وهاسونج (Hussong) كذلك أن تجبن اللبن المتبخر قد يعود إلى ميكروب آخر

يعرف باسم باسلس كاليدولاكتس (B. calidolactis) وهو ميكروب متجرثم يحدث التغير بسرعة على درجة حرارة تتراوح بين ١٣١ و ١٤٠ ف (٥٥ و ٦٠ س) أى أنه محب للحرارة ولذا فهو لاينمو باللبن أو يجبنه إذا حفظ على درجة ٩٨,٦ ف أو أقل .

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

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

التجبن الناتج عن الحرارة : يظهر هذا التغير فى الغالب أثناء عملية التعقيم وعادة تكون الخثرة المتكونة فى هذه الحالة لينة بحيث يكفى رج اللبن عند إدارة الصفائح بالمعقم (لغرض توزيع الحرارة عليها جميعاً بانتظام) لتكسيرها واختفائها فيبدو اللبن بعد تمام تعقيمه وتبريده متجانسا قشدى القوام ، على أنه قد لا يكون الرج السالف الذكر وافيا بالغرض وحينئذ تعامل الصفائح بعد تعقيمها فى آلة خاصة حيث ترج بشدة بعض الوقت لتكسير الخثرة ، ومع هذا فقد لا يؤدى ذلك إلى النتيجة المطلوبة إذا كانت الخثرة المتكونة صلبة ومتكتلة ، ولذا كان من الضرورى ضبط حرارة التعقيم بحيث تكفى لابادة الميكروبات دون أن ينشأ عنها خثرة مستديمة (permanent curd) ، وبالطبع ينبغى أن يقرن ذلك بمراعاة استعمال لبن طازج نظيف فى صناعة اللبن المتبخر .

وقد استنتج من الأبحاث أن العامل الرئيسى فى هذا التجبن هو ما يحويه اللبن من الأملاح ، فان هناك توازنا بين الكلسيوم والمغنسيوم من جهة والسترات والفوسفات من جهة أخرى ولذا فان زيادة أملاح أحد القسمين تؤدى إلى التجبن على حين أن توازنا مناسبا (proper balance) ينتج عنه حالة الثبات التامة تقريبا ، وقد لوحظ أنه عندما يكون تجبن اللبن المتبخر ناتجا عن اختلال توازن نسبة الأملاح التى يحويها فانه يوجد فى جميع الحالات زيادة فى الكلسيوم والمغنسيوم ، ولهذا فان إضافة سترات الصوديوم أو فوسفات ثنائى الصوديوم تؤدى إلى تحسن حالة اللبن بحيث يصبح أقل ميلا للتجبن . وقد وجد أن لعدة عوامل أخرى علاوة على العامل السابق دخلا فى تجبن اللبن المتبخر بالحرارة ومن أهمها محتويات اللبن من الالبيومين والميكروبات المكونة للرنين ودرجة حموضته ودرجة الحرارة التى يعرض لها اللبن فى التسخين الاولى الخ .

ثانيا — تكوين الغازات (Gas formation)

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

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

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

نمو الغازات الناتج عن الميكروبات : كثير من الميكروبات له القدرة على إحداث التخمر الغازى فى اللبن المتبخر وقد يكون أهمها الأنواع المتجرثمة غير الهوائية ، فهذه الأنواع كبيرة المقاومة لتأثير الحرارة ولذا فقد لا تقتل بسهولة بعملية التعقيم فضلا عن أنها كثيرة الوجود باللبن السائل حيث يتلوث بها من الغبار والتربة والأوانى غير النظيفة .

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

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

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

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

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

تكوين الفازات الناتج عن عوامل غير ميكروبية: من أهم هذه العوامل تفاعل الحامض الموجود باللبن المتبخر مع معدن الوعاء المحفوظ به بمضى الوقت ، إذ يتحد بجزء كبير من الحديد فينتج عن ذلك انفراد غاز الايدروجين ، ومما يساعد على سرعة هذا التفاعل استمرار تعرض الصفائح لحرارة مرتفعة

وقد يحدث انتفاخ الصفائح نتيجة خزن اللبن المتبخر على حرارة أقل من درجة تجمد الماء مما يتسبب عنه تجمد محتوياتها وتمددها وانتفاخ أطراف الصفائح تبعا لذلك ، على أنه متى عرضت هذه الصفائح المنتفخة لحرارة عالية عاد اللبن إلى حالته السائلة والى حجمه الاصلى ونتج عن ذلك عودة الصفائح الى شكلها الاول

هذا وقد وجد ان تعبئة اللبن المتبخر بأمكنة واقعة بالقرب من مستوى البحر ثم نقله إلى جهات مرتفعة يؤدى الى انتفاخ الصفائح كذلك ، ويعظم أثر هذا العامل اذا عبىء اللبن باردا فى الصفائح ، ويحدث الانتفاخ فى هذه الحالة نتيجة لزيادة الضغط فى داخل الصفائح عن الضغط الجوى المحيط بها فى الامكنة المرتفعة التى نقلت اليها ، ويمكن تلافى هذا العيب بتعبئة اللبن المتبخر دافئاً .

ثالثا — المرارة (Bitterness)

لا يلاحظ هذا التغير بكثرة فى اللبن المتبخر بدرجة التغيرين السابقين ، وهو يصحب عادة التجبن ، ذلك لان معظم الميكروبات التى تجبن اللبن تجبنا حلواً تهضم الخثرة فيما بعد مع تكون متحصلات مرة المذاق .

ولقد أجرى عده باحثين تجاربا على منشأ الطعم المر فى اللبن المتبخر فعزل هنزيكر وريت (Hunziker & Wright) ميكروبا عصويا قصيرا غير متجرثم هوائى اختياراً يكون خثرة صلبة فى مدى ٥ — ٧ أيام ذات طعم مر شديد وحرارته المثلى ٩٠ ف ويقتل بالتعرض لدرجة ٢١٢ ف لمدة ٤ ساعة . كما عزل هامر ميكروبا عصوى الشكل اطلق عليه اسم باسلس أمارس (Bac. amarus) وعند تلقيحه فى لبن متبخر جيد وحفظه على درجة ٩٨,٦ ف نتج عن ذلك ارتفاع طفيف فى الحموضة ومرارة فى الطعم ثم تكونت خثرة صلبة بعد انقضاء بعض الوقت .

وقد عزل باحثون آخرون ميكروباً متجرثما كبير المقاومة للحرارة يسبب مرارة اللبن المتبخر واثبتوا أن هذا الميكروب يحلل البروتين وينتج مقادير كبيرة من البيتون والمركبات الأزوتية الأخرى ونسبوا الطعم المر رئيسيا الى هذه المتحصلات .

ويرجع السبب فى ظهور هذا العيب غالبا الى انخفاض حرارة التعقيم وقد أمكن تلافيه فى بعض الاحوال برفع هذة الحرارة إلى درجة ٢٣٦ ف ومراعاة انتظام توزيع الحرارة اثناء التعقيم

رابعا — طعم السمك (Fishiness):

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

وقد لاحظ بالصفائح التى تنتج بها التغير ظهور غاز قليل وكتل صغيرة من الخثرة وارتفاع طفيف فى حموضة اللبن ، كما شاهد أن التغير يحدث بسرعة أكبر على درجة حرارة الحجرة منه على درجة ٩٨,٦ ف .

وقد أطلق هامر على هذا الميكروب اسم باسلس ائيوسميس وقد سبقت الاشارة اليه فى الكلام عن التغيرات التى تحدث بالزبد ، وهو وثيق الارتباط بطائفة بروتيس وشكله عصوى وغير متجرثم ويذيب الجيلاتين ويهضم الكازين ، ويقتل بسهولة بالحرارة ولذلك فالمظنون ان التغير المذكور يحدث نتيجة تلوث الصفائح عقب التعقيم .

***

ويفتج باللبن المتبخر أحيانا بعض العيوب المسببة عن عوامل غير ميكروبية وتعتبر أقل أهمية من السابقة ومنها تغير اللون وتحوله الى البنى وهذا يعود رئيسيا الى طريقة التعقيم أو الى اضافة بيكربونات الصوديوم أو الى ارتفاع حرارة الحفظ ، وقد وجد أن لطول مدة تسخين اللبن أثراً فى ظهور هذا التغير يفوق أثر تعرضه للحرارة العالية ، ولذا يفضل دائما لتجنب ظهور هذا التغير تعقيم اللبن المتبخر بتعريضه لحرارة عالية لمدة وجيزة على تسخينه مدة طويلة على حرارة منخفضة ، وكذلك حفظ اللبن على حرارة أقل من ٤٥ ف

ومن أمثلة هذه التغيرات ظهور راسب فى قاع الاوعية بطول مدة الحفظ وهذا الراسب يحتوى على مواد محببة بيضاء اللون غير ذائبة ، وهى عبارة عن أملاح الكلسيوم والمغنسيوم ، والظاهر أن السبب الرئيسى فى ظهور هذا التغير يعود إلى أثر عملية التعقيم فى اللبن ، فكلما ارتفعت حرارة التعقيم وطالت مدته كلما ازداد تكون الراسب وخاصة إذا كان تركيز اللبن عاليا ، كما لوحظ أن لحرارة الحفظ أثرا فى تكون الراسب كذلك فقد وجد أنه لم يتكون فى خلال أربعة أشهر عند حفظ اللبن على درجة ٤٥ ف بيد أنه تكون بكمية كبيرة فى مدى شهر واحد عند الحفظ على درجة ٨٥ ف ، وهذا يرجع غالبا الى أن سترات الكلسيوم أكثر قابلية للاذابة على حرارة منخفضة وتقل هذه القابلية تدريجا بارتفاع الحرارة .

٢ — اللبن المكثف المحلى

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

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

أولا — تكون الغازات

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

ويتسبب إنتاج الغازات غالبا من عمل ميكروبات خاصة ولو أن انتفاخ الصفائح قد يحدث أحيانا من عوامل غير ميكروبية وسنصف أولا هذه الميكروبات ثم نشير الى العوامل المذكورة فى ظهور هذا التغير

تكون الغازات بواسطة الميكروبات : دلت الابحاث على أن هذا التغير ينشأ فى أغلب الأحوال عن نمو ونشاط خمائر خاصة مخمرة للسكروز ، وقد أطلق هامر على إحدى هذه الخمائر اسم توريولا لاكتس كوندنسى (torula lactis condensi)

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

ويحدث التلوث بالخمائر بسبب قلة العناية بانتاج اللبن الخام المستعمل فى الصناعة أو عدم نقاوة السكروز المضاف أو تلوث الاجهزة والمعدات الاخرى أو تعرض اللبن المكثف مدة طويلة للهواء أثناء التبريد .

ويكثر ظهور التغير فى زمن الصيف إذ يزداد التلوث كما تساعد حرارة الطقس المرتفعة وقتئذ هذه الميكروبات على النمو .

وبما أن الخمائر السالفة الذكر غير مقاومة لتأثير الحرارة فان وجودها باللبن المكثف المحلى غالبا ما يعزى إلى اجراء التسخين الاولى على حرارة منخفضة أو لمدة قصيرة أو الى التلوث الشديد كذلك عقب التكثيف أو الى تعبئة اللبن فى أوعية غير تامه النظافة والتعقيم أو غير محكمة السد أى ذات أغطية منفذة للهواء .

وقد وجد بعض الباحثين ميكروبا ينسب الى طائفة كولاى ايروجنيس له القدرة على إنتاج الغاز فى اللبن المكثف المحلى المحتوى على ٤٠ — ٤٥ ٪ من السكروز وعزوا انتقاله الى اللبن الى التلوث بواسطة الذباب فى الفترة بين خروج اللبن من المكثف ودخوله آلة التعبئة .

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

الانتفاخ الناتج عن عوامل غير ميكروبية : قد يحدث انتفاخ الصفائح نتيجة لتعرض اللبن المكشف المحلى لحرارة منخفضة ومرتفعة على التوالى فى أوعية غير محكمة الاقفال مما يتسبب عنه انكماشه (Contraction) وتمدده (expantion) ، فاذا عبىء اللبن المكشف على درجة ٧٠ ف كما هو المعتاد وعرضت الصفائح بعد قفلها لحرارة شديدة الانخفاض عند خزنه أو نقله كما هو الحال فى البلدان الباردة فان التفريغ الجزئى الذى يحدث داخلها نتيجة انكماش اللبن والهواء اللذين تحويهما ينشأ عنه سحب الهواء إلى داخلها ويعظم هذا الانكماش بالنسبة لان اللبن المكشف المحلى لا يتجمد (freeze) ، فاذا عرضت الصفائح فيما بعد لحرارة مرتفعة تمدد اللبن والهواء وانتفخت أطراف الصفائح تبعاً لذلك .

ولتلافى هذا العيب يحتاط من تعرض الصفائح لحرارة شديدة الانخفاض وتستعمل أوعية ملحومة جيداً بلحام كالقصدير .

ثانيا — القوام السميك (Thickening)

قد ينشأ هذا العيب كذلك أما عن عمل الميكروبات أو عن عوامل غير ميكروبية أو عن السببين معاً ، وهو من العيوب التى تزداد بمرور الوقت وخاصة عند حفظ اللبن على درجة حرارة مرتفعة نوعا إذ يظهر فى الدرجات الأولى باجزاء من اللبن ثم ينتشر فى بقية اللبن جميعه فيما بعد

القوام السميك الناتج عن الميكروبات : يصحب التغير فى هذه الحالة عادة ظهور طعم ورائحه غير مقبولين كثيرا ما تشبه طعم ورائحة الجبن وعند فحص اللبن يوجد أنه يحتوى على عدد كبير نسبيا من البكتريا ، كما أنه إذا خفف بالماء وسخن تنفصل الخثرة .

وقد دلت أبحاث ريس ودونز (Rice & Downs) على ان هذا العيب يتسبب عن ميكروب كروى امكنهما عزله من جميع العينات المتغيرة تقريبا ووجدا أن لهذا الميكروب القدرة على تحويل (inverting) وهدم السكروز وانتاج حامض ، كما له القدرة على النمو فى محلول من السكر المذكور ذى تركيز عال ، وانه يفضل النمو على درجات حرارة أكثر ارتفاعا من الدرجات العادية .

ولما كان الميكروب المذكور غير مقاوم لتأثير الحرارة ويقتل بسهولة على حرارة التسخين الأولى فانه يرجح تلوث اللبن به فى المصنع بعد التكشيف وخاصة من احواض التبريد .

على ان دونز عزل فيما بعد صنفين من الميكروكوكس يسببان القوام السميك وعزى قدرتهما على احداث هذا التغير الى أنتاج انزيم شبيه بالرينين بدليل تجبن اللبن اللتمسى تجبنا حلوا عند تلقيحه بهما .

ولتلافى هذا العيب تراعى الاحتياطات الآتية :

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

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

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

حـ — حفظ اللبن المكثف على درجات حرارة منخفضة

القوام السميك الناتج عن عوامل غير ميكروبية : يميز هذا التغير بأنه لايصحب بارتفاع فى الحموضة ولا بطعم غير مقبول كما يحدث أحياناً فى حالة التغير البكتريولوجى ، والمعتقد أنه يرجع الى تغيرات فى البناء الغروى (Colloidal structure) لبروتين اللبن ، على ن التفاعلات التى ينتج عنها التغير غير معروفة على وجه التحقيق ولو أنه ثبت أن لعوامل متعددة أثراً فى حدوثه ، وقد تكون أهم هذه العوامل درجة حرارة الحفظ وطول مدته ، وكذلك درجة الحرارة التى يعرض لها اللبن فى التسخين المبدئى ، فقد وجد انه لايحدث اذا حفظ اللبن على درجة أقل من ٤٥ ف وأنه كلما ارتفعت حرارة الحفظ زاد احتمال ظهوره فإذا حفظ مثلا على درجات بين ٩٠ و ١٠٠ ف يسمك قوامه فى مدى ثلاثين يوما . أما من حيث تأثير التسخين فقد اتضح أن تسخين اللبن إلى حرارة تنقص قليلا عن درجة الغليان يسرع حدوث هذا العيب على حين أن التسخين على حرارة أعلى من درجة الغليان يبطىء سرعة حدوثه .

مما تقدم يتضح أن أفضل الوسائل لتلافى هذا العيب حفظ اللبن المكثف على حرارة أقل من ٤٥ ف وكذلك إجراء التسخين الأولى إما على درجات ٢٣٥ — ٢٤٥ ف أى أعلى من درجة الغليان أو على درجات ١٧٦ — ١٧٠ ف لمدة ١٠ — ١٥ دقيقة ، والدرجات الأخيرة كافية لتلف الانزيمات وقتل البكتريا التى تؤثر فى قابلية الحفظ وعلى الأخص إذ أجرى التسخين قبل إضافة السكروز .

ويتوقف ظهور هذا العيب كذلك على بضعة عوامل أخرى منها درجة تركيز السكروز وتوازن الأملاح المعدنية ودرجة حموضة اللبن الخ .

ثامنا — التكتل (Lumpiness)

يوجد أحيانا باللبن المكثف المحلى عند فتح الصفائح كتل ذات أحجام مختلفة ، وهذه قد تكون قليلة أو كثيرة ، لينة أو صلبة ، بيضاء أو صفراء ، وقد يعود تكونها إلى عدة أسباب من أهمها رداءة اللبن الخام المستعمل فى الصناعة ، وعدم نظافة الآلات التى يعامل فيها اللبن أو الأنابيب التى يمر بها ، واستعمال ألبان الماشية بعد الولادة بزمن قصير ، كما قد يعزى إلى تلوث الأوعية التى يعبأ فيها اللبن المكثف .

فاحتواء اللبن الخام مثلا على حموضة عالية يؤدى إلى ظهور هذا العيب ولذلك فان التشديد فى مراقبة اللبن الوارد إلى المصنع يساعد على تلافيه كما أن ملاحظة نظافة الأحواض والأنابيب والمضخات والمبردات وآلات التعبئة من أهم وسائل التغلب عليه .

أما من حيث استعمال ألبان ماشية وضعت حديثا وأثر ذلك فى التكتل فانه نظراً لاحتوائها على السرسوب أولارتفاع محتوياتها من الألبيومين واللاكتوجلوبيولين وهى مواد حساسة للحرارة فانها تتجبن بسهولة عند ملامستها فى حالة تركزها للسطوح الساخنة فى المكثف فتتكون على الأنابيب الحلزونية طبقة جيلاتينية سميكة بها تكتل . ويظهر العيب المسبب عن هذا العامل غالبا فى الصفائح التى عبئت فى نهاية مدة إدارة الجهاز أى بعد سحب معظم اللبن المكثف الموجود به .

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

رابعا — تكوين الأزرار (Button Formation)

تتكون على سطح اللبن المكثف المحلى فى بعض الأحيان أجسام تشبه الازرار مختلفة الاحجام ، وهذه يمكن رفعها بسهولة أى أنها غير ملتصقة باللبن وتتكون ببطء .

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

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

وقد اتضح من الأبحاث كذلك أن المدة اللازمة لتكون الأزرار تختلف باختلاف درجة الحرارة المحفوظ عليها اللبن وكمية الهواء الموجودة بالوعاء وربما بعض العوامل الأخرى ، على أنه فى المعتاد تظهر مجموعة الفطر بعد انقضاء ٥ — ١٠ أيام من صنع اللبن ويحتمل أن يقف نمو الفطر بعد انقضاء أسبوعين أو ثلاثة نظرا لاستنفاد الأكسجين ، ويظهر لون بنى محمر فى مدة شهر وأخيرا تأخذ الأزرار شكلها المميز عادة بعد انقضاء شهرين .

وأهم الوسائل لتلافى ظهور الأزرار هى الآتية : —

١ — وقاية اللبن من التلوث : لما كانت الحرارة التى يعرض لها اللبن فى عملية التسخين الأولى وعملية التكثيف تكفى لقتل جراثيم الفطر المكون للأزرار إذا وجدت باللبن الخام المستعمل فان وجودها باللبن المكثف يؤدى إلى التلوث عقب الصناعة ، ويحدث التلوث غالبا فى أثناء التبريد وفى الفترة التى تمضى بين التبريد والتعبئة وكذلك نتيجة تلوث الصفائح والبراميل المستعملة فى التعبئة ، لهذا كان من الضرورى الاحتياط

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

ب — الحفظ على حرارة منخفضة : يبطؤ نمو الفطريات على وجه العموم على درجات الحرارة المنخفضة ، ولهذا فقد لاحظ بعض الباحثين أن الأزرار لاتظهر فى اللبن المكشف المحفوظ على درجة ٦٨ف أو أقل ، على أنه لضمان عدم تكوينها تحت الظروف التجارية ينبغى حفظ اللبن المكشف على درجة ٥٠ف أو أقل .

ح — اخراج الأكسجين : لاتنمو الفطريات المسببة للأزرار فى غياب الأكسجين فهو ضرورى لمعيشتها ونموها ، لذلك فقد وجد أن قفل الصفائح تحت ضغط مخفف قدره ٢٠ بوصة أو أكثر يمنع ظهور العيب فى اللبن المكشف الملوث بجراثيم الفطريات المذكورة .

خامسا : التزنخ

لايعتبر التزنخ من التغيرات الشائعة فى اللبن المكشف المحلى ، ولكنه إذا حدث جعل هذا اللبن غير صالح للاستعمال كغذاء ، وهو من التغيرات التى تزداد وضوحا بمضى الوقت .

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

ومن المحتمل أن يكون استعمال الماء غير النقى المستمد من مصادر مشكوك فيها فى غسل الأنابيب أو الصفائح أو الأجهزة الخ من العوامل التى تؤدى إلى انتقال الميكروبات المسببة للتزنخ — وخاصة بكتريوم فلورسنس — إلى اللبن المكشف وحدوث هذا التغير به .

ولما كان اللبن الخام يحتوى على أنزيم الليباز فانه إذا لم تكن حرارة التسخين الأولى التى يعرض لها اللبن كافية لاتلاف الانزيم المذكور لأدى ذلك إلى ظهور التزنخ باللبن المكشف ، ومما يعزز ذلك ما وجد من أن إضافة مقدار قليل من اللبن الخام لا يتجاوز ٠,٧٥ ٪ إلى اللبن المكشف الجيد الصنع كافية لاحداث التزنخ .

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

ا — تجنب تلوث اللبن المكشف بلبن خام أى غير مسخن .

ب — رفع حرارة التسخين الأولى بحيث تكفى لإتلاف أنزيم الليباز ، وقد وجد أن حرارة ١٦٧ — ١٧٠ ف لمدة ١٠ دقائق تكفى لهذا الغرض فى حالة عدم احتواء اللبن الخام على سكروز .

سادسا : التشحم

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

ويتتج التشحم كما سبق القول عن تأثير الاكسجين فى دهن اللبن ، ويسرع التفاعل فى وجود الضوء وخاصة ضوة الشمس المباشر وكذلك فى وجود مقدار قليل من النحاس ومن أهم الدلائل على أن التشحم إنما يعزى إلى تفاعل كيماوى وليس إلى عمل ميكروبى أو أنزيم ما يأتى : —

١ — أنه لا يمنع بالتعقيم أو باستعمال المطهرات القوية

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

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

ومن أهم الاحتياطات التى تتخذ لتلافى هذا العيب ما يأتى :

ا — اجتناب تعرض اللبن المكشف للهواء مدة طويلة قبل التعبئة ، وكذلك تقليل كمية الهواء بالصفائح بملئها ملئا تاما بقدر الامكان .

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

* * *

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

ثانيا — الالبان المجففة

يتوقف نجاح صناعة الألبان المجففة على بقائها بحالة جيدة دون أن يتطرق اليها الفساد فى زمن وجيز ، لذا سنأتى هنا على ما يعتريها من عيوب ونشرح أهم العوامل التى تؤدى إلى سرعة تلفها فى أثناء الخزن .

لما كان مسحوق اللبن الجيد الصنع الذى اتخذت الحيطة الكافية لمنع تلوثه بالميكروبات عقب التجفيف لا يحتوى إلا على عدد يسير من البكتريا ، ولما كان مثل هذا المسحوق لا يشتمل إلا على نسبة مئوية ضئيلة من الرطوبة لا تسمح بتكاثر البكتريا التى يحويها على قلتها ، فانه لو حفظ فى أوعية مناسبة وعلى درجة حرارة منخفضة لا يكون عرضة للتلف بفعل الميكروبات ، كما ظهر لبعض الباحثين أن وجود عدد كبير من البكتريا فى اللبن المجفف لا يحدث تأثيراً محسوساً فى قابليته للحفظ إذا كانت نسبة ما يحويه من رطوبة منخفضة على أنه من جهة أخرى إذا ما احتوى المسحوق على نسبة عالية من الماء أو عرض للرطوبة كان ذلك مدعاة

نمو الميكروبات وتكاثرها فيه ونشأ عن ذلك انحلاله وسرعة تلفه ، كما وأن البكتريا قد تؤثر أحيانا فى المسحوق بطرق غير مباشرة وذلك باحداث تغيرات كيماوية فى اللبن الخام قبل تجفيفه مثل تكون حموضة وإنتاج انزيمات الخ مما يضر بنوع اللبن المجفف الناتج .

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

نوع اللبن الخام — درجة حموضته — كيفية معاملته قبل وفى أثناء التجفيف - نسبة الرطوبة والدهن فى اللبن المجفف — وجود أنزيم الليباز والعوامل المعدنية المساعدة فيه — حجم وتركيب ذرات المسحوق — مقدار تعرضه للحرارة والرطوبة والهواء والضوء عقب التجفيف وفى أثناء الخزن — إضافة السكروز اليه — ونوع الوعاء الذى يحفظ فيه .

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

أولا — التزنخ : ينشأ التزنخ كما كررنا من قبل عن التحلل المائى للدهن الذى ينتج عنه انفراد أحماض دهنية طيارة من أهمها حامض البيوتريك ، ويتسبب التزنخ من عمل أنزيم الليباز الذى تكونه على الأغلب أنواع البكتريا والفطر التى توجد باللبن ، ولذا فان وقاية اللبن الأصلى من التلوث بالبكتريا قبل تجفيفه مهم جداً لتلافى حدوث هذا العيب .

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

ثانيا — التشحم : وهو أهم التغيرات التى تحدث فى اللبن المجفف الكامل الدهن بطول مدة الحفظ ، ويشبه المسحوق عند حدوث هذا التغير من حيث الطعم والرائحة الشحم الفاسد ، وينشأ التشحم عن أكسدة الدهن بخلاف الزناخة التى تتسبب كما ذكرنا من التحلل المائى للدهن ، ويصحب التشحم عادة بياض لون الدهن وتتأثر سرعة الأكسدة بجملة عوامل ، أهمها الهواء ، والحرارة ، والرطوبة ، والضوء ، والحموضة ، ونسبة الدهن ، والعوامل المعدنية المساعدة ، والتكثيف المبدئى ، والتجنيس ، والتنظيف ، وإضافة السكروز ، والأوعية التى يحفظ فيها المسحوق ، وسنلخص فيما يلى تأثير كل من هذه العوامل .

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

وقد دلت التجارب على أن المسحوق المصنوع بطريقة الاسطوانات لاتحتوى ذراته على فجوات هوائية ولهذا السبب يشاهد أنه أقل تعرضا للأكسدة والتشحم من المسحوق المصنوع بطريقة الرشاش

كما ان الابحاث قد اثبتت من مقارنة المساحيق المصنوعة بطريقة الرشاش ان فجوات الهواء أكبر حجما فى ذرات الأنواع التى أجرى فيها ذر اللبن بالطرد المركزى منها فى الأنواع التى استعمل فيها الضغط، ولهذا السبب تعزى قلة جوده الأنواع الأولى إذا قورنت بالأخيرة

وقد وجد زيادة على ماتقدم أن لتكثيف اللبن قبل تجفيفه علاقة وثيقة بحجم الفجوات الهوائية التى تضمها ذرات المسحوق ، فهى أصغر حجما فى مسحوق اللبن المكثف ولذا فانه أقل عرضة للتلف الناشىء عن الأكسدة من مسحوق اللبن غير المكثف

ومما يساعد كثيرا فى منع حدوث التشحم إزالة الهواء من الاوعيه التى يحفظ فيها المسحوق وقت تعبئته واستبداله بغاز مثل الأزوت أو الايدروجين أو ثانى أكسيد الكربون ، وقد ظهر ان ذلك يبطىء عملية الأكسدة ويقلل من حدوث التشحم ، وقد يكون أقل هذه الغازات فعلا ثانى أوكسيد الكربون وأعظمها أثراً الأزوت

ولايغرب عن الذهن إن اجراء التعبئة مع وجود أحد هذه الغازات ليس من شأنه أن يمنع تأثير الأكسجين المحصور فى الفجوات الهوائية داخل ذرات المسحوق المصنوع بطريقة الرشاش

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

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

فهرنهيت ، وقد اتضح من التجارب أيضا أنه ليس للحرارة أثر كبير فى إحداث التشحم عندما يحفظ المسحوق فى أوعية محكمة تمنع تسرب الهواء اليه .

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

(٣) أثر الرطوبة فى التشحم . فى حين أن ارتفاع نسبة الرطوبة فى المسحوق تؤدى إلى انخفاض قابليته للاذابة إذ لها تأثير عكسى على التشحم لأنها تبطىء أكسده الدهن ، ومن ثم فان المساحيق الكبيرة الجفاف سواء أكانت مصنوعة بطريقة الاسطوانات أم بطريقة الرشاش ، يظهر بها التشحم بدرجة وسرعة أكبر من المحتوية على نسبة عادية أو مرتفعة من الرطوبة

على أنه قد ظهر من بعض التجارب أن الأكسدة تسير فى المسحوق المحتوى على درجة منخفضة من الرطوبة بنفس السرعة تقريبا التى تسير بها فى المحتوى على نسبة مرتفعة ، غير أن ارتفاع نسبة الرطوبة فى النوع الأخير يحجب الطعم الشحمى وتجعله غير محسوس .

وقد ثبت من بعض التجارب الأخرى الدقيقة التى أجريت على مدى علاقة الرطوبة بحدوث التشحم أن لنسبة الرطوبه فى المسحوق درجة مثلى لمنع التشحم ، وهى حوالى نسبة ٢ ٪ للمسحوق المصنوع بطريقة الاسطوانات و٣ ٪ للمصنوع بطريقة الرشاش ، فان انخفضت أو ارتفعت النسبة عن ذلك ازداد حدوث التشحم

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

للأسباب المتقدمة كان من أهم مايجب ان يراعى لجودة حفظ منتجات الألبان التى تحتوى على دهن خزنها فى جو مظلم ، ولبلوغ هذه الغاية ينبغى عدم ترك اللبن المجفف الكامل الدهن معرضا للضوء طويلا قبل تعبئته ثم حفظه أما فى براميل مغطاة جيدا أو فى صفائح محكمة السد ، أما إذا حفظ فى أوعية زجاجية فيجب ان تكون ذات لون يمنع نفوذ الأشعة الفوق البنفسجية

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

السائل غير طازج ولم تتخذ الحيطة الكافية لمنع تلوثه بالبكتريا ، وعرض لحرارة عالية تلائم زيادة نشاطها مما ينشأ عنه زيادة حموضته تأكسد المسحوق الناتج بسهولة عادة وظهر فيه الطعم الشحمى بسرعة

وقد دلت التجارب على أن للاحماض الدهنية أهمية خاصة فى مقدار تعرض الدهن للاكسدة ، إذ ظهر أن غسل الدهن والتقطير بالبخار من شأنه أن يبطىء هذه العملية كما وجد أن الطريقة المتبعة فى التجفيف قد تؤدى إلى إزالة الاحماض من اللبن ، فالحرارة العالية التى يعرض لها اللبن فى طريقة الاسطوانات وملامسته للسطوح المعدنية المرتفعة الحرارة من شأنها أن تزيل الاحماض بدرجة أعلى من طريقة الرشاش التى لا يلامس فيها اللبن سطوحا معدنية ساخنة ، وحيث لا يعرض إلا لدرجة حرارة منخفضة نسبياً ، وفى الواقع يلاحظ كل من مارس عملية تجفيف الالبان أو اتجر بها أن التشحم لا يظهر فى المساحيق المصنوعة بطريقة الاسطوانات بالسرعة التى يظهر بها فى الانواع المصنوعة بطريقة الرشاش

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

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

ومما تقدم تتضح أهمية العناية بانتخاب المعادن المصنوعة منها سطوح الاجهزة المستعملة فى معاملة اللبن قبل عملية التجفيف ، فما لاشك فيه أن العوامل المعدنية المساعدة مثل النحاس والحديد التى تذوب بكميات قليلة من سطوح المسخن المبدئى وأحواض التعقيم الجزئى والمكثف والمواسير التى يمر فيها اللبن والمبرد ، تسبب سرعة أكسدة الدهن وظهور التشحم .

obeikandl.com

ثالثاً ـ فساد الطعم والرائحة : يظهر أحيانا فى اللبن المجفف عند استعماله تغيرات غريبة فى الطعم والرائحة غير الزناخة والتشحم تدل على قدم المسحوق وطول مدة خزنه.

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

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

ولما كان للبن المجفف خاصية امتصاص الرطوبة من الهواء (hygroscopic) فان أفضل الوسائل لمنع ظهور هذه العيوب بالمسحوق هى وقايته من الرطوبة والهواء فى أثناء الحفظ ، وذلك بأحكام سد الأوعية بعد تعبئتها وحفظها على درجة حرارة مناسبة لا هى بالمرتفعة ولا بالمنخفضة جدا أى حوالى ٣٥ - ٤٥ فهرنهيت ، على أنه لو أجريت تعبئة المسحوق فى حالة عدم وجود الهواء أى اذا أجرى تفريغ الهواء من الأوعية التى يعبأ فيها أو استبدل بغاز الأزوت أو الايدروجين ، فان ذلك يقلل من تأثير حرارة الحفظ المرتفعة .

وقد ظهر كذلك أن اضافة السكروز الى المسحوق ، يجعله أقل قابلية لامتصاص الرطوبة من الهواء إذا قورن بالمسحوق العادى ، ويساعد على منع ظهور التغيرات الغريبة فى الطعم والرائحة وتحول المسحوق إلى كتل وتصلبه .

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

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

الميكروبات المرضية فى الألبان المكثفة والمجففة

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

على أنه لا يعرف على وجه التحقيق مدى تأثير التركيز العالى للسكروز فى الميكروبات المرضية فى حالة احتواء اللبن المكثف المحلى عليها إذ لم تجر أبحاث مستفيضة عن هذا الموضوع .

وغنى عن القول أن مراعاة نقاوة اللبن الخام المستعمل فى صناعة هذه الألبان يكفل إلى حد ما خلوها من ميكروبات الأمراض ، كما أن وقايتها من التلوث بالغبار والذباب والعوامل الأخرى بعد فتح أوعيتها يساعد على درء خطر وصول هذه الميكروبات إليها .

أما من حيث الألبان المجففة فقد سبق أن أشرنا إلى أن المصنوع منها بطريقة الرشاش لا يضمن خلوه من الميكروبات المرضية إلا إذا أجريت بسترة اللبن الخام المستعمل فى صناعته ، ولكن المحضر بطريقة الاسطوانات المكشوفة يعتبر خاليا منها نظراً للحرارة العالية التى يعرض لها .

وللعناية بانتخاب اللبن الخام ومراعاة نظافة ووقاية المسحوق من التلوث عقب الصنع أهمية فى هذه الحالة تعادل أهمية العناية بهذا الأمر فى حالة الالبان المكثفة ، وجدير بالذكر هنا كذلك أنه لم تجر أبحاث دقيقة على مدى معيشة الميكروبات المرضية التى قد توجد بالالبان المجففة .

الباب السابع عشر

بكتريولوجيا المثلجات اللبنية

يمكن تعريف المثلجات اللبنية عموما بأنها لبن أو قشدة أضيفت إليها بعض مواد خاصة كالسكر والجيلاتين والبيض والفاكهة ثم جمدت بالتبريد ، وهى ذات قيمة غذائية عالية فضلا عن تأثيرها المرطب ، إلا أنها من جهة أخرى قد تكون وسيلة لنقل بعض الامراض الخطرة وخاصة فى زمن الصيف حيث يزداد التلوث بالذباب والغبار وغيرهما وتقل مقاومة الاطفال الذين يكثر تغذيتهم بها للأمراض .

وبما أن اللبن والقشدة هما العنصران الرئيسيان اللذان يدخلان فى صنع معظم أصناف المثلجات ، وأهميتهما فى نشر الأمراض معروفة ، لذا فمن الضرورى اتخاذ أوفى الاحتياطات فى صنع هذه المنتجات وتداولها وقاية لمستهلكيها من خطر الأضرار التى قد تنشأ عنها .

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

عدد وأنواع البكتريا التى توجد بالمثلجات

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

ويستدل من الابحاث التى أجريت على الميكروبات التى توجد بالمثلجات على أنها من أنواع متباينة نظرا لتعدد المصادر التى تنتقل منها ، فقد وجد ييل وهيكى (Yale & Hickey) من بحث حديث أجرياه على عدد كبير من عينات المثلجات واختبرا فيه ١٣٠ مجموعة من التى ظهرت على الاطباق فى لبن لتمسى حفظ

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

أنواع منتجة للحامض ولا تجبن اللبن	٥٦
« « « تجبن اللبن	١٣
« « « « « وتحل البروتين	١٥
« تغير تأثير اللبن الى القلوية وتحل البروتين	١٨
« « « « « « ولا تجبن اللبن	٢٠
« عديمة التأثير	٨
	١٢٠

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

مصادر تلوث المثلجات بالبكتريا

يقسم تلوث المثلجات بالبكتريا الى قسمين رئيسيين : أولهما — التلوث الناتج عن المواد المستعملة فى صنعها ، وثانيهما — التلوث الحادث أثناء الصناعة والتداول ، وسنشرح فيما يلى كلا منهما وطرق تلافيه :

أولا — التلوث من المواد المستعملة فى الصناعة :

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

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

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

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

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

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

وتجدر الاشارة إلى أن الحرارة التى يعرض لها الجيلاتين عادة عند اذابته تؤدى الى قتل عدد كبير من البكتريا التى يحويها ، وهذا العامل مضاف إلى صغر الكمية التى يستعمل بها فى صناعة المثلجات يقللان من أهميته كمصدر لتلوث المثلجات بالبكتريا

وزيادة فى الاحتياط من تلوث المثلجات من هذا المصدر يراعى حفظ الجيلاتين جافا وصيانته من الغبار والاوساخ وعدم تعرضه مطلقا للرطوبة فان ذلك مما يزيد من محتوياته البكتيرية

٣ — السكر : يستعمل السكر لتحلية المثلجات ، وهو لا يعتبر من مصادر التلوث الهامة نظراً لانخفاض محتوياته من البكتريا فقد أظهرت التجارب أن ما يحويه يتراوح غالبا بين ٢٠ و ٢٤٠ بكتريا فى الجرام الواحد ، والسكر كالجيلاتين تنبغى وقايته من الرطوبة والغبار والاوساخ .

٤ — الفانيليا . من أكثر المواد المكسبة للنكهة والرائحة استعمالا فى صناعة المثلجات . وهى كذلك قليلة الاهمية كمصدر للتلوث بالنسبة لقلة ما تحويه من بكتريا ولصغر الكمية التى تستعمل منها .

٥ — الفاكهة : تستعمل الفاكهة اما طازجة أو محفوظة لكى تكسب المثلجات طعما مرغوبا فيه ويؤدى استعمال الاولى فى المعتاد الى تلوث المثلجات بعدد كبير من البكتريا وخاصة إذا قلت العناية بتنظيفها ، كما قد يؤدى استعمال الثانية إلى نفس النتيجة إذا بقيت أوعيتها مفتوحة مدة من الزمن ، ويكثر التلوث من هذا المصدر غالبا بالخمائر والفطريات .

ثانيا : التلوث أثناء الصناعة والتداول :

أهم العوامل التى يتسبب عنها تلوث المثلجات أثناء الصناعة والتداول هى الأوانى والاجهزة والعمال والهواء وسنشرح أثر كل منها فيما يلى:

١) الأوانى والأجهزة : لايقل خطر تلوث المثلجات من الاوعية المستعملة فى صنعها كالصفائح والاحواض الخ عن خطر تلوث اللبن من الاوانى المستعملة فى انتاجه ونقله فجميعها قد تؤدى الى ازدياد عدد البكتريا الى حد كبير اذا لم تراع العناية التامة بغسلها وتعقيمها عقب الاستعمال ووقايتها من التلوث على الدوام

وتعتبر آلتا التجنيس والتجميد من أهم مصادر التلوث وخاصة ثانيتهما نظرا لتعقد تركيبهما ، وتقدر مدى نظافة هاتين الالتين فى المعتاد بامرار مقدار معين من الماء المعقم فى الأولى أووضعه فى ثانيتهما وادارته مدة تعادل مدة التشغيل ، ثم احصاء عدد مايحويه هذا الماء من ميكروبات ، وقد أظهرت التجارب انه فى حالة مجرد غسل الالتين دون تعقيمهما بالبخار تكون نسبة مايحويانه من البكتريا عالية مما يؤدى الى شدة تلوث المزيج الذى يعامل فيهما بخلاف الحال اذا ماعقمتا بالبخار ، فقد وجدفاى (Fay) مثلا ان مزيجا قدر فيه عدد البكتريا بـ ٢٦٠٠٠ فى الجرام الواحد بطريقة الاطباق قبل وضعه فى آلة التجميد ارتفع فيه العدد الى ٦٢٥٠٠٠ فى مقدار مماثل بعد تمام عملية التجميد ، وقد عزيت هذه الزيادة جزئيا الى تفكك الكتل البكتيرية ولكن أغلبها يعود على الارجح الى عدم تمام نظافة وتعقيم الالة المذكورة

وقد يكون المجنس أهم الآلات المستخدمة فى صنع المثلجات أثراً فى التلوث فالملاحظ دائما أن الجزء الاول من المزيج الذى يمر بالمجنس يحتوى على عدد من الميكروبات أكبر بكثير من الاجزاء التالية نظراً لأن الميكروبات تغسل تدريجيا بمرور المزيج فى آلة التجنيس ويكثر عددها على الاخص متى كانت معاملة الالة المذكورة من حيث الغسل والتعقيم غير متقنة

٢) العمال : تتوقف درجة تلوث المثلجات من العمال المشتغلين بصنعها وتداولها على مدى فطنة هؤلاء العمال واتباعهم الاشتراطات الصحية ، وخلوهم من الامراض ومراعاة نظافتهم الشخصية ، وهذا المصدر خطر على الأخص لأن الميكروبات المتنقلة منه يحتمل احتواؤها على أنواع خطرة ، فالعمال المرضى أو حاملى المرض أهم مصادر انتقال الميكروبات المرضية إلى المثلجات

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

أثر العمليات المختلفة فى عدد البكتريا بالمثلجات

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

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

٢ — أثرة بسترة المزيج : تجرى بسترة المزيج إما فى وقت إعداده أو عقبه وفيها ترفع حرارة المزيج عادة إلى ١٥٠ ف لمدة نصف ساعة ، وهى تؤدى الى ابادة عدد كبير من الميكروبات التى يحويها تتراوح نسبتها فى المعتاد بين ٩٨,١-٩٩,٩ ٪ من العدد الكلى

ويميل البعض الى بسترة المزيج على درجات حرارة أعلى من ذلك حتى يضمنوا إبادة الغالبية العظمى من الميكروبات التى يحويها ، وهذا جائز لأنه ليس للحرارة العالية تأثير ضار بالمزيج يعادل تأثيرها فى اللبن إذ أن عملية التجنيس تزيل الأثر السيء الذى تحدثه بالدهن ، كما أن المواد المكسبة للنكهة والرائحة التى تضاف الى المزيج تخفى الطعم غير المرغوب فيه الذى ينشأ عن الحرارة العالية

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

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

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

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

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

٤) أثر عملية التبريد : تخفض حرارة المزيج بعد تجنيسه إلى درجة ٤٠ ف وهذه العملية قد تؤدى إلى زيادة محتوياته البكتيرية إذا استعملت مبردات سطحية غير معتنى بنظافتها وتعقيمها أو عرضت للغبار والاوساخ فى أثناء مرور المزيج عليها .

٥) أثر عملية الحفظ : يجرى حفظ (ageing) المزيج أو تعتيقه عادة بعد تبريده على حرارة منخفضة تقل عن ٤٠ ف مدة تتراوح بين ساعتين وأربع وعشرين لغرض تحسين قوام وطعم المثلجات المصنوعة منه وزيادة الناتج ، وهذه العملية لاينظر أن تؤدى الى زيادة جوهرية فى عدد البكتريا اذا لم تتجاوز مدة الحفظ المدة السالفة الذكر ، فقد وجد فاى وولسون (Fay & Olson) أن حفظ المزيج مدة ١٦ — ٢٠ ساعة على درجات حرارة أقل من ٤٥ ف لايحدث عنه ارتفاع كبير فى محتوياته البكترية كما اتضح من تجربة اجرياها على ٢٨ عينة بلغ متوسط العدد فيها قبل الحفظ ١٩١٧٨٢ فى الجرام الواحد وارتفع الى ١٩٢٣٦٢ بعد الحفظ فى مقدار مماثل على أن العدد يزيد زيادة محسوسة اذا حفظ المزيج مدة طويلة حتى ولو كان الحفظ على درجات حرارة منخفضة

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

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

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

وينسب ارتفاع العدد الذى يلاحظ فى أغلب الاحوال أثناء التجميد الى تفكك الكتل البكتيرية الناتج عن تحريك المزيج فى الآلة ، ولهذا اعتبرت الزيادة ظاهرية وليست حقيقية ، على انه لما كان من المنتظر ان يؤدى انخفاض الحرارة أثناء التجميد الى قتل بعض الميكروبات التى يحويها المزيج فقد عزى نقص العدد الذى يلاحظ احيانا فى بعض العينات الى أثر هذا العامل

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

حولها بارتفاع يترتب عليه تسرب ماء الملح لداخلها واختلاطه بالمزيج وقت دورانها

٧) أثر عملية التصلب : تجرى عملية التصلب (hardening) عقب التجميد وفيها تبرد المثلجات الى درجة شديدة الانخفاض (نحو — ١٨ ف) وذلك بوضعها فى صناديق أو غرف خاصة بضع ساعات ، وتؤدى هذه العملية كما هو المنتظر وكما دلت التجارب الى قتل بعض الميكروبات التى تحويها المثلجات ، غير أن تأثيرها يتوقف على انواع الميكروبات الموجودة وعلى درجة الحرارة التى تجرى عليها العملية

٨) أثر الخزن : تخزن المثلجات عادة بعد تصلبها على درجة منخفضة (حوالى صفرف) لحين توزيعها وقد شوهد من اغلب التجارب أن عدد البكتريا لايتغير تقريبا أثناء الخزن إذ ليس من المنظور نموها على على مثل هذه الدرجة ، على أنه لوحظ فى بعض الحالات ميل يسير لانخفاض فى العدد اذا ماقدر بطريقة الأطباق

الاحتياطات المؤدية الى انخفاض عدد البكتريا بالمثلجات

يمكننا اجمال أهم الاحتياطات التى تساعد على انتاج مثلجات جيدة تحتوى على أقل عدد ممكن من البكتريا فيما يلى : —

١) استعمال مواد نقية لم تحدث بها تغيرات غير مرغوبة ، فاللبن المستعمل ينبغى أن يكون طازجا نظيفا خاليا من الطعم والرائحة الغريبة وغير ناتج من ماشية مريضة أو فى نهاية فصل الحليب أو بعد الولادة مباشرة ، والقشدة يلزم أن تكون طازجة كذلك غير مرتفعة الحموضة أو مرة المذاق ، والزبد يجب أن يكون غير مملح وناتجا من قشدة نظيفة

٢) استخدام أوانى وأجهزة تامة النظافة والتعقيم

٣) مراعاة الدقة فى بسترة المزيج وتجنيسه لضمان ابادة الميكروبات الضارة بالمواد المستعملة

٤) وقاية المثلجات من التلوث فى أثناء الصناعة وبعدها وخاصة من المصادر الادمية

هذا وينبغى أن تكون الاحتياطات المتخذة كفيلة بانتاج مثلجات لايزيد عدد البكتريا فى السنيمتر المكعب منها عن ١٠٠٠٠٠

الميكروبات المرضية فى المثلجات

تعتبر المثلجات اللبنية فى المرتبة الثانية مباشرة بعد اللبن السائل من حيث أهميتها فى نقل الامراض ونشرها ، وقد يظن البعض خطأ ان انخفاض درجة حرارة المثلجات يؤدى الى ابادة ماقد يوجد بها من ميكروبات مرضية أو يضعف من حيويتها ، فقد اثبتت التجارب ان لمعظم هذه الميكروبات القدرة على المعيشة فى المثلجات مددا طويلة دون أن تتأثر قوتها على احداث المرض ، وأجريت بعض الأبحاث بخصوص ذلك فمثلا لقح لبن بميكروب السل ثم استخدم فى صنع مثلجات منه وحفظت هذه المثلجات متصلبة وبعد انقضاء شهر من حفظها لقحت بها أرانب هندية فأصيبت بالمرض ، كما أن الميكروب المذكور قد وجد حيا فى احوال كثيرة بعد مضى بضعة شهور فى مثلجات مصنوعة من لبن ناتج من ماشية مصابة

بتدرن الضرع ، وقد ظهر كذلك من فحص المثلجات التى صنعت من مزيج ملوث بميكروب التيفود وحفظت متصلة على درجات منخفضة تتراوح بين - ٨ ,٨ ف (-٢٢ ,٢ و -١٣,٣س) انه برغم تناقص عدد هذا الميكروب تدريجا فان بعضه يبقى حيا فى المثلجات الملوثة حتى بعد انقضاء اكثر من سنتين ، وقد عرف كذلك انه ميكروب الباراتيفود أقدر من ميكروبات التيفود على مقاومة تأثير درجات الحرارة المنخفضة

وقد أجرى والاس (Wallace) حديثا تجربة اختبر فيها مدى معيشة بضعة ميكروبات مرضية فى مثلجات تجارية لقحت بها وحفظت مجمدة على درجة — ١٠ ف (- ٢٣,٢ س) فوجد أن ميكروب الاجهاض بقى حيا تحت هذه الظروف سبع سنوات وميكروب السل (الادمى والبقرى) ست سنوات ونصف وميكروب الحمى المالطية خمس سنوات

من كل ماتقدم تظهر أهمية العناية بمنع تلوث المثلجات بالميكروبات المرضية ومعاملتها بأدق الطرق التى تضمن أبادة هذه الميكروبات فى المزيج المصنوعة منه ، ولقد كان للتحسينات التى ادخلت على صنع هذه المنتجات وخاصة استعمال البسترة وكذلك اهتمام الهيئآت الصحية بالاشراف على مصانعها وفحص عيناتها أثر كبير فى تقليل الاضرار الناتجة عنها

الباب الثامن عشر

بكتريولوجيا الجبن

ترجع صناعة الجبن إلى أزمنة مديدة ، وكان أساسها محاولة حفظ مشتملات اللبن الغذائية عند توفره لاستعمالها فى الأوقات التى يشح فيها ، وكانت تنحصر الطريقة الأولية لصنعه فى تحميض اللبن ذاتيا ثم يصرف الشرش من الخثرة الناتجة وتجفف وتملح ، على أن هذه الطريقة لم تلبث أن حورت تدريجاً بمرور الزمن إذ لوحظ أنه يمكن حفظ الخثرة مدة غير قصيرة دون تجفيفها تماما وفضلا عن ذلك فان الخثرة تنضج أثناء الخزن وينتج بها طعم مرغوب فيه ، ولهذا فان صناعة الجبن لا تعتبر فى الوقت الحاضر مجرد طريقة من طرق الحفظ كما كان ينظر اليها فيما مضى بل تعد فنا يقصد به الحصول على مادة غذائية لذيذة الطعم سهلة الهضم .

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

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

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

يقسم الجبن عادة إلى قسمين رئيسيين كالآتى :

أولا : أصناف تتخثر باضافة المنفحة

ثانيا : « « بتكون الحامض

وسنتكلم فيما بعد عن أثر المنفحة فى إحداث التخثر ، أما أثر الحامض فقد أشير اليه فى الكلام عن الاختمار اللكتيكى .

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

على أنه لا يوجد حد فاصل بين الأصناف الجافة والطرية اذ توجد أصناف وسطية وهذه تعرف أحيانا باسم الجبن نصف الجاف ، ومن أمثلة الأصناف الجافة جبن تشدر وجبن أمنتال وأولهما ينضج دون تكون غازات فى حين تنتج غازات فى أثناء نضج الثانى ، ومثال الأصناف نصف الجافة جبن روكفوروهو ينضج رئيسيا بواسطة الفطريات ، أما أمثلة الأصناف الطرية فمن أهمها جبن كامبيروهو ينضج كذلك رئيسيا بواسطة الفطريات وجبن ليمبرج وينضج بواسطة البكتريا

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

أولا) انتخاب اللبن المستعمل فى الصناعة : دلت الاختبارات على أنه لا يمكن صنع جبن جيد النوع إلا من لبن روعيت النظافة فى انتاجه إذ من المحتمل أن تنمو الميكروبات غير المرغوب فيها التى يضمها اللبن غير النقى بالجبن عند استعماله فى صنعه وتحدث تغيرات غريبة به نتيجة لذلك ، ومع أنه يمكن ضمان خلو الزبد من الميكروبات الضارة ببسترة اللبن أو القشدة المصنوع منهما إلا أنه غالبا لا يتبع هذا الاجراء فى صناعة الجبن نظرا لأن أصنافا كثيرة منه لا يمكن صنعها من لبن مبستر

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

ثانياً) انضاج اللبن : تصنع معظم أصناف الجبن بتخثير اللبن بالمنفحة والمعتاد أن ينضج اللبن فى حالة هذه الاصناف قبل ان تضاف المنفحة اليه ، والغرض من النضج هو تكون حموضة مناسبة باللبن واعطائه طعما مرغوبا فيه ، وهذا يتم بواسطة بكتريا حامض اللكتيك .

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

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

(ثانياً) استعمال روبات محضرة طبيعيا : وفيه يستعمل لبن حامض تم اختماره فى المعمل أو لبن مخيض جيد .

(ثالثا) استعمال روبات صناعية : وهى عبارة عن مزارع نقية من الميكروب ستربتوكوكس لاكتس منماة فى لبن فرز مبستر وأحيانا يضاف اليها بعض الميكروبات الاخرى وخاصة أنواع من اللاكتوباسلس

وأحيانا أصناف معينة من الفطريات ، ويتبع فى اعدادها نفس الطريقة المتبعة فى اعداد الروبة الخاصة بتخمير القشدة .

والطريقتان الأولتان غير موثوق بنتائجهما أما الطريقة الثالثة فهى أصلحها وأكثرها شيوعا فى صنع أنواع الجبن الجيدة ، وتتلخص فوائد استعمال الروبة فيما يلى:

١) تؤدى الروبة إلى انضاج اللبن ، وهذا من شأنه أن يساعد على سرعة التخثر بالمنفحة ، إذ أن حامض اللكتيك الناتج يحول بعض أملاح الكلسيوم غير الذائبة إلى حالة ذائبة كما يوجد وسطا حامضيا وهذا الوسط الحامضى مع أملاح الكلسيوم الذائبة يسهل إلى حد كبير عمل الانزيمات المجبنة للبن

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

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

٤) تقى الجبن من التعفن نظراً لأن الميكروبات التعفنية التى توجد فى الغالب باللبن لا تقوى على المعيشة والعمل فى وجود الحموضة التى تنتجها الروبة ولذا يلاحظ أنه فى حالة عدم تكون الحامض تنشط الميكروبات المذكورة وتؤدى إلى سرعة فساد الجبن

٥) تساعد الحموضة التى تنتجها الروبة عمل أنزيم البيسين الذى يوجد بالمنفحة ، ولهذا الأنزيم أهمية كبرى فى عملية انضاج الجبن

وتجدر الاشارة إلى أنه لكى تؤدى الروبة عملها على الوجه الأكمل ينبغى أن تشتمل على أنواع البكتريا المرغوبة وأن تكون خالية من التلوث وأن تحضر وتعامل بعناية تامة طبقا لما اشير اليه فى الكلام عن الروبات المستعملة فى إنضاج القشدة

× وتضاف الروبة فى المعتاد بنسبة تتراوح بين ٠,٥ ، ٢٪ وفى المتوسط ١٪ من وزن اللبن المراد صنعه جبنا على أن مقدار الروبة المضافة يتوقف على عدة عوامل من أهمها صنف الجبن ودرجة نظافة اللبن ونسبة الحموضة فيه وحرارة الطقس ودرجة نشاط الروبة المستعملة الخ

ثالثاً) **التفحيج ومعاملة الخثرة** : المنفحة هى مستخلص يحضر من المعدة الرابعة للعجول الرضيعة بطرق خاصة على أشكال مختلفة فتكون على هيئة سائل أو مسحوق أو أقراص ، وتحتوى رئيسيا على أنزيمين هما الرينين والبيسين ويعزى تخثر اللبن رئيسيا إلى أولهما إذ يؤثر فى الكازين فيحوله إلى باراكازين الذى يكون خثرة فى وجود أملاح الكلسيوم الذائبة أما الثانى فهو مهم فى عملية التسوية أو الانضاج .

ولما كان انزيم الرينين لا يؤدى عمله على الوجه الأكمل إلا على درجات حرارة مناسبة فإنه بعد أن يتم نضج اللبن (أى بعد أن تبلغ حموضته حداً مناسباً هو ٠,٢٪ فى حالة جبن تشدر مثلا) ترفع حرارته إلى درجة تتناسب مع نوع الجبن المراد صنعه (تختلف بين ٢٧ ، ٣٣ س) ثم تضاف اليه المنفحة بالقدر اللازم ، وينبغى

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

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

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

وتحسن الاشارة هنا إلى أنه عندما يتجبن اللبن بالمنفحة تتخلف معظم الميكروبات التى يحويها فى الخثرة ولذا فان الشرش يحتوى على عدد من الميكروبات فى السنتيمتر المكعب أقل مما يحويه مقدار مماثل من اللبن المصنوع منه ، ويساعد تركز الميكروبات فى الخثرة بهذه الكيفية على سرعة انتاج الحامض فيها إذ أن معظم الميكروبات المذكورة هى بكتريا حامض اللكتيك

وضبط درجة الحموضة فى الدرجات المختلفة من صناعة الجبن الجاف من الأهمية بمكان إذ أن تكون حموضة زائدة يؤدى إلى جفاف الخثرة ويزيد الفقد من الدهن كما يؤثر فى عملية النضج على حين أن الحموضة المنخفضة تؤدى إلى احتفاظ الخثرة بكمية كبيرة من الشرش فيصبح قوام الجبن الناتج رخواً ، ولهذا يلاحظ ألا يصفى الشرش بعد تقطيع الخثرة فى حالة جبن تشدر مثلا إلا إذا بلغت الحموضة حوالى ٠,٢٦ ٪ وألا تفرم الخثرة إلا متى وصلت الحموضة إلى نحو ٠,٨ ٪

أما تمليح الخثرة فيساعد على حفظ الجبن من عوامل التلف والفساد كما يعطى الجبن تبعا لاختلاف كميته طعما خاصا بكل نوع .

(رابعا) انضاج الجبن : ينقل الجبن بعد انتهاء العمليات السالفة الذكر الى حجرات خاصة على درجات حرارة ورطوبة مناسبة لكى ينضج ، وقد يستغرق الانضاج أسابيع قلائل أو عدة شهور ، وفى أثناء مدة الانضاج تحدث بالجبن عدة تغيرات طبيعية وكيماوية تؤثر فى تركيبه ومظهره وطعمه الخ . وتختلف طبيعة هذه التغييرات باختلاف صنف الجبن ، ويرجع اختلافها رئيسيا الى التباين فى معاملة الاصناف المتعددة وخاصة من حيث نسبة ماتحويه الخثرة من الشرش وحفظ الجبن تحت تأثير درجات متباينة من الحرارة والرطوبة والتهوية والاضاءة فى أثناء مدة النضج مما يؤدى الى نشاط أصناف خاصة من الميكروبات .

وينشأ عن التغيرات التى تحدث فى اثناء نضج الجبن تحلل فى الخثرة وارتفاع نسبة الأزوت الذائب فيها وأزدياد قابليتها للهضم وتكون مواد مكسبة للطعم والرائحة وتشمل التغيرات تحلل المواد الثلاث الرئيسية فى الجبن وهى اللاكتوز والكازين والدهن بدرجات متفاوته.

وتحدث التغيرات المذكورة بتأثير ثلاثة عوامل رئيسية هى : البكتريا والانزيمات والفطريات وسنتكلم عن كل منها بايجاز .

(١) البكتريا : كان المعتقد من زمن طويل أن البكتريا العصوية المنجرثمة الهوائية وغير الهوائية هى العامل الهام فى انضاج الجبن ، وقد نشأ ذلك الاعتقاد عن قدرة الأنواع الهوائية على تحليل السكازين والأنواع غير الهوائية على انتاج رائحة جبنية ، إلا أن الابحاث الحديثة أظهرت فيما بعد أن هذه الأنواع نادرة الوجود بالجبن وأنها غيرقادرة على التكاثر فيه حتى ولو لقح بعدد كبير منها نظرا لحساسيتها للحموضة ، كما وجد أنه اذا جعلت الظروف مناسبة لنمو الأنواع المذكورة بيسترة اللبن المعد لصنع الجبن وعدم إضافة الروبة إليه فان هذه البكتريا تنتج طعما تعفنيا بالجبن.

على أنه أتضح من جهة أخرى أن البكتريا المكونة للحامض لاغنى عنها فى عملية الانضاج واستدل على ذلك من ان الجبن المصنوع من لبن خال من بكتريا حامض اللكتيك لاينضج على وجه مرضى إذ لايظهر به سوى تغير طفيف يختلف كثيرا عن التغيرات التى تحدث بالجبن الجيد الصنع

ويعتقدفريق من العلماء أن بعض بكتريا حامض اللكتيك وخاصة اللاكتوباسلس تموت عندما يستنفد اللاكتوز من الجبن الجاف وأن خلاياها تنحلل ذاتيا بتأثير انزيماتها الداخلية وبذا تنفرد هذه الانزيمات وتعمل فى تحلل البروتين ويشبه عمل الانزيمات المذكورة عمل الأربسين إذ أنها تحل البروتين الى أحماض أمينية .

وفضلا عن أثر هذا العامل فى زيادة قابلية الجبن للهضم فان بعض أنواع البكتريا تعمل فى تكوين مواد تكسب الجبن نكهته الخاصة ، فمثلا يعود جانب من نكهة جبن تشدر أصلا الى مواد كيماوية تنتج أثناء اختمار اللاكتوز كما تعزى الى إنحلال هذه المواد بواسطة أنواع مختلفة من البكتريا .

(٢) الانزيمات : المعتقد ان انزيمات المنفحة وخاصة الببسين هى أقوى عوامل الانضاج التى تؤدى الى زيادة نسبة الأزوت الذائب .

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

(٣) الفطريات : الفطريات مهمة على الأخص فى انضاج بعض أصناف الجبن نصف الجاف والطرى ويوجد منها عدة أصناف تختلف باختلاف نوع الجبن وهى تعيش على سطوحها وتتخللها احيانا وتنتج أنزيمات تنتشر فى الجبن وتعمل فى حل الكازين وانتاج مواد آزوتية بسيطة منها النشادر ، كما أنها تحلل الدهن مائيا وتنتج أحماضا دهنية يرجع اليها الطعم القوى الذى تتميز به بعض الأصناف،

ويمكن تلخيص التغيرات التى تحدثها العوامل الثلاثة مجتمعة فى أثناء عملية النضج فيما يلى :

اولا) انحلال اللاكتوز الموجود فى مدى أيام قلائل وتحوله إلى مركبات عضوية أهمها حامض اللكتيك ، وتعادل جزء من هذا الحامض بالكلسيوم مكونا لكتات . وتحول هذه جزئيا الى احماض طيارة كما تتكون آثار من الكحول من اللكتات وهذه قد تكون استرات مع الاحماض الموجودة الناتجة من انحلال سكر اللبن كذلك

ثانيا) تحول معظم البراكازين فى الأدوار المتعاقبة لعملية النضج الى مركبات ذائبة كالكازيوس والببتون والاحماض الأمينية التى منها الجليكوكول والالنين واليوسين والتيروسين والهستيدين ، وتتكون من الأحماض الامينية فى الدرجات الأخيرة من النضج نشادر ، وهذه قد تنفرد كما فى حالة بعض أصناف الجبن الطرى أو تتحد ببعض المركبات الحامضية المختلفة كما فى حالة الجبن الجاف ، وغنى عن القول أن التغيرات التى تحدث بالكازين هى أهم التغيرات فى نضج الجبن.

ثالثا) يتحلل جزء من الدهن تحليلا مائيا مكونا أحماضا دهنية تدريجياً ومن هذه الاحماض مايعطى بعض أصناف الجبن نصف الجاف كالروكفور مثلا طعما حريفا كاحماض الكابرويك والكبريليك والكبريك .

والتغيرات السالفة الذكر هى التى تؤدى الى تحول الخثرة الناتجة عقب الصنع الخشنة التركيب العديمة الطعم الى جبن جيد التركيب مقبول الطعم سهل الهضم

وتحسن الاشارة إلى أن للاحماض الأمينية والنشادر والاسترات والأحماض الدهنية أهمية كبيرة فى انتاج الطعم والرائحة المميزة بمختلف أصناف الجبن

جبن تشدر

يعتبر جبن تشدر (Cheddar) من أكثر الأنواع الجافة شيوعا وقد بسطنا فى كلامنا السابق اجمالا أهم النقط التى تراعى فى صنعه والتغيرات التى تحدث به أثناء النضج على انه يراعى فى صنع هذا الجبن أن يحتوى اللبن فى الوقت الذى تضاف اليه المنفحة على عدد كبير من ميكروبات حامض اللكتيك السبحية حتى يضمن تكون حموضة سريعة به فى أثناء الصنع وفى الأدوار الأولى من الانضاج وبديهى أن هذا متوقف على جودة الروبة المضافة اليه

الميكروبات الموجودة بهذا الجبن: إذا فحص هذا الجبن يوجد أن الغالبية العظمى من الميكروبات التى يضمها هى بكتريا حامض اللكتيك فالميكروكوكس يغلب وجودها بالقرب من السطح على حين توجد الاستر بتوكوكس واللاكتوباسلس فى الداخل نظراً لميلها إلى المعيشة غير الهوائية . وينتقل النوعان الأخيران إلى الجبن من الروبة المستعملة فى صنعه كما ينتقل الأخير على الأخص من غذاء الماشية وأمعائها ومصادر أخرى متعددة وقد وجد أن بكتريا حامض اللكتيك تستمر فى النمو بسرعة فى الخطوات الأولى من الصنع بعد تمام التجبن أى فى أثناء الكبس والانضاج .

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

عمر الجبن بالأيام	نسبة مئوية لاستربتوكوكس لاكتس	نسبة مئوية للاكتوباسلس
١٤	٩٩,٩٩	٠١,
٢٢	٩٩,٩٠	١٠,
٢٧	٩٠,٩٠	٩,١٠
٤٥	٩٩,٩٠	١٠,
٧٧	٩٩,٠٠	١,٠٠
١٠٠	٩٠,٩٠	٩,١٠
١٥٥	٥٠,٠٠	٥٠,٠٠
١٦٥	١,٠٠	٩٩,٠٠
١٨٧	١,٠٠	٩٩,٠٠

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

ويلاحظ وجود هذا الميكروب عند فحص الجبن ميكرسكوبيا متجمعا فى كتل تعرف باسم مراكز الانضاج (ripening centres)

ويوجد بجبن تشدر فى أحيان كثيرة إلى جانب هذين الصنفين أنواع أخرى من البكتريا الكروية والعصوية المتجرثمة وغير المتجرثمة وكذا الخائر بعضها ذو تأثير مفيد فى عملية النضج والبعض ليس له تأثير يذكر على حين أن البعض الآخر له تأثير ضار ، فمن الأنواع الأولى أصناف من ستربتوكوكس وميكروكوكس ذات أهمية فى انتاج الأحماض الطيارة وخاصة حامض الخليك وهذه الاحماض لانتنتجها على الارجح من الدهن بل من مصادر أخرى كحامض الستريك واللاكتوز ، ومن الانواع الاخيرة ميكروبات القولون المنتقلة من الروث إلى اللبن المستعمل فى صنع الجبن وسنعود إلى شرح ضررها فى مكان آخر.

التغيرات التى تحدث أثناء النضج : من أهم التغيرات التى تحدث أثناء نضج هذا الجبن حل الكازين ومشتقاته ، وقد وجد أن طعم جبن تشدر يتوقف رئيسياً على مقدار الاحماض الامينية الناتجة عن هذا الانحلال ، كما أن تحلل الخثرة من تركيبها الحشن وقوامها المطاط الذى تبدو به عقب الصنع مباشرة إلى تركيب أملس شمعى كما هو الحال فى الجبن الجيد النضج لا يتم إلا بهضم الكازين ويحدث هذا الانحلال كما أسلفنا القول رئيسياً بتأثير انزيمى الببسين والجالاكتاز كما تلعب البكتريا دوراً فى هذا التغير ، وقد استدل على أهمية الانزيم الاخير فى حل البروتين من أنه لوحظ أن نسبة الآزوت الذائب ترتفع فى اللبن المضاف اليه الكلوروفورم بقصد منع نمو البكتريا ، على أنه وان كان المعتقد أن لهذا الانزيم أهمية فى تحلل البروتين أثناء نضج الجبن إلا أنه من الصعب تقدير الاثر الصحيح الذى يحدثه فى هذه الحالة نظراً لنشاط العوامل الاخرى التى تعمل فى حل البروتين ، ويحل هذا الانزيم البروتين إلى أحماض أمينية ، ووجود آزوت بقدر كبير على صورة أحماض أمينية من مميزات جبن تشدر وغيره من أصناف الجبن الجاف ، ولكن مما يلاحظ أن التأثير الحامضى لهذه الاصناف من الجبن لا يناسب نشاط أنزيم الجالاكتاز إذا قورن بالتأثير المتعادل أو المائل إلى القلوية

ومن أهم الميكروبات التى تشترك فى حل البروتين بالجبن أصناف اللاكتو باسلس فقد أظهرت التجارب انها تعمل على هدم البروتين وتزيد من كمية الآزوت الذائب باللبن النامية فيه ، ومثل هذا يحدث دون ريب بالجبن وهى تنتج أحماضا أمينية من الكازين.

وينتج بجبن تشدر أثناء الانضاج كذلك أحماض طيارة وخاصة أحماض الخليك والبروبيونيك والبيوتريك والكابرويك ، وقد وجد أن اللكتات هى المصدر الرئيسى للحمضين الاولين على حين أن الدهن والبروتين هما مصدرا الحمضين الاخيرين ، كما وجد من تحليل الجبن المذكور احتواؤه كذلك عن كحولات واسترات ولهذه المواد أهمية فى طعم ورائحة هذا الجبن

جبن أمنتال

يختلف جبن أمنتال (Emmental) أو الجبن السويسرى عن الصنف السابق أساسيا بقوامه المطاطى وطعمه المائل إلى الحلاوة مع وجود فجوات وعيون (eyes) تتخلله ، علاوة على أنه كان يصنع فى الماضى من لبن طازج لم ينضج بواسطة بكتريا حامض اللكتيك ولتخثيره يوضع جانب من منفحة جافة

فى شرش ويحفظ على درجة ٨٦ ف (٣٠ س) لمدة ٢٤ — ٣٦ ساعة ثم يضاف الشرش المذكور إلى اللبن ولا يخثر هذا المخلوط اللبن فحسب بل يضيف إليه عدداً كبيراً من البكتريا المكونة للحامض التى نمت فيه فى مدة الحضانة السالفة الذكر ، على ان هذه الطريقة حورت فيما يعد والمتبع غالباً الآن هو إضافة روبه مؤلفة من مزرعة نقية من اللاكتوباسلس بلجاريكس (وقد يضم إليها مزرعة من الميكروبات المكونة للعيون) إلى اللبن الطازج أو المبستر المعد اصنع الجبن ثم يخثر هذا اللبن كالمعتاد بالمنفحة التجارية الجافة أو السائلة

ومن أوجه الاختلاف الهامة بين جبن أمنتال وجبن تشدر تعريض خثرة الأول بعد التقطيع وقبل الكبس والتمليح إلى درجة ١٢٦ — ١٤٠ ف (٥٢ - ٦٠ س) وكذلك تمليح القوالب من الخارج ونقعها فى محلول ملحى مركز وتجدر الاشارة إلى ان طريقة معاملة الجبن وقت الصنع وبعده هى من اهم العوامل فى تنشيط البكتريا التى تعطى الجبن صفاته المطلوبة .

أنواع الميكروبات التى توجد بهذا الجبن : دلت الأبحاث التى أجريت على محتويات هذا الجبن من البكتريا على أنه يشتمل على عدة أنواع مختلفة منها الكروى والعصوى ومن هذه الأخيرة ميزت طائفتان هامتان إحداهما تعرف باسم بكتريا حامض البروبيونيك والثانية أصناف من اللاكتوباسلس، والأخيرة تكون بقسبة منخفضة عقب الصنع مباشرة ولكنها ترتفع تدريجا حتى تسود على الانواع الأخرى فى أواخر مدة النضج وهى على الأرجح ذات أهمية خاصة فى تسوية هذا الجبن ويكثر وجودها فى اللبن والشرش والمنفحة ، وتستعمل مزرعة منها بنجاح فى صنع هذا الجبن بسويسرا تعرف باسم ثرموبكتريوم هلفتيكم (Thermobacterium helveticum)

وبكتريا حامض البروبيونيك المذكورة تعرف عليها باسم بكتريوم أسيدى بروبيونيسى (B. acidi propionici) وهى غير متجرثمة وغير متحركة وتوجد منها عدة أصناف تختلف فى مظهرها ، ومن المحتمل وجود هذه البكتريا بعدد كبير فى الروث حيث تنتقل منه إلى اللبن .

التغيرات التى تنضج أثناء النضج : يستمر تخمر اللاكتوز فى هذا الجبن فى أثناء الكبس وبعده ولذا فانه يختفى فى مدى أيام قلائل ، أما البروتين فيتبع نفس خطوات التغير التى تحدث بجبن تشدر كما أن العوامل التى تؤدى إلى تحلله تشابه كذلك تلك التى تعمل فى الجبن الأخير .

أما تكون العيون ، وهى الميزة الهامة لهذا الصنف من الجبن ، فانه يتسبب عن نشاط بكتريا حامض البروبيونيك فهى تخمر لكتات الكالسيوم الى حامض البروبيونيك وحامض الخليك وحامض الكربونيك ، وقد اتضح أن العيون العادية التى تتكون بجبن أمنتال لا تكاد تحتوى على غاز آخر سوى ثانى أوكسيد الكربون وقد توجد بها مقادير ضئيلة من الآزوت ، ولتشجيع تكون العيون ينقل الجبن من الغرفة الباردة التى حفظ فيها بعد الكبس الى حجرة حرارتها ٦٤,٥ — ٦٨ ف (١٨ — ٢٠ س) عندما يصير عمره اسبوعين

وعلى هذه الدرجات تنشط بكتريا حامض البروبيونيك وبذلك تتكون العيون بحجمها العادى فى مـــدى أربعة الى ستة أسابيع ثم يعاد الجبن الى الغرفة الباردة مرة أخرى .

ولما كانت بكتريا حامض البروبيونيك حساسة لكلورور الصوديوم فان استعمال نسبه كبيرة من الملح فى انواع الجبن الاخرى تمنع تكون العيون بها ، هذا علاوة على أنه يمكن تنظيم تكون العيون بجبن أمنتال بزيادة الملح أو تقليله ، ومما يثبت تأثر هذه البكتريا بالملح عدم تكون العيون بكثرة بالقرب من السطح اذا قورن بالداخل .

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

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

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

جبن روكفور

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

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

الميكروبات التى توجد بهذا الجبن : أهم الميكروبات التى يحويها جبن روكفور هى الفطر المسبب للعروق الزرقاء المعروف علميا باسم بنسليوم روكفورتى (Penicillium roqueforti) وفى المعتاد تلقح الخثرة به عند الصنع ، وكذلك ستربتوكوكس لاكتس التى تضاف إلى اللبن فى الروبة وهذه بعد أن يتزايد عددها بدرجة كبيرة تأخذ فى الانخفاض ثم تتلاشى فى مدى أسبوعين أو ثلاثة ، وقد عزى ذلك إلى التركيز العالى للملح ، كما يضم هذا الجبن أصنافا من اللاكتوباسلس وبعض الميكروبات المتجرثمة والخائر على أنه يظهر أن

ليس للميكروبات الأخيرة أهمية حيوية فى إعداده ونضجه إلا أن وجودها به يرجع إلى وجودها أصلا باللبن الذى صنع منه الجبن وإلى قدرتها على المعيشة تحت الظروف السائدة خلال مده النضج ،

التغيرات التى تنتج أثناء النضج : يحدث الفطر السالف الذكر ثلاث تغيرات هامة هى هدم حامض اللكتيك وانحلال البروتين وانحلال الدهن ، فالفطر يجود نموه فى الوسط الحامضى المسبب عن وجود حامض اللكتيك ثم يعمل على حل الحامض المذكور إذ يستمد منه على مايظهر حاجته من الكربون كما يستعمله فى الحصول على المجهود ، أما البروتين فلا يتوقف انحلاله على الفطر فحسب بل أن الأنزيمات والبكتريا التى تعمل فى تحول البروتين بالجبن الجاف عموما توجد كذلك بهذا الصنف من الجبن ، وقد دلت التجارب على وجود نسبة مئوية عالية من الآزوت غير الذائب ومن الأحماض الأمينية ونسبة مئوية منخفضة نسبيا من الكازيوس والبيتون بهذا الجبن ، كما اتضح أن انحلال الدهن مائيا بجبن روكفور يعود إلى تأثير الليباز الذى ينتجه الفطر السالف الذكر ، وهذا ينشأ عنه انفراد أحماض الكابرويك (caproic) والكابريك (capric) والكابريليك (caprylic) وأملاحها السهلة الانحلال ، وإلى هذه الأحماض ينسب رئيسيا الطعم الحريف المميز كما أشرنا إلى ذلك من قبل .

وعادة يجرى تلقيح الخثرة عند وضعها بالمكبس بنثر مسحوق أوفتات خبز نمى عليه الفطر ثم جفف ، ثم يوخز الجبن فى الوقت المناسب أى بعد انقضاء نحو شهر أو شهرين من صنعه بابر أو مخارز خاصة فينفذ الهواء بكمية كافية فى المسالك الناتجة عن هذه العملية وبذا يسهل نمو الفطر فيها إذ من الضرورى لنموها وجود الاكسجين ، ويحتاط من دخول ميكروبات خارجية أثناء الوخز بتنظيف سطح الجبن قبل الوخز وبعده ، ويتميز البنسليوم روكفورتى بقدرته على النمو تحت ضغط منخفض من الأكسجين ومن ثم فان الظروف التى تسمح لهذا الفطر بالنمو وتكوين العروق الزرقاء فى الثغرات الموجودة بهذا الجبن لاتسمح للفطريات الأخرى التى قد تصل الى الداخل بالنمو بسهولة .

وقبل أن نختم الكلام عن هذا الجبن تحسن الاشارة الى أنه يتكون على سطحه فى أثناء النضج موادمخاطية بواسطة أصناف مختلفة من البكتريا والخائر والفطريات ، وقد أتضح أن ليس لهذه الميكروبات سوى أهمية ثانوية فى عملية النضج غير أن قلة هذه المواد أو كثرتها تتخذ مقياسا لمدى مناسبة درجات الرطوبة والحرارة فى حجرة الانضاج ، وهى اذا تكونت بكثرة تؤدى الى تغيرات غير مرغوب فيها تضر بطعم الجبن

جبن كامبير

جبن كامبير (Camembert) من الاصناف الطرية الكثيرة الانتشار التى يتم النضج فيها رئيسا بواسطة فطر ينمو على السطح ، ويشبه هذا الجبن من حيث معاملته فى الدرجات الأولى جبن تشدر ولكن الخثرة لاتقطع أو تسخن أو تكبس ، ولذا يبقى بها مقدار من الشرش يفوق مايبقى بالجبن الجاف أو نصف الجاف كما أن اختمار اللاكتوز الموجود بنسبة مرتفعة نسبيا يؤدى انتاج حموضة عالية ، فتقى هذه الحموضة داخل الجبن من الميكروبات المحللة للبروتين

الميكروبات التى توجد بهذا الجبن : توجد ستربتوكوكس لاكتس بعدد كبير نتيجة استعمال الروبة فى نضج اللبن الذى يصنع منه هذا الجبن وكذلك للملامة الجبن الحديث الصنع لتكاثرها نظرا لارتفاع نسبة الماء والمواد الذائبة فيه ، ويبلغ عدد هذا الميكروب اقصاه فى اليوم الثالث من تمام صنع الجبن ثم يأخذ فى الانخفاض تدريجيا حتى يتم النضج ، وعادة تبلغ نسبته ٩٩ ٪ من العدد الكلى للميكروبات التى توجد بالجزء الداخلى من هذا الجبن ، كما توجد بالداخل كذلك بعض ميكروبات أخرى بعدد كبير أحيانا مثل اللاكتوباسلس والخمائر على أن هذه الميكروبات لاتلعب على مايظهر دورا أساسياً فى عمليات الصنع والنضج

أما على السطح فيوجد دائما الفطر المميز الخاص بهذا الصنف المعروف علميا باسم بنسليوم كامبرتى (Penicillium camemberti) وعادة يلقح به الجبن عقب تمام الصنع برشه بماء يحتوى على الفطر المذكور على حالة تعليق ، على أن التلقيح يتم طبيعيا بانتقال الفطر من الهواء والمعدات فى المعامل التى يصنع فيها هذا الجبن باستمرار بنجاح

ويرى نمو الفطر على السطح فى المعتاد بعد انقضاء بضعة أيام من الصنع ثم يأخذ فى الانتشار ويزداد النمو وضوحا عند مايبدأ تكون الجراثيم ويكون لونه رماديا مخضرا ، وينمو مع الفطر السالف الذكر على السطح أو يسبقه فى النمو والظهور نوع آخر هو أوبديوم لاكتس ولكن نموه يتحدد بتأثير الملح الذى تبلغ نسبته فى هذا الجبن ٢,٥ — ٣ ٪

وتغطى الطبقة المؤلفة من النوعين السابقين بعد تكونها بطبقة من مواد لزجة تتكون رئيسيا من بكتريا وخمائر وقد يكون لونها أحمرا أو أصفراً فتكسب الجبن لونا مائلا للاحمرار ، وليس لهذه الميكروبات على الارجح أهمية فى عملية النضج ولكنها تميل إلى تحديد نمو النوعين السالفى الذكر

التغيرات التى تحدث أثناء النضج : عمل البكتريا الرئيسى فى هذا الجبن هو انتاج الحموضة ، أما التغيرات الهامة التى تؤدى الى تسوية الجبن فتحدث رئيسيا بواسطة البنسليوم كامبرتى والاويديوم لاكتس الناميين على السطح وفى المعتاد يظهر نمو النوع الثانى أولا وفيما بعد عند مايجف سطح الجبن نوعا يظهر نمو النوع الأول بوضوح .

ومن أهم خواص البنسليوم وهو المسئول رئيسيا عن النضج قدرته على حل البروتين الى مواد ابسط ، فهو ينتج انزيما ينتشر تدريجا بالجبن من السطح متجها إلى الداخل فيحلل الكازين ويهضم الخثرة ويسبب ليونة الجبن ولذا يلاحظ نضج الاجزاء الخارجية أولا بسرعة أكبر من الاجزاء الداخلية وعند تمام النضج مصير الجبن لينا يشبه قوامه قوام الزبد ، والتغير الذى يحدث بالبروتين فى هذه الحالة ابريبسينى اكثر منه ببسينى ، أما انزيمى الببسين والجالاكتاز المهمان فى انضاج الجبن الجاف فمع أنهما قد يكونان نشطين إلا أنه يظهر أن ليس لهما أهمية أساسية فى النضج العادى لهذا الجبن ، وعلاوة على ذلك فان الفطر المذكور يعمل على خفض حموضة الجبن نتيجة استعماله للحمض الناتج جزئيا فى المجهود ومعادلته اياه بالمواد التى يكونها

أما الاويديوم فهو مهم من حيث علاقته بانتاج الطعم الخاص بجبن كامبير ، فقد لوحظ ان الجبن الذى لم ينم على سطحه الفطر أو تحدد نموه ينقصه الطعم المميز ، على أنه من جهة أخرى إذا نمى الاويديوم بنشاط

تتكون طبقة سميكة مجعدة غير ملتصقة بالسطح بجودة وهذه تؤثر فى عملية النضج نظراً لعدم إمكان نمو البنسليوم على الوجه الاكمل فى وجود الطبقة المذكورة

* * *

وتحسن الاشارة اجمالا الى اوجه الاختلاف بين جبن كاميبير وصنف آخر من الجبن الطرى يعرف باسم الليمبرج (Limburg) ففى الجبن الأخير تقوم بالدور الأساسى فى عملية النضج بعض أنواع البكتريا وليس للفطر دخل فى التسوية ، ومن أهم الميكروبات التى يضمها نوعان احدهما عصوى يعرف باسم بكتريوم كازيي ليمبرجنسس (B. casei limburgensis) والآخر كروى يطلق عليه تترا كوكس اكويفاسيان (Tetracoccus liquefaciens) وهما يتعاونان فى المعيشة فيحل ثانيهما الكازين ويكون الاول من نواتج الانحلال نشادر ، والنشادر التى تنتج على سطح هذا الجبن بمقدار كبير اثناء النضج تنتشر تدريجيا الى الداخل

عيوب الجبن

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

أولا — تكوين الغازات

تتكون احيانا بالجبن غازات بكميات كبيرة فتحبس فى الخثرة وتعطى الجبن مظهرا اسفنجيا ويعرف حينئذ باسم الجبن الغازى أو الاسفنجى ، وهذا العيب من أكثر عيوب الجبن شيوعا ، وهو يظهر غالبا فى الأدوار الأولى من النضج وقد يؤدى إلى خسائر اقتصادية جسيمة

وقد عزلت عدة أصناف من الميكروبات المكونة لغازات بالجبن ووجد أنها تنسب إلى طائفة كولاى — ايروجنيس ، وهذه تأتى على الأغلب من تلوث اللبن المستعمل فى الصناعة كما قلنا من جلد الماشية أو روثها أو الماء أو الأوانى ، على انه وجد انها ربما تنتقل فى بعض الأحوال من اصابه ضرع الماشية بالتهاب مسبب عن هذه الميكروبات وحينئذ يحلب اللبن محتوياً عليها

وقد عزلت فى بعض حالات خمائر مخمرة للاكتوز وفى حالات اخرى ميكروبات متجرثمه غير هوائية أى ميكروبات حامض البيوتريك من جبن غازى على أن الغازات الناتجة عن الميكروبات الأخيرة لاتظهر بالجبن إلا بعد انقضاء بضعة أسابيع من صنعه لأنها تنتج من اللكتات التى تحولها إلى بيوترات وللمركبات الأخيرة طعم ورائحة غير مقبولة .

وأهم الاحتياطات التى تساعد على تجنب هذا العيب استعمال لبن نظيف وحفظ الجبن على درجات حرارة منخفضة . كما أن إضافة أزوتات البوتاسيوم أى ملح البارود (Saltpetre) إلى اللبن المراد صنعه جبنا بنسبة تتراوح بين ٢٠ و ٦٠ جراما من الملح المذكور لكل ٢٥ جالونا من اللبن يقلل من خطورة هذا العيب لأن ميكروبات القولون تحصل على الاكسيجين اللازم لها فى هذه الحالة من الأزوتات بدلا من اللاكتوز فتختزل الأولى إلى نشادر وتترك الثانى حيث تحوله بكتريا حامض اللكتيك إلى حامض لكتيك ، على أن الخمائر والميكروبات المتجرثمة غير الهوائية لاتتأثر بوجود ملح البارود .

ثانياً تغيرات الطعم

قد يظهر بالجبن أحيانا طعم مر ينسب رئيسياً إلى عمل الميكروبات التعفنية كما قد يتسبب عن الخميرة توريولا أمارا التى تنتج طعما مراً باللبن وقد يؤدى حدوث تحلل تعفنى بالبروتين إلى إنتاج متحصلات تكسب الجبن طعما ورائحة تعفنية غير مقبولة ، ومن المحتمل أن تكون هذه المتحصلات هى سبب التسمم الناتج أحيانا عن أكل الجبن ويسهل حدوث هذا التحلل بغياب الحموضة المناسبة .

وقد يلاحظ احتواء أحد أصناف الجبن على طعم ورائحة صنف آخر مخالف ، ويعود هذا إلى تلقيح الصنف الأول بميكروبات خاصة بالصنف الثانى ، ويحدث ذلك عند استعمال نفس الأوانى والمعدات فى صناعة أصناف مختلفة من الجبن ، ولملافاة ذلك يجب استعمال أوان وغرف منفصلة لكل صنف وفى حالة صنع أحد الأصناف بدلا من صنف آخر ينبغى تطهير هواء المعمل واستعمال مزارع نقية من الميكروبات الخاصة بالصنف الجديد .

ثالثاً — تغيرات اللون

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

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

أثر البسترة فى صناعة الجبن

ذكرنا فيما سبق أن البسترة لاتستخدم فى صنع بعض أنواع الجبن نظراً لصعوبة صنع هذه الأصناف من اللبن المبستر بالنسبة لبطء تخثره وتفكك الخثرة الناتجة منه ، وينسب ذلك رئيسياً إلى أثر الحرارة فى نقص نسبة أملاح الكلسيوم الذائبة باللبن وهى ضرورية كما قلنا لتخثر اللبن بالمنفحة ، على أن الفوائد التى تعود من استعمال البسترة فى صناعة الزبد قد وجهت الأنظار إلى اتباعها فى صناعة بعض أصناف الجبن ،

وقد أدى استعمالها بالفعل فى أحوال كثيرة إلى نتائج طيبة ، فقد لوحظ مثلا أنه فى حالة صنع جبن تشدر من لبن أجريت بسترته بالطريقة السريعة إلى درجة ١٦٠ — ١٦٥ف (٧١,١ — ٧٣,٩س) وأضيفت اليه الروبة بنسبة ١ - ١½ ٪ وزيدت نسبة المنفحة المضافة اليه قد أدى إلى انتاج صنف أجود من المصنوع من لبن خام سواء من حيث قابليته للحفظ أو من حيث خواصه العامة ، كما وجد أن استعمال طريقة البسترة البطيئة أى التسخين إلى درجة ١٤٥ف لمدة نصف ساعة قد أدى إلى نتائج مماثلة للسابقة ، على أنه ظهر من جهة أخرى أن استعمال درجات حرارة أعلى كثيراً من المذكورة له تأثير سيء على تركيب الجبن

ومن أهم مميزات البسترة فى هذه الحالة ابادة الميكروبات المرضية والميكروبات الاخرى الضارة التى يحويها اللبن الخام ، وتجد الميكروبات الأخيرة الظروف مناسبة لنموها على الأخص فى الوقت الذى يترك فيه اللبن على درجة حرارة مناسبة ليحمض فتؤثر فى طعمه أو رائحته وقد تؤدى إلى انتاج غازات به ومن ثم فان البسترة تحسن نوع الجبن الناتج وتطيل مدة حفظه ، على أنه لما كان اللبن المبستر لا يحتوى إلا على عدد قليل من الميكروبات فانه يتحتم عند استعماله فى صناعة الجبن اضافة الروبة بنسبة ملائمة .

الميكروبات المرضية فى الجبن

دلت التجارب على أن الأدوار التى يمر بها اللبن فى صناعته جبنا من تحميض وتسخين وتنفيح وكبس الخ لا تقضى على ما قد يوجد به من ميكروبات مرضية إذ وجد أن الجبن المصنوع من لبن ناتج من ماشية مصابة بتدرن الضرع أو ملقح بميكروب السل يحتوى على هذا الميكروب حيا فى أحيان كثيرة بعد انقضاء مدة قد تصل إلى بضعة شهور من صنعه ، كما اتضح أن ميكروبات التيفود والدفتريا والحمى القرمزية والاجهاض المعدى يمكن أن تنتقل إلى الانسان إذا تغذى بجبن تحتو عليها غير أن مدة معيشتها فيه تقل كثيراً عن مدة معيشة ميكروب السل . ومن المحتمل أن تكون أصناف الجبن الطرية أشد خطورة فى نقل الامراض من الجبن الجاف نظراً لسرعة استهلاكها ، كما أنه من المشكوك فيه أن تحتفظ الميكروبات المرضية بقدرتها على احداث المرض خلال مدة النضج فى الجبن الاخير.

obeikandl.com

الجزء الثالث

الفحص البكتريولوجي للألبان ومنتجاتها

obeikandl.com

الباب التاسع عشر

أهمية الفحص البكتريولوجى ونظام معامله

أولا : أهمية الفحص البكتريولوجى

كما أن اللبن من أهم مواد الغذاء للانسان والحيوان فهو بيئة صالحة لنمو وتكاثر أغلب أنواع الميكروبات وقد أثبتت التجارب الكثيرة والأبحاث العديدة أن بلبن السوق المعتاد فى معظم الحالات عددا هائلا من الكائنات المذكورة تصل اليه من مصادر شتى كالغبار وروث الماشية والأوانى غير النظيفة والماء الملوث والذباب الخ ، لذلك فان كثرة عددها أو قلته يتوقف إلى حد بعيد على مقدار العناية التى تتخذ فى إنتاجه وتداوله

واحتواء اللبن على عدد كبير من الميكروبات يجعله — كما أسلفنا القول — عرضة لحدوث تغيرات غريبة تضر بطعمه ورائحته وتؤدى إلى سرعة فساده ، كما يحتمل أن تكون من بين هذه الميكروبات أنواع ممرضة يتسبب عنها نقل ونشر بعض الأمراض الخطيرة ، ولهذا فقد عنيت الهيئات الصحية فى أغلب الممالك المتحضرة بوضع قواعد واشتراطات تكفل انتاج اللبن نظيفا خاليا من الميكروبات الضارة صحيا واقتصاديا وعمدت للوثوق من استيفاء القواعد والاشتراطات إلى تفتيش محال الانتاج وفحص عينات من ألبان كل منتج فحصا بكتريولوجيا فى فترات دورية متقاربة الآجال حماية للمستهلك من خطر الألبان الملوثة ومنعاً للمنافسة الغير المشروعة بين الذين يراعون الدقة فى الأخذ بقواعد النظافة مضحين بالوقت والمال فى سبيل إنتاج ألبانهم نقية وبين الذين يهملون إتباع هذه القواعد فينتجون ألباناً شديدة التلوث بالميكروبات .

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

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

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

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

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

ولا يقتصر الأمر على اتخاذ نتائج الفحص البكتريولوجى للبن أساسا لمكافأة المتفوقين فى نظافة الانتاج بل تتخذها الهيئات الصحية فى بعض الأحيان وسيلة لمجازاة من يتعمد إهمال القواعد الصحية الأساسية فى إنتاج اللبن وصيانته وتداوله .

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

ثانيا : المعدات اللازمة للتحاليل البكتريولوجية

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

(١) الأجهزة :

عدد	نوع
١	ميكروسكوب كامل مجهز بعدسة زيتية
١	معقم بالهواء الساخن
١	أوتوكلاف (معقم بالبخار تحت الضغط)
١	معقم بالبخار على ضغط الجو العادى
٣	محضن (Incubator)
١	ميزان وعلبة أثقال
١	آلة اختبار الرامب
١	حمام مائى

(٢) الأدوات الزجاجية . الخ :

عدد	نوع
٢٠٠	طبق بترى
٦	صندوق لأطباق بترى يسع الواحد ١١ طبقا
١٥٠	ماصة سعة ١ سم^{٣} مستقيمة بدون فقاعة
٦	صندوق لتعقيم الماصات السالفة الذكر (٤٥ سم × ٦ سم)
٣٦	ماصه سعة ١٠ سم^{٣} مستقيمة بدون فقاعة
٦	ماصه سعة $\frac{1}{10}$ سم^{٣}
١٢	زجاجة عينه
٢٤	زجاجة إرلنماير سعة ١٠٠ سم^{٣}
٢٤	« « « ٣٠٠ سم^{٣}
٦	« « « ٢٠٠٠ سم^{٣}
٣	مخبار أحدها سعة ١٠٠ سم^{٣} والثانى سعة ٥٠٠ سم^{٣} والثالث سعة ١٠٠٠ سم^{٣}
٦	قمع ترشيح بعضها قطره ٨ بوصات والبعض ٣ بوصات
١٢	كأس زجاجية سعة ٣٠٠ ، ١٠٠٠ ، ٢٠٠٠ سم^{٣}
٨٠٠	أنبوبة اختبار
٦	حامل خشبى لأنابيب الاختبار يسع الواحد ١٢ أنبوبة
٢٠٠	أنبوبة درهام الاختمارية
٢	سحاحة (سعة ٥٠ سم^{٣})
١٢	سلة سلك (١٥ × ١٥ × ١٥ سم)
٣	وعاء مزدوج الجدران من الصاج لعمل البيئات سعة ١ ، ٢ ، ٣ لتر
٣	كوز من الصاج سعة ٥٠٠ سم^{٣}
٤	ترمومتر مدرج الى ١١٠ ، ٣٠٠° سنتيجراد
١٢	زجاجة بقطارة سعة ٣٠ سم^{٣}
٢٤	زجاجة ذات فوهة ضيقة سعة ٢٥٠ سم^{٣}
٦	إبرة للتلقيح
٤	مصباح بنزن
٢	قمع ترشيح ساخن
٣	حامل حديد ذو ثلاثة أرجل

obeikandl.com

٢٠٠	شريحة ميكروسكوبية
٢	جردل من الصاج للغسيل

هذا عدا مايلزم من القطن الطبي بنوعيه الماص وغير الماص وورق الزبد وورق الترشيح من مقاسات مختلفة وأقلام الشمع وفرش تنظيف الانابيب وأنابيب المطاط لمصابيح بنزن وسدادات المطاط من مقاسات مختلفة وقضبان زجاجية .

(٣) المواد الكيماوية والاصباغ

عدد	نوع
٢	كيلو آجار
٠,٥	« بيتون
٠,٥	« لمكو
٠,٥	« ملح الصفراء
٠,٥	« لاكتوز
٠,٥	« كلورور الصوديوم
١	لتر محلول إيدروكسيد الصوديوم أساسى
١	لتر محلول إيدروكسيد الصوديوم عشر أساسى
١	كيلو حامض كلورودريك تجارى
١	كيلو حامض كبريتيك تجارى
٢	كيلو صودا الغسيل
٢	كيلو ديكرومات البوتاسيوم
٥٠	جرام أزرق الميثيلين
٥٠	« فوكسين قاعدى
١٠	« فوكسين حمضى
١٠٠	سم٣ محلول بروم ثيمول أزرق
٣	لتر كحول نقى
١	لتر زيلول
٠,٥	كيلو فينول
	ماء مقطر

obeikandl.com

ويجدر بنا أن نشير إلى أن الانابيب والماصات والاطباق وغيرها من الادوات الزجاجية يجب أن تكون من نوع جيد ومن زجاج سميك لا يتأثر بتكرار عمليات الغسيل والتعقيم الخ وإن المواد الكيماوية التى تستعمل فى عمل البيئات وغيرها يجب أن تكون نقية من نوع جيد مضمون .

ثالثا : كيفية اعداد الأدوات والمواد لاستعمالها فى الأشغال البكتريولوجية

أولا : معاملة الاوانى الزجاجية الجديدة :

من المهم جدا فى الفحص البكتريولوجى للحصول على نتائج موثوق بها أن يعنى بمعاملة الاوانى الزجاجية الجديدة قبل الاستعمال بطريقة تكفل إزالة ماتحويه من مواد قلوية إذ أن وجود هذه المواد ولو بمقادير طفيفة يؤدى إلى تغير تأثير السوائل والبيئات التى توضع بها وهذا يؤثر فى البكتريا التى تنمو عليها . والطرق المتبعة لبلوغ هذا الغرض كثيرة منها غلى الاوانى الزجاجية كأنابيب الاختبار وأنابيب درهام وأطباق بترى فى محلول ١ ٪ حامض كلورودريك تجارى لمدة ربع ساعة فى وعاء من الصاج ثم غسلها جيدا بالماء لإزالة آثار الحامض منها وأحيانا توضع فى الماء أو تملأ به ثم تسخن بيخار تحت الضغط حرارته ١٣٥° سنتجراد ويعقب ذلك شطفها بمحلول ١ ٪ حامض كلورودريك وأخيرا تغسل بالماء عدة مرات . وقد يكتفى أحيانا بوضع الادوات الزجاجية التى لاتتحمل المعاملة السابقة مدة عشرين ساعة فى محلول منظف مجفف مركب كالآتى :

٦٠ جرام ديكرومات البوتاسيوم
٣٥ سم٣ حامض كبريتك تجارى
١٠٠٠ سم٣ ماء

ويحضر المحلول المذكور باذابة الديكرومات فى ماء دافىء ثم تبريده واضافة الحامض اليه ببطء مع التقليب المستمر

ونغسل الاوانى بالماء عدة مرات بعد معاملتها بالمحلول المنظف

ثانيا : معاملة الاوانى الزجاجية المستعملة :

وكما تجدر العناية بمعاملة الادوات الزجاجية الجديدة قبل الاستعمال ينبغى كذلك الاهتمام بتنظيف الاوانى المستعملة قبل اعادة استعمالها مرة ثانية . فالاوانى التى استعملت فى زرع البكتريا كالانابيب وأطباق بترى مثلا تعقم بالبخار تحت الضغط على حرارة ١٢٨ أو ١٣٥° سنتجراد وهذه المعاملة تطهر الاوانى المذكورة وتذيب البيئات الصلبة الموجودة بها كالآجار وبذا يسهل تنظيفها وبعد ذلك تنقل عادة وهى ساخنة من جهاز التعقيم إلى حوض أو صهريج يحتوى على ماء ساخن فتنظف فيه الانابيب بواسطة فرشاه خاصه والاطباق بقطعة قطن ثم تشطف جيداً بماء ساخن نظيف ويفضل أحياناً استعمال محلول صودا ساخن (قوته حوالى ٥ ٪) بدلا من الماء الساخن لمعاملة الاوانى العسرة التنظيف المحتوية على بقايا لبن أو نحو ذلك ويستعمل أحيانا فى الحالة الاخيرة محلول للغسل والتنظيف مركب كالآتى :

٢٥٠ جرام صودا الغسيل
١٠٠ جرام صابون طرى
١٠ لتر ماء

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

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

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

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

(٢) توضع الماصات فى إناء يحتوى على محلوم ٢ ٪ صودا كاوية لمدة ساعتين على الاقل ثم تغسل بماء ساخن وتترك ليتصفى مابها من بقايا الماء وتغسل بعدئذ بالاسيتون (Acetone) بواسطة حلمه من المطاط تركب على طرفها العلوى ويمص السائل المذكور فيها ويطرد بضع مرات وتزال بقاياه منها بماء ساخن وأخيراً تغسل بماء مقطر ويصفى الماء وتجفف قبل التعقيم .

(٣) تغمس الماصات فى محلول الصودا السالف الذكر ويسخن الوعاء الذى يحويها بالبخار لمدة ½ ساعة ثم تستخرج من المحلول وتصفى وتوضع فى وعاء آخر يحتوى على حامض مخفف لمدة بضع دقائق وأخيراً تشطف بالماء وتجفف ثم تعقم .

والأوانى الزجاجية التى يتعسر تنظيفها على العموم بالطرق السابقة الذكر توضع لمدة ١٥ دقيقة فى محلول منظف قوى تركيبه كالآتى: —

٤٠ جرام ديكرومات البوتاسيوم
٢٣٠ سم ٣ حامض كبريتيك تجارى
١٥٠ سم ٣ ماء

وتستعمل كذلك طرق خاصة فى تنظيف الشرائح الميكروسكوبية سواء منها الجديد أو المستعمل ومن هذه الطرق غليها فى المحلول المنظف المخفف لمدة ½ ساعة ثم غسلها جيدا بالماء ، أما الشرائح المستعملة فيفضل دعكها بصابون بروك (Brooke's soap) عقب معاملتها بالطريقة السابقة ثم أعادة غسلها بالماء وإذا أريد الحصول على شرائح غاية فى النظافة فيستحسن أن توضع عقب معاملتها بالمحلول المنظف المخفف فى المحلول المنظف القوى لمدة ساعة أو ساعتين ثم تغسل بالماء وتحفظ مغموسه فى كحول ٥٠ ٪ فى أناء محكم القفل لحين الحاجة إليها على أن تغسل بالماء وتجفف قبل الاستعمال مباشرة .

ثالثا : تعقيم الأدوات والبيئات :

يشترط فى الأوانى والمود التى تستعمل فى الأشغال البكتريولوجية وخاصة مايستخدم منها فى زرع البكتريا أن تكون معقمة اى خالية تماما من جميع الميكروبات الحية فالأوانى الزجاجية التى أسلفنا ذكرها بعد التأكد من نظافتها والبيئات بعد تحضيرها بالطرق التى سيرد ذكرها فيما بعد تعامل كل منها قبل الاستعمال بطريقة خاصة تضمن إبادة ماتحويه من ميكروبات وتمنع تلوثها بميكروبات تصل إليها من الخارج وسنجمل فيما يلى طرق التعقيم الرئيسية المستعملة فى تحضير الأدوات اللازمة للفحص البكتريولوجى للألبان .

يمكن إبادة البكتريا فى مادة ما إما بتعريضها لفعل الحرارة أو للمطهرات الكيماوية على أنه لاينصح باستعمال الأخيرة فى الاعمال المتعلقة بفحص اللبن بكتريولوجيا نظراً لتعذر إزالتها من المواد والأدوات ولأن بقاءها بها ولو بمقادير ضئيلة جداً يؤثر فى نمو البكتريا التى تزرع فيها .

والتعقيم بالحرارة يجرى بطرق ثلاث رئيسية نلخصها فيما يأتى : —

(١) التعقيم بالهواء الساخن (Hot air)

يستعمل لهذا الغرض جهاز يعرف باسم « المعقم بالهواء الساخن » (Hot air steriliser) وهو عبارة عن فرن معدنى مزدوج الجدران يسخن بغاز الاستصباح أو الكهرباء وتعقم فيه الادوات الزجاجية التى تتحمل الحرارة العالية كالاطباق والماصات بعد وضعها فى صناديق اسطوانية خاصة مصنوعة من التيكل أو من النحاس ، وقبل تعقيم الماصات يلزم وضع سدادات قطنية (Cotton plugs) فى طرفها العلوى طولها ١,٥ — ٢ سم بواسطة قطعة سلك رفيعة وينبغى ألا تبرز السدادة خارج الماصة وألا تكون كبيرة لدرجة تعوق عملية مص السائل أو صغيرة جداً بحيث لاتخرج عند نفخ السائل من الماصة ، كما يمكن تعقيم زجاجات العينة بهذه الطريقة كذلك .

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

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

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

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

ويجرى التعقيم عادة بهذه الطريقة إما على درجة ١٧٠ سنتجراد لمدة ساعة أو على درجة ١٦٠ سنتجراد لمدة ساعة ونصف ساعة وزيادة فى الاحتياط ينصح باجراء التعقيم على درجة ١٦٠ — ١٧٠ لمدة ساعتين

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

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

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

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

يستخدم فى هذه الطريقة جهاز معروف باسم « الأوتوكلاف » (Autoclave) مصنوع من النحاس أو الصلب ذو غطاء سميك يحكم قفله بواسطة مشابك لولبية . يوضع الماء فى قاعه وتوضع الأدوات المراد تعقيمها على افريز كالمذكور فى الجهاز السابق أو فى وعاء حديدى مثقب الجدران يرتكز على القاع

ولاجراء العملية يحكم قفل الجهاز ويسخن الماء بالغاز أو بالكهرباء فيطرد الهواء الموجود بداخله أولا من صنبور خاص ثم يقفل الصنبور فيزداد ضغط البخار وترتفع حرارته عن درجة ١٠٠ سنتجراد ، وتعرض درجة الحرارة ومقدار ضغط البخار فى داخل الجهاز أثناء تشغيله بواسطة ترمومتر ومقياس للضغط (Pressure gauge) ، ويطفأ اللهب عند وصول الضغط إلى الدرجة المطلوبة ولا يفتح الجهاز قبل أن يبرد.

وتصلح هذه الطريقة لتعقيم جميع الأدوات كالأنابيب والقنينات وزجاجات العينة ذات السدادات من المطاط الخ وكذلك البيئات ماعدا ما اشتمل منها على مواد يحتمل تحللها إذا عرضت للحرارة العالية

ويجرى التعقيم فى الأوتوكلاف عادة إما برفع الحرارة إلى درجة ١٢٨ سنتجراد (١,٥ ضغط جوى أى ٢٢,٥ رطل للبوصة المربعة) وإطفاء اللهب فى الحال أو بالتسخين إلى درجة ١٢١ سنتجراد (ضغط جوى واحد أى ١٥ رطلا للبوصة المربعة) وابقاء الحرارة على الدرجة المذكورة لمدة ½ ساعة .

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

رابعا : تأثيث معمل التحاليل البكتريولوجية

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

بسيطة تجرى بها كافة العمليات ، أما معامل المصانع المتوسطة فيلزم لها حجرتان وتخصص إحداهما للغسيل والتعقيم وتحضير البيئات والثانية للفحص ولكن معامل التحاليل التى يختبر فيها عدد كبير من العينات يزيد عن المائتين أو الثلثمائة فى الاسبوع تتكون غالبا من ثلاث حجرات احداها للغسيل والثانية لتحضير البيئات والتعقيم والثالثة للفحص

ويشترط فى حجرات معمل الفحص عموما أن تكون جيدة التهوية والاضاءة وأن تطلى حيطانها وتصنع أرضيتها من مواد يسهل غسلها وتنظيفها وينبغى أن تراعى فيها النظافة التامة وعدم تراكم الغبار فى أى جزء من اجزائها أو على الأجهزة أو المعدات الأخرى . ويحسن أن توصل إليها أنابيب الغاز والكهرباء وأن تجهز بمسخن لامداد المعمل بالماء الساخن اللازم للغسيل .

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

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

خامساً : القواعد الواجب مراعاتها فى معمل الفحص

قبل أن ننتهى من الكلام عن نظام معامل الفحص يحسن سرد أهم القواعد العامة الواجب مراعاتها فى معامل الفحص البكتريولوجى وهى :

(١) ضرورة العناية بتنظيف الايدى على الدوام وتطهيرها بين آونة وأخرى بمطهر خفيف مثل محلول ٥ ٪ حامض الكربوليك

(٢) الاحتياط التام من وصول مواد معدية (Infectious material) إلى سطوح المناضد أو أرضية المعمل فاذا حدث ذلك وجب مسحها فى الحال بخرقة مبللة بمحلول مطهر

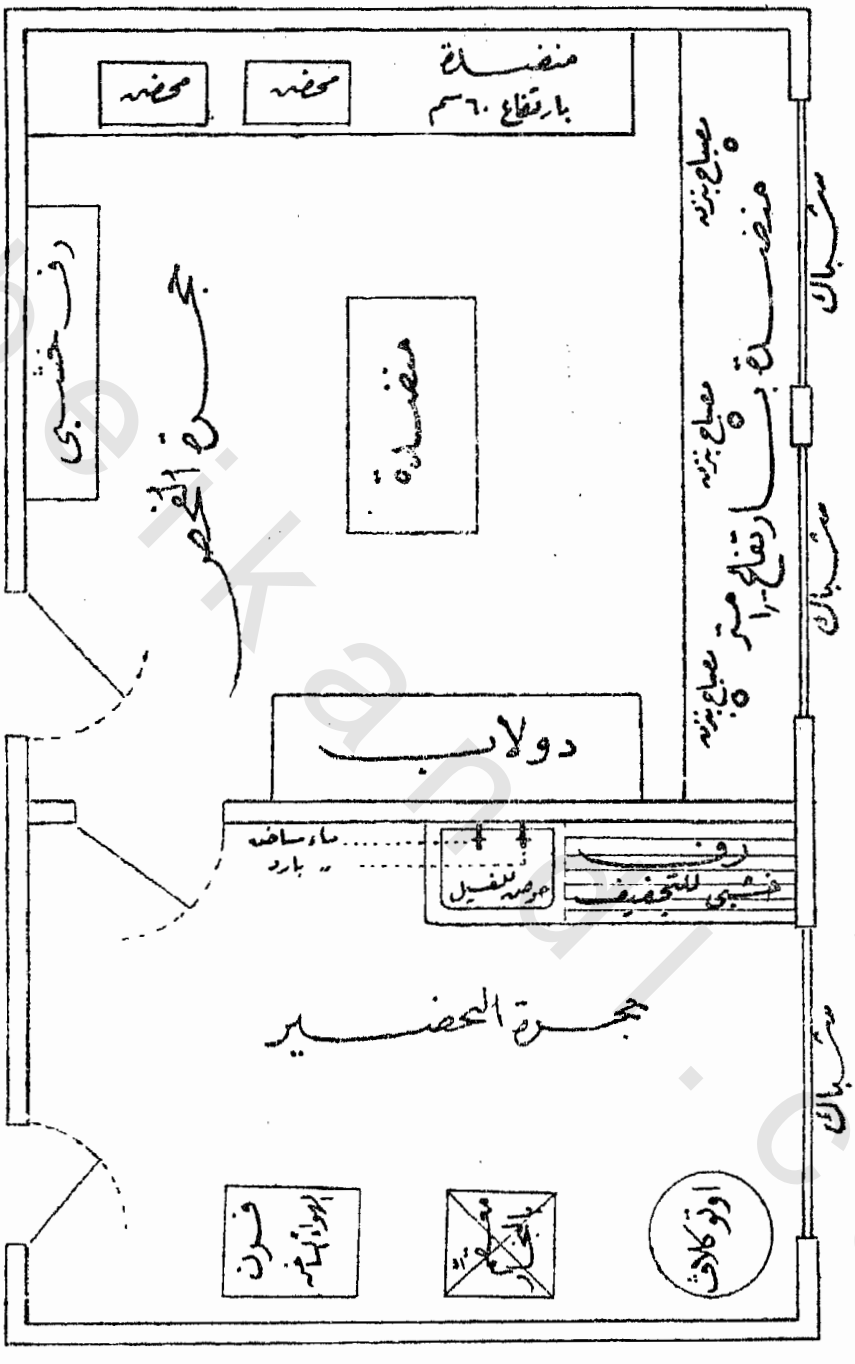
(٣) عدم ترك الاوانى المستعملة كالانابيب والاطباق الخ على المناضد عقب الفراغ من استعمالها بل يلزم غمسها فى محلول مطهر أو تعقيمها مباشرة .

(٤) تعقيم ابر التطعيم دائما بتسخينها فى اللهب لدرجة الاحمرار قبل استعمالها ثم بعد أن تستعمل مباشرة قبل وضعها على الحامل الخاص بها أو على المنضدة

(٥) تجنب لعق أوراق اللصق باللسان بل تبلل بنقطة ماء أو بمحلول مطهر قبل لصقها

(٦) وقايه الملصات والاطباق المعقمة من التلوث بوضعها فى صناديق معقمة مقفلة خاصة بها حين الحاجة اليها

(٧) تمسك الانابيب والقنينات المعقمة عند فتحها فى وضع أفقى بقدر الأمكان وتعقم فوهاتها بمرورها فى اللهب بعد نزع غطاءها وقبل أن يعاد الغطاء مكانه



(شكل ٣١) رسم تخطيطى لمعمل فحص متوسط

(٨) تحفظ المزارع البكتيرية على الدوام فى الظلام بعيداً عن الغبار.

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

(١٠) لا يثار الغبار بالمعمل فى أثناء ساعات العمل على الاطلاق ويراعى أن تكون حجرة الفحص خالية من التيارات الهوائية وإلا وجب إغلاق الباب والنوافذ أثناء إجراء الاختبارات

الباب العشرون

طرق اخذ عينات اللبن للفحص البكتريولوجى

عند أخذ عينة من اللبن للفحص البكتريولوجى يشترط مراعاة النقط الآتية بدقة :

(١) أن تكون العينة ممثلة لجميع اللبن المراد اختباره ، وذلك يستدعى خلط اللبن خلطا جيدا وجعله متجانسا تماما قبل أن تؤخذ العينة لأن بعض البكتريا تطفو مع حبيبات الدهن على السطح كما ان بعض كتل البكتريا والمواد الغريبة ترسب إلى القاع عند ترك اللبن مدة من الزمن دون رجه

(٢) الاحتياط التام من تلوثها بميكروبات خارجية وذلك بعدم تعرضها للغبار أو الذباب واستعمال أدوات خاصة لهذا الغرض يكون قد سبق تنظيفها وتعقيمها تعقيما كاملا وحفظها فى أوان محكمة السد

(٣) اتخاذ الوسائل التى تضمن سرعة وصولها إلى معمل التحاليل بحيث لا تمضى مدة طويلة بين حلب اللبن وفحص العينة ، إذ بمرور الوقت يزداد تدريجيا عدد البكتريا التى توجد به خصوصا عند حفظه على درجة حرارة مرتفعة .

(٤) حفظ العينة أثناء النقل على درجة حرارة منخفضة ويستعمل عادة لهذا الغرض صندوق تبريد خاص

(٥) تجنب كثرة رج العينة أثناء النقل حتى لا تتفتت الكتل البكتيرية (Clumps) الكبيرة نوعا إلى كتل صغيرة أو خلايا متفرقة مما ينشأ عنه ازدياد عدد البكتريا الكلى الناتج بطريقة الأطباق التى سيأتى وصفها فيما بعد عند فحص العينة .

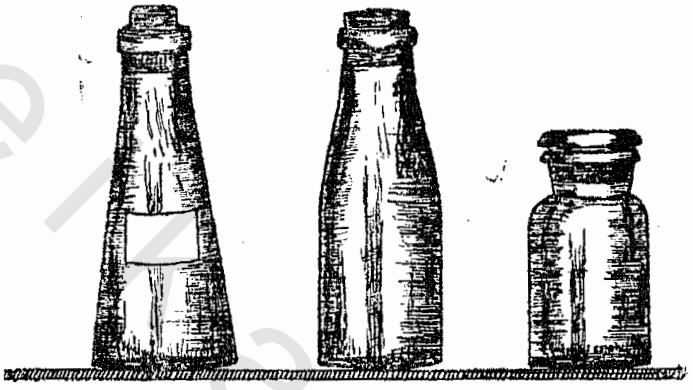
أولا : الأدوات اللازمة لأخذ العينة

يلزم لأخذ العينة بطريقة صحيحة عدة أدوات خاصة أهمها ما يأتى :

(١) زجاجات العينة : يستعمل فى أخذ العينة زجاجات (Sample bottles) ذات أشكال وأحجام مختلفة ولكن أكثرها ملاءمة لهذا الغرض هى الأنواع الثلاثة المبينة بشكل ٣٢. وهى كما يرى إما أن تكون اسطوانية أو مخروطية وذات غطاء من المطاط أو من الزجاج المصنفر والنوع الاخير يفضل الاول خصوصا ما كان منه ذا حافة منثنية إلى أسفل بحيث تقى فوهة الزجاجة من التلوث من الاصابع أو المواد المتساقطة من الجو ، وقد يصنع الغطاء أحيانا من المعدن ويبطن بطبقة من المطاط .

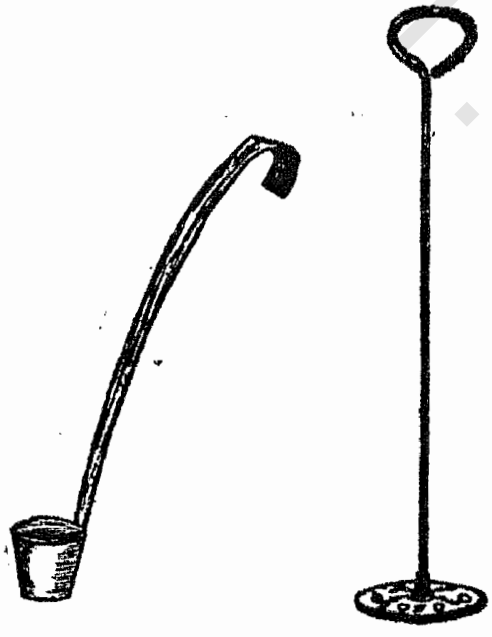
وتتراوح سعة زجاجات العينة بين ٩٠ و ١٨٠ سم٣ وتصنع من زجاج جيد مقاوم للحرارة خال من المواد القلوية بقدر الامكان .

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



(شكل ٣٢) بعض انواع زجاجات العينة

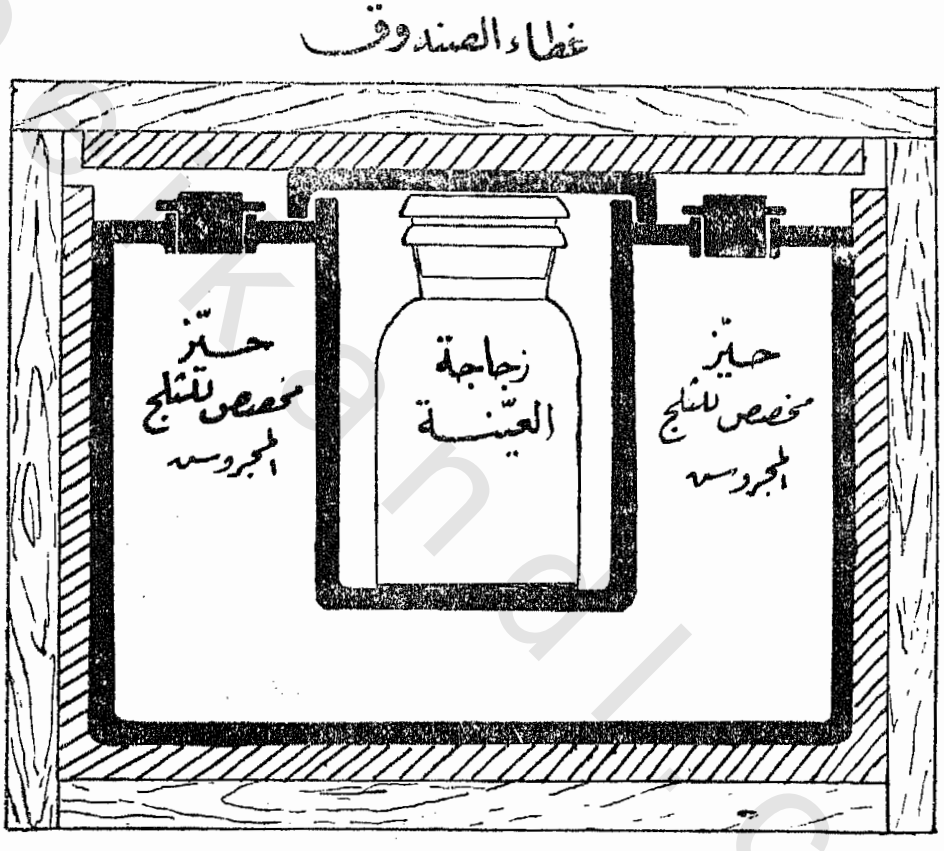
(٢) الخالط والكوز : ويستعمل فى أخذ العينة كذلك خالط (plunger) خاص يتركب من قرص معدنى مثقب مثبت فى نهاية قضيب طويل من المعدن ينتهى بمقبض (أنظر شكل ٣٢) كما يستعمل وعاء على هيئة كوز (dipper) يثبت فيه ذراع طويل منحن قليلا ذو طرف ملتو (شكل ٣٢) وهو أما أن يصنع



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

من الحديد غير القابل للصدأ أو من الالومنيوم أو النحاس المغطى بالقصدير ، ويعقم كلا الخالط والكوز قبل الاستعمال بعد لفهما فى ورق الزبد أو الورق المشمع أو وضعهما فى وعاء خاص من المعدن بنفس الطريقة المتبعة فى تعقيم زجاجات العينة .

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



(شكل ٣٤) صندوق التبريد

ثانيا : طرق أخذ العينة

Methods of Taking Samples

تستعمل عدة طرق فى أخذ عينات اللبن كل منها تناسب حالة خاصة وسنبين فيما يلى تلك الطرق مع ذكر الاحوال المختلفة التى تستعمل فيها

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

(ا) يرفع غطاء الصفيحة باليد اليسرى ويمزج اللبن الذى تحويه بواسطة خالط معقم باليد اليمنى ويجرى المزج بغمس الخالط فى اللبن حتى يصل إلى قاع الوعاء تقريبا ثم يرفع الى السطح وتكرر هذه العملية عشر مرات على الاقل وبعدئذ تؤخذ العينة بواسطة الكوز المعقم وتصب فى زجاجة العينة ، وينبغى الحذر من ان تلمس اليد أو أى جسم آخر غير معقم أجزاء الخالط والكوز التى تغمس فى اللبن ، كما يراعى عند صب العينة فى الزجاجة ان يرفع عنها الغطاء باحتراس ويمسك بين اصابع إحدى اليدين أو يوضع على منضدة مرتكزاً على الجزء الخارجى منه فى حين تمسك الزجاجة قريبا من قاعدتها فى وضع أفقى بقدر الامكان وتصب فيها عينة اللبن بحذر حتى تملأ ثلاثة أرباعها تقريبا ثم يعاد الغطاء مكانه ويحتاط أثناء هذه العملية من تلوث اللبن أو سدادة الزجاجة أو فوهتها ، وينبغى ألا يرفع غطاء الزجاجة بعد صب اللبن فيها الا عند الضرورة القصوى .

واتباع الطريقة المذكورة فى مزج اللبن يضمن تجانسه وتوزيع حبيبات الدهن والميكروبات فيه بالتساوى وهى تفضل كثيرا المزج بحركة رحوية .

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

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

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

(ب) يستعمل أحيانا بدلا من الخالط والكوز أنبوبة مفتوحة الطرفين مستقيمة مصنوعة من الزجاج أو الالومنيوم يزيد طولها قليلا عن ارتفاع صفائح اللبن ويبلغ قطرها الداخلى حوالى ½ بوصة وهذه تعقم فى الأوتوكلاف قبل الاستعمال ، وعند أخذ العينة بهذه الطريقة يرفع الغطاء عن صفيحة اللبن ثم تمسك الأنبوبة من طرفها العلوى فى وضع عمودى وتغمس فى اللبن ببطء حتى تصل إلى قاع الصفيحة فتقفل فتحتها العلوية بالابهام وتسحب باحتراس ثم تصب محتوياتها فى زجاجة العينة مع اتخاذ الاحتياطات السالف ذكرها

لمنع التلوث أثناء هذه العملية وليس من الضرورى خلط محتويات الصفيحة قبل أخذ العينة بهذه الطريقة .

وتستعمل أنبوبة معقمة خاصة لكل صفيحة إذا كان عدد الصفائح قليلا أما إن كان كبيرا فتستعمل أنبوبتان أو ثلاث بالتناوب على أن تنظف وتعقم فى أثناء أخذ العينات بالكيفية المشروحة فى الطريقة السابقة

ومع أن هذه الطريقة مستعملة فى كثير من المعامل الأمريكية (وهى لذلك تعرف غالبا باسم الطريقة الأمريكية) إلا أن الطريقة السابقة تفضلها من عدة وجوه ولذلك فهى المتبعة فى أغلب الأحايين .

(ح) فى الأحوال التى تصب فيها محتويات الصفائح الواردة من كل منتج على حدة فى صهريج الوزن عند وصولها إلى المعمل أو الى محطة الاستلام تؤخذ العينة مباشرة من الصهريج المذكور بواسطة كوز معقم وتصب فى زجاجة العينة حسب الوصف السابق . ولهذه الطريقة بعض العيوب من أهمها أن اللبن النظيف الذى يوضع فى صهريج الوزن قد يتلوث ببقايا لبن غير نظيف لأن مثل هذا الصهريج لا يعقم عادة بين مرات الاستعمال لذلك لا ينصح باتباع هذه الطريقة عند أخذ عينات من ألبان عدة موردين لفحصها تمهيد المكافأة كل منهم بحسب درجة نقاوة ألبانه .

(ى) اذا كانت صفائح اللبن صغيرة الحجم فيحسن قفل كل منها بإحكام وقلبها ثم اعادتها لوضعها الأصلى بضع مرات وبذلك تمزج محتوياتها جيدا ، كما يمكن اجراء المزج بصب اللبن من الوعاء الأصلى الى وعاء آخر معقم ثم اعادته الى الوعاء الاول وتكرر هذه العملية أربع أو خمس مرات وأخيرا يصب مقدار متناسب من اللبن فى زجاجة العينة

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

يعبأ اللبن أحيانا عند نقله إلى مسافات بعيدة فى صهاريج كبيرة مثبتة على عربات السكة الحديد أو على سيارات خاصة ويبلغ ماتسعه كل من هذه الصهاريج ٢٠٠٠ إلى ٣٠٠٠ جالون ، ويصعب كثيراً أخذ عينة من مثل هذه الصاريج عن أخذها من الصفائح الصغيرة المعتادة بالطرق السالفة الذكر لأن طبقة القشدة التى تتكون على سطح اللبن فى الصهريج أثناء المدة الطويلة نسبياً التى تمضى بين تعبئة اللبن ووصوله إلى المعمل تكون سميكة جداً فيتعذر لذلك خلط محتويات الصهريج وأخذ عينة من فتحته العلوية كما أنه ليس من المناسب أخذ عينة من صنبور التفريغ السفلى لأن مثل هذه العينات لا تمثل جميع اللبن .

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

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

إذا أريد أخذ عينة من اللبن أثناء توزيعه على المستهلكين فتستعمل لذلك طرق خاصة تخالف ماذكر سابقا ، ومن أكثر هذه الطرق استعمالا قلب الزجاجة وإعادتها بسرعة إلى وضعها الأول ٢٥ مرة مع

تحريكها حركة دورية فى أثناء هذه العملية وبذلك يمكن خلط طبقة القشدة باللبن بقدر الأمكان ثم يرفع غطاء الزجاجة ويصب حوالى ربع محتوياتها فى وعاء آخر ويعاد الغطاء مكانه ويوضع فوقه غطاء آخر معقم وترج الزجاجة ٢٥ مرة بحيث ترفع فى كل مرة حوالى ٣٠ سنتيمتراً ثم تخفض بسرعة . وتتبع أحيانا طريقة أخرى وفيها تصب محتويات الزجاجة جميعها فى زجاجة أخرى معقمة أكبر حجما من الأولى وهذه تقفل بغطاء الزجاجة الأصلية ويوضع فوقه غطاء آخر معقم ثم ترج الزجاجة بالطريقة السالفة الذكر .

وقد يصعب أحيانا أخذ عينة جيدة من الزجاجات التى تكونت على سطح اللبن فيها طبقة سميكة من الدهن ملتصقة بغطاء الزجاجة .

(٤) طريقة أخذ عينة من ماشية الحليب :

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

ثالثاً : تدوين البيانات الخاصة بالعينة

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

(١) يوم ووقت حلب اللبن .

(٢) يوم ووقت أخذ العينة .

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

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

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

(٦) إذا كان اللبن قد اجرى تصفيته وتبريده

(٧) درجة حرارة العينة عند أخذها

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

رابعاً : نقل العينات الى المعمل وحفظها لحين الفحص

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

من محل أخذ العينة أوكل أمر نقلها إلى أحد الاشخاص الموثوق بهم وسلمت باليد اما ان بعدت المسافة بينهما وجب سرعة ارسالها بالبريد ويستعمل أحيانا فى الحالة الاخيرة بدلا من زجاجات العينة الاسطوانية الشكل زجاجات مربعة لكى يسهل إرسالها فى صندوق خاص من الورق المقوى بعد لفها بطبقة من القطن حتى لاتتعرض للكسر أثناء النقل ويحسن تبريدها قبل الارسال إلى درجة تقل عن ٥٠ فهرنهيت بوضعها فى وعاء يحتوى على ثلج مجروش

والطريقة المثلى لنقل العينات إلى مسافات بعيدة خصوصا عند اشتداد الحرارة فى زمن الصيف هى استعمال صندوق التبريد السابق وصفه وإحاطتها بالثلج المجروش وبذلك يمكن حفظها على درجة حرارة منخفضة لحين وصولها الى المعمل ، وهذه الطريقة تناسب نقل وحفظ العينات المعدة للفحص بجميع الاختبارات البكتريولوجية التى سيأتى ذكرها على أنه يجوز إضافة بعض المواد الحافظة إلى العينة فى حالة ما إذا اريد فحصها وعد محتوياتها من البكتريا بطريقة الميكرسكوب فقط ، وعندئذ لاتكون هناك ضرورة لوضعها فى الثلج وعادة تضاف نقطتين أو ثلاث من محلول ٤٠٪ فورمالدهيد لكل ١٠ سم٣ من عينة اللبن

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

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

الباب الحادى والعشرون

تقدير عدد البكتريا فى اللبن

Determination of the Total Bacterial Content of Milk

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

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

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

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

أولا — طريقة الأطباق (Plate Method)

ثانياً — « بريد (Breed's »)

ثالثاً — « فروست (Frost's »)

رابعاً — « بورى (Burri's »)

(١) : طريقة الأطباق

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

وزارتى الصحة والزراعة الانجليزيتين ومن مصلحة الصحة الأمريكية .

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

(١) الأدوات اللازمة للاختبار

يلزم لاجراء هذا الاختبار أدوات كثيرة أهمها الآتية :

ا — أطباق بترى (Petri dishes) : وهى عبارة عن أطباق زجاجيـــة مستديرة ذات غطاء ، والنوع الشائع الاستعمال منها قطره ١٠ سنتمترات وعمقه ١٠ ملليمترات . ويشترط أن يكون قاعه مسطحا تماما وليس به تعاريج حتى إذ ماوضع به الأجار تكونت منه طبقة منتظمة السمك .

ب — أنابيب الماء المعقم (أو المحلول الملحى) : يستحسن أن تكون أنابيب الاختبار المحتوية على الماء المعقم المستعمل فى التخفيف ذات مقاس ثابت والنوع المفضل هو بالمقاس الآتى : ٦ بوصة × ٣/٤ بوصة وقطرها الدخلى ١٦,٥ ملليمتر وسنشرح طريقة تحضيرها فى مكان آخر .

حـ — أنابيب بيئة الأجار : النوع الشائع الاستعمال من هذه الأنابيب مقاسه كالآتى : — ٦ بوصة × ٥/٨ بوصة وقطرها الداخلى ١٣,٥ ملليمتر وسنذكر كيفية تحضير بيئة الأجار فيما بعد .

د — ماصات سعتها سنتيمتر مكعب : ينبغى أن تكون من النوع المستقيم (أى غير المحتوى على قفاعه) وأن تكون بالمقاس الآتى : —

الطول	٣٠٠ ملليمترا
القطر الخارجى	٧,٥ — ٨,٥ ملليمتر
« الداخلى	٢,٦ — ٣ ملليمترات
الطول من علامة ١ سم٣ الى فم الماصة	١٤٠ — ١٨٠ ملليمترا
« « « « « الطرف العلوى	١٢٠ — ١٦٠ ملليمترا

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

الحرارة الى درجة ٣٧ سنتجراد تتمدد الكبسوله فترفع ذراع خاص وبذلك ينقطع التيار الكربائى أو يحجز الغاز جزئيا فينخفض اللهب ، وعند انخفاض الحرارة عن الدرجة المذكورة تنكمش الكبسوله فيتصل التيار الكهربائى أو يرتفع اللهب وتبدأ عملية التسخين مرة أخرى وبهذه الكيفية تبقى حرارة المحضن ثابتة طول الوقت .

وغنى عن القول أن الأطباق وأنابيب الماء والأجار والماصات يجب أن تكون تامة التعقيم قبل استعمالها فى الاختبار ، وقد سبق أن فصلنا طريقة تعقيم الأطباق والماصات وستأتى ذكر طريقة تعقيم بقية الادوات المذكورة عند الكلام عن طريقة تحضيرها .

(٢) تحضير بيئة الأجار

لكى يتيسر عد الميكروبات التى يحويها اللبن بطريقة الأطباق يلزم انمائها على بيئة صناعية ذات تركيب خاص كما نوهنا إلى ذلك من قبل ، ومثل هذه البيئة يشترط فيها عدة شروط أساسية نجملها فيما يلى :

(١) أن تشمل على المواد الغذائية الضرورية لنمو تلك الميكروبات .

(٢) أن تكون ذات تأثير أو تفاعل (reaction) مناسب لنموها كذلك

(٣) أن تكون جامدة حتى ينشأ عن نمو الميكروبات عليها مجموعات منفصلة يسهل عدها .

(٤) أن تكون شفافة بحيث ترى فيها المجموعات بسهولة .

وقد استعملت أنواع كثيرة من البيئات لعد البكتريا فى اللبن إلا أننا سنكتفى ببيان تركيب أهم المستعمل منها وطريقة تحضيره .

البيئة الأولى

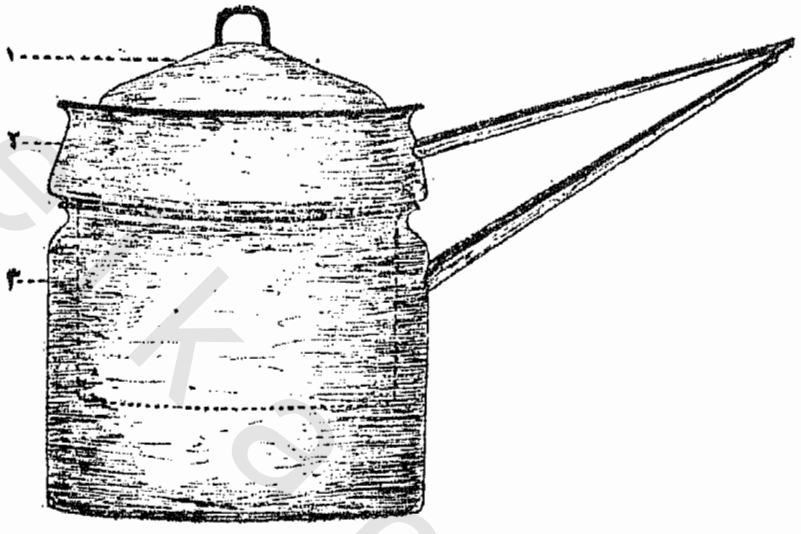
ا — تركيب البيئة : لمكو ٣ جرامات

بيتون	٥	»
آجار	١٥	جراما
ماء الصنبور	١٠٠٠	سم٣
رقم P H	٦,٨	

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

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

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



(شكل ٣٥)

اناء مزدوج الجوانب مستعمل فى عمل البيئات

تسخن المواد المذكورة لمدة ٤٥ دقيقة ويحسب الوقت إبتداء من غليان ماء الوعاء الخارجى ثم يرشح المخلوط الناتج (ويعرف عندئذ بالمرق) فى ورق الترشيح ويضبط تأثيره ، والعملية الأخيرة من الأهمية بمكان لأن نمو الميكروبات ونشاطها تتوقف إلى حد كبير على درجة تأثير أو تفاعل البيئة .

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

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

(١) بالطريقة الالكترومترية (Electrometric) أى بطريقة قياس الكهربائية .

(٢) أو بطريقة استعمال الأدلة (indicators) وتعرف أحيانا بطريقة قياس اللون (Colorimetric)

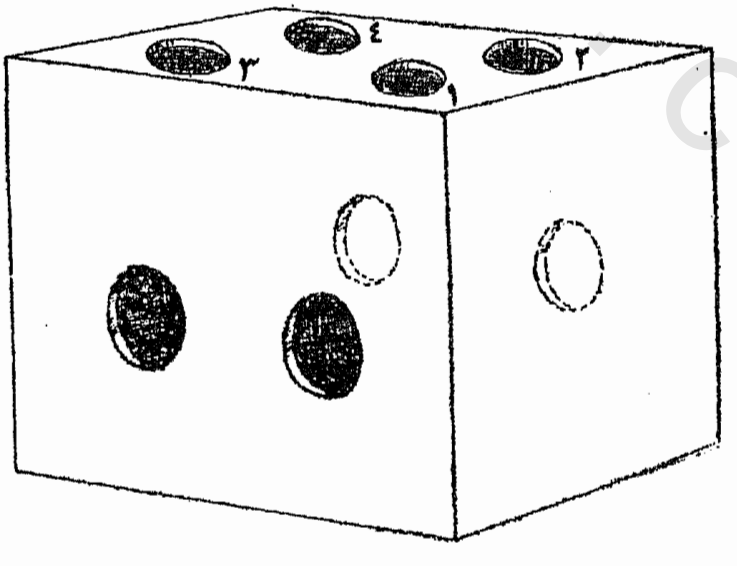
والطريقة الأولى أدق من الثانية إلا أن إجراءها يستلزم اجهزة خاصة غالية الثمن ولذا تستعمل غالبا الطريقة الثانية وخصوصا لأنها أسهل وأسرع فى الاجراء ، وتتلخص نظريتها فى أن بعض الأدلة حساسة

جداً للتغيرات الطفيفة فى درجة تركيز أيونات الأيدروجين لذلك يختلف لونها تبعا لدرجة التركيز المذكورة فى المحلول الذى تحويها فعندما يضاف أحد الأدلة المناسبة إلى البيئة ثم يقارن لونها بالألوان النموذجية للدليل المستعمل يمكن الاستدلال على درجة تأثيرها وتقدير كمية أيدرات الصوديوم أو حامض الكلوردريك اللازم لضبطها .

وتستخدم فى ضبط تاثير البيئات عدة أدلة أنسبها استعمالا فى تحضير بيئة أجار عد اللبن هو الدليل المعروف باسم البروم ثيمول الأزرق (Brom - thymol blue) وهو دليل يكون أصفر اللون فى المحاليل التى درجة تركيز أيونات الأيدروجين فيها ١٠ — ٦ (أو أكثر) أى التى لها رقم p H ٦ (أو أقل) (و p H هو رمز يطلق على اللوغاريتم السالب لدرجة تركيز أيونات الايدروجين فى المحلول) . ويتغير لون الدليل المذكور تدريجيا كلما نقصت حموضة المحلول ، أى كلما زاد رقم p H ، فيكون مائلا إلى الخضرة الخفيفة عند رقم p H ٦,٢ ويزداد اخضراره بارتفاع رقم p H فيصير أخضر مزرق متى كان رقم p H للمحلول ٧ أى عندما يكون المحلول متعادلا ، وأخيرا يصبح أزرق اللون فى المحاليل التى لها رقم p H ٧,٦ ، أو أكثر ، وعليه فان تغير لون البروم ثيمول الأزرق من الأصفر إلى الأزرق ومجال استعماله يبدأ عند رقم p H ٦ وينتهى عند رقم p H ٧,٦ .

والطريقة الآتية هى المستعملة عادة فى تقدير درجة تركيز أيونات الأيدروجين فى البيئة ومعادلتها وهى تمتاز بسهولة أجزائها وبسرعتها .

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



(شكل ٣٦) صندوق المقارنة

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

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

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

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

إذا كان المقدار الذى اضيف من محلول ايدرات الصوديوم العشر الأساسى إلى عشرة سنتمترات مكعبة من البيئة ٠,٥ سنتيمتر مكعب

فيكون المقدار اللازم من المحلول المذكور لضبط تأثير ١٠٠٠ سم٣ = ٥٠ سنتيمترا مكعبا

وعلى ذلك يلزم إضافة خمسة سنتيمترات مكعبة من محلول ايدرات الصوديوم الأساسى إلى كل لتر من البيئة لضبط تأثيرها إلى الدرجة المطلوبة.

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

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

يوزن المقدار اللازم منه ويوضع فى كيس من الموسلين ويغسل فى ماء جار لمدة ربع ساعة على الأقل ثم يعصر جيداً ويضاف إلى المرق

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

وترشيح الآجار أو ترويقه من الأهمية بمكان إذ يتوقف عليه مقدار شفافية البيئة وتجرى هذه العملية بعدة طرق يستعمل فيها اما الشاش أو القطن أو الورق الخ . ومن أكثر طرق الترشيح استعمالا طريقة القمع النحاسى الساخن (Hot water funnel) وفى هذه الطريقة توضع قطعة مناسبة من القطن فى قمع نحاسى خاص محاط بالماء ويصب الآجار فى القمع عقب إذابته مباشرة ويسخن الماء المحيط بالقمع اما بمصباح بنزن أو بالكهرباء ويراعى بقاءه ساخنا طول مدة الترشيح ، وتستعمل أحيانا طريقة أخرى أسرع من السابقة يجهز فيها المرشح وتجرى كالاتى :

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

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

(و) تعبئة الأنابيب وسدها : تجرى هذه العملية بسهولة بواسطة قمع زجاجى صغير تتصل بطرفه أنبوبة صغيرة من المطاط مركب عليها مقبض وفى نهايتها أنبوبة زجاجية مدببة .

وقبل إجراء عملية التعبئة توضع قنينة الترشيح المحتوية على الآجار فى ماء ساخن لكى يبقى سائلا ويصب الآجار فى قمع التعبئة وتعبأ بواسطته عشرة سنتمترات مكعبة من البيئة فى كل أنبوبة وينبغى فصل القمع الزجاجى من أنبوبة المطاط عقب انتهاء العملية مباشرة وغسلهما جيدا وتعقيمهما بالبخار .

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

ز — تعقيم البيئة : ينبغى ألا تعرض البيئة إلا للحرارة الضرورية لتعقيمها فقط فتسخن فى الأوتوكلاف

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

وبيئة الآجار السابق وصفها كثيرة الاستعمال فى اغلب معامل الفحص الانجليزية والامريكية إلا أنه يقتصر استعمالها غالبا على فحص الألبان النظيفة التى لاتحتوى على عدد كبير من البكتريا فقد دلت التجارب على أنها لاتعطى نتائج جيدة عند استخدامها فى اختيار الألبان الشديدة التلوث بالبكتريا أو الألبان المعقمة تعقيما جزئيا (المبسترة) .

البيئة الثانية

وهى أنسب من البيئة الأولى لفحص الألبان التجارية سواء منها الخام أو المبسترة وطريقة اعدادها هى نفس الطريقة المشروحة سابقا إلا أنه بعد الترشيح النهائى يضاف إليها ١ ٪ من اللبن الفرز النظيف ثم تعبأ فى الانابيب مع تقليبها باستمرار فى أثناء هذه العملية وأخيرا تعقم الأنابيب كالمعتاد .

ويشترط أن يكون اللبن المستعمل طازجا وغير مسخن وألا تزيد حموضته عن ٠,١٨ ٪

البيئة الثالثة :

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

بيتون	٥	»
آجار خيطى	١٥	جراما
لبن كامل الدهن طازج	١٠	سم٣
ماء مقطر	١٠٠٠	سم٣

ومما يلاحظ أن اليستريل يستعمل فى هذه البيئة بدلا من اللمكو المستعمل فى البيئة الأولى . أما طريقة التحضير فتتلخص فيما يلى : — يذاب اليستريل والبيتون فى الماء المقطر فى المعقم البخارى ويضبط التأثير (بعد تبريد المرق الى درجة ٢٥ سنتجراد) الى رقم ٧,٤ p H مع استعمال دليل الفينول الأحمر (Phenol red) ويغسل الآجار ويعصر ويضاف مع اللبن الى المرق ويوضع المخلوط فى الأوتوكلاف ويسخن تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ٢٠ دقيقة ثم يرشح فى قمع يوخز ويعاد اختبار تأثير الآجار المرشح ويضبط إذا استدعى الحال إلى رقم ٧ p H وتعبأ البيئة بنسبة عشرة سنتمترات مكعبة فى كل أنبوبه ثم تعقم الأنابيب كالمعتاد .

البيئة الرابعة :

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

لكو	١٠ جرامات
ببتون	١٠ »
ملح الطعام	٥ »
ماء حنفية	١٠٠٠سم٣

بعد اعداد المرق من المواد الانفة الذكر يضبط تفاعله ويضاف اليه الآجار بنسبة ١,٥٪ ويذاب ويرشح ثم يضاف اليه ٥,٠٪ دكستروز وتعبأ البيئة فى الانابيب وتعقم كالمعتاد .

البيئة الخامسة :

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

نترات الفشادر	١ جرام
سلفات »	١ جرام
فوسفات ثنائى البوتاسيوم (Dipotassium phosphate)	٤ جرامات
فوسفات أحادى البوتاسيوم (Potassium hydrogen phosphate)	٢ جرام
ملح الطعام	١ جرام
دكستروز	١ جرام
مارميت (marmite)	١ جرام
آجار	١٥ جرام
ماء مقطر	١٠٠٠سم٣

أما طريقة تحضيرها فبسيطة وهى أن يغسل الآجار جيدا ويذاب فى ٧٠٠سم٣ من الماء المقطر فى الأوتوكلاف ويرشح وتذاب بقية المواد فى ٣٠٠سم٣ من الماء وتضاف الى الآجار المرشح ثم يكمل المخلوط إلى لتر بالماء المقطر الساخن وتعبأ البيئة فى الأنابيب وتعقم كالمعتاد

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

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

وينبغى التحقق من تمام تعقيم البيئة بعد الانتهاء من إعدادها ولهذا تنتخب بضع أنابيب منها وتوضع فى المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٥ — ٧ أيام فإن بقيت دون تغير أى إذا لم ينمو على سطحها بكتريا أو فطر أعتبرت تامة التعقيم وصالحة تماما للاستعمال .

ولحفظ الأنابيب بحالة جيدة يلزم وضعها فى صناديق خشبية بمكان مظلم حرارته منخفضة بعيد عن الغبار

(٣) تحضير أنابيب التخفيف

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

أما المحاليل فيستعمل منها غالباً نوعان أولهما يطلق عليه اسم « المحلول الملحى » (Saline) وهو مركب كالآتى : —

ملح الطعام	٩ جرامات
ماء مقطر	١٠٠٠ سم٣

يذاب الملح فى الماء ثم يعقم المحلول فى الأوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ½ ساعة، والثانى يعرف باسم « محلول رنجر » (Ringer's Solution) ويتركب من : —

ملح الطعام	٩ جرامات
كلورور البوتاسيوم	٠,٤٢ جرام
« الكلسيوم	٠,٤٨ «
بيكربونات الصوديوم	٠,٢ «
ماء مقطر	١٠٠٠ سم٣

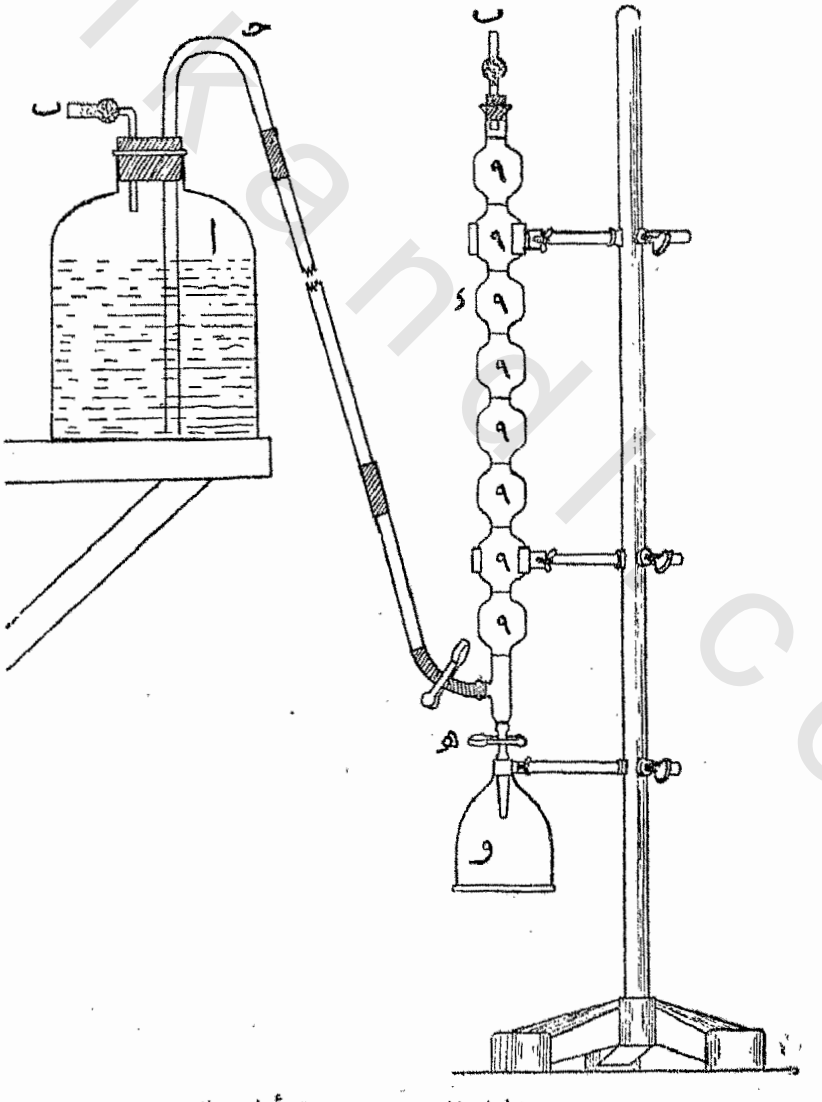
تذاب الأملاح المذكورة فى الماء بالتسخين فى المعقم البخارى لمدة ½ ساعة ثم يخفف المحلول الى ½ قوته وأخيرا يعقم فى الأوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ٢٠ دقيقة .

وقد أجريت تجارب كثيرة حول صلاحية السوائل المذكورة آنفا لعملية التخفيف فوجد منها أن الماء المقطر فى جهاز نحاسى يخفض أحيانا نسبة البكتريا بدرجة كبيرة عند استعماله فى التخفيف أو تحضير المحلول الملحى منه وهذا التأثير يرجع على مايظهر إلى احتوائه على نسبة من النحاس . كما وجد أن الماء المقطر فى جهاز زجاجى والمحلول الملحى المحضر من الماء المذكور لايخفضان من عدد البكتريا غير نسبة طفيفة وقد أثبتت هذه التجارب بصفة قاطعة أن محلول رنجر المحضر من الماء المقطر فى جهاز زجاجى ليس له تأثير سيء على البكتريا واعتبر لذلك أصلح السوائل المذكورة جميعها للاستعمال فى تخفيف اللبن .

أما ماء الصنبور فقد وجد أن تأثيره يختلف كثيرا باختلاف مصدره ولذا ينبغى اختباره كما أسلفنا القول قبل استعماله فى الغرض المذكور .

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

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



شكل (٣٧) الجهاز المستعمل فى تعبئة أنابيب التخفيف

مسدودة بالقطن تستخدم كمرشح للهواء (ب) وتنفذ من الفتحة الأخرى أنبوبة زجاجية ملتوية تستخدم كمص (سيفون) (ح) يصل أحد طرفيها إلى قرب قاع الزجاجة ويتصل الطرف الآخر بواسطة عدة قطع من أنابيب المطاط بسحاحة مدرجة (د) مقسمة إلى أجزاء سعة كل منها تسعة سنتمترات مكعبة بالضبط ومركب على الطرف العلوى من السحاحة أنبوبة مسدودة بالقطن لترشيح الهواء الداخل (ب) وفى نهايتها السفلية أنبوبة زجاجية مدببة الطرف تتصل بالسحاحة بواسطة أنبوبة من المطاط مركب عليها مقبض (هـ) وتستعمل الانبوبة الزجاجية والمقبض كصنبور لتفريغ السائل من السحاحة ومركب على الأنبوبة الزجاجية مظلة (و) لوقاية السائل من التلوث أثناء تعبئته .

ويعد الجهاز للاستعمال بالطريقة الآتية : تملأ الزجاجة بالمحلول وتسد بالقطن وتلف بورق الزبد كما تلف بنفس الكيفية السحاحة ومرشحا الهواء والأنابيب الزجاجية وأنابيب المطاط بعد سد أطرافها المفتوحة بالقطن . وبعد التعقيم تركب السحاحة على حامل وتوصل بالزجاجة التى توضع على رف مرتفع فيمر السائل من الزجاجة الى السحاحة بواسطة المص ومنها يعبأ فى الانابيب بنسبة تسعة سنتيمترات مكعبة فى كل أنبوبة .

وتراعى فى أثناء هذه العملية تعقيم فوهة كل أنبوبة بامرارها فى اللهب قبل وبعد تعبئتها كما ينبغى الاحتياط من حفظ الانابيب فى مكان حرارته مرتفعة لأن ذلك يؤدى الى تبخر جزء من السائل الذى تحويه .

وفى بعض الاحوال تحضر أنابيب سائل التخفيف بطريقة سهلة تتلخص فيما يلى : —

تؤخذ ٩,٣ سم ٣ من السائل بعناية بواسطة ماصة مدرجة سعتها عشرة سنتيمترات مكعبة وتصب فى كل أنبوبة وبعد تمام تعبئة الانابيب بهذه الطريقة تسد بالقطن وتعقم فى الأوتوكلاف على درجة ١٢٠ سنتجراد لمدة ١٥ دقيقة وقد وجد أن كمية السائل الذى يبقى بالأنبوبة بعد التعقيم يقرب جدا من التسعة سنتيمترات المكعبة المطلوبة .

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

وقبل أن نختم الكلام عن تحضير الأدوات اللازمة لهذا الاختبار تحسن الاشارة الى أنه من المهم تنظيم العمل بحجرة التحضير نظرا لكثرة العمليات التى تجرى بها وتنوعها ومن المستحسن أن تبدأ العمليات التى تستغرق وقتا طويلا فى الصباح الباكر قبل تعقيم الأنابيب والاطباق فى فرن الهواء الساخن وإذابة المواد التى تتركب منها البيئة فوق اللهب أو فى المبخر وأن تجرى العمليات الاخرى البسيطة كغسل الانابيب وتعبئتها وسدها فى أوقات الفراغ أثناء النهار .

٤ — كيفية اجراء الاختبار

ا — تخفيف اللبن (Dilutions)

يجرى تخفيف اللبن بالطريقة الآتية : —

(ا) يوضع عدد مناسب من أنابيب الماء المعقم (أو المحلول الملحى أو محلول زنجر) على حامل خشبى

فوق المنضدة وتوضع بجوارها علبة الماصات مستندة على أحـــد جوانبها ويفتح غطاؤها ثم ترج الزجاجة المحتوية على عينة اللبن خمس وعشرين مرة بحيث ترفع الزجاجة فى كل مرة مسافة تبلغ حوالى ٣٠ سنتمترا ثم تخفض بسرعة ، وبعدئذ يمر بغطائها وفوهتها فى اللهب بسرعة ثم يرفع الغطاء باحتراس بحيث لا يلامس جزؤه الداخلى سطحا غير معقم .

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

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

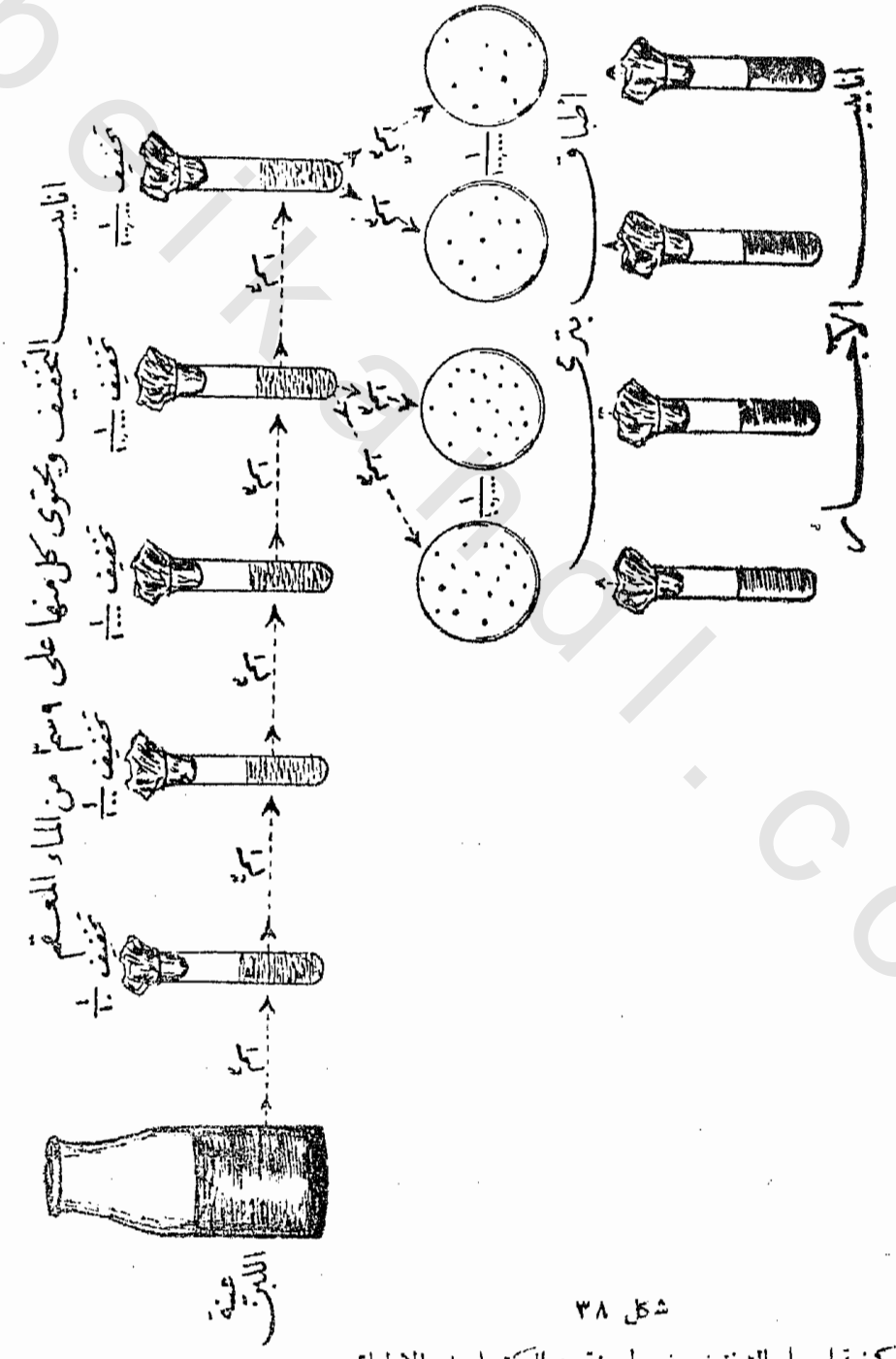
وتتبع أحيانا طريقة أخرى فى عمل التخفيف وذلك بأن يمص اللبن من زجاجة العينة بالماصة الاولى حتى يبلغ العلامة ثم يعاد فى الزجاجة المذكورة وتكرر العملية عشر مرات وبعدئذ يضبط سطحه فى الماصة الى العلامة وتسحب الماصة من زجاجة العينة وتوضع فى أنبوبة التخفيف الاولى بحيث يلامس طرفها السفلى جانب الانبوبة على بعد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

(٤) يلاحظ أنه عند إضافة سنتمترا مكعبا من اللبن الى تسعة سنتمترات مكعبة من الماء المعقم ينتج عن ذلك أن كل سنتيمتر مكعب من المخلوط يحتوى على $\frac{1}{10}$ سم ٣ من اللبن أو بمعنى آخر أن اللبن خفف عشر مرات ولذا تعرف الانبوبة المحضرة بالكيفية السابقة بأنبوبة « تخفيف $\frac{1}{10}$ » ويكتب عليها بالحبر أو بقلم الشمع الرقم المذكور .

(٥) ينقل بماصة أخرى معقمة سنتمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الاولى الى أنبوبة ثانية تحتوى على ٩ سم ٣ من الماء المعقم (باحدى الطريقتين السالفتى الذكر) وبذلك يحضر « تخفيف $\frac{1}{100}$ » ثم ينقل سنتمتر مكعب من التخفيف الاخير بماصة ثالثة معقمة إلى أنبوبة ماء معقم فيحضر « تخفيف $\frac{1}{1000}$ » وهكذا إلى أن يتحصل على التخفيف المطلوب الذى يتوقف على عدد البكتريا المحتمل وجودها فى عينة اللبن ، والمعتاد أن

يكتفى بتخفيف عينات اللبن النظيفه إلى $\frac{1}{100}$ أما عينات اللبن الرديئة فيلزم تخفيفها إلى $\frac{1}{1000}$ أو الى $\frac{1}{10000}$ والشكل ٣٨ يبين الخطوات المتبعة فى تخفيف اللبن بهذه الطريقة

(٦) وتفضل الهيئات الصحية فى بعض البلدان استعمال مقدار من عينة اللبن يزيد عن سنتيمتر مكعب فى تحضير التخفيف الاول ($\frac{1}{10}$) ففى أمريكا يوصى بأخذ ١١ سم٣ من عينة اللبن بماصة خاصة ويضاف هذا المقدار الى ٩٩ سم ٣ من الماء المعقم فى زجاجة تخفيف (Dilution bottle) وتعبأ زجاجات التخفيف



شكل ٣٨

كيفية اجراء التخفيف فى طريقة عد البكتريا على الاطباق

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

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

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

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

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

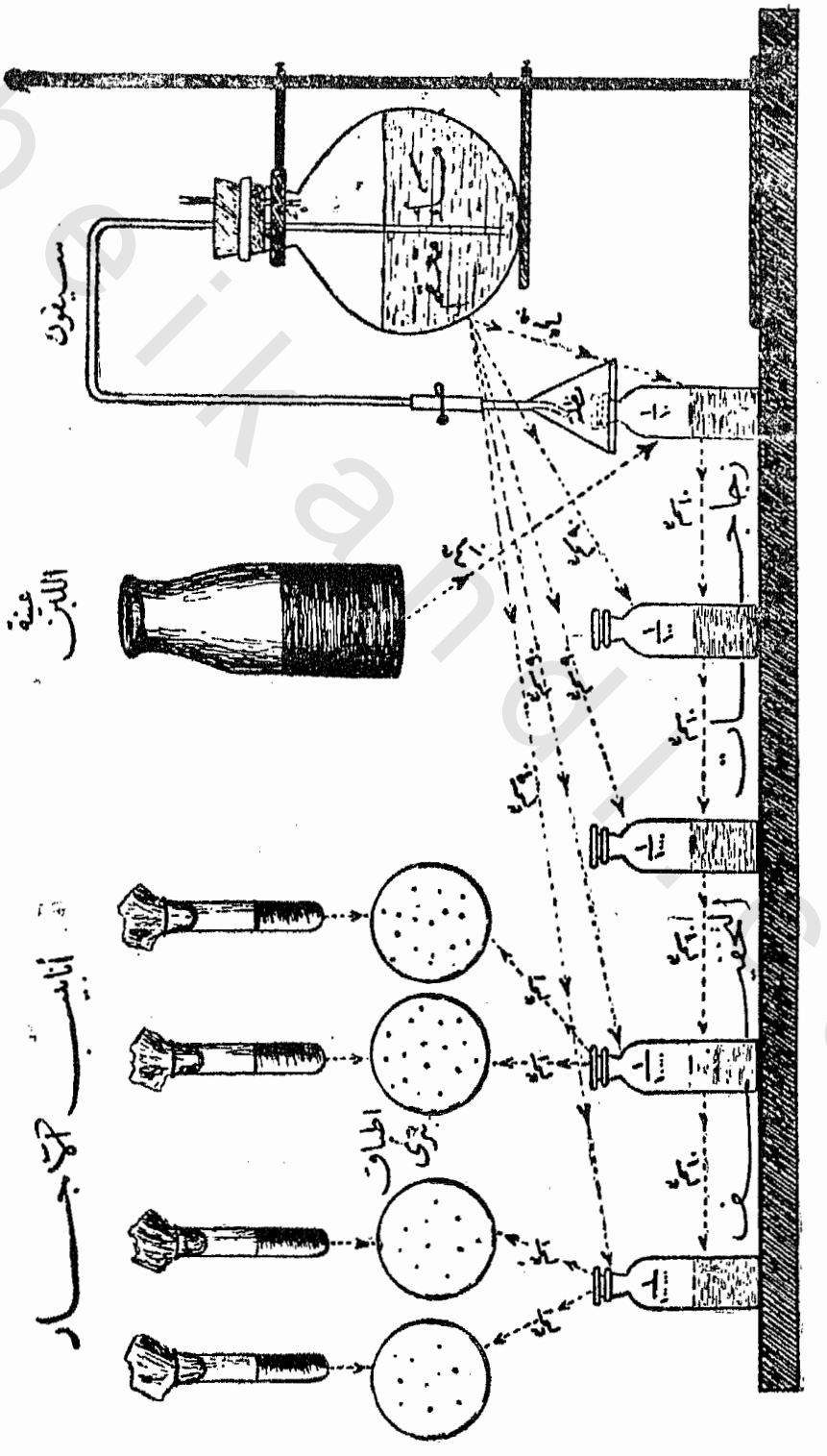
وقبل إستعمال الجهاز تملأ الزجاجة بالماء وتسد بالقطن وتلف السدادة والممص بورق الزبد وتسد أطرافها بالقطن وتعقم هذه الأدوات جميعها فى الأوتوكلاف كما تعقم زجاجات التخفيف والماصات والأطباق فى فرن الهواء الساخن ، وبعد انتهاء عملية التعقيم تنزع السدادات القطنية ويركب الممص بالزجاجة وتوضع على حامل ثم تنقل عشرة سنتمترات مكعبة من عينة اللبن إلى الزجاجة الأولى وتكمل إلى العلامة بالماء المعقم (تخفيف $\frac{1}{10}$) وتنقل عشرة سنتمترات مكعبة من الزجاجة الأولى إلى الثانيـــة وتكمل كذلك إلى العلامة بالماء المعقم (تخفيف $\frac{1}{100}$) وهكذا إلى أن يحضر التخفيف المطلوب . ولابد من الاعتناء أثناء عملية التخفيف بتعقيم فوهات الزجاجات وبرج زجاجة العينة وزجاجات التخفيف ٢٥ مرة لخلط محتوياتها جيدا .

ب — تحضير الأطباق (Plating)

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

بالقطن ، وبعد أن يتم تصريف السائل الموجود بها تترك على هذا الحال مدة ثلاثة ثوان ثم يلمس القاع بطرف الماصة فى مكان جاف ويعاد النفخ فيها مرة ثانية للتخلص مما تبقى بها من السائل .

وينقل بنفس الماصة سنتمترا مكعبا من أنبوبة التخفيف السابقة للأخيرة إلى كل من الطبقين الآخرين



شكل (٣٩) جهاز التخفيف المستعمل فى عد البكتريا بطريقة الأطباق

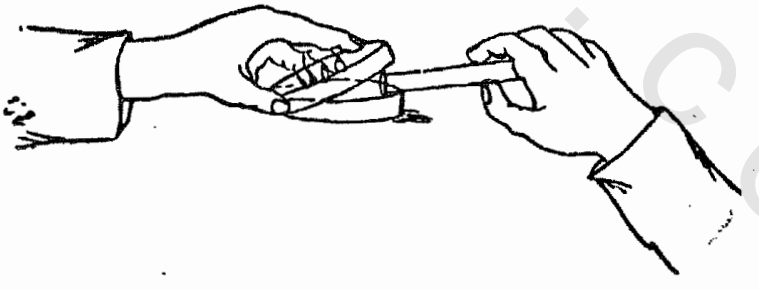
بنفس الطريقة ثم ترقم الاطباق بدرجة تخفيف اللبن الذى تحويه وتكتب عليها نمرة العينة والتاريخ

وتتبع فى بعض الأحيان طريقة أخرى أسرع من السابقة وفيها تلقح الاطباق أثناء عمل التخفيف ،فاذا كان فى النية تخفيف العينة إلى ١/١٠٠٠٠ مثلا ينقل سنتمتر مكعب من أنبوبة تخفيف ١/١٠٠ إلى أنبوبة التخفيف الأخيرة وينقل بنفس الماصة بعدئذ سنتمتر مكعب آخر من أنبوبة تخفيف ١/١٠٠ كذلك إلى كل من طبق بترى معقمين ويرقمان بدرجة التخفيف (أى ١/١٠٠٠٠) ثم ينقل بماصة أخرى معقمة سنتمتر مكعب من أنبوبة تخفيف ١/١٠٠٠ إلى كل من طبقين معقمين آخرين ويرقمان بدرجة التخفيف المذكورة .

يكتفى فى بعض الأحوال بتحضير طبق واحد من كل تخفيف غير أن تحضير طبقين يضمن الحصول على نتائج مضبوطة وموثوق بها .

(٢) تغلى أثناء إجراء العملية السابقة أربع أنابيب آجار فى حمام مائى مع الاحتراس من وصول الماء إلى سداداتها القطنية أثناء غليانه ، وبعد أن يتم صب اللبن المخفف بالاطباق تبرد أنابيب الآجار المذكورة إلى درجة ٤٥ سنتجراد ويفرغ ما بداخل كل منها فى أحد أطباق بترى الاربعة بالطريقة الآتية : —

تمسك الانبوبة باليد اليسرى فى موضع أفقى بقدر الامكان ثم تنزع سدادتها بين أصابع اليد اليمنى مع ادارة الانبوبة حتى لاتلتصق السدادة بجدرانها ويمر بفوهة الانبوبة فى اللهب ويجفف سطحها الخارجى مما يعلق به من ماء بواسطة السدادة ويرفع غطاء الطبق من أحد جوانبه باليد اليمنى ويصب الآجار فى الطبق مع العناية بجعل الغطاء فوق الطبق مباشرة أثناء هذه العملية (أنظر شكل ٤٠) . ثم يعاد الغطاء إلى موضعه وتمزج محتويات الطبق مباشرة وتنشر فى طبقه منتظمة وذلك بإمالته إلا الأمام وإلى الخلف بضع مرات أو بإدارته يمينا ويسارا لمدة ٥ — ١٠ ثوان مع الاحتراس من وصول الآجار إلى الغطاء أثناء ذلك .



(شكل ٤٠)
طريقة صب الاجار فى طبق بترى

وينبغى أن تجرى عمليتا التخفيف وتحضير الاطباق فى أقصر وقت ممكن بحيث لاتتجاوز المدة التى تمضى بين تحضير التخفيف الاخير وصب الآجار فى الطبق خمسة عشرة دقيقة

(٣) تترك الاطباق بعد أن تمزج محتوياتها جيدا على سطح المنضدة الى ان يتجمد الاجار ثم تقلب وتوضع بالمحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة ولا يجب أن يمضى أكثر من ساعة بين تحضير الاطباق ووضعها بالمحضن

وإذا فحصت جملة عينات فى وقت واحد وكان عدد الاطباق التى توضع بالمحضن تبعا لذلك كبيرا وجب أن ترص الاطباق فرق بعضها بحيث لا تزيد محتويات كل عامود عن ستة أطباق وتكون الاعمدة متباعدة وينبغى ألا تقل المسافات التى تفصلها بعضها عن بعض أو عن سقف المحضن وجدرانه عن ٢ — ٣ سنتيمتر وذلك لان ملامستها يحول دون سهولة مرور الهواء بينها مما يؤدى الى عدم انتظام الحرارة فى أجزاء المحضن المختلفة .

(ح) فحص الاطباق وعد المجموعات (Counting plates)

(١) بعد مضى ثمان وأربعين ساعة تستخرج الاطباق من المحضن وتعد المجموعات التى ظهرت عليها فاذا لم يتيسر إجراء العملية المذكورة مباشرة أو بعد مضى وقت قصير وجب أن يوقف نمو البكتريا وذلك بوضع ورقة ترشيح مبتلة بالفورمالين فى غطاء كل طبق أو تحفظ الأطباق فى الثلاجة على حرارة لا تزيد عن ١٠ سنتجراد لمدة لاتتجاوز ١٦ ساعة ولا يجرى ذلك الا فى ظروف اضطرارية

وقبل اجراء العد النهائى تنتخب الأطباق التى تحتوى على مجموعات لا تقل عن ٣٠ ولا تزيد عن ٣٠٠ مجموعة ثم تحصى المجموعات التى ظهرت عليها بعناية تامة ، أما ما عدا ذلك من الأطباق فلا ينبغى الاعتماد على نتائجه إلا إذا لم يوجد سواها . وعلى كل حال ينبغى تجنب استعمال الأطباق المزدحمة جدا فى العد لان النتائج المتحصل عليها منها لا تكون غالبا دقيقة نظرا لاندماج المجموعات التى تظهر عليها بعضها ببعض واختفاء الصغيرة خلف الكبيرة كما لا ينبغى استعمال الأطباق التى تحوى مجموعات منتشرة (Spreading) إلا إذا لم يؤثر نمو المجموعات المذكورة فى نمو المجموعات الأخرى .

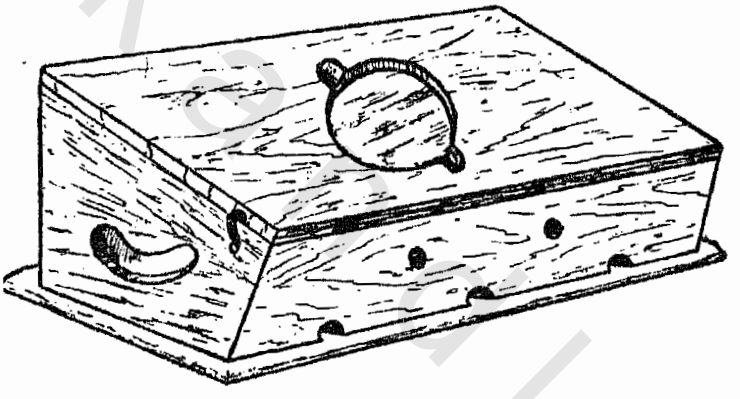
ولما كان من المتعذر احصاء جميع المجموعات فى الأطباق التى تحوى أكثر من ٢٥٠ مجموعة فيلزم فى مثل هذه الحالة تقسيم الطبق إلى عدة أقسام متساوية وإحصاء العدد الموجود على قسم أو أكثر منها ويضرب متوسط عدد مجموعات القسم الواحد فى عدد أقسام الطبق ينتج عدد المجموعات الكلى فى الطبق كله . وتستعمل أقراص خاصة تعرف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

(٢) ويستحسن عند إجراء العد الاستعانة بعدسة يدوية قوة تكبيرها ٤ مرات ، وتوضع علامة بالحبر أو بقلم بالشمع على الزجاج بجانب كل مجموعة عند عدها منعا للبس وتكرار عد المجموعة الواحدة أكثر من مرة ، ويستعمل أحيانا آلة تسجيل يدوية صغيرة لضبط العدد أثناء إجراء العملية . وكيفية استعمالها هى أن تضغط بالأصبع على زر الآلة عند عد كل مجموعة وفى نهاية العملية يوجد عدد المجموعات الكلى مبينا عليها بالأرقام . ومن هذه الآلات مايتصل بسلك مركب فى نهايته قلم يمكن بواسطته ترقيم المجموعات

ويقوم ضغط القلم على الطبق مقام ضغط الأصبع على زر الآلة .

(٣) والمعتاد استعمال الضوء الطبيعى فى العد إذا أجريت العملية فى وضح النهار أما إذا كان الضوء المذكور ضئيلا اسبب من الأسباب فيستعان بالاضاءة الصناعية ويفضل البعض استعمال الاضاءة الأخيرة باستمرار نظراً لانتظامها .

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



« شكل ٤١ »

جهاز الاضاءة المستعمل فى عد المجموعات على الأطباق

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

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

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

(٥) فحص الماء والأدوات المستعملة فى الاختبار

ينبغى لضمان دقة نتائج هذا الاختبار الاعتناء بفحص الماء المستعمل فى التحفيف بين وقت وآخر والتحقق من عدم احتوائه على مواد سامة تضر بنمو البكتريا . ويجرى هذا الفحص عادة بالطريقة التالية :—

يصب سنتمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الأخير عقب تحضيره مباشرة فى طبق بترى معقم ويخلط بأنبوبة آجار بالطريقة السابق وصفها ثم يصب سنتمتر مكعب آخر من نفس الأنبوبة بعد مضى خمس دقائق من وقت تحضير الطبق الأول فى طبق بترى ثان معقم ويخلط بأنبوبة آجار ثانية وتكرر هذه العملية كل خمس دقائق مرة لمدة ثلث أو نصف ساعة وتحفظ جميع الأطباق المحضرة على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة فاذا اتضح فى نهاية تلك المدة عدم حدوث انخفاض محسوس فى عدد المجموعات التى تظهر على الطبق المحضر بعد ربع ساعة من انتهاء التخفيف عند مقارنته بالطبق المحضر عقب انتهاء التخفيف مباشرة كان ذلك دليلا على صلاحية الماء للاستعمال فى هذا الغرض .

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

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

(٦) ملاحظات عامة على طريقة الاطباق وأهم عيوبها

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

وما من شك فى أن عدم العناية بتحضير البيئة أو ضبط تأثيرها أو تعقيمها وكذلك الاهمال فى إجراء التخفيف أو وقاية الأنابيب أو الأطباق من التلوث أثناء اجراء الاختبار وعدم الدقة فى احصاء المجموعات أو تمييزها من المواد الغريبة التى توجد أحيانا بالعينة تؤدى إلى اختلاف كبير فى النتائج وإلى خطأ فى الحكم على نوع العينات ومبلغ نقاوتها .

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

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

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

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

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

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

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

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

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

وتختلف مقاييس النظافة أحيانا باختلاف فصول السنة فهى فى أشهر الصيف الحارة غيرها فى أشهر الشتاء الباردة نظرا لتأثير درجة الحرارة فى سرعة تكاثر البكتريا التى يحويها اللبن .

وقد يقال عموماً أن ألبان السوق العادية الغير المسخنة تعتبر جيدة إذا احتوت على أقل من ٥٠٠٠٠ ومتوسطه إذا زاد فيها العدد عن ذلك ولكنه لم يتجاوز ٢٠٠٠٠٠ ورديئـــه إذا احتوت على ٥٠٠٠٠٠ بكتريا أو أكثر فى السنتمتر المكعب عند فحصها بطريقة الأطباق .

وتقضى الاشتراطات الخاصة بإنتاج وبيع الألبان النظيفة (المميزه باسماء خاصة) فى بعض البلدان ألا تحتوى الأنواع الممتازة منها (ســـواء أكانت خاما أم مبسترة) على مايزيد عن ٣٠٠٠٠ فى السنتمتر المكعب . أما الالبان المبسترة التجارية فينبغى ألا يتجاوز ماتحويه عن ١٠٠٠٠٠ بكتريا فى السنتمتر المكعب

وفى الأحوال التى تشجع شركات الألبان موردها على نظافة الانتاج بمنحهم مكافآت مالية تتناسب مع درجة نقاوة ألبانهم نجدها تمنح أكبر عدد من الدرجات فى معظم الأحايين للعينات التى يقل العدد فيها عن ٥٠٠٠ فى السنتمتر المكعب ، وتقل الدرجات الممنوحة تدريجيا كلما ارتفع العدد حتى إذا بلغ مليونا أو أكثر فتعتبر رديئة جدا ولا تمنح درجات كلية .

هذا ولا يغيب عن البال أن مراقبة الألبان لاتقتصر على فحص العينات بطريقة الأطباق ، ولكنها تحتم استيفاء اشتراطات أخرى خاصة بماشية الحليب ومحلات الانتاج والمعدات ، كما أن لتقدير نسبة وجود ميكروبات القولون فى العينة أهمية كبرى تعادل أهمية اختبار العدد الكلى للبكتريا أو تفوقها أحيانا ، فإذا ظهر من فحص العينة بطريقة الأطباق احتواءها على عدد قليل من البكتريا فى حين توجد بها ميكروبات القولون بنسبة مرتفعة فإنها تعتبر رديئة .

ثانيا : طريقة بريد

تعرف طريقة بريد أحيانا باسم طريقة المكروسكوب المباشرة (Direct microscopic method) أو طريقة عد البكتريا بالميكروسكوب (Microscopic count of bacteria) . وقد انتشر استعمال هذه الطريقة انتشارا كبيرا فى السنين الأخيرة وهى معتمدة رسميا من الهيئات الصحية الأمريكية لفحص اللبن بكتريولوجيا .

ومع أن هذه الطريقة بسيطة نسبيا ويمكن بها للفاحص المتمرن أن يحكم بسرعة على مبلغ نقاوة العينة وأن يلاحظ أنواع البكتريا الموجودة بها فعلا إلا أنها تحتاج إلى دقة ومهارة خاصة فى الإجراء .

وتتلخص الطريقة فى نشر مقدار معين من اللبن المراد اختباره على هيئة غشاء فى مساحة معلومة على شريحة زجاجية خاصة وصبغها وفحصها تحت الميكروسكوب ثم تقدير متوسط عدد البكتريا فى مجال البصر الميكروسكوبى (Field of vision) ، وبمعرفة مساحة المجال المذكور وعدد المجالات التى تحويها المساحه المنشور عليها الغشاء يمكن بعملية حسابية بسيطة استخراج العدد الكلى للبكتريا فى السنتمتر المكعب من عينة اللبن . ومما يلاحظ أن هذا التقدير يشمل جميع ماتحويه العينة من بكتريا سواء منها الحية أو الميتة .

(١) الأدوات والمواد اللازمة للاختبار

أهم الأدوات والمواد اللازمة لإجراء هذا الاختبار هى الآتية : —

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

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

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

د — ماصات شعرية (Capillary pipettes) : يشترط أن تكون من النوع المستقيم ومصنوعة من زجاج جيد سميك وعليها علامة $\frac{1}{20}$ سم ٣ من اللبن . وهذه الماصات تنظف كذلك قبل الاستعمال بالطريقة المذكورة فى الكلام عن الشرائح .

هـ — صبغة أزرق الميثيلين (Methylene blue) : تحضر الصبغة المذكورة كما يأتى : يذاب ٠,٣ جرام من أزرق الميثيلين فى ٣٠ سم٣ من الكحول الاثيلى (٩٥ ٪) ويضاف هذا المحلول إلى ١٠٠ سم٣ من الماء المقطر . ويلزم أن يكون أزرق الميثيلين المستعمل من نوع جيد وصالح للأعمال البكتريولوجية .

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

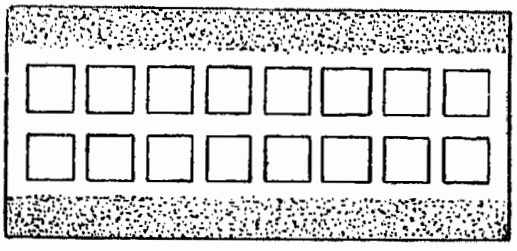
(٢) كيفية اجراء الاختبار

ا — تحضير الغشاء (Preparation of film)

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

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

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



(شكل ٤٢)
شريحة عد البكتريا بطريقة الميكروسكوب موضوعه على ورقة الدليل

(٢) تنشر نقطة اللبن على المربع فى طبقة منتظمة بحذر بواسطة الابرة المستقيمة المعقمة بحيث تغطى المربع تماما ويوضع أمام كل مربع على الحافة المصنفرة للشريحة علامة مميزة أو نمرة العينه بالقلم الرصاص

(٣) يجفف الغشاء بسرعة فى مدة لاتتجاوز العشر دقائق وذلك بوضع الشريحة على سطح مستو فى مكان دافىء بالقرب من موقد أو من اللهب مع الاحتراس من وصول الغبار أو الذباب اليها أثناء مدة التجفيف.

ولاينبغى أن يجفف الغشاء بسرعة زائدة بتعريضه لحرارة عالية لأن ذلك يؤدى إلى تشققه وتفتت أجزاء منه أثناء العمليات التى تعقب التجفيف .

(ب) اذابة الدهن من الغشاء وتثبيته وصبغه

(١) بعد تجفيف الغشاء يذاب منه الدهن بغمس الشريحة فى اناء يحتوى على زيلول أو أحد مذيبات الدهن الاخرى كالتربنتين أو الإثير لمدة دقيقة واحده أو أكثر ثم ترفع من الإناء ويصفى منها السائل جيدا وتجفف وقد وجد أن بقاء الشريحة مدة طويلة بالزيلول لايضر بالغشاء ولايزيل منه البكتريا .

(٢) بعد أن يذاب الدهن يثبت الغشاء بوضع الشريحة فى اناء آخر يحتوى على كحول اثيلى (٩٥ ٪) لمدة دقيقتين ثم ترفع وتصفى .

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

وينبغى تحاشى استعمال صبغات قديمة أو غير مرشحة فى تلوين الغشاء لأنها قد تحتوى على بكتريا تلوث الغشاء أو على رواسب تلتصق به فيصعب تمييز البكتريا فيه عند الفحص .

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

أزرق الميثيلين	١ جرام
كحول أثيلى (٩٥ ٪)	٥٤ سم٣
تتراكلوريثان (Tetrachlorethane)	٤٠ سم٣
حامض الخليك الجليدى (glacial)	٦ سم٣

ويحضر باضافة الكحول إلى التتراكلوريثان فى قنينة وتسخينها فى حمام مائى إلى درجة ٧٠ سنتجراد ثم يضاف المخلوط إلى أزرق الميثيلين وترج جميعها جيدا حتى تذوب الصبغة تماما ويبرد المخلوط ثم يضاف اليه حامض الخليك ببطء شديد ويرشح المحلول ويحفظ فى زجاجة محكمة السد .

أما طريقة ألاستعمال فهى كما يلى :—

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

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

(حـ) فحص الغشاء :

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

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

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

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

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

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

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

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

ويستحسن اذا أمكن استخدام مسرح آلى (mechanical stage) حتى يمكن فحص الشريحة بدقة ومن الضرورى التأكد من نظافة العدستين الزيتية والعينية والمكثف والمرآة قبل البدء فى الفحص .

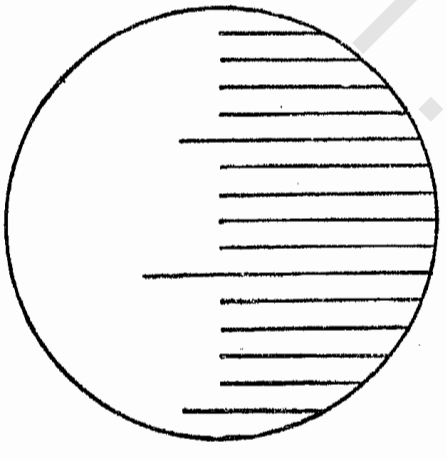
د — عد البكتريا :

لتقدير عدد البكتريا فى عينة اللبن بهذه الطريقة ينبغى أن يحصى فى الغشاء الواحد عددها فى ٥٠ مجالا من مجالات البصر الميكروسكوبى على الأقل ثم يحسب متوسط العدد فى المجال الواحد .

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

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

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



(شكل ٤٣)

كيفية قياس قطر مجال البصر بالشريحة الميكرومترية

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

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

والمثال الاتى يوضح كيفية حساب العدد الكلى للبكتريا فى السنتمتر المكعب من عينة اللبن بطريقة الميكروسكوب المباشرة .

إذا فرض أن قطر مجال البصر = ١٦ قسما من أقسام مقياس الشريحة الميكرومترية
أى ١٦٠ ميكرونا (الميكرون = $\frac{١}{١٠٠٠}$ من المليمتر)

فتكون مساحة المجال = (ط نق^{٢}) = ٣,١٤١٧ × ٨٠ × ٨٠ = ٢٠١٠٦,٨٨ ميكرون

ولما كانت مساحة السنتمتر المربع = ١٠ × ١٠٠٠ × ١٠ × ١٠٠٠ = ١٠٠,٠٠٠,٠٠٠ ميكرون

فيكون عدد مجالات البصر فى السنتمتر المربع = $\frac{١٠٠,٠٠٠,٠٠٠}{٢٠١٠٦,٨٨}$ = ٤٩٧٠,٣٤ = ٥٠٠٠ مجال تقريبا

وإذا فرض أن متوسط عدد البكتريا فى المجال الواحد = ١٠ خلايا

فيكون عددها فى الغشاء جميعه أى فى السنتمتر المربع = ١٠ × ٥٠٠٠ = ٥٠٠٠٠

ويكون العدد الكلى للبكتريا فى السنتمتر المكعب من العينة = ٥٠٠٠٠ × ١٠٠ = ٥ مليونات

وقبل أن نختم الكلام عن طريقة إجراء هذا الاختبار تجدر الاشارة إلى أن هناك عوامل كثيرة تؤثر فى نتيجته كما يلاحظ من الشرح السابق وقد يكون أهم هذه العوامل ما يأتى :

(١) مقدار العناية بقياس كمية اللبن التى تختبر .

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

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

وغنى عن الذكر أن لخبرة الفاحص ومرانه أثر بعيد فى نتيجة هذا الاختبار كذلك .

(٣) مقارنة طريقة الميكروسكوب المباشرة بطريقة الاطباق

أجريت تجارب كثيرة لمقارنة طريقة الميكروسكوب المباشرة بطريقة الأطباق فوجد منها أن عدد البكتريا فى عينات من اللبن عند فحصها بالطريقة الأولى يفوق عددها فى نفس العينات إذا ما استعملت فى الفحص الطريقة الثانية ، ولا شك أن السبب فى ذلك يعود إلى إمكان رؤية جميع مايحويه اللبن من بكتريا وعدها بواسطة الميكروسكوب فى حين أنه لاينمو على الأطباق غير جانب من العدد الكلى للبكتريا التى توجد بالعينة للأسباب التى بسطناها فى الكلام عن طريقة الاطباق .

وقد أثبتت التجارب كذلك أن الفرق بين العددين المقدرين بطريقتى الميكروسكوب والأطباق يكون كبيرا فى حالة العينات النظيفة خصوصا إذا أحصيت بطريقة الميكروسكوب جميع الخلايا التى تتألف منها الكتل البكتيرية باعتبار كل منها وحدة مستقلة . أما فى حالة العينات التى يبلغ عدد البكتريا فيها مليونا أو أكثر فى السنتمتر المكعب فقد لوحظ أن الفرق يكون صغيرا نسبيا بل أن العدد المقدر بكلتا الطريقتين قد يكون متماثلا إذا ما أحصيت الكتل البكتيرية الصغيرة والسلاسل القصيرة فى حالة العد بطريقة الميكروسكوب باعتبار كل منها خلية واحدة فقط لأن مثل هذه الكتل والسلاسل تنتج كل منها غالبا مجموعة واحدة على الاطباق .

على أنه قد وجد عموما من فحص عدد كبير من العينات أن النسبة بين عدد البكتريا المقدر بطريقة الميكروسكوب والعدد الناتج بطريقة الاطباق (عند حفظ الأطباق على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة) هى فى الغالب ٤ : ١ تقريبا ، وتستعمل هذه النسبة فى أكثر الأحايين لتحويل عدد البكتريا الناتج من فحص عينة من اللبن بإحدى الطريقتين إلى العدد الذى يقابله باستعمال الطريقة الاخرى .

(٤) ميزات طريقة الميكروسكوب وعيوبها

تمتاز طريقة الميكروسكوب على طرق العد الأخرى وبالأخص طريقة الاطباق بعدة ميزات من أهمها:

ا — أنها سريعة الاجراء ويمكن الحصول على نتيجتها فى وقت قصير . إذ يستطيع الشخص المتمرن أن يفحص العينة فى مدة لا تتجاوز ١٥ — ٢٠ دقيقة إذا كانت جميع المعدات اللازمة مستكملة وهذا العامل من الأهمية بمكان فى الأحوال التى يستورد فيها اللبن من مصادر متعددة وحيث يوجد عدد كبير من العينات يراد فحصها فى مدة وجيزة . كما أنه يمكن بها تمييز العينات الرديئة واستبعادها بسرعة قبل استعمال اللبن .

ب — أنها لاتستلزم إعداد مواد وأدوات كثيرة أو القيام بعمليات طويلة مرهقة كتحضير البيئات وماء التخفيف ومعاملة الأدوات اللازمة للاختبار كتنظيف الأوانى الزجاجية وتعقيمها ومن ثم كان عدد العينات التى يمكن فحصها بهذه الطريقة فى وقت ما أكبر بكثير من العدد الممكن فحصه بطريقة الاطباق فى نفس الوقت

حـ — أنها قليلة النفقات فلا يقتضى إجراؤها إحراز أجهزة ومعدات باهظة الثمن كالمعقمات والمحضنات ونحو ذلك . ولذا فإن نفقات فحص العينة الواحدة بهذه الطريقة أقل كثيرا من نفقات فحص العينة بطريقة الاطباق مثلا .

د — أنه يمكن بها تمييز أنواع البكتريا التى توجد وتشاهد بالعينة علاوة على تقدير عددها ومن ثم يمكن تعيين المصادر التى أدت إلى تلوث اللبن على وجه التقريب ، فمثلا إذا وجدت بالعينة كتل بكتيرية كبيرة مزدحمة كان ذلك دليلا على شدة تلوثها غالبا من الأوانى غير النظيفة أو غير تامة التعقيم كما أنها تفيد كثيراً فى كشف الميكروب السبحى المسبب لالتهاب الضرع فى عينات اللبن كما سيأتى تفصيل ذلك فيما بعد .

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

و — أن العدد الناتج بطريقة الميكروسكوب أقرب إلى الحقيقة من العدد الناتج بطريقة الاطباق ، حيث تعد فى الطريقة الاخيرة المجموعات الناتجة من نمو البكتريا على بيئة صناعية كما هو معروف بينما تحصى فى طريقة الميكروسكوب خلايا البكتريا ذاتها مصبوغة : على أن بعض أنواع البكتريا كميكروب السل إذا وجدت بالعينة لاتصبغ بالصبغة المستعملة فى طريقة الميكروسكوب ولذلك فلا ترى بالغشاء . وإذا أحصيت فى طريقة الميكروسكوب الكتل البكتيرية والسلاسل والخلايا الفردية كل منها كوحدة مستقلة فإنه يمكن الحصول من الطريقتين على عدد متقارب كما قلنا من قبل، إلا أن العدد الناتج من طريقة الميكروسكوب يكون بالرغم من ذلك أكبر لان بعض أنواع البكتريا لا تنمو على البيئة المستعملة فى طريقة الاطباق

ز — إن العينات المزمع فحصها بطريقة الميكروسكوب يمكن حفظها باضافة بعض المواد الحافظة اليها كالفورمالديهيد لمنع تكاثر البكتريا بها إلى أن يحين وقت فحصها إلا أن مثل هذه العينات لا يمكن بقاؤها مدة طويلة لان الميكروبات التى أهلكت بالمواد الحافظة تبدأ فى التحلل الذاتى (autolysed) وهذا يؤثر فى قابليتها للصبغ فلا تظهر فى الغشاء بوضوح تام

أما عيوب الطريقة فأهمها اثنان هما :

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

على أنه كثيرا مايختبر اللبن المبستر بطريقتى الميكروسكوب والاطباق معا فاذا ظهر احتواؤه على عدد كبير من البكتريا بالطريقة الاولى وعلى عدد قليل بالطريقة الثانية دل ذلك على شدة تلوث اللبن بالبكتريا قبل البسترة أو على احتوائه على عدد كبير من الانواع الثرموفيلية (المحبة للحرارة) (Thermophilic) وهذه لا تستطيع النمو على الاطباق لعدم ملاءمة درجة الحرارة التى تحفظ عليها تلك الاطباق لنموها .

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

حـ — ويعاب على طريقة الميكروسكوب كذلك صغر كمية اللبن التى تفحص فيها وعدم اعتبارها ممثلة لجميع اللبن المراد اختباره على أن المقدار الذى يفحص فى طريقة الاطباق بعد تخفيف العينة خصوصا فى حالة الالبان التجارية التى تخفف غالبا إلى درجة كبيرة يقل عادة عن كمية اللبن المختبرة فى طريقة الميكروسكوب

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

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

فى الحالة الاولى : تفحص عدة مجالات فى كل مربع (لا يقل عددها عن عشرين) ويقسم اللبن الى أقسام ثلاثة كالآتى : —

ا — إذا وجد أن أغلب المجالات خالية تماما من البكتريا وفى مثل هذه الحالة لا تحتوى العينة إلا على عدد ضئيل منها فتعتبر عندئذ جيدة .

ب — إذا وجدت البكتريا بقلة فى أغلب المجالات ولم تشاهد فى بعضها فتعتبر العينة متوسطة .

حـ — إذا رؤى عدد كبير من البكتريا المختلفة الانواع فى جميع المجالات التى فحصت فتكون العينة رديئة .

وفى الحالة الثانية : تستعمل عدسات مناسبة ويضبط طول أنبوبة الميكروسكوب المتحركة بحيث يصير قطر مجال البصر ٢٠٥ ميكرونات ثم تحصى البكتريا فى عدد معين من مجالات البصر ويضرب المتوسط فى ٣٠٠٠٠٠ لاستخراج عدد البكتريا فى السنتمتر المكعب وهذه الطريقة تناسب فحص عينات اللبن التجارية التى تحتوى فى أغلب الأحيان على عدد كبير من البكتريا على أنه يفضل غالبا فى فحص عينات اللبن النظيف وتقسيمه إلى رتب مميزة استعمال العدسة العينية الخاصة المحتوية على دائرة وضبط الميكرسكوب بحيث يكون قطر الدائرة ١٤٦ ميكرونا فيشتمل السنتمتر المربع عندئذ على ٦٠٠٠ دائرة تقريبا ثم تعد البكتريا فى ٦٠ مجالا ويضرب متوسط العدد فى ٦٠٠٠٠٠ فينتج العدد الكلى فى السنتمتر المكعب من العينة .

هذا ولما كانت نسبة العدد بطريقة الميكروسكوب الى العدد بطريقة الاطباق هى كما قلنا من قبل ٤ : ١ فقد وضع التقسيم الآتى وهو شائع الاستعمال فى أمريكا .

ا — اذا احتوت العينة على اقل من ٤ خلايا بكتيرية فى ٦٠ مجالا أى بمعدل $\frac{1}{15}$ بكتريا فى المجال الواحد وهو مايعادل أقل من ١٠٠٠٠ بكتريا فى السنتمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة جيدة .

ب — إذا قل ماتحويه عن ٢٤ خلية فى ٦٠ مجالا أى بمعدل $\frac{2}{5}$ بكتريا فى المجال الواحد وهو مايعادل أقل من ٦٠٠٠٠ بكتريا فى السنتمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة جيدة نوعا .

حـ — إذا قل ماتحويه عن ٨٠ خلية فى ٦٠ مجالا أى بمعدل $1\frac{1}{3}$ بكتريا فى المجال الواحد وهو يعادل مايقل عن ٢٠٠٠٠٠ بكتريا فى السنتمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة متوسطة .

د — أما اذا احتوت العينة على أقل من ٨٠٠ خلية فى ٦٠ مجالا أى بمتوسط $\frac{٣}{٤}$ ١٣ بكتريا فى المجال الواحد وهو مايعادل ١ — ٢ مليون فى السنتمتر المكعب بطريقة الأطباق فتعتبر العينة رديئة.

ثالثا : طريقة فروست

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

(١) كيفية اجراء الاختبار

تلخص طريقة اجراء الاختبار فيما يلى :

يعمل مستطيل مساحته أربعة سنتمترات مربعة على شريحة زجاجية وتعقم الشريحة بامرارها فى اللهب ثم ترج العينة جيدا ويؤخذ منها $\frac{١}{٤}$ سنتمتر مكعب بواسطة ماصة شعرية مضبوطة العيار ويصب اللبن على الشريحة فى داخل المستطيل قرب أحد جوانبه .

توضع الشريحة بعدئذ على لوح ساخن (Hot plate) حرارته ٤٥ سنتجراد ثم يصب $\frac{١}{٤}$ سنتمتر مكعب من آجار أذيب وبرد إلى درجة ٩٠ سنتجراد بالقرب من الجانب الآخر من المستطيل بعيداً عن اللبن. وأخيراً يمزج اللبن بالآجار بواسطة ابرة من الألومنيوم ذات عقدة (loop) وينشران فى طبقة منتظمة على المستطيل بحيث لاتتعدى حدوده .

ترفع الشريحة بعد ذلك من فوق اللوح الساخن ويترك المخلوط برهة لكى يتجمد ثم توضع الشريحة فى وعاء خاص مقفل يحتوى على ماء حتى يكون جوه رطبا (وهو يعرف باسم Moist chamber) ويوضع الوعاء المذكور فى محضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٨ — ١٦ ساعة ثم تجفف الشريحة لمدة وجيزة على درجة ٩٥ سنتجراد وتثبت عليها البيئة بغمسها مدة دقيقتين فى سائل خاص (يتركب من ١٠ ٪ حامض الخليك فى كحول ٩٥ ٪) ونهائيا تصبغ إما بالكاربول ثيونين (Carbol thionin) أو بالفينوسافرانين (Pheno - safranin) أو بأزرق المثيلين ($\frac{١}{٤}$ قوة) لمدة دقيقة وتفحص تحت الميكروسكوب .

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

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

ويضرب العدد الناتج فى متوسط عدد المجموعات فى مجال البصر الواحد وضرب الرقم الناتج فى أربعة (لأن كمية اللبن المنشورة على المستطيل هى $\frac{1}{4}$ سنتمتر مكعب) ينتج عدد البكتريا فى السنتمتر المكعب من عينة اللبن .

وقد أدخل أحد الباحثين بعض تحسينات على هذه الطريقة بتعديل مساحة المستطيل وكمية اللبن التى تنشر عليه واستعمال غطاء زجاجى (Cover slip) مقسم كى يتسنى حساب عدد البكتريا الكلى من عدد المجموعات التى توجد بعدة أقسام مباشرة .

(٢) ميزات الاختبار وعيوبه

تمتاز هذه الطريقة بعدة ميزات أهمها التالية : —

ا — أنها سهلة الاجراء ويمكن الحصول على نتيجتها بسرعة إذا قورنت بطريقة الأطباق ، إذ أنها لاتحتاج الى أكثر من ١٦ ساعة كما ذكرنا .

ب . أنها أقل كلفة من الطريقة المذكورة نظراً لقلة المواد والأدوات التى تستعمل فيها وبساطة العمليات التى تتناولها .

حـ — يمكن حفظ الشريحة المحضرة واعتبارها سجلا دائما .

د — يستعمل فيها كمية من اللبن أكبر من الكمية المستعملة فى طريقة الميكروسكوب المباشرة .

هـ — لاتظهر على الآجار فيها مجموعات منتشرة (Spreading) كالتى تشاهد أحيانا على الاطباق ويتسبب عن وجودها عدم إمكان عد المجموعات الاخرى بدقة .

و — أن اللبن لايخفف فى هذه الطريقة ولذا يستبعد الخطأ الناتج من عدم دقة هذه العملية .

أما مايؤخذ على هذا الاختبار فأهمه أن كمية اللبن المستعملة فيها على العموم صغيرة لاتمثل تماما جميع اللبن المراد اختباره .

رابعاً — طريقة بورى

استنبطت هذه الطريقة منذ سنوات قلائل وهى تعرف أحيانا باسم « طريقة عد المجموعات على سطح الآجار المائل » (Smear Count) وهى تشبه كذلك طريقة الاطباق من عدة وجوه غير أنه يستعمل فيها الآجار المائل فى الأنابيب بدلا من الاطباق ولايلزم لاجرائها من الأدوات غير أنابيب الآجار واية خاصة من الالومنيوم طرفها مستدير بشكل عروة أو عقدة (loop) تسع $\frac{1}{100}$ من السنتمتر المكعب من اللبن .

١ — كيفية اجراء الاختبار

تتلخص طريقة إجراء الاختبار فيما يلى : —

بعد تحضير البيئة كالنظام المذكور تحت طريقة الاطباق وتعبئتها فى الانابيب بنسبة أربعة سنتمترات

مكعبة فى كل أنبوبة وسدها وتعقيمها فى الاوتوكلاف تجمد فى وضع مائل ويجفف الآجار بوضع الانابيب فى المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٣ — ٤ أيام .

عند ابتداء الاختبار ترج عينة اللبن فى الزجاجة الخاصة بها جيدا وتعقم الابرة الالومنيوم فى اللهب ثم ينقل بها من العينة ملء خمس عقد (loopfuls) إلى أنبوبة الآجار ويراعى ضبط كمية اللبن التى تنقل فى العقدة وذلك بأن تمسك الابرة رأسية فى كل مرة عند غمسها فى اللبن وإخراجها منه ثم تنشر محتوياتها بانتظام على سطح الآجار المائل وأخيرا تسحب دون تعقيمها على سطح الآجار فى أنبوبة ثانية .

توضع الانبوبتان بعد تلقيحهما فى المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة وتحصى المجموعات التى ظهرت على سطحيهما بواسطة عدسة يدوية ويضرب عددها فى ٢٠٠ فينتج عدد البكتريا الكلى فى السنتمتر المكعب من العينة الاصلية .

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

٢ — مميزات الاختبار وعيوبه

من أهم مميزات طريقة بورى الآتية : —

ا — سهولة الاجراء .

ب — قلة المواد والادوات والعمليات التى يقتضيها إجراؤها وانخفاض نفقات فحص العينه تبعا لذلك .

ح — عدم ضرورة إجرائها فى معمل الفحص بل يمكن تلقيح الأنابيب فى المكان الذى تؤخذ منه العينة مباشرة كافرز الاستلام أو قاعة التعقيم الخ .

أما عيوبها فأهمها : —

ا — أن نتائجها ليست من الدقة بدرجة نتائج طريقة الاطباق نظراً لأن كمية اللبن التى تختبر فيها صغيرة جدا ولذلك فهى لاتمثل تماما جميع اللبن المراد اختباره .

ب — تعذر ضبط كمية اللبن التى تنقل الى الانابيب بواسطة عقدة الابرة الالومنيوم التى لاتزيد سعتها عن ملليمتر مكعب واحد ومن هذا فان استعمال الماصة كالنظام المتبع فى طريقة الاطباق يفضل كثيرا استعمال الابرة فى الغرض المذكور .

ح — ان نمو البكتريا فى البيئة عند خلطها باللبن (كما هو المتبع فى طريقة الاطباق) أفضل منه فى حالة نشرها على سطح الآجار الجاف نسبيا فى الأنابيب .

وعلى العموم فان هاتين الطريقتين غير شائعتى الاستعمال فى معامل الفحص كطريقتى الاطباق والميكروسكوب المباشرة .