الباب الثانى والعشرون

اختبارات وجود الميكروبات المكونة لغازات فى اللبن

الغرض من هذه الاختبارات هو الوقوف على نسبة وجود البكتريا التى تخمر اللاكتوز (سكر اللبن) وتنتج أحماضا وغازات فى اللبن . هذه البكتريا تنتمى إلى طائفة خاصة من الميكروبات تعرف باسم طائفة القولون (Colon or Coli - aerogenes group) وأهمها النوع الذى يميز باسم بكتريم أو باسلس أو اسشريشيا كولاى (Bacterium or Bacillus or Escherichia coli) أو المعروف غالبا باسم باسلس القولون .

وتنتقل مكروبات القولون إلى اللبن - كما ذكرنا من قبل - من مصادر شتى كروث الماشية والسماد والغبار والأقذار الأخرى وكذا الماء الملوث وكثيرا ما توجد بالأوانى غير تامة التعقيم كآنية الحليب والمصفاة والمبرد وصفائح النقل إلى آخره ، لذلك فإن ارتفاع نسبتها فى اللبن يدل على كثرة تلوثه بالمواد المذكورة وعدم العناية بنظافة أوانى اللبن وأدواته ومن ثم تتخذ نتيجة هذه الاختبارات على وجه العموم مقياساً لمبلغ العناية التى روعيت فى إنتاج اللبن ومعاملته .

وفضلا عما ذكر فإن كثرة وجود باسلس القولون ، الذى يعيش دائماً بالأمعاء ، فى اللبن منتقلا إليه من الروث والسماد يعتبر تلوثا غير مرغوب فيه إلى حد كبير إن لم يكن خطراً بالفعل لأن بعض الميكروبات المرضية التى تصيب الانسان تعيش أحيانا فى أمعاء الحيوانات ولذلك يحتمل انتقالها إلى اللبن كذلك من نفس هذه المصادر .

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

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

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

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

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

١ — الأدوات اللازمة للاختبار

أهم الأدوات اللازمة لاجراء هذا الاختبار هى :

ا — أنابيب التخفيف : تستعمل لهذا الغرض أنابيب بالمقاس المذكور فى الكلام عن طريقة الأطباق ويحضر السائل المستخدم فى التخفيف ويعبأ فى الأنابيب بنسبة تسعة سنتمترات مكعبة فى كل أنبوبه وتسد الأنابيب وتعقم كما هو مبين فى تلك الطريقة .

ب — ماصات سعة سنتمتر مكعب واحد : ينطبق على الماصات المستعملة هنا الوصف الذى أتينا عليه كذلك فى طريقة الأطباق .

حـ — أنابيب بيئة ماكونكى : مطابقة فى مقاسها لأنابيب الآجار المذكورة فى طريقة الأطباق إلا أن كلا منها تحتوى على أنبوبة زجاجية صغيرة أحد طرفيها مقفل وتعرف باسم « أنبوبة درهام الاختمارية » (Durham fermentation tube) ويفضل أن يكون قطرها $\frac{3}{8}$ بوصه .

٢ — تركيب وتحضير البيئة المستعملة فى الاختبار

يستعمل فى هذا الاختبار بيئة سائلة إذ لاتوجد بيئة صلبة مناسبة تسمح بنمو ميكروبات القولون دون غيرها . وقد وجد أن أنسب بيئة هى مرق ماكونكى (Mac Conkey broth) وهذه تحتوى على اللاكتوز الذى يمكن لهذه الميكروبات تخميره وكذلك على ملح الصفراء (bile salt) وهى مادة تشجع نموها وتثبط فى الوقت ذاته نمو الميكروبات الأخرى وتعرف هذه البيئة أحيانا باسم بيئة ملح الصفراء اللكتوزى البتونى (bile salt lactose peptone medium) وفيما يلى تركيبها وطريقة تحضيرها :

٥ جرامات توروكولات الصوديوم (ملح الصفراء)
١٠ « لاكتوز (سكر اللبن) .
٢٠ جرام ببتون .
٥ جرامات كلورور الصوديوم (ملح الطعام) .
١٠٠٠ سم٣ ماء مقطر .

يحور أحيانا التركيب السابق باستعمال ماء الصنبور بدلا من الماء المقطر ولايضاف للبيئة عندئذ ملح الطعام كما تخفض فى بعض الأحوال كمية اللاكتوز إلى خمسة جرامات بدلا من عشرة .

وقبل أن يبدأ بتحضير البيئة يجهز عدد من أنابيب الاختبار النظيفة بمعدل ١٥٠ — ١٦٠ أنبوبة لكل لتر من البيئة ويوضع فى كل منها أنبوبة الاختبار الصغيرة بحيث تتجه فتحتها إلى اسفل .

توضع جميع المواد التى تتألف منها البيئة معا فى الوعاء المزدوج الجدران وتسخن بالبخار حتى تذوب المواد الصلبة تماما وهذه العملية تستغرق نحو ساعة (يفضل أحيانا خلط المواد فى قنينة وتسخينها فى المعقم بالبخار (Steamer) لمدة ساعة) ثم يضبط تأثير البيئة إلى رقم ٧,٤ p H بنفس الطريقة التى أتينا على وصفها فى تحضير الآجار ولكن مع استعمال دليل حمرة الفينول (أو الفينول الاحمر Phenol Red) (ويستحسن البعض ضبط تأثير البيئة الى نقطة التعادل ٧ p H) وبعدئذ يرشح المرق فى ورق ترشيح أوفى قطن ماص بواسطة قمع زجاجى ويضاف إليه عشرة سنتمترات مكعبة من دليل اندرادى (andrade's indicator) أو من محلول عباد الشمس (Litmus Solution) أو ١٪ من محلول مائى للحمرة المتعادلة (Neutral red) أو غيره من الأدلة الأخرى المناسبة .

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

يعبأ المرق بعدئذ فى أنابيب الاختبار بنسبة ٥ — ٦ سم٣ لكل أنبوبة ثم تسد الأنابيب بالقطن وتعقم إما فى الأوتوكلاف لمدة ربع ساعة تحت ضغط عشرة أرطال للبوصة المربعة أو بالطريقة المتقطعة أى لمدة ٢٠ دقيقة على درجة ١٠٠ سنتجراد فى ثلاثة أيام متعاقبة . وينبغى أن تكون البيئة فى النهاية رائقة تماما .

ويلاحظ عند تعبئة البيئة فى الأنابيب أن أنابيب الاختبار تطفو على سطح السائل بتأثير ماتحويه من الهواء ولكنها تعود فتغوص إلى القاع عندما يفرغ منها الهواء أثناء عملية التعقيم .

يستحسن اختبار البيئة للتحقق من دقة تعقيمها وذلك بانتخاب عدة أنابيب ووضعها فى المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٥ — ٧ أيام فإذا لم يحدث بها تغيير ماكانت صالحة للاستعمال .

يحضر دليل اندرادى بالطريقة الآتية :

٥٠٠ سم٣ ½٪ محلول مائى للفوكسين الحمضى
نحو ١٠ سم٣ محلول أساسى من ايدرات الصوديوم .

يضاف محلول الصودا إلى محلول الفوكسين حتى يصير شفافا فيترك لمدة ٢٤ ساعة ثم يرشح .

أما أنابيب التخفيف فتحضر بنفس الكيفية التى ذكرت فى الكلام عن طريقة الاطباق ويستعمل فى التخفيف الماء المقطر (الذى أجرى تقطيره فى زجاج) أو ماء الصنبور (إذا ثبت خلوه من المواد السامة للبكتريا) أو يستعمل المحلول الملحى أو محلول رنجر .

٣ـ كيفية اجراء الاختبار

توضع ثلاث أنابيب تخفيف تحتوى كل منها على ٩ سم٣ من الماء المعقم على حامل كما توضع ثمان أنابيب محتوية على بيئة ماكونكى على حامل آخر مزدوج كل اثنتين منها متقابلتان .

تخلط عينة اللبن جيدا ثم ينقل منها ١ سم٣ بواسطة ماصة معقمه إلى أنبوبة التخفيف الاولى (مع إتخاذ جميع الاحتياطات التى تكفل عدم تلوث العينة أو ماء التخفيف أو الماصة بميكروبات الهواء أثناء هذه العملية أو العمليات التالية) وبذا يحضر تخفيف $\frac{1}{10}$ ثم ينقل ١ سم٣ من أنبوبة التخفيف الاولى بعد مزج محتوياتها جيداً بواسطة ماصة أخرى معقمة إلى أنبوبة التخفيف الثانية فيجهز بذلك تخفيف $\frac{1}{100}$ وأخيراً يحضر من هذه الانبوبة تخفيف $\frac{1}{1000}$ بنفس الطريقة . ثم يؤخذ بواسطة ماصة معقمة لم يسبق استعمالها سنتمترا مكعبا من كل تخفيف وتلقح به كل من أنبوبتين من أنابيب بيئة ماكونكى الثمان ابتداء من التخفيف الأخير ($\frac{1}{1000}$) وإنتهاء إلى التخفيف الاول ($\frac{1}{10}$) ثم تلقح كل من أنبوبتى ماكونكى الباقيتين بسنتيمتر مكعب من عينة اللبن بواسطة نفس الماصة .

وهناك طريقة أخرى يفضلها البعض ويعتبرها أدق من السابقة وفيها يجرى التخفيف وتلقيح أنابيب ماكونكى فى وقت واحد وهى تتلخص فيما يلى :

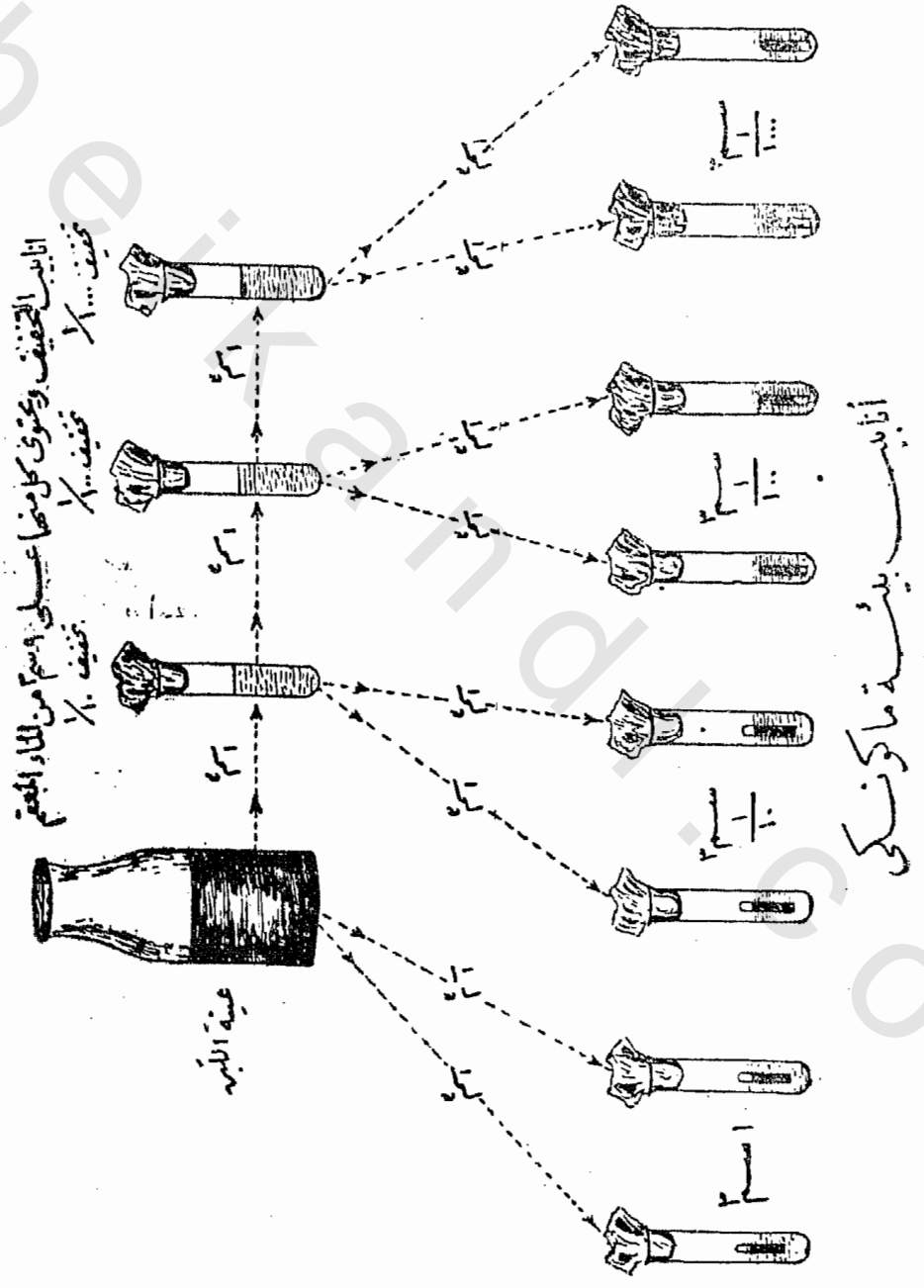
ينقل بماصة معقمة ١ سم٣ من عينة اللبن إلى أنبوبة التخفيف الأولى (تخفيف $\frac{1}{10}$) ثم ينقل بنفس الماصة سنتمتر مكعب من العينة الى كل من أنبوبتى ماكونكى (وترقم كل منهما برقم ١ سم٣) .

تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الأولى بماصة أخرى معقمة وذلك بمص السائل منها واعادته بالنفخ بضع مرات على النحو الذى بسطناه فى الكلام عن طريقة الأطباق ثم ينقل منها بتلك الماصة ١ سم٣ الى أنبوبة التخفيف الثانية (تخفيف $\frac{1}{100}$) و ١ سم٣ آخر إلى كل من أنبوبتى ماكونكى (يرقمان برقم $\frac{1}{100}$ سم٣) ثم تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الثانية بماصه ثالثة معقمة وينقل منها بنفس الماصة ١ سم٣ إلى أنبوبة التخفيف الثالثة (تخفيف $\frac{1}{1000}$) و ١ سم٣ إلى كل من أنبوبتى ماكونكى (ويرقمان برقم $\frac{1}{1000}$ سم٣) وأخيرا تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الثالثة بماصة معقمة رابعة وينقل منها بالماصة ذاتها ١ سم٣ الى كل من أنبوبتى ماكونكى الاخيرتين (يرقمان برقم $\frac{1}{1000}$ سم٣) والشكل ٤٤ يوضح كيفية اجراء التخفيف والتلقيح

وعندما يراد زيادة الدقة فى فحص العينة تضاف الى سلسلة أنابيب ماكونكى السالفة الذكر أنبوبتان

تحويان $\frac{1}{1000}$ سم^3 من عينة اللبن وأنبوبتان أخرتان تحويان $\frac{1}{10000}$ سم^3 من العينة وتلقح هذه الأنابيب بنفس الطريقة التى لقحت بها الانابيب الآنفة الذكر ، كما يلقح أحيانا من كل تخفيف عدد أكبر من أنابيب ماكونكى قد يصل فى بعض الأحوال الى ستة أنابيب

تحفظ أنابيب ماكونكى عقب تلقيحها وتميزها بعلامات على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة أو ٧٢ ساعة ثم تختبر لوجود الحامض والغاز فيستدل على انتاج الحامض من تغير لون البيئة الى اللون الاحمر



(شكل ٤٤)

طريقة اجراء التخفيف وتلقيح بيئة ماكونكى فى اختبار نسبة البكتريا المكونة لغازات

(وذلك فى وجود دليل اندرادى) ويشاهد الغاز الناتج متجمعا فى أنبوبة الاختمار الصغيرة على أن النتيجة لاتعتبر ايجابية الا إذا كان الغاز المتجمع فى الانبوبة يزيد عن ١٠ ٪ من حجمها

وعند تدوين نتيجة الاختبار يذكر المقدار الاقل من اللبن الذى يتكون منه حامض وغاز ويذكر اذا كان انتاجهما فى أنبوبة واحدة أو فى الانبوبتين فاذا ظهر الحامض والغاز مثلا فى أنبوبتى $\frac{1}{10}$ يذكر أن ميكروبات القولون موجودة فى $\frac{1}{10}$ سم^3 ولكنها غير موجودة فى $\frac{1}{100}$ سم^3 وهذا يعنى أنه يوجد على الاقل ١٠٠ ميكروب من ميكروبات القولون فى السنتمتر المكعب من عينة اللبن

٤ ـ كيفية التحقق من وجود ميكروبات القولون بالعينة

يعرف عادة الاختبار السابق وصفه باسم الاختبار التخمينى أو الاحتمالى (Presumptive test) لأن إنتاج الحامض والغاز فى أنابيب بيئة ماكونكى لايعتبر دليلا قاطعا على وجود ميكروبات القولون فيها اذ أنه توجد أحيانا ميكروبات اخرى تحدث مثل هذا التفاعل ولذلك اذا أريد التحقق من وجود ميكروبات القولون وعلى الاخص يكتريم كولاى فيجب اجراء اختبار آخر ثانوى تزرع فيه الميكروبات التى أحدثت التفاعل وتفصل على بيئة مناسبة وتميز أنواعها

ولكى يكون هذا الاختبار وافيا بالغرض المقصود منه ينبغى أن يجرى مباشرة عقب ظهور نتيجة الاختبار الأول وتلخص طريقة اجرائه فيما يلى: ـ

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

وتميز مجموعات كولاى (التى توجد بعدد كبير فى الأمعاء وتنتقل إلى اللبن رئيسياً من ألروث) من مجموعات بكتريم أو ايروبا كتر إيروجنيس (Bacterium or aerbacter aerogenes) (التى توجد بقلة فى الأمعاء ويكثر وجودها فى التربة والماء والغبار وغذاء الحيوانات) بأن الأولى مسطحة ومنتشرة نوعا (Slightly spreading) ومبيضة أو مائلة إلى الاصفرار أولا ثم تتلون بلون بنى متسخ (dirty brown) أما الثانية فأكبر حجما من الأولى عادة ومرتفعة وغير منتشرة وبيضاء اللون أو مائلة إلى اللون الرمادى ورطبة ولامعة .

ويتألف آجار ماكونكى الذى يجرى فيه هذا الاختبار من المواد التى ذكرت فى تركيب مرق ماكونكى بنفس الكميات ولكن يضاف إليها الآجار الخيطى بنسبة ٢ ٪ بعد غسله جيداً ويراعى ألا يضاف اللاكتوز والدليل إلى البيئة إلا بعد ضبط تأثيرها وترشيحها . والدليل المستعمل غالبا فى حالة آجار ماكونكى هو دليل الحمرة المتعادلة (neutral red) فيعمل منه محلول مائى (١ ٪) ويضاف منه إلى البيئة . سم٣ لكل لتر وهو يمتاز على دليل اندرادى بأنه يساعد على تثبيط نمو الميكروبات التى لاتدخل ضمن مجموعة القولون .

* * *

وقبل أن نختم الكلام عن هذا الاختبار يجدر القول بان نتيجته الإيجابية تدل عموماً على خطأ الطرق المتبعة فى إنتاج اللبن ومعاملته سواء باسطبل الحليب أو بمعمل الألبان وأن عدم ظهور ميكروبات القولون فى مقدار ١ سم٣ من عينة اللبن تدل على الدقة فى مراعاة الاشتراطات الصحية فى الإنتاج والمعاملة .

ومن أهم مايعاب على هذا الاختبار عدم امكان الاعتماد عليه فى سرعة إستبعاد عينات اللبن الرديئة قبل استعمالها إذ يستلزم الوصول إلى نتيجته ، كما تبين مما سبق ، انقضاء يومين أو أكثر مثله فى ذلك مثل اختبار عد البكتريا فى اللبن بطريقة الاطباق .

ومن ميزات هذا الاختبار إمكان اجرائه بسهولة فى نفس الوقت الذى يجرى فيه عد البكتريا بطريقة الاطباق وزيادة فى الفائدة سنورد هنا كيفية إجراء الإختبارين معا .

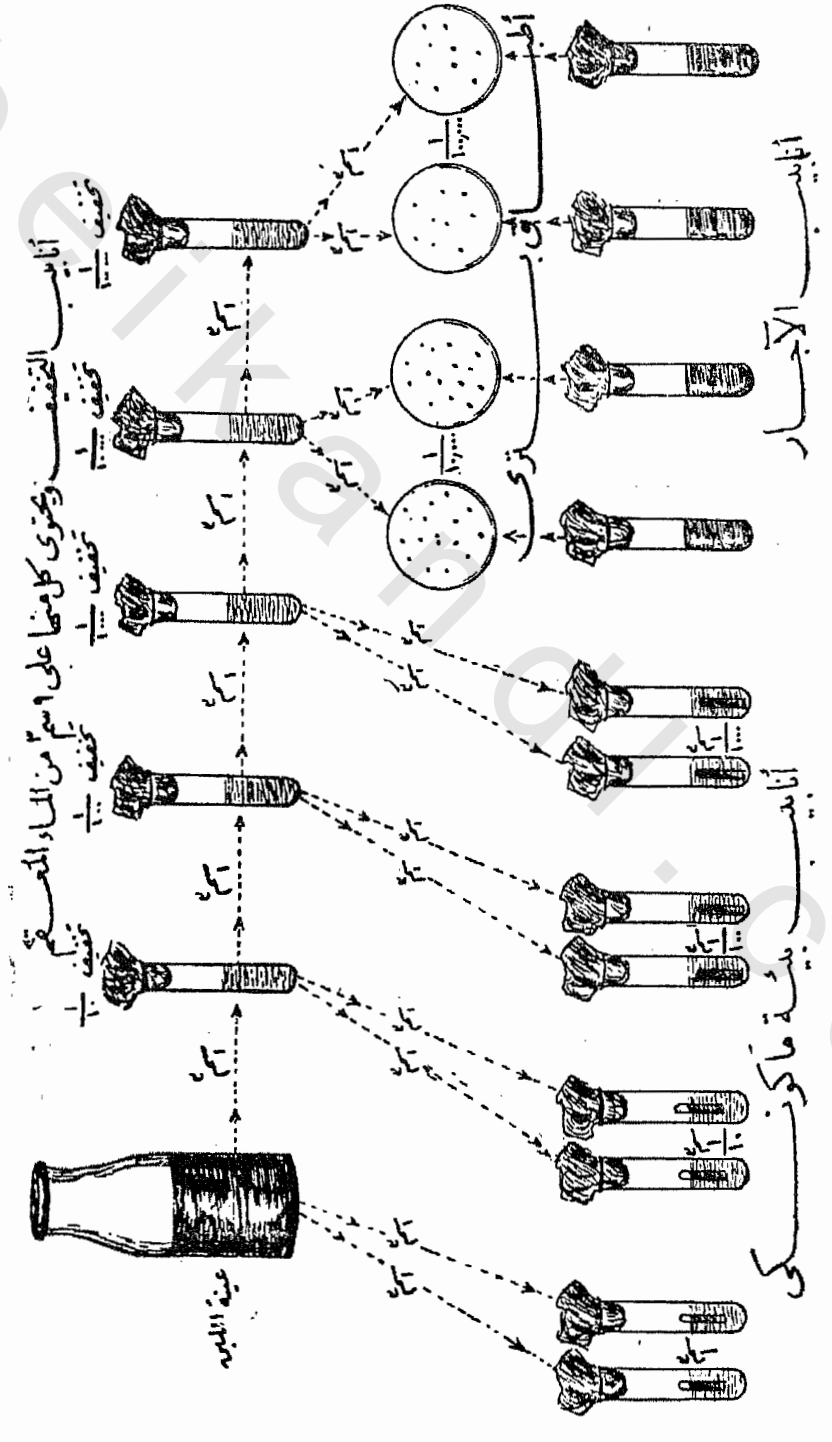
٥ — اجراء اختبار البكتريا الملونة لغازات مع عد البكتريا بطريقة الاطباق

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

فإذا أريد اختبار إحدى عينات اللبن التجارية وكان فى النية تخفيفها إلى $\frac{1}{100000}$ مثلا فيلزم إعداد الأدوات الآتية :

عدد	
٥	أنابيب تخفيف
٦	ماصات سعة ١ سم٣
٤	أطباق بترى
٤	أنابيب آجار
٨	أنابيب مرق ماكونكى

ترج عينة اللبن فى الزجاجة جيداً كما أوضحنا من قبل وينقل منها بماصة معقمة ١ سم٣ إلى أنبوبة التخفيف الأولى (ترقم $\frac{1}{10}$) مع مراعاة جميع الاشتراطات التى تضمن عدم تلوث العينة والماصة وماء التخفيف) ثم ينقل بنفس الماصة ١ سم٣ إلى كل من أنبوبتى ماكونكى (ترقمان ١ سم٣) .



(شكل ٤٥)

كيفية اجراء اختبار عد البكتريا بطريقة الاطباق و نسبة الميكروبات المكونة لغازات فى نفس الوقت

تؤخذ ماصة أخرى معقمة وتمزج بواسطتها محتويات أنبوبة التخفيف الأولى ثم ينقل منها ١ سم٣ إلى أنبوبة التخفيف الثانية (ترقيم $\frac{1}{100}$) وكذلك ١ سم٣ إلى كل من أنبوبتى ماكونكى (ترقمان $\frac{1}{100}$ سم٣).

تؤخذ ماصة ثالثة معقمة وتمزج بها محتويات أنبوبة التخفيف الثانية ثم ينقل منها ١ سم٣ إلى أنبوبة التخفيف الثالثة (ترقيم $\frac{1}{10000}$) كما ينقل بنفس الماصة ١ سم٣ إلى أنبوبتى ماكونكى (ترقمان $\frac{1}{10000}$ سم٣)

تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الثالثة بماصة رابعة معقمة ثم ينقل بها من تلك الأنبوبة ١ سم٣ إلى أنبوبة التخفيف الرابعة (ترقيم $\frac{1}{1000000}$) وكذلك ينقل ١ سم٣ إلى كل من أنبوبتى ماكونكى (ترقمان $\frac{1}{1000000}$ سم٣) .

تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الرابعة بماصة خامسة معقمة ثم ينقل بواسطتها من الأنبوبة المذكورة ١ سم٣ إلى أنبوبة التخفيف الخامسة (ترقيم $\frac{1}{100000000}$) وكذا ١ سم٣ إلى كل من طبق بترى (يرقمان $\frac{1}{100000000}$ سم٣) .

وأخيرا تمزج محتويات أنبوبة التخفيف الخامسة بماصة سادسة معقمة وينقل منها ١ سم٣ إلى كل من طبق بترى آخرين (يرقمان $\frac{1}{10000000000}$) .

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

٦ — الحكم على درجة نقاوة اللبن من نتيجة هذا الاختبار

ينص دائما فى الاشتراطات الخاصة بنظافة انتاج اللبن على وجوب الاهتمام بنتيجة اختبار ميكروبات القولون فى قياس النقاوة البكتريولوجية لعينات اللبن وتعتبر عادة عينات اللبن التى لاتحتوى على ميكروبات القولون فى ١ سم٣ جيدة إلا أنه لما كان من الصعب إنتاج اللبن الخام خاليا من هذه الميكروبات تماما فإن العينات تعتبر على وجه العموم مرضية إذا لم تحتو على ميكروبات القولون فى $\frac{1}{10}$ سم٣ ومتوسطه إذا لم توجد بها تلك الميكروبات فى $\frac{1}{100}$ سم٣ ودون المتوسطة إذا لم توجد فى $\frac{1}{100}$ ولكنها تعتبر رديئة إذا ظهر الحامض والغاز فى الأنابيب التى تحتوى على المقدار الأخير .

الباب الثالث والعشرون

اختبار اللبن بالطرق البسيطة

يتناول الكلام فى هذا الباب شرح طرق فحص اللبن بواسطة الاختبارات البسيطة التى لا يقتضى اجراؤها دقة وعناية فائقتين والتى يقصد منها الحكم بسهولة على نوع اللبن ومقدار نقاوته من الوجهة البكتريولوجية.

أغلب هذه الاختبارات سريعة الاجراء وتعرف نتائجها بعد مدة قصيرة بعكس بعض الاختبارات السابق شرحها ، ولذلك يمكن الاعتماد عليها فى سرعة استبعاد العينات الرديئة من بين الألبان التى ترد إلى المعمل قبل استعمالها . وهى علاوة على ما تقدم قليلة النفقات ولذا يتيسر اجراؤها بسهولة فى معامل الألبان الصغيرة حيث لا توجد الوسائل الكافية لفحص اللبن بكتريولوجيا بالطرق السابقة الذكر كما أنه يمكن للشخص الذكى ، مع اتخاذ احتياطات بسيطة القيام بهذه الاختبارات حتى ولو لم يكن ذا خبرة وافية بالأعمال البكتريولوجية.

وسنشرح فيما يلى كيفية إجراء الاختبارات المذكورة

أولا : اختبار اختزال أزرق الميثيلين

Methylene Blue Reduction Test

يقتصر على تعريف هذا الاختبار غالبا باسم اختبار الاختزال ويسمى أحيانا باسم أختبار الردكتاز (Reductase test) وهو شائع الاستعمال فى البلدان الأوروبية منذ سنين كثيرة وينتشر استعماله بسرعة فى انجلترا والولايات المتحدة الأمريكية سنة بعد أخرى .

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

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

وقد وجد أن سرعة اختفاء زرقة الميثيلين فى اللبن لاتتوقف على عدد مافيه من ميكروبات فحسب بل أنها تتوقف كذلك على أنواعها ومقدار نشاطها فقد اتضح من التجارب أن أنواع البكتريا المختلفة لاتختزل أزرق الميثلين بسرعة واحدة كما أن حفظ عينة اللبن على درجات الحرارة الملائمة يزيد نشاط البكتريا ويسرع تكاثرها مما يؤدى إلى سرعة الاختزال ، ولذلك لا ينبغى اعتبار مدة الاختزال مقياسا دقيقا لعدد الميكروبات التى يحويها اللبن ولو أنه يمكن القول عموما إنه كلما كبر عدد الميكروبات الحية التى تحويها عينه اللبن كلما قصر الوقت اللازم لاختزال صبغة أزرق المثيلين .

ويفضل استعمال أزرق الميثلين على غيره من الصبغات فى هذا الغرض لأن أغلب الصبغات الأخرى إما أن تختزل بسرعة زائدة أو ببطء شديد بحيث يتعذر تعيين مدة الاختزال وبالتالى الحكم على نوع اللبن بدقة كافية ، كما أن صبغة أزرق الميثلين بالتركيز المستعمل تكسب اللبن لونا واضحا يسهل بواسطته تعيين النقطة التى تختزل عندها الصبغة المذكورة بسهولة ، علاوة على أن المقدار المستعمل منها فى هذا الاختبار لايعتبر ضارا بالبكتريا .

الطريقة القديمة :

يستعمل فى قياس اللبن مخبار مدرج نظيف غير معقم ويكفى غسله بعينة اللبن المراد اختبارها مرة أو مرتين قبل استعماله ثم يؤخذ به أربعون سنتمترا مكعبا من عينة اللبن وتوضع فى أنبوبة غليان معقمة مسدودة بغطاء قطنى ثم يضاف اليها سنتمتر مكعب من محلول أزرق الميثلين المخفف بواسطة ماصة معقمة وتخلط الصبغة باللبن جيدا ويحفظ المخلوط على درجة ٣٧ سنتجراد فى محضن أو فى حمام مائى ويفحص بين حين وآخر وتدون مدة الاختزال (أى الوقت الذى يمضى بين خلط الصبغة باللبن واختفاء لونها منه) .

ويتركب محلول أزرق الميثلين المستعمل كما يأتى : —

٥ سم٣ محلول كحولى مشبع لصبغة أزرق الميثلين .

١٩٥ « ماء مقطر

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

الطريقة الحديثة :

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

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

١ — الأدوات والمواد اللازمة للاختبار

ا — محلول أزرق المثيلين : لما كانت دقة نتيجة الاختبار تتوقف إلى حد بعيد على نقاوة الصبغة المستعملة فمن الضرورى ألا تحتوى الصبغة على آثار من المواد الغريبة ولذلك تباع الآن أقراص (١) خاصة ينصح باستعمالها فى هذا الاختبار حيث روعى فى صنعها دقة الوزن والنقاوة التامة ويجهز منها محلول قياسى (Standard) كالآتى : —

يذاب قرص واحد فى ٢٠٠ سم٣ من ماء مقطر معقم دافىء (يشترط أن يجرى التقطير فى جهاز زجاجى) فى قنينة معقمة ويراعى رج القنينة جيدا حتى يذوب القرص تماما فى الماء وبعد أن يبرد المحلول يكمل إلى ٨٠٠ سم٣ بماء مقطر معقم كذلك ثم تقفل القنينة بأحكام بسدادة من المطاط وتحفظ فى مكان بارد مظلم . وهذا المحلول يبقى صالحا للاستعمال مدة طويلة مادام محفوظا بالطريقة السابقة على أنه يستحسن استبداله بمحلول جديد إذا مضى عليه أكثر من شهرين من وقت تحضيره

ب — أنابيب الاختبار : تستعمل أنابيب سميكة الجدران طولها ٦ بوصات وقطرها الخارجى ⅝ بوصة والداخلى ١٣٫٥ ملليمتر وعليها علامة لقياس ١٠ سم٣ من اللبن وينبغى تنظيف الانابيب جيدا وسدها بالقطن ثم تعقيمها قبل الاستعمال إما فى الاوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ٢٠ دقيقة أو فى فرن الهواء الساخن على درجة ١٦٠ سنتجراد لمدة ساعتين وإذا لم تستعمل عقب التعقيم بوقت قصير فيجب حفظها فى صناديق مقفلة لوقايتها من الغبار .

حـ — سدادات مصنوعة من المطاط : يلزم عدد من سدادات خاصة مصنوعة من المطاط يتناسب قطرها مع قطر أنابيب الاختبار السالفة الذكر وهذه تعقم بغمسها فى ماء يغلى لمدة ٥ دقائق قبل الاستعمال مباشرة .

د — حمام مائى : يستخدم حمام مائى معدنى ذو غطاء وحوامل للأنابيب مصنوعة كلها من المعدن ويشترط أن يكون مجهزا بمنظم دقيق للحرارة (Thermo - reglator) . تحفظ حرارة الحمام بين درجة ٣٧ و٣٨ سنتجراد وينبغى أن يكون الحمام مظلما تماما من الداخل لان الضوء يؤثر فى سرعة العملية .

هـ — ماصات : الماصات التى تستعمل تكون سعتها ١ سم٣ وينطبق عليها الوصف المذكور تحت طريقة الاطباق ويلزم وضع سدادات قطنية فى طرفها العلوى ثم لفها فى ورق زبد أو وضعها فى علب معدنية وتعقيمها بالهواء الساخن على درجة ١٦٠ سنتجراد لمدة ساعتين قبل الاستعمال .

٢ — كيفية اجراء الاختبار

ترج زجاجة العينة جدا لخلط اللبن على النحو الذى ذكرناه فى طريقة الاطباق ثم يرفع غطاؤها باحتراس

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

بحيث لايلمس جزؤه السفلى أجساما غير معقمة حتى لايتلوث بميكروبات خارجية ثم يمر بفوهة الزجاجة فى لهب بنزن . تنزع سدادة احدى الانابيب وتعقم فوهتها فى اللهب وتمسك فى وضع مائل ثم يصب اللبن من الزجاجة فى الانبوبة إلى أن يبلغ مستواه علامة ١٠ سم٣ وتعاد سدادة الانبوبة وغطاء الزجاجة مكانهما

يؤخذ بواسطة احدى الماصات المعقمة سنتمتر مكعب من محلول أزرق الميثلين ويصب فى الانبوبة (وبذلك يصبح تركيز الصبغة فى اللبن ببببب) ويحتاط فى أثناء هذه العملية من تلوث طرف الماصة باللبن الموجود بالانبوبة (فإن حدث ذلك وجب استبدالها باخرى فى الحال وعدم اعادة وضعها فى محلول أزرق الميثيلين) ويمكن استخدام ماصة واحده فى اضافة محلول الصبغة إلى عدة أنابيب مادام طرفها لم يلوث باللبن

ويراعى عند صب الصبغة فى الانبوبة أن تمسك الماصة بحيث يكون طرفها المدبب ملاصقا للزجاج الجاف بعيداً عن مستوى اللبن بنحو بوصة ثم تفرغ محتوياتها بالنفخ فى طرف الماصة العلوى وبعد مضى ثلاث ثوان يعاد النفخ فى الماصة ليتخلص مما تبقى من المحلول بطرفها وأخيرا تسحب الماصة من الانبوبة وتقفل الانبوبة باحكام بواسطة احدى السدادات مع مراعاة مسك السدادة بواسطة ملقط معقم أو بأطراف الاصابع من جزئها العلوى على ألا تلمس الاصابع فم الانبوبة أو جزء السدادة السفلى الذى يدخل فى الانبوبة

تقلب الانبوبة بعدئذ ببطء مرة أو مرتين لمزج محتوياتها ثم توضع فى الحمام المائى عقب ذلك مباشرة أو فى خلال مدة لاتتجاوز الخمس دقائق من وقت سدها

وينبغى ان توضع مع أنابيب العينات فى وقت واحد فى الحمام المائى أنبوبتان للمقارنة احداهما تحتوى على ١٠ سم٣ من لبن مخلط من جملة عينات ويضاف اليها ١ سم٣ من ماء الصنبور والثانية محتوية على نفس الكمية من اللبن المذكور ولكن يضاف اليها ١ سم٣ من محلول أزرق الميثلين وتسد الانبوبتان بالطريقة التى سبق وصفها ثم تغمسان فى ماء مغلى لمدة ٣ دقائق لكى يبطل مفعول المواد المختزلة الطبيعية الموجودة باللبن وبمقارنة انابيب العينات بانبوبة المقارنة الثانية يمكن معرفة الوقت الذى يبدأ فيه الاختزال وبمقارنتها بالانبوبة الاولى يتيسر تحديد الوقت الذى تتم فيه العملية المذكورة

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

أولا : الانابيب التى اختزلت فيها الصبغة تماما ترفع من الحامل ولاتعاد الى الحمام المائى وتحسب مدة الاختزال فيها وتدون . ويعتبر الاختبار منتهيا كذلك اذا بقيت آثار من اللون بالسطح أو بالقاع فى طبقة لايتجاوز سمكها فى كلا الحالتين خمسة ملليمترات مع اختفاء الصبغة من بقية اللبن جميعه

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

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

٣ — احتياطات خاصة بإجراء الاختبار

لكى يضمن الحصول على نتائج موثوق بها من اختبار الاختزال ينبغى ملاحظة الاحتياطات الآتية :—

(ا) تحفظ محلول أزرق الميثلين دائما فى الظلام فى الاوقات التى لايستعمل فيها ولا يعرض لضوء الشمس فى أى وقت من الاوقات

(ب) يصب جزء من المحلول الاصلى لازرق الميثلين يكفى للعمل اليومى فى وعاء مناسب ولا يجب بحال من الاحوال وضع الماصة المستعملة فى اضافة أزرق الميثلين إلى اللبن فى المحلول الاصلى واذا تلوث محلول بشىء من اللبن قد يصل اليه عن طريق الماصة فيجب عدم استعمال المحلول الملوث والاستعاضة عنه بجزء آخر من المحلول الاصلى

(حـ) من المهم جدا أن يكون داخل الحمام المائى مظلما أثناء أجراء الاختبار ولا يجب تعريض الانابيب لضوء الشمس أثناء فحصها

(د) يلاحظ أن يكون مستوى الماء فى الحمام المائى أعلى من مستوى اللبن فى الانابيب .

(هـ) يراعى حفظ حرارة الحمام المائى بين درجتى ٣٧ و ٣٨ سنتجراد طول وقت اجراء الاختبار

(و) يلزم فى حالة العينات المأخوذة من مصادر مختلفة أن تفحص تحت ظروف متماثلة بقدر الامكان بمعنى أنه لايجوز أن تؤخذ عينة من أحد المنتجين فى صباح يوم بارد وتؤخذ عينة من مورد آخر فى مساء يوم حار .

ولو أنه يسهل بهذا الاختبار فحص عدد كبير من العينات فى وقت واحد والحصول على نتائج سريعة يمكن بها تمييز العينات الجيدة من الرديئة فى مدى ساعات قلائل من وصول اللبن إلى المعمل إلا أنه لايصلح تماما لفحص اللبن المبستر بقصد الاستدلال على دقة عملية البسترة لان سرعة إختزال أزرق الميثلين تتوقف على مايحويه اللبن من أكسجين وعلى ذلك فان عمليات التسخين (كالبستره) التى تخفض نسبة الاكسجين تقصر مدة الاختزال كثيراً

٤ الحكم على درجة نقاوة اللبن من نتيجة هذا الاختبار

يستعمل اختبار الاختزال فى تقسيم اللبن الى رتب بحسب درجة تفاوته ويبنى التقسيم على طول المدة التى يختزل فيها اللون الأزرق والتقسيم الآتى هو الأكثر استعمالا :

الرتبة الأولى . لبن جيد : عينات هذا اللبن لاتختزل اللون فى مدة أقل من خمس ساعات ونصف ساعة وقد وجد أن مثل هذا اللبن يحتوى عادة على أقل من ½ مليون بكتريا فى السنتيمتر المكعب عند اختباره بطريقة الأطباق

الرتبة الثانية : لبن متوسط الجودة : يختزل اللون فى مدة تقل عن الخمس ساعات ونصف الساعة ولكنها تزيد عن الساعتين وهو يحتوى عادة على ½ إلى ٤ ملايين بكتريا فى السنتيمتر المكعب

الرتبة الثالثة : لبن ردىء : يختزل اللون فى مدة تقل عن الساعتين ولكنها تزيد عن العشرين دقيقةوهو يحتوى عادة على ٤ — ٢٠ مليونا من البكتريا فى السنتمتر المكعب

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

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

ثانيا . اختبار الراسب

Sediment Test

الغرض من اختبار الراسب تقدير كمية الأوساخ والمواد الغريبة (كالروث والسماد والشعر وأجزاء العليقة الخ) التى وصلت الى اللبن أثناء الإنتاج ومثل هذه المواد تكون مصحوبة بعدد كبير من البكتريا غير المرغوب فيها ولو أن كميتها لاتعتبر مقياسا لمحتويات اللبن من البكتريا اذ أن ذلك يتوقف على طبيعة المواد الملوثة .

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

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

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

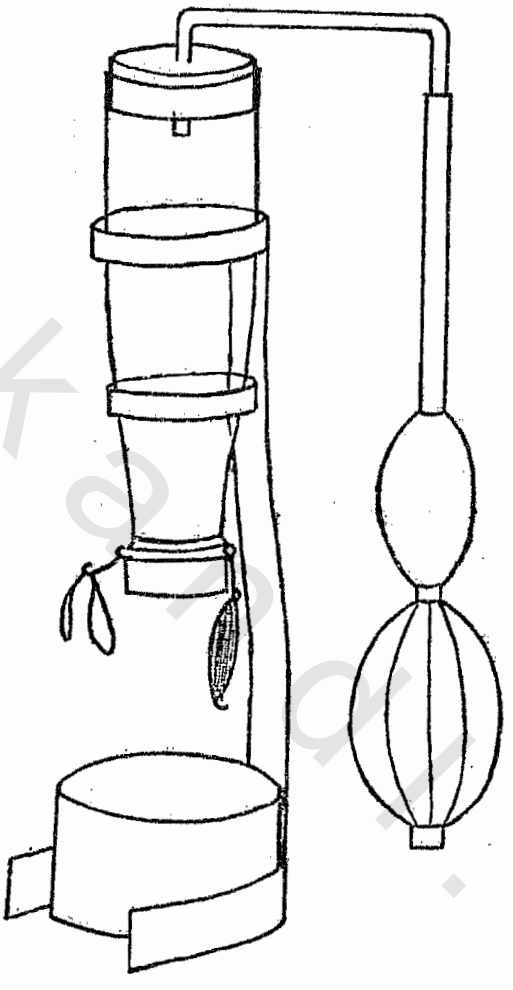
طرق اجراء الاختبار

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

١ — طريقة الأقراص القطنية :

يستعمل فى هذه الطريقة جهاز بسيط يتألف من زجاجة طويلة قمعية الشكل تقريبا بدون قاع ، مركب

فى رقبتها حلقة من السلك المتين تتصل بشبكة سلكية مستديرة قطرها حوالى بوصة واحدة ذات ثقوب ضيقة تضغط بأحكام على فوهة الزجاجة بواسطة مشبك لولبى (على نحو سدادات زجاجات ماء الاكسجين) ، وللزجاجة المذكورة حامل خشبى فى وسطه فتحة مستديرة (راجع شكل ٤٦) .



(شكل ٤٦)
جهاز الراسب ذو الاقراص القطنية

ولإجراء الاختبار تنظف الزجاجة جيداً ويوضع قرص قطنى خاص على الشبكة السلكية ويحكم قفل الزجاجة بالمشبك ثم توضع على الحامل مقلوبة الوضع (أى متجهة فوهتها إلى أسفل) بحيث تنفذ رقبتها من فتحة الحامل ويوضع أسفلها وعاء مثل كوز من الصاج ويخلط اللبن المراد إختباره جيداً وتوخذ منه كمية معينة (لاتقل عن ١ بينت = ½ رطل تقريبا) بواسطة وعاء معقم وتصب فى الزجاجة باحتراس ويركب فى طرف الزجاجة العلوى المفتوح سدادة من المطاط ذات فتحة واحدة تنفذ منها أنبوبة متصلة بمضخة يد صغيرة يضغط بها الهواء فتسرع عملية التصفية .

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

عند تصفية اللبن خلال القرص القطنى تتجمع عليه الأوساخ والمواد الغريبة التى يحويها اللبن وقد لوحظ أن سرعة تصفية عينات اللبن بهذه الطريقة تختلف أحياناً فاللبن الطازج مثلا الذى لم يسبق تسخينه يصفى عادة بسرعة فى حين أن اللبن المبستر وعلى الأخص الذى عرض منه لحرارة عالية ، كثيرا مايكون عسر التصفية لأن الحرارة المذكورة تحدث به تغيرات طبيعية ينتج عنها تجمع حبيبات الدهن فى شبه كتل صغيرة وتجبن البروتين تجبنا جزئياً فينشأ عن ذلك انسداد بعض مسام القرص القطنى وتبطؤ التصفية تبعاً لذلك .

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

أما الأقراص القطنية المتحصل عليها من اختبار مختلف العينات فتحفظ عادة فى سجل خاص بمعمل التحليل وذلك بأن توضع على ورق مقوى فى المحضن وهى ماتزال رطبة فاذا ماجفت التصقت به إذ أن اللبن الجاف مادة لاصقة فى ذاتها ثم تكتب تحت كل قرص نمرة عينة اللبن واسم صاحبها وتاريخ فحصها ، وفى بعض الأحوال يفضل ارسال الأقراص بعد تجفيفها إلى المنتجين كى تدلهم بطريقة ملموسة على مالدقة الانتاج من أثر فى نظافة اللبن وخلوه من المواد الغريبة .

ومن أهم مايلاحظ فى اجراء هذا الاختبار ضرورة الدقة فى قياس كمية اللبن بحيث تكون مقادير العينات المراد إختبارها متساوية تماما وإذا أريد إتخاذ نتيجة الاختبار مقياسا لدقة الحلابين فينبغى أن تؤخذ العينات كما قلنا فى محل الانتاج عقب الحليب مباشرة تحت شروط متماثلة بقدر الامكان .

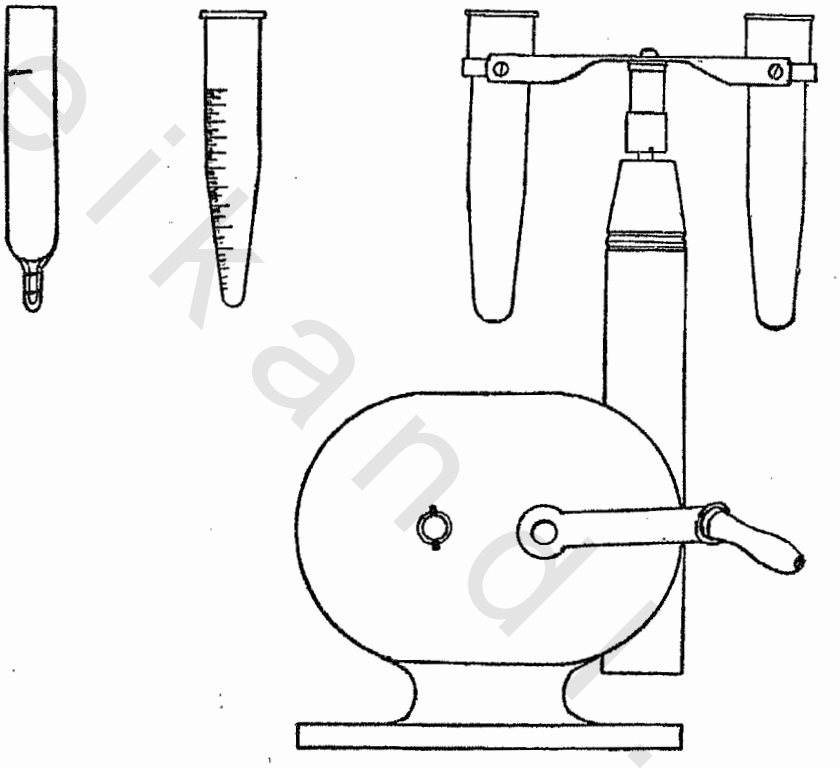
٢ — طريقه أنابيب الترسيب

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

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

٣ — طريقة الآلة المركزية الطاردة (السنترفيوج Centrifuge)

تعتبر هذه الطريقة أهم الطرق الثلاث وأدقها وتستخدم فيها نظرية القوة المركزية الطاردة وتستعمل لذلك الآلات اليدوية الصغيرة (كالمبينة بشكل ٤٧) أو آلات كبيرة تدار بالكهرباء . ولاجراء الاختبار تسخن عينات اللبن أولا إلى درجة ٦٠ سنتجراد ثم تملأ أنابيب الآلة إلى مستوى العلامة الموجودة عليها ، كل منها بحسب حجم الآلة فمنها مايسع ١٠ أو ٢٥ أو ٥٠ أو ١٠٠ سم٣ (ويشاهد بشكل ٤٧ نوعان من الأنابيب سعة كل منهما ١٠ سم٣ وهى المستعملة فى هذه الطريقة) .



(شكل ٤٧)
الالة المركزية الطاردة المستعملة فى اختبار الراسب

توزن الأنابيب بدقة بعد تعبئتها باللبن ويراعى أن تكون أوزانها متساوية تماما ثم توضع بالالة كل أثنتين منها متقابلتان وتدار الآلة لمدة ١٥ — ٣٠ دقيقة بسرعة ٣٠٠٠ دورة فى الدقيقة وتعرف كمية الراسب من التدريج الموجود على الانبوبة بعد انتهاء العملية .

وأحيانا تتبع طريقة مخالفة نوعا للسابقة وتعتبر أدق منها وفيها تؤخذ ١٠٠ سم٣ من عينة اللبن وتدار لمدة نصف ساعة بسرعة ٣٠٠٠ دورة فى الدقيقة ثم توقف الآلة ويصب جميع ما بالانبوبة من اللبن ماعدا العشرة السنتيمترات الاخيرة وهذه تنقل إلى أنبوبة ثانية سعتها ١٠ سم٣ طرفها السفلى رفيع ومدرج ثم تدار فى الآلة لمدة نصف ساعة أخرى بنفس السرعة وأخيراً تقدر بها كمية الراسب بالدقة .

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

وفضلا عما تقدم فإن فحص الراسب ميكروسكوبيا يعطينا فكرة عامة عن عدد وأنواع الميكروبات التى توجد بعينة اللبن وعن درجة نقاوة العينة والطريقة المتبعة عادة فى تحضير الغشاء هى الاتية :

بعد إتمام العملية توقف الآلة وتدون الملاحظات الوافية عن حجم الراسب ومظهره ثم يصب مافى الانبوبة من لبن ويستبقى الراسب وتؤخذ منه ثلاث أو أربع نقط بواسطة ابرة معقمة وتنشر على شريحة نظيفة بهيئة غشاء ثم يجفف الغشاء ويثبت ويلون بصبغة أزرق الميثلين بالكيفية التى ذكرناها فى طريقة عد البكتريا بالميكروسكوب وأخيرا يفحص بالعدسة الزيتية فيلاحظ مايأتى :

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

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

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

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

ثالثا — اختبار الحفظ

Keeping Quality Test

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

ولا تتوقف مدة بقاء اللبن بحالة جيدة (أو قابليته للحفظ كما تسمى أحيانا) على عدد ماتحويه العينة من ميكروبات فحسب بل أنها تتوقف كذلك على أنواع تلك الميكروبات فمثلا وجود ميكروبات القولون بالعينة ولو بنسبة قليلة يؤدى الى سرعة فسادها بما تنتجه من حوامض (كحامض البوتريك وحامض الخليك) تؤثر فى طعم اللبن ورائحته ، على أنه قد وجد عموما أن مدة بقاء العينة بحالة جيدة تتناسب عكسيا مع عدد المجموعات التى تظهر عند فحصها بطريقة الاطباق فكلما كثر عدد المجموعات كلما قصرت المدة المذكورة

ومن العوامل الاخرى التى تؤثر فى نتيجة هذا الاختبار تعرض اللبن لحرارة عالية عند نقله فى زمن الصيف وكذلك كثرة رجه أثناء النقل الى مسافات طويلة وصبه من وعاء لآخر مرات عديدة ففى الحالة الاولى يزداد نشاط الميكروبات ويسرع تكاثرها لارتفاع درجة الحرارة وفى الحالتين الأخرتين يسبب رج اللبن وتكرار صبه فى أوعية متعددة تفكك بعض الكتل المؤلفة من عدة ميكروبات وانفراد أغلبها فيؤدى كل هذا إلى قصر مده الاختبار وانخفاض قابلية اللبن للحفظ ، كما لا يخفى أن لمراعاة الاشتراطات الصحية فى الانتاج أثرا كبيرا فى النتيجة فنظافة الماشية واونى الحليب والعناية بتبريد اللبن الخ تضمن بقاء العينة دون تغير مدة طويلة

أما التغيرات التى تنشأ باللبن فتجعله غير صالح للاستعمال فهى كثيرة منها ما يحدث بالطعم او الرائحة أو بالتركيب او باللون وبعض هذه التغييرات تبدو أحيانا واضحة وضوحا تاما للمستهلك العادى فقد يشاهد أن اللبن يتجبن إذا ما سخن او اضيف الى القهوة او الشاى الساخن او يلاحظ ان رائحته عفنة او ان طعمه غير مقبول او ان قوامه لزج او ان لونه غير عادى الخ ومثل هذه التغييرات تنشأ عن عوامل متعددة اهمها الميكروبات التى يحويها اللبن او كنتيجة لتغذى الماشية بغذاء خاص او اصابتها بمرض فى الضرع او غير ذلك من الاسباب واغلب هذه التغييرات يمكن تمييزها بحاستى الشم والذوق وتسخين اللبن الى درجة غليان الماء مدة قصيرة وتلك هى القواعد التى بنى عليها اختبار الحفظ

١ — الادوات اللازمة للاختبار

لا يستلزم هذا الاختبار غير أدوات بسيطة قليلة النفقات وهى : —

ا — زجاجات عينة سعة ٢٠٠ سم٣ ذات غطاء يشبه الكأس غير محكمة السد

ب — أنابيب إختبار من زجاج سميك كالمبين وصفها فى الاختبارات السابقة

حـ — حمام مائى به عدة عيون يزيد قطرها قليلا عن قطر أنابيب الاختبار

تعقم الأنابيب والزجاجات فى الأوتوكلاف ويراعى تغطية فوهة الاخيرة بورق الزبد (grease paper) وقلب الكاس فوقها قبل التعقيم وعند استعمالها تنزع الورقة ويعاد الكاس مكانه.

٢ — كيفية اجراء الاختبار

يصب نحو ١٥٠ سم٣ من اللبن المراد اختباره فى إحدى زجاجات العينة ويبين على الزجاجة نمرة العينة أو علامة مميزة لها ثم توضع على درجة ٦٠ فهرنهيت (١٥,٥ سنتجراد) فى محضن حرارته ثابتة على الدرجة المذكورة وتختبر مرتين فى اليوم احداهما فى الصباح (الساعة التاسعة صباحا) والاخرى فى المساء (الساعة الخامسة مساءاً) بالطريقتين الاتيتين : —

١ — بالغلى : تخلط العينة جيدا بوضع الزجاجة فى وضع مستوى على المنضدة وإدارتها بحركة رحوية بضع مرات ، ثم يرفع غطاؤها باحتراس وتعقم فوهتها ويصب منها نحو خمسة سنتمترات مكعبة فى أنبوبة اختبار وهذه تغمس فى ماء يغلى بالحمام المائى لمدة ٥ — ١٠ دقائق ثم تستخرج منه ويلاحظ ان كان اللبن الموجود بها قد تجبن بالغلى أو بقى دون تغيير .

ب — بالشم والذوق : بعد خلط العينة بالطريقة السابقة يصب منها نحو عشرة سنتيمترات مكعبة فى كوبة عادية من كوبات الماء ويشم اللبن ثم يؤخذ قليل منه فى الفم ويمرر فوق اللسان إلى الخلف ثم يبصق فى حوض الغسيل ويلاحظ فى أثناء هذه العملية طعم العينة فان كان متغيرا فيجب بصقها بسرعة وغسل الفم بالماء الدافىء مباشرة حتى لايبقى الذوق متأثرا بطعمها فيتعسر تمييز طعم العينات الباقية

ويستحسن غلى العينة قبل أن تشم أو تذاق فان تجبنت بالغلى لم تعد ثمت حاجة إلى شمها أو ذوقها ويفضل فى أغلب الأحوال شم العينة بعد الغلى مباشرة لأن الروائح الغريبة تكون أكثر وضوحا فى اللبن بعد تسخينه ورجه ، ثم يبرد اللبن بعد شمه ويذاق

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

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

وقد قسم اللبن إلى مراتب بحسب نتيجة هذا الاختبار وسنأتى على بيان هذه المراتب فى مكان آخر

ولو أن الطريقة المشروحة فيما سبق هى المستعملة منذ زمن غير قصير فى انجلترا إلا أنه قد لوحظ أنها لاتخلو من عيوب لذلك اقترح البعض ادخال بعض تعديلات عليها نلخصها فيما يلى : —

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

مرتين (أحداهما فى الساعة التاسعة صباحا والثانية فى الثالثة مساءاً والثالثة فى التاسعة مساءاً) أى كل ست ساعات مرة وألا يختبر بالغلى ولا بالذوق بل يعتبر الاختبار منتهيا اذا ظهرت بالعينة رائحة حمضية أو عفنة واضحة وضوحاً تاماً او عندما يتجبن اللبن من ذاته

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

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

٣ — الحكم على درجة نقاوة اللبن من نتيجة هذا الاختبار

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

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

وقد أجريت تجارب كثيرة لتحديد العلاقة بين مدة اختزال أزرق الميثلين ومدة الحفظ فتبين منها أن مدة الحفظ لعينات اللبن التى توضع فى الرتبة الاولى بحسب التقسيم المذكور فى اختبار الاختزال تعادل ٤٠ ساعة وإن مدة الحفظ لعينات الرتبة الثانية تعادل ٣٠ ساعة ولعينات الرتبة الثالثة تعادل ١٠ ساعات ولعينات الرتبة الرابعة تعادل أقل من ١٠ ساعات

أما فى الاحوال التى يجرى فيها الاختباران وتقسم العينات تبعاً لنتيجتهما فتوضع العينة أولا فى الرتبة المناسبة تبعا لنتيجة اختبار الاختزال على أن تخفض رتبتها الى الرتبة الادنى منها مباشرة أى من الاولى إلى الثانية أو من الثانية إلى الثالثة مثلا إذا ظهرت بها تغيرات غريبة فى الطعم والرائحة

الباب الرابع والعشرون

اختبارات متنوعة

تستعمل لفحص اللبن فى احوال خاصة

الاختبارات التى سيلى شرحها فى هذا الباب لاتستعمل بكثرة فى فحص اللبن إلا فى أحوال خاصة سيأتى ذكرها فيما بعد وجلها سهلة الإجراء ولا تحتاج الى أجهزة أو معدات غالية الثمن

أولا — اختبار الاختمار

Fermentation Test

يجرى هذا الاختبار إما مستقلا أو بالاشتراك مع اختبار الاختزال الذى أسلفنا ذكره ويمكن بواسطته الحكم على أنواع الميكروبات التى تلوث بها اللبن أثناء الانتاج أو بمعنى آخر معرفة مدى تلوثه بالميكروبات الغير المرغوب فيها مثل ميكروبات القولون

ويقتصر استخدام هذا الاختبار غالبا على فحص الالبان المعدة لصنع الجبن ولو أنه يستعمل أحيانا فى اختبار اللبن المعد للاطفال أو الذى تصنع منه الأغذية اللبنية الخاصة بهم

ويلخص هذا الاختبار فى حفظ مقدار معين من عينة اللبن على درجة حرارة ثابتة مدة خاصة من الزمن ثم ملاحظة التغيرات التى تحدث به

١ — الادوات اللازمة للاختبار

ا ـ أنابيب غليان معقمة بالهواء الساخن ويشترط لكى تكون مقارنة نتائج العينات المختلفة صحيحة أن يكون قطر الانابيب المذكورة ثابتا وتستعمل غالبا أنابيب قطرها ٢ سم وذات أغطية من الالومنيوم

ب ـ حمام مائى مجهز بمنظم للحرارة ويشتمل على حوامل ذات فتحات تتناسب مع قطر الأنابيب المستعملة ـ تضبط حرارة الحمام المائى على درجة ٣٧ سنتجراد إذ أنه وجد أن تلك الدرجة تلائم معظم ميكروبات اللبن وينبغى أن تبقى حرارة الحمام ثابتة على الدرجة المذكورة طول مدة اجراء الاختبار

٢ — كيفية اجراء الاختبار

تصب أربعون سنتمترا مكعبا من عينة اللبن (بعد خلطها جيدا فى زجاجة العينة) فى إحدى الانابيب المعقمة وتسد الانبوبة بالسدادة الخاصة ثم ترقم بعلامة مميزة وتوضع بالحامل فى الحمام المائى وتختبر بعد مضى اثنتى عشرة ساعة ثم بعد أربع وعشرين ساعة تلاحظ التغيرات التى حدثت بالعينة بعد انقضاء المدة المذكورة وتقارن بأنواع التغيرات الآتية :

ا) يتجبن اللبن تجبنا منتظما وتكون الخثرة صلبة ملساء لايوجد بها شرش كلية أو ينفصل منها مقدار قليل من الشرش الرائق ، وتحتوى العينة فى هذه الحالة رئيسيا على بكتريا حامض اللكتيك من النوع السبحى وهى بكتريا اللبن العادية

ب) تكون الخثرة كالسابقة ولكنها محببة تحبيبا دقيقا وفى هذه الحالة تحتوى العينة على بكتريا حامض اللكتيك السالفة الذكر وبعض البكتريا المفرزة لإنزيم شبيه فى فعله بالرينين مثل الانواع الكروية والانواع العصوية المتجرثمة الخ

ح) تكون الخثرة طرية ومتكمشة فى جدران الأنبوبة وينفصل منها مقدار من الشرش المبيض اللون وهذا يدل على احتواء العينة رئيسيا على الانواع المفرزة للانزيم التى سبق الاشارة اليها مع بعض بكتريا حامض اللكتيك

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

ه) يكون التجبن غازيا وعندئذ تحتوى الخثرة على فقاعات غازية قليلة أو كثيرة بنسبة ما يوجد بالعينة من ميكروبات مخمرة للا كتوز وعلى الاخص من ميكروبات القولون فان كان عددها كبيرا سببت تمزق الخثرة

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

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

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

وينبغى عند تدوين نتيجه هذا الاختبار أن تلاحظ كذلك رائحة العينة وقوامها مثل ظهور رائحة عفنة أو لزوجة بها كما يفحص قاع الأنبوبة فإن وجد بها راسب يلاحظ لونه ونسبته إذ ربما أستدل من وجود راسب مصفر على إصابة بعض الماشية بالتهاب الضرع

وفى الأحوال التى يجرى فيها اختبار الاختمار بالاشتراك مع اختبار الاختزال تترك الانابيب بعد انتهاء مدة الاختزال فى نفس الحمام المائى الى أن تنقضى الأربع والعشرين ساعة ثم تدون النتيجة ، وقد اتضح أن إضافة صبغة أزرق الميثلين الى اللبن لاتؤثر فى نتيجة اختبار الاختمار لذلك فإن اجراء الاختبارين معا يؤدى إلى اقتصاد فى الوقت والادوات .

ثانيا اختبار المنفحة

Rennet Test

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

ويلخص هذا الاختبار فى إضافة كمية من المنفحة إلى عينة اللبن وحفظها مدة خاصة من الزمن على درجة حرارة معينة ثم فحص الخثرة الناتجة فحصا دقيقا من الخارج والداخل .

١ — الادوات اللازمة للاختبار

الأدوات التى تستعمل فى هذا الاختبار هى بذاتها المستعملة فى الاختبار السابق ولكن يلزم إلى جانب ذلك بعض أقراص من المنفحة .

٢ — كيفية اجراء الاختبار

يجرى هذا الاختبار بعدة طرق أكثرها استعمالا هى الآتيه : —

تصب أربعون سنتمتراً مكعباً من عينة اللبن فى الأنبوبة ويضاف اليها مقدار مناسب من المنفحة (يذاب عادة قرص واحد من أقراص منفحة هانسن (Hansen's rennet tablets) فى ٥٠٠ سم٣ من الماء ويضاف منه نحو ١ سم٣ إلى كل أنبوبة) وبعد أن تخلط المنفحة باللبن جيداً توضع الأنبوبة فى الحمام المائى على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ١٢ ساعة ثم يفحص مظهر الخثرة وتستخرج من الانبوبة وتقطع طولياً بواسطة سكين نظيفة وتقارن النتائج بالانواع الآتية :

(ا) أما أن تظهر الخثرة بهيئة اسطوانة ملساء لاتحتوى من الداخل على فقاعات غازية .

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

(حـ) أو تكون خشنة ومحتوية على قفاعات غازية كثيرة

(د) أو تظهر اسفنجية وتكون على هيئة كتلة ملتوية طافية على الشرش

(هـ) أو يتسبب عن شدة انتاج الغازات فيها تفككها أو تمزقها من بعضها

وتجبن اللبن بالحالة الاولى يدل على جودته وصلاحيته تماما لصنع الجبن فى حين أن تجبنه بالحالة الثانية يدل على ملاءمته نوعا للصناعة المذكورة أما تغيره بالحالات الثلاث الاخيرة فيستدعى بذل الهمة فى تحسين طرق الانتاج وحث الموردين على مضاعفة العناية باتخاذ الاحتياطات التى تضمن نظافة اللبن .

ويجرى اختبار المنفحة أحيانا بطريقة مخالفة للسابقة (تعرف باختبار وسكونسن (Wisconsin Test) وهى شائعة الاستعمال فى أمريكا وتلخص فيما يلى :

تجمع العينات المراد اختبارها فى زجاجات متسعة الفوهة معقمة سعتها بينت واحد (حوالى رطل وربع) وتملأ جميعها بالعينة ثم تسخن على درجه ٩٠ فهرنهيت (٣٢,٢ سنتجراد) فى حمام مائى ويضاف اليها ١٠ نقط من المنفحة تخلط بها جيدا وحالما تتكون خثرة جامدة تقطع بسكين معقم إلى قطع صغيرة ويصفى منها الشرش بمجرد تجمعه ثم يوضع الوعاء على درجة ٩٨,٦ فهرنهيت (٢٧ سنتجراد) وتختبر الخثرة بعد مضى ١٠ — ١٢ ساعة فاذا كانت الخثرة صلبة ذات رائحة مقبولة بعد انقضاء المدة المذكورة دل ذلك على أن عينة اللبن لاتحتوى غالبا على ميكروبات ضارة بصناعة الجبن أما أن احتوت على قفاعات غازية أو ظهرت بها لزوجة أو كانت رائحتها غير مقبولة كان ذلك مدعاة للظن بأن اللبن يحتوى على ميكروبات غير المرغوب فيها للصناعة المذكورة

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

ثالثا — تقدير الحموضة

Datermination of Acidity

لتقدير حموضة اللبن أهمية كبرى فى المعامل التى تشتغل ببسترة الالبان وصنع اللبن المركز والمجفف لان اللبن الذى تزيد حموضته عن حد معين يخشى تغيره أثناء البسترة والتركيز كما أن ارتفاع نسبة الحموضة فى اللبن الخام تؤدى إلى انخفاض قابلية المسحوق الناتج للذوبان

وتقدر الحموضة بطرق شتى نذكر منها الطريقتين الآتيتين وهما أكثر استعمالا من بقية الطرق

الطريقة الاولى : وهى المتبعة غالبا فى انجلترا وأمريكا ويعبر فيها عن درجة الحموضة بعدد السنتيمترات المكعبة من محلول أيدرات الصوديوم الاساسى التى تلزم لمعادلة اثر من عينة اللبن أو بمعنى آخر عدد

السنتيمترات المكعبة من محلول ايدرات الصوديوم العشر الاساسى ($\frac{N}{10}$ ٣ ١٠) اللازمة لمعادلة ١٠٠ سم٣ من العينة

ولإجراء هذه الطريقة يوضع بواسطة ماصة نظيفة مقدار ١٠ سم٣ من عينة اللبن فى كل من كأسين زجاجين نظيفين ويضاف إلى كل منهما ١ سم٣ من محلول الفينولفثالين «phenolphthalein» ويحضر هذا الدليل باذابة ٠,٥ جرام من الفينولفثالين فى ١٠٠ سم٣ من ٥٠ ٪ كحول متعادل) ثم تعادل محتويات إحدى الكأسين بمحلول إيدرات الصوديوم العشر الاساسى مع التقليب المستمر بواسطة قضيب زجاجى إلى أن يظهر باللبن لون وردى خفيف مميز ويستعمل الكأس الثانى للمقارنة أثناء اجراء التعادل وأخيرا يعرف بقراءة المحاسة مقدار المستعمل من محلول الصودا الذى لزم للتعادل وتقيد النتيجة ثم تعادل محتويات الكاس الثانى بالطريقة نفسها ويؤخذ متوسط النتيجتين ويضربه فى ١٠ نحصل على درجة الحموضة فمثلا اذا استعملت ٢ سم٣ من محلول إيدرات الصوديوم العشر الاساسى لمعادلة ١٠ سم٣ من عينة اللبن كانت درجة حموضة العينة ٢ × ١٠ = ٢٠

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

درجة الحموضة	٪ لحامض اللكتيك	درجة الحموضة	٪ لحامض اللكتيك	درجة الحموضة	٪ لحامض اللكتيك
٨	,٠٧٢	١٧	,١٥٣	٢٦	,٢٣٤
٩	,٠٨١	١٨	,١٦٢	٢٧	,٢٤٣
١٠	,٠٩٠	١٩	,١٧١	٢٨	,٢٥٢
١١	,٠٩٩	٢٠	,١٨٠	٢٩	,٢٦١
١٢	,١٠٨	٢١	,١٨٩	٣٠	,٢٧٠
١٣	,١١٧	٢٢	,١٩٨	٣١	,٢٧٩
١٤	,١٢٦	٢٣	,٢٠٧	٣٢	,٢٨٨
١٥	,١٣٥	٢٤	,٢١٦	٣٣	,٢٩٧
١٦	,١٤٤	٢٥	,٢٢٥	٣٤	,٣٠٦

الطريقة الثانية : وهى المستعملة فى معظم الممالك الاوربية وفيها تقدر درجة الحموضة بمعرفة عدد السنتيمترات المكعبة من محلول ايدرات الصوديوم الربع الأساسى اللازمة لمعادلة ١٠٠ سم٣ من اللبن أو بمعنى آخر عدد السنتيمترات المكعبة من محلول ايدرات الصوديوم ربع أساسى التى تلزم لمعادلة ١٠ سم٣ من العينة ويجرى التعادل فى هذه الطريقة بنفس الكيفية التى ذكرت فى الطريقة السابقة مع استعمال دليل الفينولفثالين والأرقام الناتجة تدل على درجات الحموضة بحسب مقياس سوكسلت هنكل (Soxhlet Henkel Scale) ويمكن تحويل هذه الدرجات كذلك الى مايقابلها من نسبة مئوية لحامض اللكتيك بضربها فى ٠,٠٢١٨

تختلف حموضة اللبن الطازج بين ١٦ ، ١٩ درجة (أى ٦,٤ — ٧,٦ من درجات سوكسلت هنكل) وإذا قلت درجة حموضة العينة عن ١٥ عزى ذلك إلى عدة أسباب منها أن تكون الماشية المنتجة قد قاربت نهاية فصل الحليب أو أنها مريضة أما إذا زادت الدرجة عن ٢١,٥ فلا ينصح باستعمال مثل هذا اللبن فى البسترة وإذا جاوزت الحموضة ٢٧,٥ درجة تجبن اللبن عند غليه .

ولو أن ازدياد حموضة اللبن تدريجيا عند حفظه على درجة حرارة مناسبة ترجع إلى تحال سكر اللبن وتكوين حامض اللكتيك بواسطة أنواع مختلفة من البكتريا إلا أنه لاتوجد علاقة ثابتة بين عدد البكتريا فى العينة ودرجة حموضتها

رابعاً — اختبار الغليان

Boiling Test

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

ويجرى اختبار الغليان فى مثل هذه الأحوال بوضع ١٠ سم٣ من العينة فى أنبوبة نظيفة وتسخينها فى ماء يغلى لمدة ١٠ دقائق فان كانت حموضة اللبن مرتفعة بحيث تزيد عن ٢٧,٥ درجة (أى حوالى ١١ درجة سوكسلت هنكل) فيتجبن فى أثناء هذه المدة وقد يتجبن كذلك إذا احتوى على أنزيمات بكترية حتى ولو لم تصل حموضته إلى تلك الدرجة .

ولهذا الاختبار قيمة عملية محدودة فهو لايصلح مثلا لفحص اللبن المعد للبسترة لأن اللبن لا يتجبن فى اختبار الغليان إلا إذا زادت حموضته عن ٢٧,٥ درجة كما قلنا ولكنه يتأثر بعملية البسترة متى زادت حموضته عن ٢٢,٥ درجة كما ذكر فى الاختبار السابق فعدم تجبن العينة فى هذا الاختبار لا يعد دليلا على صلاحيتها للبسترة .

خامسا ـ اختبار الكحول

Alcohol Test

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

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

ويعزى ترسب الكازين فى هذا الاختبار إما إلى الحموضة المرتفعة أو إلى وجود أنزيمات بكتيرية لأن اللبن الذى تزيد حموضته عن ٢١ درجة يكون عادة راسبا دقيقا فى حين أنه إذا زادت الحموضة عن ذلك كثيرا ظهر الراسب ثقيلا وحبيبا ، أما العينات التى تحتوى على عدد كبير من البكتريا المفرزة للرينت فإنها كثيرا ما تتجبن باضافة الكحول اليها حتى ولو لم تبلغ فيها الحموضة ٢١ درجة

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

وينبغى أن يكون الكحول المستعمل فى هذا الاختبار من نوع جيد وأن يجرى تخفيفه باضافة الماء المقطر اليه بعناية ويلزم التأكد من خلوه من الأحماض فقد يحتوى الكحول أحيانا على آثار من حامض الخليك وهذا يؤثر فى النتيجة ويجب أن يقاس اللبن والكحول بماصتين منفصلتين وأن يجرى الاختبار على درجة الحرارة العادية .

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

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

(٢) باستعمال كحول أثيلى متعادل ٨٣ ٪ يحتوى على دليل أحمر الميثيل (Methyl Red) بنسبة ٠,٠٢ ٪ ، ويمكن تقسيم عينات اللبن إلى جيد ومتوسط ورديء وذلك بالكيفية الآتية : —

يؤخذ أربعون سنتمترا مكعبا من عينة اللبن فى أنبوبة غليان نظيفة معقمة وتوضع هذه الانبوبة فى حمام

مائى وترفع حرارتها إلى ٣٧ سنتجراد ثم تحفظ بالمحضن على تلك الدرجة لمدة ٩ ساعات أو على درجة ٢٠ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة وأخيرا يبرد اللبن ويرج ويصب منه ٢ سم٣ فى أنبوبة اختبار نظيفة ويضاف اليها ٢ سم٣ من الكحول السابق الذكر وترج الأنبوبة وتفحص

فإذا لم يظهر راسب بالمخلوط وكان لونه أصفر (buff) دل ذلك على أن العينة جيدة ومثل هذه العينات تبقى غالبا مدة ثلاثة أيام أو أكثر دون أن تتغير

وإذا ظهر به راسب دقيق برتقالى اللون كانت العينة جيدة نوعاً .

أما العينات الرديئة فيتكون بها راسب ثقيل ويصير لونها أحمر ومثل هذه العينات تتغير عادة فى مدة وجيزة .

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

سادساً — اختبار الكاتالاز

Catalase Test

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

$$٢\ يد_٢\ ا_٢ = ٢\ يد_٢\ ا + ا_٢$$

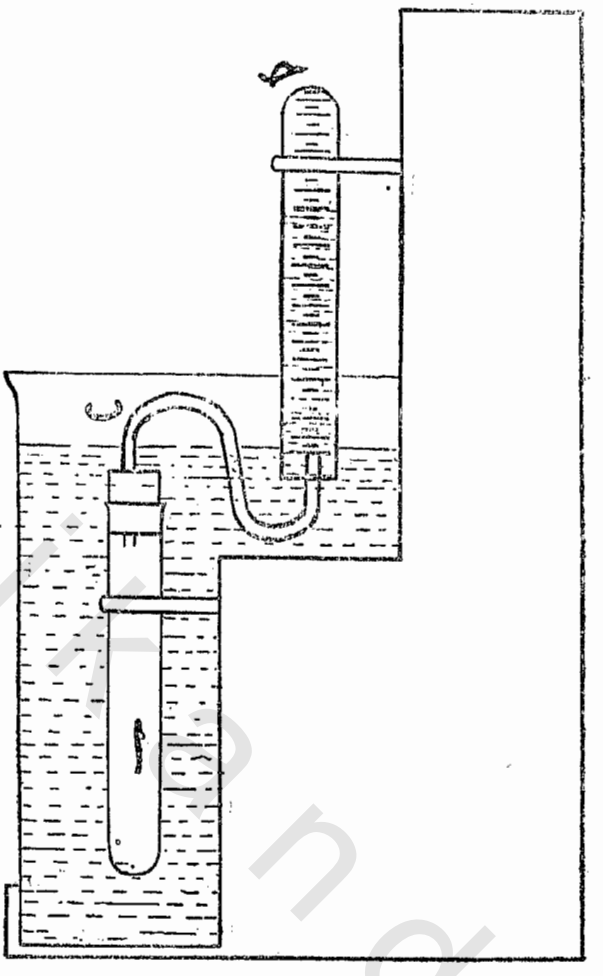
فوق أوكسيد الايدروجين = ماء + أكسجين

ويوجد هذا الأنزيم فى أنسجة النباتات والحيوانات وفى كرات الدم البيضاء (leucocytes) كما تنتجه جميع أنواع البكتريا تقريبا ماعدا بكتريا حامض اللكتيك الحقيقية (True Lactic acid bacteria) والبكتريا الغير الهوائية مثل باسلس أميلوباكتر (B. amylobacter) .

وتختبر الألبان والقشدة والروبة (البادىء) أحيانا بتقدير كمية الاكسجين الناتج عند خلط مقدارين معينين من العينة ومن ثانى أكسيد الايدروجين فى جهاز خاص وحفظهما مدة معينة من الزمن على درجة حرارة خاصة . وغنى عن القول أن مقدار الأكسجين الناتج يتوقف على نسبة الانزيم فى العينة .

كيفية اجراء الاختبار

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



(شكل ٤٨)
جهاز هنكل المستعمل فى اختبار السكاتالاز

ترج عينة اللبن أولا كالمعتاد ويصب منها ١٥ سم٣ فى أنبوبة الاختبار الخاصة (ا) ويضاف إليها ٥ سم٣ من محلول فوق أوكسيد الايدروجين ١ ٪ (يحضر بخلط جزء من فوق أوكسيد الايدروجين ٢٠ حجما (20 volumes) مع خمسة أجزاء من الماء المقطر) ثم تخلط محتويات الأنبوبة بسرعة وتقفل بسدادة من المطاط تنفذ منها أنبوبة زجاجية ملتوية (ب) وتغمس أنبوبة الاختبار فى ماء على درجة ٢٢ سنتجراد بحيث يكون فم الأنبوبة الملتوية العلوى تحت سطح الماء ثم يملأ مخبار مدرج (ح) بالماء ويقلب فوق الأنبوبة الملتوية مباشرة ويثبت فى الموضع المذكور (كما هو مبين بالشكل ٤٨) وأخيرا يوضع الجهاز بالمحضن على درجة ٢٢ سنتجراد لمدة ست ساعات فيتجمع الأكسجين الناتج فى أثناء المدة المذكورة بالمخبار ويمكن معرفة حجمه بسهولة من التدريج الموجود على المخبار .

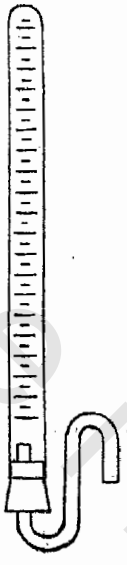
أما جهاز لند (انظر شكل ٤٩) فعبارة عن أنبوبة مدرجة سعتها ٢٠ سم٣ تقفل كذلك بسدادة من المطاط تنفذ منها أنبوبة زجاجية ملتوية وعند استعماله توضع ١٥ سم٣ من العينة فى الأنبوبة المدرجة ويضاف إليها ٥ سم٣ من محلول فوق أكسيد الايدروجين السالف الذكر وبعد خلطهما تقفل الأنبوبة وتقلب

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

ويعرف أحيانا عدد السنتمترات المكعبة من الأكسجين الناتج من العينة فى مدة الست الساعات برقم الكاتالاز (Catalase Number) وفى المعتاد لايزيد رقم عينات اللبن الطازجة الناتجة من مواش سليمة عن ٢,٥ .

أما اللبأ (السرسوب) والألبان الناتجة من مواش مصابة بالتهاب الضرع فتعطى كميات من الأكسجين تزيد عن ذلك كثيرا بالنظر لاحتوائها على نسبة كبيرة من خلايا حيوانية كما أن تلوث العينة بعدد كبير من البكتريا يؤدى إلى زيادة الأكسجين الناتج .

الفرز تحتوى دائما على نسبة من انزيم الكاتالاز تزيد عما يحويه اللبن والقشدة لأن حبيبات الدهن فى القشدة تحمل معها عددا من الخلايا الحيوانية .



(شكل ٤٩)
جهاز لند المستعمل فى اختبار الكاتالاز

وعينات اللبن التى لاتحتوى رئيسيا إلا على بكتريا حامض اللكتيك لاينتج غير كميات ضئيلة من الأكسجين ولذلك يستعمل اختبار الكاتالاز كثيرا فى فحص الروبه إذ المعروف أن الروبه الجيدة لاتشتمل إلا على مزرعة نقية من بكتريا حامض اللكتيك فإن اعطت عينة من الروبة كمية كبيرة من الأكسجين دل ذلك على احتوائها على أنواع من البكتريا الغير المرغوب فيها ويتعين حينئذ عدم استعمالها .

ولما كان انزيم الكاتالاز لايتأثر بالتسخين فإن اللبن المبستر أو المعقم لايحتوى إلا على نسبة صغيرة منه أو لايحتوى عليه كلية إذا روعيت الدقة فى معاملته ولذلك يستعمل هذا الاختبار أحيانا للوقوف على مدى دقة عملية البسترة أو التعقيم .

سادسا : اختبار البروم كريسول الأرجوانى

Brom - Cresol Purple Test

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

وعند استعمال الدليل الأول فى اختبار اللبن توضع ثلاثة سنتمترات مكعبة من عينة اللبن فى أنبوبة اختبار نظيفة معقمه ويضاف إليها نقطة واحدة من محلول مائى مشبع للبروم كريسول الأرجوانى ويخلط اللبن والدليل خلطا جيدا مع اتخاذ جميع الاحتياطات التى تكفل عدم تلوث الأنبوبة أو اللبن أو الدليل بميكروبات

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

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

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

وتسهيلا لاجراء هذا الاختبار تحضر بعض الشركات التجارية أوراقا خاصة ملونة بدليل البروم كريسول الأرجوانى وعندما يحلب عليها قليل من الجزء الأول من اللبن المأخوذ من كل من أجزاء الضرع الأربعة يتغير لونها من الاصفر إلى الارجوانى فى الحالات التى توجد بها الاصابة بالتهاب الضرع . على أن هذه القاعدة لاتخلو من الشواذ لان اللبن الناتج من بعض الماشية التى وضعت حديثا أو فى نهاية فصل الحليب قد يكون قلوى التأثير فيعطى نتائج مماثلة للعينات السالفة الذكر كما أن اللبن الناتج من ماشية مصابة بالتهاب الضرع قد يكون أحيانا حمضى التأثير .

أما فى حالة استعمال دليل البروم ثيمول الازرق فى إختبار مدة الحفظ فيحضر مرق بتركيب خاص مضاف إليه مقدار معين من محلول مائى للدليل المذكور قوته ٠,٠٤ ويضبط التأثير إلى رقم p H ٧ ويضاف ٠,١ سم٣ من عينة اللبن المراد اختبارها إلى عشرة سنتمترات مكعبة من المرق فى انبوبة ويحفظ المخلوط بالمحضن على درجة ٣٧ سنتجراد ويفحص كل ساعة مرة ويقارن بأنابيب اللون النموذجية ويلاحظ سرعة تغير اللون بازدياد الحموضة حتى يصل التأثير الى رقم p H ٥,٨ أو حتى تنقضى ثمان ساعات من وقت ابتداء الاختبار . وغنى عن القول أن العينات الرديئة تعطى نتائج سريعة فى هذا الاختبار بينما لايلاحظ التغير فى لون المخلوط فى حالة العينات الجيدة الا بعد انقضاء وقت طويل نسبيا .

وهذا الاختبار غير شائع الاستعمال على وجه العموم اذ يعاب عليه أن لون المرق لايتغير فى الانبوبة كلها بانتظام بانقضاء المدة فيصعب لذلك الوصول الى نتائج دقيقة .

سابعا — اختبار وجود البكتريا الترموفيلية

Detection of Thermophilic Bacteria

من أنواع البكتريا التى توجد باللبن أحيانا مالا تستطيع النمو على الأطباق العادية المستعملة لاحصاء

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

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

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

ولإجراء الاختبار المذكور يلزم أن يكون المعمل مجهزاً بمحضن خاص درجة حرارته ٥٥ سنتجراد وأن يعنى باعداد المواد اللازمة كبيئة الآجار والأطباق والأنابيب والماصات المعقمة بالكيفية المشروحة فى الكلام عن عد البكتريا بطريقة الأطباق ومع أنه يمكن استعمال احدى البيئات التى ذكرت فى الكلام عن طريقة الأطباق فى هذا الاختبار كذلك إلا أنه وجد أن آجار اللبن « Milk Agar » أو الآجار العادى المضاف اليه سكر الجلوكوز وبعض مواد آزوتية خاصة أكثر ملاءمة لنمو الميكروبات الثرموفيليه

ويتركب آجار اللبن الذى أتينا على ذكره إجمالا فيما سبق كالآتى : —

تذاب ثلاثة جرامات من اللكو وخمسة جرامات من البيتون فى لتر من ماء الصنبور بتسخينها بالبخار (تستغرق هذه العملية نحو ساعة) ويضبط تأثير المرق الى رقم 6,8 p H ثم يسخن فى الأوتوكلاف إلى ضغط ٢٢,٥ رطل للبوصة المربعة ويضاف اليه ١٥ جراما من الاجار ويعاد تسخين البيئة فى الأوتوكلاف إلى ضغط ٧,٥ رطل للبوصة المربعة لمدة ١٥ دقيقة ثم ترشح ويضاف اليها ١٠ سم٣ من اللبن الفرز الطازج النظيف وتخلط بها جيدا وتعبأ البيئة فى الأنابيب وتعقم بالاوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطلا لمدة ٣٠ دقيقة

أما البيئة الثانية فتتركب كذلك من خلاصة اللحم والبيتون والآجار ولكن يضاف اليها نسب خاصة من الجلوكوز والتربتون وخلاصة الخميرة

طريقة اجراء الاختبار :

يتبع فى تحضير الاطباق نفس الطريقة المتبعة فى تحضير أطباق عد البكتريا فى اللبن وتتخذ نفس الاحتياطات المذكورة فى تلك الطريقة لمنع تلوثها بميكروبات خارجية ثم تراعى النقط الاتية بدقة :

(١) تحفظ الاطباق بعد إعدادها وتجمد الآجار على درجة ٥٥ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة .

(٢) من المهم أن تصل حرارة الاطباق إلى الدرجة المذكورة فى مدة لاتتجاوز الساعتين من وقت تحضيرها ويمكن بلوغ ذلك بتدفئة الاطباق قبل نقلها الى المحضن وتجنب وضعها به فى صفوف متلاصقة حتى تتخلل الحرارة هذه الصفوف بسهولة وسرعة

(٣) يوضع بالمحضن مع الاطباق كأس يحتوى على ماء وينبغى ألا يقل مايحويه كل طبق عن ١٥ — ٢٠ سم٣ من الآجار حتى لاتجف البيئة بسرعة فيتأثر نمو البكتريا

عند فحص عينات اللبن الخام لاختبار وجود الميكروبات الثرموفيلية يستحسن بعد أن تخفف العينة كالمعتاد أن يؤخذ مقدار معين من كل تخفيف ويوضع بأنبوبة تحتوى على لبن معقم ثم تحفظ الانابيب المذكورة على درجة ٥٥ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة وتصب فى أطباق وتخلط بآجار اللبن وتحفظ على ٥٥ سنتجراد

الباب الخامس والعشرون

طرق الكشف عن الميكروبات المرضية فى اللبن

يقتضى اجراء الاختبارات التالية مراعاة غاية الدقة فى أخذ العينات وحفظها والاحتياط التام من تلوث أدوات المعمل بالميكروبات المرضية عند عزلها وانمائها أو من وصولها الى الايدى أو الفم أو الانف الخ

ولاختبار الميكروبات المرضية فى اللبن أهمية كبرى عند الاشتباه فى إصابة حيوان من ماشية الحليب بمرض معد أو ظهور أعراضه عليه وكذلك فى حالة انتشار بعض الاوبئة الخطيرة كالتيفود والدفتريا ونحوهما وعلى الاخص بين الاطفال الذين يتركب الجزء الاكبر من غذائهم من اللبن ومنتجاته .

والامراض التى تنتشر بواسطة اللبن كثيرة وقد شرحت فى مكان آخر إلا أننا سنكتفى هنا بوصف طريقة الكشف عن بعض المهم منها كالميكروب المسبب لالتهاب الضرع وكميكروبات السل والتيفود والدفتيريا والاجهاض المعدى

أولا — الكشف عن الميكروب المسبب لالتهاب الضرع

Strep. mastitidis

عند الاشتباه فى إصابة إحدى مواشى الحليب بمرض التهاب الضرع ينبغى أن تفحص عينة من لبنها ميكروسكوبيا ويلزم فى مثل هذه الاحوال أن تؤخذ العينة من الضرع مباشرة مع الاحتياط التام من تلوثها بميكروبات خارجية والطريقة المتبعة عادة فى أخذ العينة هى الاتية : —

ينظف الضرع والحلمات ويدا الحلاب وذراعاه بالماء الدافىء والصابون وتمسح جميعها بالقطن المعقم بعد غمسه فى الكحول وتترك حتى تجف ثم يحلب أولا جزء قليل من اللبن فى إناء ويستغنى عنه ويحلب بعدئذ من كل حلمة من الحلمات الأربع نحو ٥٠ سم٣ على حدة فى زجاجة معقمة وتقفل الزجاجة مباشرة ، على أن البعض يفضل أخذ الجزء الأول من اللبن المحلوب ضمن العينة وعدم الاستغناء عن شىء منه نظرا لاحتوائه على عدد كبير من الميكروبات المسببة لالتهاب الضرع .

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

الجفسيان المنفسجى لمدة دقيقتين ثم تعامل بمحلول جرام اليودى لفترة دقيقتين وتغسل بالكحول ثم بالماء وأخيرا تلون مرة أخرى بصبغة الفوكسين المخفف لمدة ½ دقيقة ويعاد غسلها بالماء وتجفف وتختبر بالعدسة الزيتية) .

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

ومما تجدر ملاحظته فى صدد هذا الاختبار ضرورة فحص عينة اللبن عقب أخذها مباشرة فاذا تعذر ذلك لسبب من الأسباب فينبغى حفظها محاطة بالثلج المجروش إلى أن تفحص كما لا يجب الاعتماد على نتيجة الفحص إلا إذا كان اللبن مأخوذا من حيوان واحد أو من جزء من أجزاء الضرع الأربعة لأن وجود الميكروبات السبحية وكرات الدم البيضاء فى عينة مخلوطة من ألبان عدة مواش لا تعتبر دليلا قاطعا على وجود الاصابة إذ يجوز أن تأتى الميكروبات من مصدر والكرات البيضاء من مصدر آخر .

ثانيا — الكشف عن ميكروب السل

B . tuberculosis

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

تتبع طريقتان للكشف عن ميكروب السل فى اللبن وهما : (١) طريقة الفحص الميكروسكوبى . (٢) طريقة حقن الحيوان وسنبسط كيفية اجراء كل منهما فيما يلى :

١ — طريقة الفحص الميكروسكوبى :

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

ا — يلون الغشاء أولا بصبغة الفوكسين المركزة بعد ترشيحها (Carbol fuchsin) وذلك بوضع الصبغة المذكورة على الشريحة ساخنة (يجرى التسخين فى أنبوبة اختبار) أو توضع عليها باردة وتسخن على فترات بواسطة مصباح بنزين ويستمر الصبغ لمدة ١٥ دقيقة مع ملاحظة عدم جفاف الصبغة على الشريحة .

ب — تصب الصبغة من على الشريحة وتغسل بالماء جيدا .

حـ — تغمس الشريحة فى حامض كبريتيك قوة ٢٠ ٪ لمدة دقيقة واحدة وتغسل بالماء الجارى لمدة دقيقة أخرى وتصفى ويعاد غمسها فى الحامض ثم غسلها بالماء بالكيفية السابقة مرة ثانية وتكرر هذه العملية بضع مرات الى أن يظهر الغشاء بلون وردى باهت .

د — تغسل الشريحه جيدا بالماء لمدة خمس دقائق .

هـ — تعامل الشريحة بالكحول لمدة دقيقتين ثم تغسل بالماء (يفضل البعض غمس الشريحة فى محلول كربونات الصودا المخفف بضع ثوان قبل الصبغ مباشرة بدلا من معاملتها بالكحول)

و — تصبغ الشريحة بصبغة مضادة « Counter stain » لمدة دقيقتين والصبغة المستعملة عادة هى أزرق الميثيلين لوفلر « Loeffler's methylene blue » وتتركب هذه الصبغة كالآتى : يحضر محلول بوتاسا كاوية $\frac{\text{ب}}{١٠}$ (بإضافة ١ سم^٣ من محلول ١ ٪ إلى ٩٩ سم^٣ من الماء) ثم تضاف ٣٠ سم^٣ من محلول كحولى مشبع لازرق الميثيلين فى كحول الى ١٠٠ سم ٣ من محلول البوتاسا المذكور

ز — تغسل الشريحه بعدئذ بالماء وتجفف وتختبر بالعدسة الزيتيه ومن المستحسن معاملة الشريحة بالاثير لمدة بضع ساعات قبل صبغها لازالة الدهن منها

ويفضل البعض اتباع طريقة أخرى (طريقه دوجلاس ومينول) «Douglas & Meanwell» فى فحص عينات اللبن للبحث عن ميكروب السل وإتماما للفائدة نلخصها فيما يلى :

تعبأ ١٠ سم^٣ من عينة اللبن فى أنبوبة الالة المركزية الطاردة ويضاف اليها نصف سنتيمتر مكعب من محلول التربسين [١] وتحفظ الانبوبة بالمحضن على درجة ٥٦ سنتجراد لمدة ٣ ساعات أو على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٦ ساعات ثم تبرد وتضاف اليها ٥ سم^٣ من الاثير ويحكم سدها بسدادة خاصة من المطاط وترج جيدا ٢٠٠ مرة على الاقل ثم توضع بالالة وتدار لمدة ٢٠ دقيقة بسرعة ٤٠٠٠ دورة فى الدقيقة فيلاحظ أن اللبن الذى تحويه يتألف من ثلاث طبقات مميزة تظهر السفلية منها بهيئة سائل رائق وتتركب السطحية من الاثير مذاب فيه الدهن ويفصل الطبقتين المذكورتين طبقة جيلاتينيه رقيقة وهذه تفحص للعثور على ميكروب السل فيلتقط منها جزء صغير بواسطة ابرة معقمة ذات عقدة ويوضع على شريحه نظيفه ويخلط بنقطه من الماء المقطر وينشر بشكل غشاء رقيق ثم يجفف فى الهواء وتوضع الشريحه فى كحول وأثير لمدة ساعتين على درجه الحرارة العادية وأخيرا تصبغ بطريقه زيهل — نيلسن

يشاهد ميكروب السل فى الغشاء المحضر بكلتا الطريقتين المذكورتين والمصبوغ بطريقه زيهل نيلسن

---

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

ملونا بلون أحمر وشكله عصوى نحيف مستقيم أو منحنى قليـــلا وغير متجر ثم وأحيانا يكون محببا « granulated » فيرى فى هذه الحالة غير منتظم التلوين ويلاحظ التحبيب واضحا فى حين ترى خلايا الانسجة والميكروبات الاخرى ملونة بلون أزرق

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

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

٢ — طريقة حقن الحيوان

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

يصب بعدئذ الراسب الناتج من الأنابيب الأربعة باحتراس شديد فى أنبوبة معقمة ذات طرف مدبب مع اتخاذ الاحتياطات التى تضمن عدم تلوثه بميكروبات خارجية أثناء هذه العملية ، ثم توضع الانبوبة المذكورة فى الآلة وتدار لمدة ربع ساعة بالسرعة المستعملة فى الحالة الاولى وبعدها يصب السائل العلوى ويكمل الراسب بالمحلول الملحى المعقم إلى ٣ سم٣ ويمزج جيدا ثم تسحب الكمية المذكورة جميعها فى محقنه (syringe) معقمة ليتلقح بها الحيوان (وأحيانا يفضل استعمال القشدة الناتجة مع الراسب فى التلقيح) .

وطريقة حقن الحيوان للتحقق من وجود ميكروب السل فى العينة هى أهم وأفضل الطرق المعروفة حتى الان وتلخص فيما يلى : —

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

وتحقن نصف الكمية التى تحويها المحقنة أى ٠,١ سم٣ تحت الجلد ثم تسحب الابرة ويضغط بابهام اليد اليسرى على موضع الحقن وأخيرا تحقن الكمية الباقية فى الارنب الثانى بنفس الطريقة .

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

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

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

ب ــ تاريخ الحقن .

حـ ــ ملاحظات عن الاعراض التى تظهر على الحيوان فى مدة الاختبار

د ــ الأوزان الاسبوعية التى يستدل بها على صحة الحيوان .

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

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

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

ثالثا : الكشف عن ميكروب التيفود

Bact. or Bac. typhosus

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

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

وتتركب البيئة المذكورة من مرق ماكونكى الساق وصفه فى اختبار ميكروبات القولون فى اللبن ولكن يضاف إليها ١ ٪ آجار ويذاب بالتسخين لمدة ١٥ دقيقة تحت ضغط ٧,٥ رطل للبوصة المربعة ويرشح ثم يضاف اللاكتوز بعد اذابته فى قليل من الماء إلى الآجار المرشح (بدلا من إضافته إلى المرق أولا) كما تضاف كمية كافية من محلول الحمرة المتعادلة لجعل لون البيئة بنى محمر (reddish - brown) (حوالى ١٠ سم٣ من محلول مائى ٥, ٪ للحمرة المتعادلة لكل لتر من البيئة) ثم تعبأ البيئة فى الأنابيب كالمعتاد وتسد الأنابيب وتعقم لمدة ٣٠ دقيقة تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة .

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

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

وزيادة فى الفائدة نورد فيما يلى تركيب هذه البيئة :

ببتون	٢٠	جرام
ملح الطعام	٥	»
ماء مقطر	١٠٠٠	سم٣

يذاب الببتون والملح فى الماء بالتسخين ويضبط تأثير البيئة إلى رقم p H ٦,٥ وتعبأ فى الأنابيب بنسبة ١٠ سم٣ فى كل أنبوبة ثم تعقم فى الأوتوكلاف تحت ضغط ١,٥ جوى . ويحضر محلول مائى $\frac{1}{1000}$ لصبغة الأخضر اليانع (لسهولة تحضير هذا المحلول يحتفظ بمحلول ١ ٪ للصبغة المذكورة وعند إعداد المحلول المخفف السالف الذكر يضاف $\frac{1}{10}$ سم٣ من محلول ١ ٪ إلى ١٠ سم٣ من الماء المعقم قبل الاستعمال مباشرة).

تضاف إلى إحدى أنابيب البيئة ٠,٢٥ سم٣ من محلول الصبغة المخففة كما يضاف منه إلى أنبوبة أخرى ٠,٤ سم٣ وإلى أنبوبة ثالثة ٠,٧ سم٣ بواسطة ماصة معقمة.

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

اختبارها بواسطة ابرة معقمة ذات عقدة وتوضع الأنابيب فى المحضن على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ١٢ ساعة .

يلاحظ بعد انقضاء مدة الحضانة تعكير السائل فى الأنابيب إذا كانت العينة ملوثة بميكروبات التيفود أو الباراتيفود وفى العادة يمكن عزل الميكروبات المذكورة بسهولة من بعض هذه الأنابيب لأنها توجد فيها غالبا بحالة نقية تقريبا .

ولزيادة الوثوق من احتواء السائل العكر على هذه الميكروبات تنقل نقطة منه بواسطة ابرة معقمة ذات عقدة وتسحب على سطح أطباق آجار ماكونكى المتعادل الحمرة وتميز المجموعات وتنقى كما ذكرنا فى الطريقة السابقة ، على أنه يستعاض فى بعض الأحوال عن آجار ماكونكى ببيئة أخرى تعرف باسم آجار إيوسين أزرق المثيلين (Eosine - methylene blue agar) وهى تتركب من ١٠٠ سم٣ من الآجار المغذى المعقم (وهو مركب من ١٠ جرام لمكو ، ١٠ جم ببتون ، ٥ جرام ملح الطعام ، ١٥ جرام آجار ، ١٠٠٠ سم٣ ماء الصنبور) يضاف إليها ٢ سم٣ من محلول إيوسين ٢ ٪ ، ٢ سم٣ من محلول لاكتوز قوة ٢٠ ٪ ، ٢ سم٣ من محلول أزرق المثيلين قوة ٥, ٪ . ويشترط أن تعقم جميع هذه المحاليل قبل الإضافة وأن تضاف إلى الاجار بواسطة ماصات معقمة ثم تخلط به جيدا وتصب البيئة بعدئذ فى الأطباق وتجمد وتوضع فى المحضن لتجفيفها كما ذكرنا فى وصف آجار ماكونكى وأخيرا تلقح بنقطة من السائل العكر السالف الذكر وتوضع على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة .

تميز مجموعات باسلس القولون من مجموعات ميكروب التيفود على آجار إيوسين أزرق الميثلين بكونها كبيرة الحجم حمراء اللون ذات بريق معدنى (mettalic lustre) فى حين تظهر الثانيـــة صغيرة ومنتظمة ولونها وردى فاتح وينبغى فى هذه الحالة كذلك أن تنتخب المجموعات المشتبه فيها وتعزل الميكروبات التى تحويها وتنقى وتختبر قدرتها على تخمير أنواع السكر المختلفة . ومن الجدول الآتى يمكن تمييز ميكروبى التيفود والباراتيفود من باسلس القولون النموذجى (typical B. Coli)

نوع السكر	ميكروب التيفود	ميكروب الباراتيفود	باسلس القولون
لاكتوز	لايحدث تغيير	لايحدث تغير	يتكون حامض وغاز
جلوكوز	يتكون حامض	يتكون حامض وغاز	» » »
مانيت	» »	» » »	» » »
دلست	لايحدث تغيير	» » »	» » »
ملتوز	يتكون حامض	» » »	» » »

ومما يجدر ذكره أن ميكروب التيفود عند فحصه ميكروسكوبيا يظهر بشكل عصوى قصير مستدير الطرفين

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

رابعاً : الكشف عن ميكروب الدفتريا

Bact. or Corynebacterium diphtheriae

يكشف عن ميكروب الدفتريا فى اللبن المشتبه فيه عادة بالزرع وبالحقن فى الحيوان ، وطريقة ذلك أن تفرز العينة فى الالة المركزية الطاردة كالمعتاد ثم تلقح أنابيب مصل لوفلر المائلة (Loefflers serum slopes) بجزء من الراسب وتحفظ على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ١٨ — ٢٤ ساعة وتحضر بيئة المصل المذكورة كالاتى : —

يجمع باحتراس مقدار من الدم البقرى (نحو لترين) من المذبح بحيث لايعرض للتلوث بميكروبات خارجية ويوضع فى وعاء زجاجى أسطوانى كبير معقم ويغطى ويترك دون اهتزاز حتى يتجمد ، ثم يفصل الجزء المتجمد الملتصق بالزجاج بعناية بواسطة سلك أو مرود زجاجى صغير معقم ويوضع الوعاء فى الثلاجة لمدة ٢٤ — ٣٦ ساعة وبعدها يشفط المصل الرائق بماصة معقمة وينقل إلى قنينات معقمة .

يجهز مرق خاص بالتركيب الاتى : —

خلاصة اللحم	٣ جرام
جلوكوز	١٠ جرام
ببتون (ويتى أودفكو)	١٠ جرام
ملح الطعام	٥ جرام
ماء مقطر	١٠٠٠ سم٣

تخلط العناصر المذكورة جميعها وتذاب بالحرارة ثم ترشح فى ورق الترشيح وعندما يبرد المرق يضاف إلى المصل بنسبة جزء واحد من المرق إلى ثلاثة أجزاء من المصل ثم يعبأ فى الأنابيب بمعدل ٣ — ٥ سم٣ فى كل أنبوبة (مع ملاحظة منع تكون فقاعات غازية أثناء التعبئة) وتوضع الأنابيب فى وضع مائل وتعقم على درجة حرارة منخفضة فى الجهاز المعروف باسم المعقد (inspissator) (وهو صندوق نحاسى مزدوج الجدران ذو غطاء ومغلف بالأسبستوس ومحاط بالماء ويسخن بمصباح بنسن أو بالكهرباء) ويوضع مع الأنابيب فى الجهاز المذكور وعاء غير مغطى يحتوى على ماء لكى يبقى هواؤه رطبا أثناء عملية التعقيم.

ترفع حرارة المعقد تدريجيا إلى درجة ٧٠ — ٧٥ سنتجراد وتحفظ على تلك الدرجة لمدة ساعتين ثم تكرر العملية فى ستة أيام متعاقبة ويستحسن ألا تحرك الأنابيب أو ترفع من الجهاز طوال المدة المذكورة.

يحضر غشاء من النمو الذى يظهر على سطح البيئة المذكورة ويصبغ بمحلول لوفلر لزرقة المثيلين أو بصبغة أزرق التوليودين (toluidine blue) (وهذه الصبغة تحضر بإذابة جرامين من أزرق التوليودين فى ٢٠ سم٣

من الكحول النقى ثم إضافتها إلى سائل مركب من ٥٠ سم٣ من حامض الخليك الجليدى ، ٩٥٠ سم٣ من الماء المقطر) . وللتلوين بهذه الصبغة يجب وضعها على الغشاء بعد تجفيفه ثم تسخن ببطء حتى يتصاعد البخار وتترك عليه لمدة ١ — ٣ دقائق ثم يغسل الغشاء بالماء ويجفف قبل فحصه .

يرى ميكروب الدفتيريا عند فحصه ميكروسكوبيا بشكل عصوى نحيف مستقيم أو مقوس قليلا ومستدير الطرفين ويرى غالبا متجمعا كل أربعة أو خمسة خلايا فى مجموعة وتكون هذه الخلايا متوازية أو متقاطعة ومكونة شكل حرف Y أو حرف V ويختلف طوله باختلاف الظروف فيرى أحيانا طويل أو متوسط أو قصير وهو غير متحرك وايجابى لصبغة جرام وغير متجرثم .

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

خامسا : الكشف عن ميكروب الاجهاض المعدى

Bact. or Brucella abortus

يمكن فحص اللبن للكشف عن ميكروب الأجهاض المعدى إما بطريقة الزرع على بيئات مناسبة أو أو بطريقة حقن الحيوان . وفى كلتا الحالتين تؤخذ العينة من الماشية المشتبه فيها فى زجاجة معقمة بعد الاستغناء عن الجزء الأول من اللبن المحلوب أو تحلب ٥٠ سم٣ من اللبن فى أنبوبة الراسب المعقمة مباشرة وتدار فى الآلة المركزية الطاردة كالمعتاد ويستعمل الراسب الناتج فى الزرع أو فى التلقيح بعد صب السائل العلوى (Supernatant fluid) وخلط الراسب بمقدار ١ سم٣ من الماء المعقم .

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

(١) آجار الكبد : ٥٠٠ جرام من الكبد البقرى المفروم ، ١٠ جرام بيتون ، ٥ جرام ملح الطعام، ٢٠ جرام آجار ، ١٠٠٠ سم٣ من ماء الصنبور ويضبط تأثير البيئة إلى رقم P H ٧ ثم تعقم ويضاف إليها الجنسيان البنفسجى قبل الاستعمال بنسبة $\frac{1}{10}$ سم٣ من محلول كحولى مشبع للصبغة المذكورة إلى كل لتر من البيئة .

(٢) بيئة الآجار المصلى : ١٠٠٠ سم٣ من الآجار المغذى المعقم (السالف الذكر فى الكلام عن ميكروب التيفود) يضاف إليها ٥٠ سم٣ من مصل الدم المعقم (ويمكن الحصول عليه من بعض المحال

الأجنبية (١) أو يحضر من دم أرنب بالكيفية المذكورة فى تحضير مصل لوفلر ويحفظ فى أنابيب معقمة ويسخن على درجة ٥٧ سنتجراد فى ثلاثة أيام متعاقبة ثم يحكم سد الأنابيب لحين الحاجة إليه) .

يذاب الآجار المغذى ويرد إلى درجة ٥٠ سنتجراد ويضاف ½ سم٣ من المصل لكل ٥ سنتمترات مكعبة من الآجار بعناية .

عند اختبار اللبن يذاب الآجار بالتسخين ثم يرد إلى درجة ٥٠ سنتجراد ويضاف إلى إحدى الأنابيب نقطة من الراسب بواسطة إبرة معقمة ذات عقدة وإلى أنبوبة ثانية نقطتان وإلى أنبوبة ثالثة خمس نقط وإلى أنبوبة رابعة عشر نقط بنفس الطريقة ثم تصب محتويات كل أنبوبة فى طبق بترى معقم وبعد أن تجمد البيئة توضع الأطباق فى وعاء مقفل يحتوى هواؤه على ٥ — ١٠ ٪ من ثانى أكسيد الكربون وتحفظ الأطباق على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة أربعة أيام (يمكن جعل هواء الوعاء المذكور مناسبا لنمو ميكروب الاجهاض أما بحرق ٠,١٥ سم٣ من الكحول النقى فى زجاجة ساعة فى وعاء سعته ٣ لتر أو يوضع بالوعاء قبل قفله مزرعة آجار لباسلس ستلس (B. subtilis) بنسبة سنتمتر مربع من سطح المزرعة الى ١٥ سم٣ من الحيز داخل الوعاء) .

وفى بعض الأحيان تلقح بعض الأطباق من قشدة العينة المشتبه فيها وطريقة ذلك أن تحفظ العينة بعد وصولها إلى المعمل دون اهتزاز على درجة ٥ سنتجراد لمدة ٢٤ ساعة ثم يبسط ½ سم٣ من طبقة القشدة المتكونة على اللبن على سطح البيئة بعد صبها فى الأطباق وتجميدها وتحفظ الأطباق فى المحضن بالكيفية السابقة .

إذا كانت عينة اللبن ملوثة بميكروب الاجهاض فتظهر على الأطباق بعد انقضاء مدة الحضانة المذكورة مجموعات صغيرة شفافة يبلغ قطرها نحو ١ — ٢ ملليمتر وعند فحصها ميكروسكوبيا يشاهد بها ميكروب عصوى قصير غير متجرثم وغير متحرك وسلبى التلوين لصبغة جرام وعند اعادة زرعه على نفس البيئة وتنقيته يمكن انماؤه تحت شروط هوائية صرفه .

أما عن طريقة الكشف عند ميكروب الإجهاض بحقن الحيوان وهى أضمن من الطريقة السابقة فتلخص فيما يلى : —

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

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

تؤخذ حوالى ٢ سم٣ من دم الارنب الملقح وتحفظ حتى تتجمد ويفصل المصل بالآلة المركزية الطاردة وهذا المصل يحتوى على الاجسام الضدية أو المضادة (Anti - bodies)

---

(١) كمحل Burroughs Wellcome Ltd London،

يسحب مقدار معين من المصل بواسطة ماصة معقمة جافة وتخفف فى أنبوبة معقمة بكمية معلومة من المحلول الملحى المعقم (يؤخذ عادة ١ سم٣ من المصل أولا ويضاف إليه ٤ سم٣ من المحلول الملحى لتحضير تخفيف ١/٥ على أنه إذا كانت كمية المصل قليلة يستعمل مقدار أقل من ١ سم٣ فى التخفيف ويضاف إليه مقدار مناسب من المحلول الملحى لتحضير تخفيف ١/٥) ثم تحضر أنبوبة تخفيف ثانية (١/١٠) من الانبوبة الأولى وتكرر هذه العملية الى أن يتحصل على التخفيف المطلوب (يبدأ عادة بتخفيف ١/٥ وينتهى بتخفيف ١/٣٢٠).

يحضر مستحلب من ميكروب الاجهاض بعد انمائه على آجار مائل لمدة يوم أو يومين ثم يغسل النمو الموجود على سطحه فى كل أنبوبة بمحلول ملحى يحتوى على ١/٢ ٪ من الفينول ويصب المستحلب المذكور فى زجاجات معقمة ذات أغطية زجاجية محكمة ويرج بين حين وآخر وتحفظ كذلك لمدة يوم أو يومين ثم يترك دون اهتزاز لمدة ساعة ويفصل السائل العكر من الراسب باحتراس بواسطة ماصة معقمة وتضبط كثافته الى الدرجة المطلوبة بتخفيفه بالمحلول الملحى المحتوى على الفينول ومقارنته بأنبوبة مستحلب قياسى (Standard) .

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

ويدون فى النتيجة أعلى تخفيف يظهر به التليد ولا تعتبر النتيجة إيجابية إلا إذا حدث التفاعل المذكور كاملا فى تخفيف يزيد عن ١/٤ أما اذا حدث التفاعل فى تخفيف ١/٣ ولم يحدث فى تخفيف ١/٤ اعتبر مشكوكا فيه وتعتبر النتيجة سلبية اذا لم يحدث التفاعل فى تخفيف ١/٣ .

الباب السادس والعشرون

طريقة تدوين النتائج ومراقبة إنتاج اللبن ومعاملته بالاختبار البكتريولوجى

أولا : تدوين نتائج الفحص البكتريولوجى واعداد التقارير

ينبغى أن يعنى بتدوين نتائج الفحص البكتريولوجى لعينات الألبان المختبرة بدقة تامة وبطريقة منظمة عقب انتهاء كل اختبار مباشرة ويجب أن ترفق النتائج ببيانات وافية عن مصدر العينة واسم منتجها وتاريخ ووقت إنتاجها واختبارها ودرجة الحرارة التى حفظت عليها وعلامتها المميزة الخ

ويفضل أن تدون البيانات والنتائج المذكورة فى بطاقات أو يخصص سجل لهذا الغرض يشتمل على أسماء المنتجين أو الموردين مرتبة حسب الأحرف الهجائية كى يتسنى الوصول إلى ما به من بيانات دون كبير عناء . وإتماما للفائدة نورد فيما يلى أنموذجا لبطاقة ذات وجهين تستعمل فى تدوين أهم البيانات الخاصة بالعينة وتفصيل نتائج الاختبارات التى أجريت عليها .

وجه البطاقة

بيانات خاصة بالعينة

اسم صاحب العينة وعنوانه (يذكر إذا كان منتجا أو موردا)	... ...
ثمرة العينـــة	... ...
تاريخ ووقت حلب اللبن	... ...
« « أخذ العينة	... ...
درجة حرارة اللبن عند أخذ العينة	... ...
مقدار العينة	... ...
تاريخ ووقت فحص العينة	... ...
درجه حرارة العينة وقت فحصها	... ...

ظهر البطاقة

بيانات خاصة بنتيجة الفحص

درجات التخفيف	عدد المجموعات على أطباق الآجار	وجود ميكروبات القولون
١ سم٣		
$\frac{1}{10}$ »		
$\frac{1}{100}$ »		
$\frac{1}{1000}$ »		
$\frac{1}{10000}$ »		
$\frac{1}{100000}$ »		

النتيجة : العدد الكلى للبكتريا فى السنتيمتر المكعب بطريقة الأطباق ... ...

نسبة وجود ميكروبات القولون ... ...

* * *

يراعى عند تدوين النتائج بالجدول السابق أن يكتب متوسط العدد الناتج على طبق كل تخفيف ولكن لايدون فى النتيجة النهائية إلا متوسط العدد فى الطبقين الذين لايزيد عدد المجموعات فيهما عن ٣٠٠ مجموعة كما يكتفى بوضع حرف ح للدلالة على انتاج الحامض وحرف غ ليستدل منه على انتاج الغاز فى أنابيب بيئة ماكونكى ويدون فى النتيجة أعلى تخفيف ظهر به حامض وغاز

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

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

تقرير عن نتيجة الفحص البكتريولوجى لعينات اللبن

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

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

الإمضاء

* * *

وتشمل الملاحظات بيان الاختبارات الاضافية التى أجريت ونتائجها وأحيانا رأى المعمل فيما اذا كانت نتائج الفحص مرضية أو توجب زيادة العناية بنظافة الانتاج وفى بعض الاحوال يستعاض عن ذلك بذكر الحدين الاقصى والادنى لعدد البكتريا فى كل من عينة اللبن الجيدة والمتوسطة والرديئة ليتيسر للمنتج مقارنة هذه الارقام بالنتيجة المدونة بالتقرير فيعرف درجة نقاوة العينة التى أجرى فحصها .

ويتبع أحيانا نظام آخر فى إعداد التقارير بمعامل الفحص التابعة لمصانع كبيرة التى تستورد ألبانها من موردين عديدين وذلك بأن يعطى لكل مورد رقم خاص لا يعلمه أحد غيره سوى المصنع وتؤخذ عينة من لبن كل مورد مرة فى كل أسبوع أو مرتين شهريا ويعد فى نهاية كل شهر تقرير شامل تبين به أرقام جميع الموردين دون الاسماء ويذكر أمام رقم كل منهم نتيجة تحليل العينات التى أخذت من ألبانه كما يبين به أسماء الموردين الذين نالوا قصب السبق فى نظافة الانتاج وترسل نسخة من هذا التقرير لكل مورد . وفضلا عن أن هذا النظام يؤدى إلى اقتصاد فى الوقت والنفقات فإنه كذلك يطلع كل مورد على مبلغ عناية زملائه بنظافة الانتاج وبذا يبث فيهم جميعا روح التنافس والعمل على مضاعفة العناية بتوريد ألبان على درجة كبيرة من الجودة والنقاوة .

ثانياً — مراقبة انتاج اللبن ومعاملته بالاختبار البكتريولوجى

لما كانت العوامل التى تسبب تلوث اللبن بالميكروبات منذ تكونه فى داخل الضرع إلى وقت استهلاكه متعددة فإن جودة العينات ونقاوتها تتوقف إلى حد كبير على مدى الدقة والعناية التى تتخذ فى إنتاجها ومعاملتها ولذا كان من الضرورى خصوصا فى الاحوال التى يهتم فيها ببيع الالبان النقية الممتازة أن يراقب إنتاج اللبن بفحص عينات منه بكتريولوجيا فى كل درجة من درجات الانتاج وأن يستوثق من دقة عمل الاجهزة وانتظام سيرها فى حالة معاملة اللبن بالحرارة باختبار عينات أخرى من جميع أدوار العملية وعقب معاملته للوقوف على مقدار التلوث الذى عرض له فى كل من الادوار المذكورة ومدى تأثير المعاملة فى خفض عدد البكتريا الموجودة به أصلا .

وقبل أن نتكلم عن طرق مراقبة انتاج اللبن وسير العمل بمعمل الالبان بواسطة الفحص البكتريولوجى يحسن أن نذكر أن الاختبارات المستعملة فى هذا الغرض . تنقسم كما يلاحظ من الشرح السابق ، إلى عدة أقسام بحسب وظيفة كل منها كما أنها تختلف فى طول الوقت الذى تستغرقه اعدادفى الادوات والمواد اللازمة لإجرائها وكذلك فى مدى الدقة والعناية التى تتخذ أثناء القيام بها وقد تقسم الاختبارات البكتريولوجية للبن عموما إلى أربعة أقسام هى :

ا — مايقصد منها الوقوف على العدد الكلى للبكتريا التى تحويها العينة ومثالها طريقة الأطباق وطريقة الميكروسكوب المباشرة الخ .

ب — مايكشف بها عن وجود نوع معين من الميكروبات فى العينة وبالاخص الانواع التى تحدث تغيرات غير مرغوب فيها فى اللبن نفسه أو أحد منتجاته وكذا الانواع الضارة من الوجهة الصحية . وهذه الاختبارات يستدل متها كذلك عل تلوث اللبن من مصادر معينة، ومثالها اختبار وجود الميكروبات المكونة لغازات والكشف عن المكروبات المرضية الخ .

حـ — ماترمى الى الكشف عن الحاصلات الناتجة عن نمو الميكروبات فى اللبن ومثل هذه الحاصلات تغير من طعم اللبن ورائحته أو تزيد فى حموضته ومن الاختبارات التى تنتمى لهذا القسم اختبارات الطعم والرائحة واختبار الكحول الخ .

د — ماتقدر به سرعة التغييرات التى تحدثها الميكروبات فى اللبن ومثال هذه الاختبارات اختبار الحفظ .

وسنبسط فيما يلى كيفية مراقبة الانتاج كما نتناول الكلام عن مراقبة سير العمل بمعمل الالبان .

(١) مراقبة العمل بمحل الانتاج

لكى تفى هذه المراقبة بالغرض المقصود منها تماما يجدر بالمنتج أو بمن يستورد ألبانه من منتجين مختلفين أن يعنى بفحص عينة من اللبن بعد تمام انتاجه وذلك باحصاء عدد ماتحويه من بكتريا بطريقة الاطباق

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

ا — بعد الحليب مباشرة .

ب — بعد التصفية وقبل التبريد .

حـ — بعد التبريد مباشرة .

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

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

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

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

وقد يكون ارتفاع عدد البكتريا أحيانا فى عينات اللبن التى روعيت العناية فى إنتاجها مسببا عن اصابة ضرع الماشية بمرض من الأمراض . وهذا العامل قد يكون من الخطورة بمكان خصوصا اذا كان مظهر الضرع من الخارج سليما فقد يحدث أن يصاب الحيوان بالتهاب بسيط فى الضرع لاتظهر له أعراض

خارجية ولكن يتسبب عنه زيادة كبيرة فى عدد البكتريا باللبن الناتج ، واختيار عينات من اللبن مأخوذة من الضرع مباشرة فى زجاجات معقمة يفيد كثيرا فى الوصول الى منشأ هذه الزيادة ، ومثل هذه العينات ينبغى فحصها بطريقة الميكروسكوب المباشرة كما ذكرنا فى مناسبة سابقة الى جانب عد محتوياتهـــا من البكتريا بطريقة الأطباق .

بقى علينا أن نذكر أن ظهور عدد كبير من المجموعات الدقيقة جدا على الأطباق المحضرة من عينات اللبن الخام يستدل منه غالبا على عدم العناية بتعقيم الأوانى أو على كثرة الغبار المتناثر فى جو حظيرة الحليب أو معمل الالبان ، وأن ارتفاع نسبة ميكروبات القولون فى العينة ينشأ على العموم عن عدم نظافة أوانى الحليب أو عدم تعقيمها بدقه وكذلك عن الاهمال فى نظافة ماشية الحليب أو تلوث الماء المستعمل فى غسل الماشية والاوانى .

٢ — مراقبة العمل بمعمل الالبان

ينبغى الا يقتصر الاهتمام بمراقبة الانتاج على فحص اللبن المستعمل فى الاستهلاك المباشر دون تسخين أو معاملة خاصة بل يجب أن يشمل كذلك اختبار الالبان المعدة للبسترة وصنع الجبن ومنتجات اللبن الاخرى ، فالتحقق من جودة مثل تلك الالبان ونقاوتها يضمن الحصول على منتجات ممتازة .

وما دام الوقت الذى يمضى عادة بين وصول اللبن الى المعمل ومعاملته قصيرا فالافضل أن يفحص بطرق الاختبار السريعة السهلة الاجراء حال وصوله حتى يتسنى استبعاد العينات الرديئه منه قبل الاستعمال والمتبع غالبا هو اختبار العينة بالمذاق والشم أولا ثم تقدير درجة حموضتها ومدة اختزالها لزرقة الميثيلين ونسبة ماتحويه من رواسب ويحصى عدد مابها من ميكروبات بطريقة الميكرسكوب ، وفى الاحوال التى يستورد فيها اللبن من منتجين عديدين تختبر عينات من البان كل مورد أسبوعيا بعد محتوياتها من البكتريا بطريقة الاطباق وتقدير نسبة وجود ميكروبات القولون فى كل منها

وينبغى أن تولى معامل التعقيم الجزئى أهمية كبرى الى مراقبه سير أجهزة البسترة ودقة عملها اذ من البديهى أن مجرد اعداد المعمل بأجهزة غالية الثمن ومن نوع جيد لايضمن انتاج ألبان مبسترة من الدرجة الاولى الا اذا روعيت العناية التامة بتنظيف هـذه الاجهزة وتعقيمها وضبطها ومراقبة العملية فى جميع أدوارها مراقبة دقيقة .

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

وعملية البسترة كما هو معروف إذا أجريت بعناية تامة تنتج عنها إبادة ما لايقل عن ٩٩ ٪ من عدد البكتريا التى وجدت باللبن الخام قبل بسترته لهذا كان من الميسور الوقوف على مدى دقة العملية المذكورة بمقارنة نتيجة فحص عينتين من اللبن تؤخذ احداهما قبل البسترة مباشرة والأخرى بعد انتهاء مدة التسخين ولكن لما كانت العمليات التى تعقب البسترة تؤدى فى الغالب إلى ازدياد عدد البكتريا فى اللبن المبسترفقد أصبح من الضرورى مراقبة الادوار المختلفة التى يمر بها اللبن بعد تسخينه بالاختبارات البكتريولوجية المتكررة لمعرفة أثر كل منها فى درجة تلوث اللبن

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

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

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

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

الباب السابع والعشرون

الفحص البكتريولوجى للماء والأوانى والأدوات

أولا — الفحص البكتريولوجى للماء

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

والمياه المرشحة المستمدة من موارد عمومية تشرف عليها وتراقبها الهيئات الصحية كمياه المدن هى أصلح مايستعمل فى هذه الأغراض إلا أن الحصول على مثل هذه المياه متعذر فى الجهات الريفية النائية التى يكثر فيها إنتاج اللبن ولهذا يستعاض عنها غالبا بمياه الآبار والترع ونحو ذلك ، على أن هذه المياه كثيرا ماتعرض للتلوث بالميكروبات من باطن الأرض عندما يكون المورد المائى كالبئر قريبا من مصدر تلوث أو عندما يحتوى ماء النهر أو الترعة على بقايا مواد حيوانية أو روث فتنتقل ماتحمله هذه المواد من ميكروبات إلى الماء ومن ثم إلى اللبن .

والميكروبات التى يتلوث بها الماء وتنتقل منه إلى اللبن قد تسبب أحيانا انتشار بعض الأمراض الخطيرة أو تؤدى إلى سرعة حموضة اللبن أو تغير طعمه ورائحته ولهذا تعلق أهمية كبرى على قياس النقاوة البكتريولوجية للماء المستعمل فى محال إنتاج اللبن وفى معامل الألبان والتحقق من جودته بفحصه على فترات متقاربة وبحث الجهات المجاورة لمورد الماء ومعرفة طبيعتها وسنشرح فيما يلى مختلف الخطوات المتبعة فى إختيار الماء بكتريولوجيا .

طرق أخذ العينة

من أهم مايشترط فى زجاجات العينة التى تستعمل فى هذا الغرض أن يكون زجاجها من صنف جيد وأن تكون ذات حجم مناسب بحيث تسع كمية من الماء تكفى لإجراء جميع الاختبارات اللازمة وأن تكون

سهلة التنظيف والتعقيم . والأنواع التى وصفناها فى الكلام عن إختبار اللبن تفى بجميع هذه الاشتراطات ولذا فهى تستعمل غالبا فى إختبار الماء كذلك .

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

تؤخذ العينة عادة فى زجاجة معقمة ذات غطاء زجاجى تسع على الأقل حوالى ٥٠٠ سنتمترا مكعبا من الماء وتتوقف طريقة اخذ العينة على نوع المورد المائى وسنبين فيما يلى كيفية أخذ العينة من الموارد المختلفة .

١ — من صنبور (حنفية) أو مضخة (طلمبة) :

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

٢ — من ترعة أو نهر أو بركة :

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

٣ — من بئر :

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

بعد أخذ العينة باحدى الطرق المتقدم ذكرها ينبغى أن يكتب على الزجاجة أو على بطاقة مرفقة بها

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

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

طرق اختبار الماء

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

(ا) تقدير العدد الكلى للبكتريا التى تنمو على الآجار فى الاطباق

(ب) اختبار وجود ميكربات القولون

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

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

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

(ا) احصاء العدد الكلى للبكتريا فى الماء

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

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

(١) الادوات و المواد اللازمة للاختبار

يمكننا أن نجمل الأدوات اللازمة لهذا الاختبار فيما يلى :

ماصات سعة سنتمتر مكعب — أنابيب للتخفيف أو زجاجات مدرجة تستعمل فى نفس الغرض — أنابيب للبيئة — أطباق بترى . وجميع هذه الادوات تنطبق عليها الأوصاف التى ذكرت فى الكلام عن احصاء العدد الكلى للبكتريا فى اللبن، وتعقم إما بالهواء الساخن على درجة ١٦٠ — ١٧٠ سنتجراد لمدة ساعة او تحت ضغط ١٥ رطلا للبوصة المربعة لمدة ½ ساعة

وتحضر أنابيب التخفيف بحيث تحوى كل منها تسعة سنتمترات مكعبه من الماء المعقم أو المحلول الملحى المعقمين أو يوضع سائل التخفيف المعقم فى الجهاز الخاص وتستعمل زجاجات التخفيف المعقمة إذا أريد إجراء التخفيف بإضافة ١٠ سم ٣ من الماء المختبر إلى ٩٠ سم ٣ من سائل التخفيف

وينبغى أن تكون المواد التى تدخل فى تركيب البيئة المستعملة غاية فى النقاوة والبيئات الاكثر شيوعا فى تقدير العدد الكلى للبكتريا فى الماء هى الاتية : —

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

بيئة الجيلاتين التى تتركب كالاتى : —

٣	جرامات خلاصة اللحم
٥	« ببتون
١٢٠	جراما جيلاتين
١٠٠٠	سم ٣ ماء مقطر

تسخن هذه المواد ببطء بالبخار على درجة ٦٥ سنتجراد حتى تذوب ثم يعوض الماء المفقود بالتبخير بإضافة الماء المقطر ويضبط التفاعل بحيث يصل بعد تعقيم البيئة إلى رقم pH ٦,٤ — ٧ ثم تغلى البيئة وتقلب وتكمل بالماء المقطر وترشح وتعبأ فى الانابيب وتعقم بالطريقة المتقطعة أى لمدة ½ ساعة فى ثلاثة أيام متعاقبة .

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

٢ — كيفية اجراء الاختبار

يجب أن ترج زجاجة العينة أولا ٢٥ مرة ثم تفتح باحتراس ويمر بفوهتها فى اللهب وينقل بواسطة ماصة معقمة سنتمتر مكعب من عينة الماء إلى احدى أنابيب التخفيف المعقمة وتمزج محتوياتها جيدا (وفى حالة استعمال زجاجات التخفيف تنقل عشرة سنتيمترات مكعبة من العينة إلى الزجاجة ثم تكمل الى ١٠٠ سم^3 بالسائل المستعمل فى التخفيف ويرج المخلوط جيدا) وبذلك يحضر تخفيف $\frac{1}{10}$ ، ثم ينقل سنتمتر مكعب من أنبوبة التخفيف المذكورة إلى أنبوبة تخفيف ثانية بواسطة ماصة ثانية معقمة وتمزج محتوياتها كذلك وبذا يحضر تخفيف $\frac{1}{100}$

ينقل بعدئذ سنتمتر مكعب من كل من زجاجة العينة الأصلية وأنبوبة تخفيف $\frac{1}{10}$ وأنبوبة تخفيف $\frac{1}{100}$ إلى أربعة أطباق بترى معقمة ويجوز استعمال ماصة واحدة معقمة فى تحضير جميع الاطباق على أن يبدأ أولا بتحضير أطباق $\frac{1}{100}$ ثم أطباق $\frac{1}{10}$ وأخيرا تحضير أطباق ١ سم^3

تصب محتويات أنبوبة آجار (بعد تسخينه إلى درجة غليان الماء وتبريده إلى درجة ٥٠ سنتجراد) فى كل من الاطباق المذكورة ويهز الطبق فى كل مرة باحتراس لكى يختلط الآجار بالماء جيدا ثم تترك الاطباق على سطح المنضدة إلى أن يتجمد الآجار . وفى الأحوال التى يستعمل فيها الجيلاتين تصب محتويات أنبوبة جيلاتين (بعد تسخينه وتبريده) فى كل من طبقين من الأنواع الثلاثة المبينة وتصب محتويات أنبوبة آجار فى كل من الطبقين الآخرين من كل نوع .

وفى بعض الأحيان يفضل تسهيلا للعمل أن يجرى التخفيف وتحضير الأطباق فى آن واحد بمعنى أنه ينقل من زجاجة العينة الأصلية سنتمتر مكعب واحد بواسطة ماصة معقمة إلى كل من أربعة أطباق بترى ثم ينقل بنفس الماصة سنتمتر مكعب آخر إلى أنبوبة التخفيف الأولى ($\frac{1}{10}$) ، وينقل بماصة ثانية معقمة سنتمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الأولى إلى كل من أربعة أطباق بترى أخرى كما ينقل بنفس الماصة سنتمتر مكعب آخر من الأنبوبة ذاتها إلى أنبوبة التخفيف الثانية ($\frac{1}{100}$) وأخيرا ينقل بماصة معقمة ثالثة سنتيمتر مكعب من أنبوبة التخفيف الثانية إلى كل من أربعة أطباق بترى معقمة ثم يصب الجيلاتين أو الآجار فى الأطباق ويحاط بالماء الموجود بها ويترك حتى يتجمد .

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

هذا وغنى عن القول أنه لضمان حسن نتيجة الاختبار ينبغى اتخاذ جميع الاحتياطات التى تضمن عدم تلوث أنابيب التخفيف أو الأطباق وقد سبق أن أشرنا اليها بالتفصيل فى الكلام عن تقدير عدد البكتريا الكلى فى اللبن على أنه تجدر الاشارة هنا إلى وجوب حفظ الأطباق فى المحضن مقلوبة وغير مزدحمة وإلى

أنه يشترط فى المحضنين المستعملين أن يكونا مظلمين وأن تكون تهويتهما جيدة وجوهما مشبع بالرطوبة تقريبا.

وبعد انقضاء مدة الحضانة تفحص الأطباق مباشرة ويستحسن الاستعانة بجهاز للاضاءة وبعدسة يدوية فى الفحص ، وتحصى المجموعات التى تظهر على كل طبقتين من النوع الواحد ويؤخذ متوسط العدد ، وينبغى أن يقتصر اجراء العد على الأطباق التى يبلغ عدد المجموعات فيها من ٣٠ — ٣٠٠ مجموعة على أنه يجوز استعمال الأطباق التى يقل العدد فيها عن ٣٠ مجموعة إذا لم توجد أطباق أخرى مناسبة ولكن يجب أن تذكر فى هذه الحالة على أنها تقريبية.

ويمكن ا[illegible] الكلى فى السنتمتر المكعب من عينة الماء بضرب متوسط عدد المجموعات فى درجة التخفيف وتدون عدد الميكروبات الباردة وعدد المجموعات الحارة كل على حدة

٣ — [illegible] نتيجة الاختبار

يختلف العدد الكلى للبكتريا فى عينات الماء باختلاف مصدرها ودرجة التلوث التى عرضت لها فالمياه النقية الجيدة كمياه المدن المرشحة ومياه العيون والآبار العميقة لا تحتوى إلا على عدد قليل جدا من البكتريا يتراوح بين ١ ، ١٠٠ ميكروب فى السنتمتر المكعب أما المياه السطحية كمياه الأنهار والآبار القليلة الغور فتزيد محتوياتها البكتيرية كثيرا عن ذلك إذ تصل أحيانا إلى ٥٠٠ ميكروب فى السنتمتر المكعب.

وتبلغ عادة نسبة عدد الميكروبات الباردة (وهى ميكروبات الماء غير الضارة) إلى عدد الميكروبات الحارة فى المياه العادية ١٠ إلى ١ وقد يقل عدد الأنواع الأخيرة فتصل النسبة إلى ٤٠ إلى ١ ، أما فى المياه الملوثة فنظراً لوجود الكثير من الميكروبات الحارة ، كالأنواع المعوية وغيرها التى تنتقل اليها من الأقذار فان النسبة المذكورة تكون حوال ٨ إلى ١ وقد تبلغ أحيانا ٥ إلى ١ أو ٣ إلى ١

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

أولا : مياه العيون والآبار العميقة : ينبغى ألا يتجاوز عدد الميكروبات الباردة ٥٠ فى السنتمتر المكعب وألا يتجاوز عدد الميكروبات الحارة ١٠ فى السنتمتر المكعب

ثانيا : مياة الانهار والآبار القليلة الغور : يجب ألا يزيد عدد الميكروبات الباردة عن ٥٠٠ فى السنتمتر المكعب وعدد الميكروبات الحارة عن ٥٠ فى السنتمتر المكعب

أما فى مصر فالمستوى المعمول به هو ألا يزيد عدد الميكروبات العادية فى السنتيمتر المكعب من العينة عن ١٠٠

(ب) اختبار وجود ميكروبات القولون

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

ويفحص الماء لوجود ميكروبات القولون بطريقة مشابهة لما ذكرنا فى اختبار اللبن على أنه يوجد بعض الاختلاف فى الطريقتين سنبينه فيما يلى مع شرح كامل للطريقة المتبعة غالبا فى فحص الماء

وقبل أن نشرح الطريقة تحسن الاشارة هنا إلى أن المقصود بميكروبات القولون هو المجموعة من الميكروبات المعروفة باسم طائفة القولون أو طائفة كولاى إيروجنيس (Coli - aerogenes group) وهى تشمل البكتريا الهوائية والغير الهوائية اختيارا العصوية الشكل الغير المتجرثمة السلبية التلوين لصبغة جرام التى تخمر سكر اللبن مع انتاج حامض وغاز وأهمها باسلس القولون الحقيقى أو المثالى (True or typical B, coli) وبكتريوم إيروجنيس التى تعرف أحيانا باسم باسلس القولون غير المثالى (Atypical Coli) وأنواع أخرى وسطية (intermediates) تعرف إجمالا باسم ستروباكتر (Citrobacter) وهذه تشترك فى كثير من خواصها مع النوعين السابقين ويمكن التفرقة بين ميكروبات القولون بواسطة اختبارات خاصة سنشير إليها فيما بعد .

وأهم الاختبارات المتبعة فى فحص ميكروبات القولون بالماء هو المعروف باسم الاختبار التخمينى (Presumptive test) الذى سبقت الإشارة اليه فى الكلام عن فحص اللبن ، وفيه تستعمل بيئة ماكونكى السائلة ويعتبر إنتاج الحامض والغاز بها بعد مضى ثمان وأربعين ساعة دليلا تخمينيا على وجود ميكروبات القولون بالعينة ، والنتيجة الايجابية لهذا الاختبار إما أن تحدث من باسلس القولون المثالى الذى يوجد بعدد كبير فى أمعاء الحيوانات ولذا يكثر وجوده فى الروث أو من ميكروبات القولون الأخرى التى وإن وجدت بقلة فى الروث إلا أنها توجد بوفرة فى التربة والغبار وعلى النباتات الخ ، ولهذا توجه أهمية كبيرة أحيانا إلى تمييز الأنواع التى أحدثت النتيجة الايجابية للاختبار التخمينى وقد سبق أن بينا طريقة ذلك وسنعود إلى بعض تفصيلات خاصة بها فيما بعد .

(١) الادوات والمواد اللازمة للاختبار

يلزم لهذا الاختبار بضعة ماصات معقمة ذات سعات مختلفة وهى ١ سم^3 ، ٥ سم^3 ، ١٠ سم^3 ، ٢٥ سم^3 كما تلزم أنابيب للتخفيف كالتى تكرر ذكرها فيما مضى تحتوى على تسعة سنتمترات مكعبة من محلول رنجر أو المحلول الملحى أو الماء المعقم .

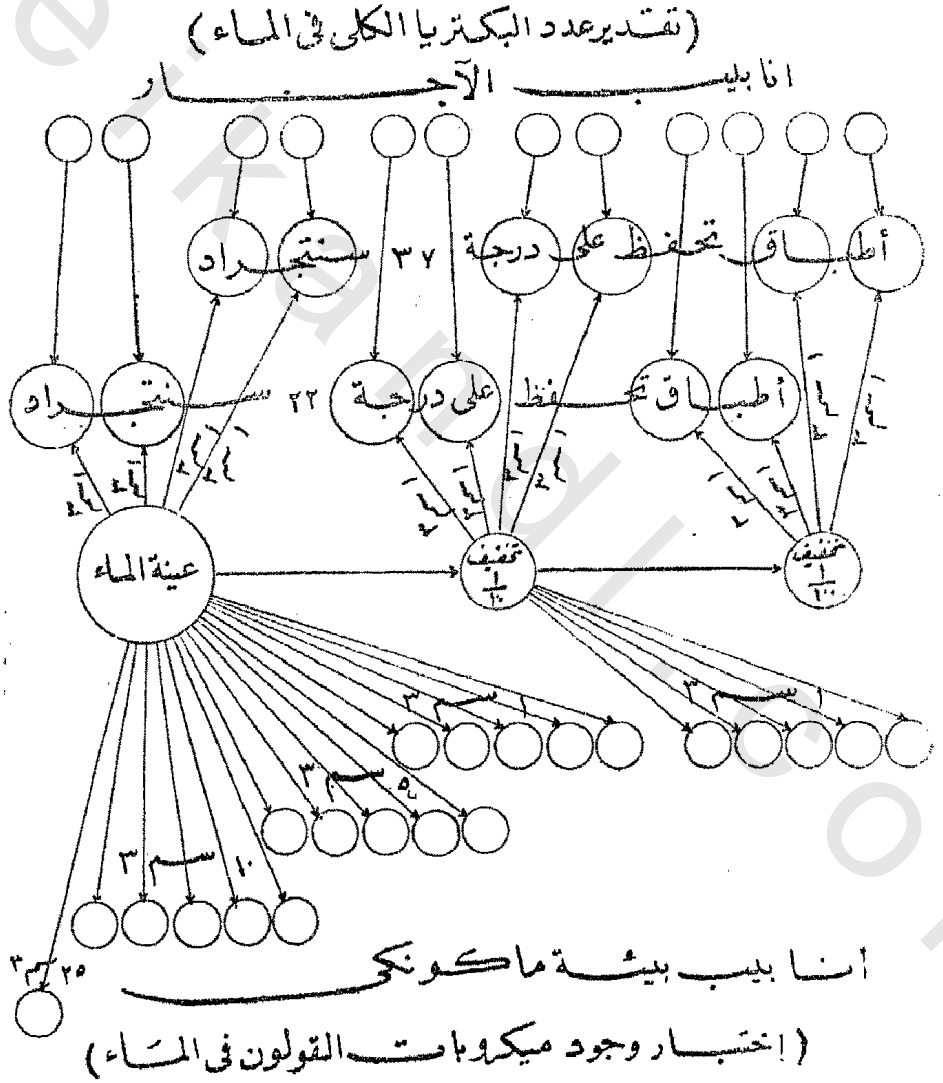
أما البيئة المستعملة فى هذا الاختبار فهى بيئة ماكونكى السائلة المحتوية على دليل مناسب وقد سبق وصف تركيبها وطريقة تحضيرها وهذه تعبأ فى أنابيب بمعدل ٥ — ٦ سم^3 فى كل أنبوبة وتوضع معها أنبوبة اختبار صغيرة وتعقم كالمعتاد وهذه تعرف بالبيئة الفردية القوة (Single strength) .

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

أنابيب اختبار تحتوى على ٥ سم٣ وعلى أنبوبة اختبار صغيرة .

أنابيب غليان تحتوى على ١٠ سم٣ وعلى أنبوبة اختبار كبيرة

» » » ٢٥ سم٣ » » »



(شكل ٥٠)

(طريقة تقدير العدد الكلى للبكتريا واختبار نسبة ميكروبات القولون فى الماء)

(٣) كيفية اجراء الاختبار التخميني

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

ينقل بماصة ثالثة معقمة ٥ سم^3 من عينة الماء إلى كل من خمس أنابيب تحتوى كل منها على ٥ سم^3 من البيئة المزدوجة القوة . كما ينقل بماصة رابعة ١٠ سم^3 من العينة إلى كل من خمس أنابيب تحتوى كل منها على ١٠ سم^3 من نفس البيئة وأخيراً ينقل بماصة خامسة ٢٥ سم^3 من العينة إلى أنبوبة بها مقدار مماثل من البيئة المذكورة (راجع الجزء السفلى من شكل ٥٠)

يتبع النظام السابق عادة عند اختبار عينات من المياه السطحية أو القليلة الغور أما فى حالة اختبار المياه المرشحة أو العميقة فيكتفى غالبا باضافة مقادير كبيرة من العينة مثل ١٠ ، ٥٠ ، ١٠٠ سم^3 إلى مقادير مماثلة من البيئة المزدوجة القوة .

وتجدر الاشارة هنا إلى أنه يمكن اجراء اختبار العدد الكلى مع اختبار نسبة ميكروبات القولون فى آن واحد (كما هو مبين بالشكل ٥٠) وهذا يؤدى إلى اقتصاد فى الوقت وفى الادوات والمواد

بعد تمام تلقيح الانابيب تحفظ جميعها على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة ثم تفحص ويلاحظ إنتاج الحامض والغاز ويدون فى النتيجة الأنابيب التى كان لها أقل نصيب من الماء وظهر بها الحامض والغاز مع العلم بأن ظهور الحامض والغاز فى أنبوبتين من الأنابيب الخمس من النوع الواحد يعتبر دليلا تخمينيا على وجود ميكروبات القولون فى كمية الماء التى لقحت بها .

(٣) كيفية التحقق من وجود ميكروبات القولون بالعينة

للتحقق من النتيجة الايجابية للاختبار التخمينى أما أن تعزل الميكروبات التى انتجت الحامض والغاز ثم تميز وذلك بتلقيح أطباق آجار ماكونكى بجانب منها واختبار المجموعات التى تظهر عليها ميكروسكوبيا وفصل الأنواع التى تحويها وتمييزها بالطريقة المشروحة فى اختبار اللبن وهى المتبعة عادة فى انجلترا أو تجرى الطريقة الآتية وهى الأكثر إستعمالا فى أمريكا وتتألف من جزئين يعرف الأول منهما بإسم الاختبار المؤكد (Confirmed test) ويعرف الثانى بإسم الاختبار المكمل (Completed test) ويتلخص الاول فيما يلى :

تنتخب احدى الأنابيب المحتوية على أقل مقدار عن عينة الماء المختبرة وأعطت نتيجة إيجابية فى الاختبار السابق وتلقح منها أنبوبة أو أكثر تشتمل على سائل مناسب أو تلقح منها أطباق تحتوى على بيئة صلبة خاصة ، على أن يجرى هذا التلقيح عقب ظهور الغاز مباشرة .

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

وتتألف البيئة السائلة المذكورة من لتر من الماء المقطر تضاف اليه خمسة جرامات من كل من البيتون واللاكتوز والفوسفات الثنائى البوتاسيوم (بو ٢ يد فو ا ٤) وجرام واحد من الفوسفات الأحادى البوتاسيوم (بو يد ٢ فو ا ٤) وطريقة تحضيرها هى أن تذاب المواد المذكورة فى الماء بالتسخين البطىء على حمام مائى مع التقليب المستمر ثم يبرد ويضبط التأثير بحيث يصل بعد التعقيم الى رقم p H ٧,٠ — ٧,٥ وأخيرا يضاف اليها ١٠ سم ٣ من محلول البنفسج البلورى المركب من ٠,١٤٣ جم فى لتر من الماء المقطر ويعوض الفقد الناتج من التبخير بإضافة الماء المقطر حتى تبلغ كمية السائل لترا وتعبأ الانابيب التى بها أنابيب الاختمار وتعقم كالمعتاد

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

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

تصب كل ١٠٠ سم ٣ من بيئة الآجار فى قنينة وتسد القنينات وتعقم فى الاوتوكلاف كالمعتاد

وعند تحضير الاطباق يذاب الآجار بتسخين القنينة ويضاف إلى كل ١٠٠ سم ٣ من البيئة ٥ سم ٣ من محلول مائى معقم من اللاكتوز قوة ٢٠ ٪ و ٢ سم ٣ من محلول مائى أيوسين قوة ٢ ٪ ، ٢ سم ٣ من محلول مائى أزرق الميثلين قوة ٥, ٪ وبعد أن تخلط جيدا تصب البيئة فى الاطباق وتجمد

ويمكن إضافة جميع العناصر السالفة الذكر إلى الآجار عند تحضيره ثم توضع فى القنينات وتعقم وتصب فى الاطباق مباشرة عند الحاجة غير انه يلاحظ فى هذه الحالة أن لون البيئة يزول عند التعقيم ولكنه يظهر مرة ثانيه عند ما تبرد .

وعند تلقيح البيئة يؤخذ بواسطة ابرة معقمة ملء عقده من احدى أنابيب الاختبار التخمينى الايجابية وتسحب نقطة السائل على سطح الآجار فى طبق أو تكرر العملية فى جملة أطباق

اذا تكون غاز وحامض على درجة ٣٧ سنتجراد بعد مضى ٤٨ ساعة من وقت تلقيح البيئة السائلة وكذلك اذا ظهرت مجموعات مثالية (typical) لميكروبات القولون على أطباق أيوسين أزرق الميثلين بعد حفظها على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ١٨ — ٢٤ ساعة اعتبرت هذه النتيجة معززة لنتيجة الاختبار التخمينى، أما اذا كانت المجموعات التى ظهرت غير نموذجية (atypical) فلا يصح الجزم بأن النتيجة سلبية لان بعض أنواع طائفة القولون قد لاتنتج مجموعات مثالية على البيئة المذكورة والبعض الآخر قد لاينمو عليها الا ببطء شديد .

ويلخص الاختبار المكمل فيما يلى :

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

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

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

(٤) كيفية تمييز ميكروبات القولون بواسطة التفاعلات الكيماوية الحيوية

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

اسم الميكروب	إختمار السكروز	إختمار الدلسيت	أحمر الميثيل	كوسر	فوج بروسكاور	الاندول
باسلس القولون B . Coli	—	ح غ	+	—	—	+
بكتريوم ايروجنيس B . aerogenes	ح غ	—	—	+	+	—

علامة + تدل على تفاعل إيجابى

« — « « سلبى

ح = انتاج الحامض

غ = « الغاز

(٥) اختبار وجود الميكروبات السبحية و باسلس ولشياى

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

والميكروبات السبحية التى تعرف باسم الاستربتوكوكس البرازى أو ستربتوكوكس فيكالس (Streptococcus faecalis) كثيرة الوجود فى المواد البرازية الحديثة ولذلك يعتبر وجودها فى الماء دليلا على تلوثه بهذه المواد ، ولكن لما كانت هذه الميكروبات تموت بسرعة فى الماء فانه لايجب أن تعلق أهمية كبرى على النتيجة السلبية لهذا الاختبار .

والميكروب المذكور كروى الشكل ويوجد غالبا بحالة زوجية أو فى سلاسل قصيرة وهو إيجابى لصبغة جرام وأكثر مقاومة للحرارة من معظم البكتريا الخضرية الأخرى (Vegetative bacteria) ومن خواصه قدرته على تخمير المانيت (mannite) مع إنتاج حامض منه ولكنه لاينتج غازا .

ولا يجرى هذا الاختبار عادة إلا فى الأحوال التى يتعذر فيها الحصول على نتائج حاسمة من الاختبارات السابقة وتتلخص طريقة اجرائه فيما يلى :

ينقل سنتمتر مكعب من إحدى الأنابيب الإيجابية للاختبار التخمينى إلى أنبوبة تحتوى على ٩ سم^3 من المحلول الملحى المعقم وتخلط محتويات الأنبوبة الأخيرة بادارتها باحتراس بين راحتى اليدين ثم توضع فى حمام مائى على درجة ٦٠ سنتجراد وتبقى على هذه الدرجة لمدة ربع ساعة مع ملاحظة أن يكون سطح الماء فى الحمام أعلى من سطح السائل فى الأنبوبة .

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

أما باسلس ولشياى (B. Welchii) فهو من الميكروبات التى توجد بالقناة الهضمية ولذا فيدل وجوده بالماء على تلوثه بالمواد البرازية كذلك ومن أهم خواصه أنه عصوى سميك غير متحرك ومتجرثم جرثومة وسطية أو قريبة من الطرف مع إحداث انتفاخ فى موضع تكوينها كما أنه إيجابى التلوين لصبغة جرام ويخمر اللاكتوز تحت شروط غير هوائية مع إنتاج حامض وغاز ولإختبار وجود هذا الميكروب فى الماء تجهز ثلاث قنينات سعة كل منها ٣٥٠ سم^3 وتحتوى على ١٠٠ سم^3 من اللبن المعقم المضاف إليه دليل عباد الشمس وتلقح احداها بمائة سنتمتر مكعب والثانية بخمسة وعشرين سنتمترا مكعبا والثالثة بعشرة سنتمترات مكعبة من عينة الماء المراد إختبارها ثم يضاف إلى كل منها ٢٠ سم^3 من البرافين السائل (liquid paraffin) وتسخن القنينات الثلاث فى حمام مائى على درجة ٨٠ سنتجراد لمدة ٢٠ دقيقة ثم تبرد وتحفظ على درجة ٣٧

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

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

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

(٦) ملاحظات عن نتيجة هذا الاختبار

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

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

أولا — مياه العيون والآبار العميقة : ينبغى أن لاتوجد ميكروبات القولون فى ١٠٠ سم^3 منها.

ثانيا — المياه السطحية كمياه الآبار القليلة الغور : يلزم أن تكون هذه الميكروبات غير موجودة فى ١٠ سم^3 منها .

وتعتبر على وجه العموم عينات الماء العادية التى لاتظهر بها ميكروبات القولون فى ٥٠ سم^3 غاية فى النقاوة البكتريولوجية .

هذا والمتبع فى بعض الجهات التى تعنى بانتاج الألبان النظيفة أن ينظر بعين الشك إلى المياة التى تعطى نتيجة إيجابية فى الأنابيب المحتوية على أقل من ٢٥ سم^3 من العينة عند فحصها بالاختبار التخمينى . وفى مثل هذه الأحوال تجب الدقة فى بحث حالة المياه المذكورة فتجرى الاختبارات الثانوية بقصد تعيين الأنواع التى توجد بالعينة فان ظهر وجود باسلس القولون المثالى كان هذا الماء غير صالح للاستعمال فى معمل اللبن أو محل إنتاجه .

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

الكشف عن الميكروبات المرضية فى الماء

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

ثانيا — الفحص البكتريولوجى للأوانى والأدوات

كثيرا مايتسبب عن الاهمال فى نظافة وتعقيم الأوانى والأدوات ووقايتها من الغبار والأقذار الأخرى شدة تلوث اللبن الذى يوضع بها وازدياد عدد ماتحويه من ميكروبات زيادة كبيرة لذلك تنص الاشتراطات الخاصة بانتاج اللبن النقى الممتاز على ضرورة مراعاة العناية التامة بتنظيف أوانى اللبن وأدواته وتعقيمها بالبخار وصيانتها فى مكان نظيف مقفل لحين الحاجة إليها ويجرى فحصها بكتريولوجيا بين حين وآخر للوقوف على مدى دقة هذه العمليات . وسنذكر فيما يلى المواد اللازمة للفحص والطرق المتبعة فى أخذ العينة من الأنواع المختلفة للاوانى والادوات المستعملة فى إنتاج اللبن ثم نشرح طريقة الفحص .

الأدوات والمواد اللازمة للاختبار :

(١) ماصات معقمة سعة ١ سم^3 وأنابيب من بيئة الآجار المستعملة فى تقدير عدد البكتريا فى اللبن ، وأنابيب بيئة ماكونكى ، وأطباق بترى معقمة . وهذه الادوات جميعها قد سبق وصفها وطريقة اعدادها فى الكلام عن اختبارات اللبن .

(٢) قنينات تحتوى كل منها على ١٠٠ سم^3 من الماء المعقم .

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

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

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

طرق أخذ العينة :

(١) من زجاجات اللبن : يصب فى كل زجاجة ١٠٠ سم٣ من الماء المعقم وتسد الزجاجة بأحد الاقراص المعقمة ثم ترج ٢٥ مرة بشدة بحيث يبلل الماء جميع سطحها الداخلى ثم يؤخذ سنتمتر مكعب من ماء الغسيل بواسطة ماصة معقمة ويختبر .

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

تصب ٥٠٠ سم٣ من الماء المعقم فى كل من الصفائح الصغيرة وتسد بغطائها الاصلى ثم ترج بشدة ٢٥ مرة أما الصفائح الكبيرة وأوانى الحليب فيصب فى كل منها لتر أو لتران من الماء المعقم بحسب حجمها ويدار الماء فى الوعاء بحيث يبلل سطحه الداخلى أولا ثم يمسح السطح المذكور بممسحة معقمة (يتناسب طولها مع ارتفاع الوعاء) ويدار الماء فى الوعاء مرة أخرى وتغسل فيه الممسحة ثم يصب فى وعاء معقم ويؤخذ منه سنتمتر مكعب ليختبر .

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

(٤) من المبرد (Cooler) : تغمس الممسحة فى الماء المعقم وتمسح بها سطح المبرد ثم تغسل الممسحة فى الماء ويصب هذا الماء الذى يبلغ مقداره عادة لتران فوق المبرد وبعد أن يمر على سطح التبريد يجمع فى إناء معقم ويختبر .

(٥) من آلات الحليب (milking machines) يصب لتران من الماء المعقم فى سطل (جردل) معقم وتغمس فيه أكواب الحلمات (teat cups) ثم تدار مضخة التفريغ فيسحب الماء من السطل مارا فى الانابيب ويصل إلى سطل الآلة وأخيرا يمسح السطح الداخلى للسطل الاخير بممسحة معقمة ويصب الماء فى وعاء معقم ويختبر .

كيفية اجراء الاختبار :

يجب أن يجرى إختبار ماء الغسيل المتحصل عليه بالطرق السابقة بأسرع ما يمكن ولا يجب أن يتجاوز الوقت بين عمليتى الغسيل والفحص ١٥ دقيقة ويجرى الفحص بالكيفية الاتية : —

(١) تقدير عدد البكتريا الكلى فى الإناء .

يؤخذ سنتمتر مكعب من ماء الغسيل بواسطة ماصة معقمة ويصب فى كل من طبقى بترى معقمين وتضاف إليه محتويات أنبوبة آجار بعد تسخينه وتبريده كالمعتاد ثم يخلط الماء بالاجار ويجمد المخلوط ويحفظ الطبقان على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة ٤٨ ساعة وتحصى المجموعات التى تظهر على كل منهما ويحسب متوسط العدد فى الطبقين ويضرب فى عدد السنتمترات المكعبة من الماء الذى استعمل فى الغسيل فينتج عدد الميكروبات التى يحويها الاناء .

ويجرى الاختبار أحيانا بطريقة أخرى تتلخص فيما يلى : —

تسخن عدة أنابيب محتوية على آجار مغذى (يحتوى على ٢,٥ ٪ من الآجار) ثم تبرد إلى درجة ٤٥ سنتجراد وتصب محتويات أنبوبة منها على مساحة صغيرة من السطح الداخلى لكل من الآنية المراد إختبارها ويترك الآجار ليتجمد وفى هذه الاثناء يغمس ملوق معدنى كبير فى كحول ويعقم بامراره فى اللهب فيحترق الكحول الموجود عليه ثم يبرد . تفصل طبقة الآجار من سطح الوعاء بامرار الملوق المعقم بينهما مع الاحتراس من تكسير الآجار أثناء هذه العملية ثم ينقل الآجار بنفس الملوق ويقلب ويوضع فى طبق بترى معقم ويحفظ على درجة ٣٥ سنتجراد لمدة ٥ أيام وبعدها تحصى المجموعات التى تظهر ويحسب عددها فى السنتمتر المربع من سطح الوعاء .

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

(٢) إختبار وجود ميكروبات القولون .

يفحص ماء الغسيل فى أحيان كثيرة للوقوف على مدى تلوث أوانى اللبن بميكروبات القولون وذلك فى الحالات التى ترتفع فيها نسبة هذه الميكروبات فى اللبن ويراد الوقوف على المصدر الذى تنتقل منه للبن ويجرى هذا الفحص بنفس الطريقة المشروحة فى الكلام عن إختبار اللبن والماء .

هذا ويشمل الفحص فى مثل هذه الأحوال الماء المعقم المستعمل فى غسيل الضرع وأيدى الحلابين الخ .

ملاحظات عن نتيجة هذا الاختبار :

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

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

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

الصفائح الصغيرة (سعة ٢٥ رطل تقريبا) عن ٢٥٠٠٠

« المتوسطة (« ٥٠ « «) « ٥٠٠٠٠

« الكبيرة (« ١٠٠ « «) « ١٠٠٠٠٠

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

الباب الثامن والعشرون

الفحص البكتريولوجى لمنتجات اللبن

ذكرنا فيما سبق أن الفحص البكتريولوجى يهم صانع منتجات اللبن كما يهم المنتج لأن جودة هذه المنتجات ورائحتها وطعمها تتوقف على نشاط ما بها من ميكروبات وسنشرح فيما يلى طرق الفحص الرئيسية المتبعة فى اختبار منتجات الألبان .

أولا — فحص الزبد

(١) احصاء العدد الكلى للبكتريا :

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

ويمكن استعمال بيئتين فى هذا الاختبار احداهما هى بيئة آجار الدكستروز التى سبق وصفها فى اختبار اللبن والثانية تعرف باسم بيئة آجار الشرش (Whey agar) المضاف إليه دليل اندرادى وهى تحضر كالاتى :

يجبن مقدار من اللبن بالمنفحة ويصفى منه الشرش ويضاف إليه ١ ٪ ببتون و ٠,٥ ٪ ملح الطعام ثم يضبط تأثيره ويسخن ويرشح ويضاف إليه ١,٥ ٪ آجار و ١ ٪ دليل اندرادى ثم تصب البيئة فى الأنابيب وتعقم كالمعتاد .

طريقة أخذ العينة : من أهم ما يراعى فى أخذ العينة ألا يدمج فيها الجزء السطحى المعرض للجو أو الملاصق لورق اللف بل يجب أن يكشط السطح بواسطة مشرط معقم أو تثقب قطعة الزبد المراد اختبارها وتؤخذ العينة من أجزائها المختلفة إما بواسطة ثاقب أو مجس معقم (Sampler or trier) أو بواسطة ملعقة معقمة وتوضع القطع الصغيرة المتحصل عليها بهذه الطريقة فى زجاجة عينة معقمة أو توزن مباشرة

والطريقة الأولى هى الأكثر استعمالا خصوصا عند تعذر فحص العينة مباشرة . وينبغى فى هذه الحالة أن تقفل الزجاجة بأحكام وتحفظ محاطة بالثلج إلى أن يحين وقت فحصها.

ويعقم المشرط والثاقب أو الملعقة فى الأوتوكلاف بعد وضعها فى زجاجات وسدها بالقطن أو لفها بورق الزبد .

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

ا ـ أن ترفع حرارة ماء التخفيف الى درجة ٤٥ سنتجراد وتحفظ على هذه الدرجة فى حمام مائى طول مدة اجراء التخفيف .

ب ـ أن تدفأ الماصات وأطباق بترى التى تستعمل فى الاختبار وذلك بوضعها فى محضن درجة حرارته ٣٧ سنتجراد مدة من الزمن أو بامرارها فوق اللهب

حـ ـ أن تغسل الماصات جيدا بماء التخفيف بعد النقل بأن يسحب فيها قليل من الماء المذكور ويعاد الى الأنبوبة بضع مرات .

د ـ أن ترج كل أنبوبة من أنابيب التخفيف قبل أن ينقل منها السائل إلى الانبوبة التالية لأن حبيبيات الدهن تطفو على سطح السائل بسرعة وهذه العملية تنظم توزيعها فى السائل

اذا أتبعت طريقة الوزن فى عمل التخفيف الاول فيجرى الاتى : يعقم مع بقية الادوات طبق بترى يحتوى على قطعتين مربعتين من الورق طول ضلع أحداهما نحو تسعة سنتمترات وطول ضلع الاخرى حوالى سبعة سنتمترات وقبل وزن الزبد توضع قطعة الورق الكبيرة بواسطة ملقط معقم على كفة الميزان اليسرى ثم توضع فوقها القطعة الصغرى وتوضع فى الكفة اليمنى أوزان تعادلهما ثم تؤخذ بواسطة ملوق معقم خمسة جرامات من الزبد وتوزن على الورقة (وفى بعض الاحوال يفضل وزن جرام واحد بدلا من خمسة) ثم تنقل الورقة العلوية بما عليها بواسطة الملقط المعقم وتوضع فى فنينة تحتوى على ٤٩٥ سم٣ من الماء المعقم الدافىء وبذلك يحضر تخفيف ١٠٠ ثم تكمل عملية التخفيف باستعمال أنابيب تحتوى الواحدة منها على ٩ سم٣ من الماء المعقم أو المحلول المائى أو محلول رنجر الدافىء كالمعتاد .

أما اذا اتبعت طريقة العيار فتوضع زجاجة العينه المحتوية على الزبد فى ماء ساخن حرارته ٤٥ ـ ٥٠ سنتجراد حتى تسيح ثم تمزج جيدا بالرج وينقل منها سنتمتر مكعب الى احدى أنابيب ماء التخفيف الدافىء وتكمل عملية التخفيف

ومن المهم فى هذه الطريقة أن يقلل تلوث السطح الخارجى للماصة بالزبد السائح بقدر الامكان

وعقب انتهاء عملية التخفيف مباشرة ينقل سنتمتر مكعب من كل أنبوبة من أنابيب التخفيف ب١ ، ب٢ ، ب٣ ، ب٤ ، ب٥ إلى كل من طبقى بترى معقمين وتحفظ الاطباق على درجة ٢٢ سنتجراد لمدة ٨ أيام أو على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة ٥ أيام ثم تحصى المجموعات على الاطباق الصالحة للعد ويضرب عددها فى نسبة التخفيف ويستنتج العدد الكلى فى الجرام الواحد من الزبد اذا اتبعت طريقة الوزن أو فى السنتمتر المكعب اذا اتبعت طريقة العيار

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

(٣) تقدير نسبة ميكروبات القولون

تستعمل فى هذا الاختبار نفس البيئة وذات الطريقة المشروحة فى اختبار اللبن ولكن يراعى تسييح الزبد وتدفئة ماء التخفيف والماصات عند اجراء الاختبار، وينقل سنتمتر مكعب من عينة الزبد ومن أنابيب التخفيف ب١ ، ب٢ ، ب٣ الى كل من أنبوبتى بيئة ماكونكى وتحفظ الانابيب المذكورة على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة ٣ أيام أو على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة يومين ثم تدون النتيجة

(٣) الامتحان الميكروسكوبى

توضع عشرة جرامات من الزبد مع ١٠٠ سم٣ من الماء المعقم فى كأس صغير معقم ويسخن المخلوط على درجة ٧٠ سنتجراد ويقلب جيدا ثم يصب فى أنابيب الالة المركزية الطاردة وتدار بسرعة ٣٠٠٠ دورة فى الدقيقة لمدة ١٠ — ١٥ دقيقة (مع مراعاة جميع الاحتياطات السالف ذكرها فى اختبار الراسب) ثم يصب السائل الرائق من الانابيب ويحضر غشاء من الراسب ويثبت ويصبغ باحدى الطريقتين السالفتى الذكر فى اختبار اللبن ميكروسكوبيا

وهنا يحسن ان نقول أنه لايكاد يرى فى الغشاء المحضر من الزبد الجيد غير ميكروبات كروية زوجية أوسبحية (ستربتوكوكس لاكتس Str. lactis) ولاترى الميكروبات العصوية إلا بقلة أو تكون معدومة

(٤) اختبار وجود ميكروب السل

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

ثانيا — فحص الروبة

الروبة أو (البادىء Starter) هى عبارة عن مزرعة نقية من بكتريا حامض اللكتيك فى لبن معقم

تلقح بها القشدة المعدة لصنع الزبد أو اللبن المستعمل فى صنع الجبن فتكون فيهما نسبة خاصة من حامض اللكتيك تساعد فى صنع أنواع من الزبد والجبن تمتاز بصفاتها الجيدة وطعمها ونكهتها الطيبة .

يستعمل فى اختبار الروبة جملة طرق من اهمها اختبار المذاق والرائحة ومظهر الخثرة ونسبة الحموضة على ان هناك طرقا بكتريولوجية تستعمل أحيانا للوثوق من صلاحية الروبة للاستعمال وهى:

(١) اعداد العدد الكلى

يجرى التخفيف كالمعتاد ويحضر طبقان من كل من أنابيب التخفيف الآتية $\frac{1}{10^{6}}$ ، $\frac{1}{10^{7}}$ ، $\frac{1}{10^{8}}$ ، $\frac{1}{10^{9}}$ ويستعمل فى هذا الاختبار آجار الشرش أو آجار الدكستروز السالف الذكر ثم تحفظ الأطباق على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة خمسة أيام ويحصى المجموعات الناتجة على الأطباق المناسبة للعد ويضرب عددها فى نسبة التخفيف فينتج العدد الكلى فى السنتيمتر المكعب من عينة الروبة .

(٢) تقدير نسبة ميكروبات القولون

يحضر التخفيف كالمعتاد وتلقح أنبوبتان من بيئة ماكونكى السائلة كل منهما بسنتيمتر مكعب من العينة كما تلقح أنبوبتان بنفس الطريقة من كل من تخفيف $\frac{1}{10^{2}}$ ، $\frac{1}{10^{3}}$ وتحفظ الأنابيب على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة يومين أو على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة ٣ ايام .

(٣) الامتحان الميكروسكوبى

يحضر غشاء من الروبة ويصبغ بطريقة جرام ويفحص ميكروسكوبيا فاذا كان محضرا من عينة جيدة فلا يكاد يشاهد به سوى ميكروبات كروية زوجية أو سبحية إيجابية التلوين لصبغة جرام

ثالثا — فحص الالبان المختمرة

يقتصر غالبا فى فحص الألبان المختمرة (وأهم المستعمل عندنا منها لبن الزبادى) على تقدير نسبة ميكروبات القولون والامتحان الميكروسكوبى وأولهما ذو أهمية خاصة فى هذه الحالة لأن تلك الميكروبات كثيرا ما تحدث تغيرات غير مرغوب فيها تضر بهذه الصناعة ضررا بليغا . أما ثانيهما فيستدل منه على نسبة الميكروبات التى تتألف منها الخميرة بعضها إلى بعض وعلى وجود أنواع ملوثة بينها ويجرى الاختباران المذكوران كالآتى : —

(١) تقدير نسبة ميكروبات القولون :

يجرى بنفس الطريقة المشروحة فى اختبار الروبة .

(٢) الامتحان الميكروسكوبى :

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

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

رابعا — فحص الجبن

(١) احصاء العدد الكلى للبكتريا

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

هاون من الصينى قطره نحو ٧ سم واليد الخاصة به يلفان فى ورق الزبد

أنبوبة اختبار تحتوى على نحو عشرة جرامات من الرمل تقفل بسدادة قطنية .

قنينة سعتها ١٥٠٠ سم^3 تحتوى على ١٠٠٠ سم^3 من الماء تقفل بسدادة قطنية (قنينة رقم ١) .

قنينة سعتها ١٥٠٠ سم^3 فارغة مقفلة بسدادة قطنية (قنينة رقم ٢)

سدادة من المطاط لقفل القنينة الفارغة تلف فى ورق الزبد

تعقم الأدوات المذكورة فى الاوتوكلاف

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

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

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

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

لمدة بضع دقائق ويصب السائل فى القنينة الفارغه رقم ٢ ثم تنقل قطعة جبن أخرى وقليل من الرمل والماء الى الهاون وتطحن بنفس الطريقة وتكرر العملية حتى يتم طحن جميع الجبن ثم يغسل الهاون بالماء المعقم ويصب ماء الغسيل فى القنينة رقم ٢ مع الماء الباقى بالقنينة رقم ١ وتقفل الأخيرة بالسدادة من المطاط المعقمة وترج هذه القنينة لمدة بضع دقائق ويكمل التخفيف بالطريقة المعتادة من المزيج السالف الذكر ويحضر طبقان من أنابيب التخفيف الآتية ـــ ، ـــ ، ـــ وتحفظ الأطباق على درجة ٢٢ س لمدة ٨ أو ١٠ أيام أو على درجة ٣٠ س لمدة ٥ أيام ويقدر العدد الكلى

وفى بعض الأحوال يحصى على وجه التقريب عدد البكتريا التى لا يجود نموها على الاطباق (مثل لاكتوباسلس كازى L. casei) وذلك بتلقيح أنابيب لبن معقم بمقادير مختلفة من الجبن نقلت من أنابيب التخفيف المحضرة فى الاختبار السابق ثم تحفظ أنابيب اللبن على درجة حرارة مناسبة لمدة أسبوع أو أسبوعين وتختبر بالعين المجردة لمشاهدة التغيرات التى تحدث بها كما تفحص ميكروسكوبيا للوقوف على أنواع الميكروبات الموجودة بها وتقدير عددها التقريبى .

(٣) تقدير نسبة ميكروبات القولون :

يجرى بالطريقة المستعملة فى اختبار الروبة

(٤) الامتحان الميكروسكوبى :

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

يلاحظ فى الاغشية المحضرة من الجبن الطرى أو الحديث الصنع أن الأنواع الغالبة هى الكروية الزوجية أو السبحية وأنها موزعة فى الغشاء بانتظام بخلاف الحال فى الأغشية المجهزة من الجبن الجاف إذ تغلب فيها الأنواع العصوية (اللاكتوباسلس) وترى الميكروبات فى مثل هذه الأغشية غالبا متجمعة فى مجموعات (يطلق عليها أحيانا اسم مراكز النضج Ripening samples)

(٤) اختبار وجود ميكروب الصل

تستعمل عدة طرق فى هذا الاختبار إلا أن أصلحها هى الآتية :

توضع ٢٠ جراما من الجبن فى كأس زجاجى معقم ويوضع الكأس فى ماء دافىء حرارته ٣٥ - ٤٠ سنتجراد ويصب عليه ببطء ١٧٠ سم٣ من محلول صودا كاوية قوة ٢ ٪ اذا كان الجبن المراد اختباره طريا أو ٣٤٠ سم٣ اذا كان جافا ويحرك المخلوط فيصير بعد ٢٠ دقيقة محلولا عكرا يعبأ فى أنابيب الآلة المركزية الطاردة ويدار لمدة ١٥ دقيقة ثم يحقن الراسب فى الأرانب الهندية .

خامسا — فحص المثلجات

توجه لفحص المثلجات « الدندرمة » أهمية أكبر بكثير مما توجه لفحص منتجات الألبان الأخرى نظراً لكثرة استعمالها فى زمن الصيف وهو الوقت الذى تكثر فيه الاصابة بالحميات المعوية ولانها قد تكون من أخطر العوامل التى تسبب انتقال العدوى بهذه الامراض

وغالبا يمكن الحكم على مقدار العناية التى اتخذت فى صنع المثلجات وتوزيعها من احصاء العدد الكلى للبكتريا التى تحويها وتقدير نسبة ميكروبات القولون فيها وأحيانا تفحص للكشف عن وجود ميكروبات ممرضة خاصة فى الاحوال التى يشتبه فيها أن انتشار بعض الاوبئة ناتج عن التغذى على مثلجات من مصدر معين

(١) احصاء العدد الكلى للبكتريا (طريقة الاطباق)

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

طريقة أخذ العينة : تؤخذ العينة إما فى طبق بترى معقم أو فى زجاجة عينة ذات غطاء زجاجى أو معدنى محوى وتتوقف طريقة أخذها على نوع الوعاء الذى تؤخذ منه فإن كانت المثلجات معبأة فى أوعية كبيرة كالصفائح مثلا وكانت جامدة فيستعمل ثاقب أو مجس فى أخذ العينة من أجزائها المختلفة أو تكشط الطبقة السطحية بملعقة معقمة ثم يؤخذ القدر اللازم بملعقة أخرى معقمة أما إذا أريد أخذ العينة من الدرجات الاولى من العملية أى من آلة التجنيس (homogeniser) مثلا فتوضع الزجاجة تحت فتحة الجهاز المذكور وتؤخذ كمية قليلة فى فترات متقاربة

وفى جميع هذه الأحوال تجب العناية لعدم تلوث العينة بميكروبات خارجية عند أخذها كما يجب ألا يقل حجمها عن ٥٠ سم٣ وأن تحفظ محاطة بالثلج لحين فحصها .

طريقة اجراء الاختبار : توضع الزجاجة المحتوية على العينة فى حمام مائى على درجة ٤٠ س لمدة ١٥ دقيقة وتمزج العينة فى أثناء التسخين ويلاحظ عدم رفع درجة الحرارة كثيرا عند التسييح لأن ذلك قد يقلل من عدد البكتريا كما يجب ألا تسيح على درجة منخفضة نسبيا وإلا استغرقت هذه العملية مدة طويلة تتكاثر فى اثنائها البكتريا فيزيد عددها

يؤخذ سنتمتر مكعب من العينة السائحة بواسطة ماصة معقمة ويخلط بتسعة سنتمترات مكعبة من الماء المعقم على أنه يفضل أحيانا فى عمل التخفيف الأول ان تؤخذ كمية أكبر لكى تكون ممثلة للعينة تماما فتثقل ١٠ سم٣ وتضاف إلى ٩٠ سم٣ ثم يكمل التخفيف كالمعتاد ويحضر طبقان من كل من تخفيف $\frac{1}{100}$ ، $\frac{1}{1000}$ ، $\frac{1}{10000}$ وتحفظ الأطباق على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة ٥ أيام وتحصى المجموعات ويقدر عدد البكتريا الكلى

(٢) احصاء العدد الكلى للبكتريا (طريقة الميكروسكوب المباشرة)

هذه الطريقة غير شائعة الاستعمال كالطريقة السابقة وخصوصا لأن انتشار صنع المثلجات من مواد مبسترة قد جعل فائدتها محدودة غير أنها تفيد فى تعزيز نتيجة الفحص بطريقة الاطباق كلما أمكن

تؤخذ العينة بالطريقة السالفة الذكر ويحضر الغشاء منها بعد تسييحها بأن ينشر $\frac{1}{10}$ سم ^{3} منه فى مربع مساحته سنتمتر على شريحة نظيفة بالطريقة التى سبق شرحها فى اختبار اللبن ثم تغمس الشريحة فى زيلول لازالة الدهن وتصفى وتجفف ثم تغمس فى كحول لمدة بضع دقائق وتمسق وتجفف وتصبغ وتفحص بالعدسة الزيتية

لايرى بالغشاء المحضر من مثلج جيد أكثر من خلية فى المجال

(٣) تقدير نسبة ميكروبات القولون

يجرى هذا الاختبار بالطريقة المشروحة فى اختبار اللبن ويستدل من نتيجته على مبلغ العناية التى اتخذت فى الإنتاج ومدى دقة عملية البسترة لأن هذه الميكروبات لاتقتل كلها فى المثلجات بالعملية المذكورة ولو أنها عادة تبستر على حرارة أعلى من الدرجة التى يبستر عليها اللبن وكذلك يستدل من نتيجتها على مقدار التلوث الذى حدث بعد العملية المذكورة

(٤) اختبار وجود ميكروبات السل :

إما أن تحقن الأرانب الهندية بالمثلج بعد تسييحة مباشرة أو يجرى حقن الراسب والقشدة التى تطفو على السطح بعد ادارته فى الآلة المركزية الطاردة كالمعتاد

سادسا — فحص اللبن المركز

(١) احصاء العدد الكلى للبكتريا

يقدر العدد الكلى للبكتريا فى هذا اللبن عادة بطريقة الاطباق ولكن تراعى نقط خاصة فى أخذ العينة واجراء الاختبار المذكور سنبسطها فيما يلى ، أما الأدوات اللازمة فهى مماثلة لما ذكر فى اختبار اللبن والبيئة المستعملة عادة هى آجار الدكستروز

طريقة أخذ العينة . يجب أن تكون العينة ممثلة لجميع اللبن المراد اختباره فاذا أخذت من صفائح كبيرة أو براميل مثلا استعملت أنبوبة زجاجية متسعة مفتوحة الطرفين ومعقمة واتبعت فى أخذ العينة نفس الطريقة المشروحة فى أخذ عينة اللبن . أما اذا أخذت من صفائح صغيرة مقفلة فترج الصفيحة جيدا لتمزج محتوياتها ثم تعقم باللهب أو تغمس فى محلول مطهر كالسليمانى لمدة بضع دقائق وترفع منه وتصفى ويغسل طرفها بالماء المعقم ثم تعمل فيه فتحة طولها ٢ سم بواسطة آلة حادة (كفاتحة العلب العادية) فاذا كانت العلبة غير متجانسة أجرى خلطها بواسطة ملعقة معقمة

طريقة اجراء الاختبار . يحضر التخفيف الأول اما بنقل ١ سم ٣ من اللبن المركز بواسطة ماصة معقمة ذات فوهة متسعة نظرا لكثافة وتصب فى أنبوبة تحتوى على ٩ سم ٣ من الماء المعقم ويخلط اللبن بماء وتغسل الماصة بسحب السائل وارجاعه بضع مرات . أو توزن عشرة جرامات من اللبن فى زجاجة تخفيف تحتوى على ٩٠ سم ٣ من الماء المعقم ثم ترج الزجاجة جيدا ويحضر تخفيف $\frac{1}{100}$ من التخفيف الاول كالمعتاد ثم يحضر طبقان من كل من تخفيف $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{100}$ ، $\frac{1}{1000}$ ويستحسن أحيانا تحضير طبقين من اللبن نفسه وتوضع جميع الاطباق على درجة ١٠ س لمدة ٥ أيام أو على درجة ٣٧ سنتجراد لمدة يومين وتحصى المجموعات ويستنتج العدد فى السنتيمتر المكعب اذا أجرى التخفيف بطريق العيار أو فى الجرام اذا أجرى بالوزن

وقد يحصى العدد بطريقة الميكروسكوب المباشرة بأن يخلط اللبن بمقدار مناسب من الماء المعقم بحيث يشبه المخطوط فى تركيبه اللبن الطبيعى ويحضر منه غشاء ويصبغ ويفحص بالطريقة المعتادة

وتقدر أحيانا فى هذا اللبن عدد الميكروبات المذيبة للجلاتين (Gelatine lequefying) بأن تحضر الأطباق كما فى الاختبار السالف الذكر ولكن تستعمل بيئة الجيلاتين المغذى بدلا من آجار الدكستروز ثم تحفظ على درجة ٢٠ س لمدة ٧ — ١٠ أيام وتختبر الاطباق فى أثناء هذه المدة كل يوم مرة وتحصى عدد المجموعات المذيبة للجيلاتين ويستنتج عددها فى السنتمتر المكعب أو فى الجرام

(٣) تقدير نسبة ميكروبات القولون

يجرى الاختبار بالطريقة المشروحة فى اختبار اللبن

رابعا - فحص اللبن المجفف

(١) إحصاء العدد الكلى للبكتريا

يحصى عدد البكتريا فى مسحوق اللبن عادة بطريق الاطباق وتستعمل فيه أدوات تماثل المستعملة فى اختبار اللبن الطبيعى وتستخدم بيئة آجار الدكستروز .

طريقة اجراء الاختبار . تخلط محتويات الصفيحة أو البرميل وتؤخذ منها عينة فى زجاجة معقمة ثم توزن عشرة جرامات من عينة المسحوق على ورقة معقمة وتضاف الى زجاجة تخفيف على ٩٠ ٢ من الماء المعقم ويرج المخلوط جيدا حتى يصير متجانسا ثم يكمل التخفيف كالمعتاد ويحضر طبقان من ١ سم ٣ ومن كل من تخفيف $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{100}$ وتحفظ الاطباق على درجة ٣٠ سنتجراد لمدة خمسة أيام ثم تحصى المجموعات ويستنتج العدد فى الجرام الواحد

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

معقمة ثم تمزج بمقدار من الماء المعقم بحيث تصير النسبة المئوية للمواد الصلبة فى المخلوط مساوية تقريبا لنسبتها فى اختبار اللبن .

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

وللتحقق من وجود هذا الأنواع اما أن تنقل جميع المجموعات التى تنمو على الاطباق بالكيفية المذكورة او يكتفى بنقل المجموعات الموجوده على قسم منه فقط ثم تحسب نسبتها فى الطبق كله وقد تحصى هذه البكتريا على الاطباق بالطريقة العادية ، باستعمال بيئة آجار خلاصة اللحم واضافة ٥٠ سم٣ من اللبن الفرز إلى كل طبق ، ويكثر وجود هذه البكتريا فى المسحوق اذ أنها متجرثمة فتقاوم الحرارة التى يعرض لها اللبن عند صنعه .

(٢) تقدير نسبة ميكروبات القولون

يجرى الاختبار بالطريقة المشروحة فى اختبار اللبن

(٣) اختبار وجود ميكروب السل

يخلط مقدار من المسحوق بالماء المعقم بحيث يشبه المخلوط فى تركيبه اللبن الطبيعى ثم يدار فى الآلة المركزية الطاردة وتحقن بالراسب أو الراسب والقشدة التى تطفو على السطح أرانب هندية كالمعتاد .

اهم المراجع

١) محمود سليم : تعقيم اللبن — صحيفة التجارة والصناعة — العددان الأول والثانى من السنة الحادية عشرة (يناير فبراير سنة ١٩٣٥) .

٢) محمود سليم : تجفيف اللبن — المجلة الزراعية المصرية — الاعداد الثالث والرابع والخامس والسابع من السنة السادسة عشرة (مارس وابريل ومايو ويوليو وأغسطس سنة ١٩٣٨)

---

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

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

obeikandl.com

أبواب الكتاب

صفحة

مقدمة ٣

تمهيد ٤

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

الجزء الأول

الباب الأول — أهمية النظافة فى انتاج اللبن ومعاملته ٢٢

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

الباب الثانى — تلوث اللبن من الماشية المنتجة ٢٩

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

الباب الثالث — تلوث اللبن فى أثناء الحلب ٤٣

التلوث من الهواء (٤٣) — التلوث من الحلاب (٤٥) — الحلب الآلى وعلاقته بانتاج اللبن النظيف (٤٨)

الباب الرابع — التلوث من الأوانى ٥٩

أنواع البكتريا فى الاوانى الغير النظيفة (٥٩) — الاحتياطات التى تتخذ لتجنب التلوث من الاوانى (٦٠) — تلوث اللبن من الذباب (٦٤)

الباب الخامس — العمليات التى تعقب الحلب وأثرها فى تلوث اللبن ٦٧

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

الباب السادس — أثر التوزيع فى تلوث اللبن ٨٠

عوامل التلوث التى يتعرض لها اللبن فى أثناء اعداده للتوزيع (٨٠) — أمكنة التوزيع (٨٠) — معدات التوزيع (٨١) — عمال التوزيع (٨٦) — العناية باللبن فى المنزل (٨٧)

الباب السابع — القوانين والمباريات الخاصة بانتاج اللبن النظيف ورتب اللبن ٨٩

القواعد الخاصة بانتاج الالبان (٨٩) — مباريات اللبن النظيف (٩٣) — رتب اللبن (١٠١)

الباب الثامن — الطرق المتبعة فى حفظ اللبن — معاملة اللبن بالحرارة ١٠٧

التعقيم الكامل (١٠٨) الغلى (١١٠) التعقيم الجزئى بطريقة باستور (١١٢) التعقيم الجزئى بطريقة استاسانو (١٤٠) اختبارات اللبن المسخن (١٤٣)

الباب التاسع — الطرق المتبعة فى حفظ اللبن — تكثيف اللبن وتجفيفه ومعاملته بالكهرباء وبعض الطرق الأخرى ١٥٢

تكثيف اللبن (١٥٢) تجفيف اللبن (١٥٥) معاملة اللبن بالكهرباء (١٦٠) معاملة اللبن بالاشعة فوق البنفسجية (١٦١) إضافة المواد الحافظة (١٦٤)

صفحة

الباب العاشر — الأمراض التى تنتقل بواسطة اللبن ١٦٧

الامراض التى تنتقل من الحيوان إلى الانسان أو الحيوان (١٧٠) السل البقرى (١٧٠) الحمى المالطية (١٧٧) الاجهاض المعدى (١٧٧) الحمى القلاعية (١٧٨) الحمى الفحمية (١٧٨) التهاب الضرع (١٧٨) الامراض التى تنقل من الانسان إلى إنسان آخر (١٧٩) السل الآدمى (١٧٩) حمى التيفود (١٧٩) الدفتريا (١٨٠) الحمى القرمزية (١٨١) مرض الزور العفن (١٨١) اسهال الاطفال (١٨٢) التسمم الناشىء من اللبن ومنتجاته (١٨٣)

الجزء الثانى

الباب الحادى عشر — أنواع الميكروبات التى توجد باللبن والعوامل التى تؤثر فى نموها ونشاطها ١٨٦

أنواع البكتريا التى توجد باللبن (١٨٦) العوامل التى تؤثر فى نمو البكتريا باللبن (١٨٧) أدوار نشاط البكتريا فى اللبن (١٩٣)

الباب الثانى عشر — اختمار حامض اللكتيك ١٩٤

بكتريا حامض اللكتيك (١٩٦) طائفة ستربتوكوكس لاكتس (١٩٧) طائفة لاكتوباسلس (١٩٩) طائفة كولاى — ايروجنيس (٢٠٣)

الباب الثالث عشر — التغيرات غير العادية التى تحدث باللبن ٢٠٨

التغيرات التى تحدثها الميكروبات (٢٠٨) لزوجة اللبن (٢٠٨) تلون اللبن (٢١٠) انتاج الغازات باللبن (٢١٢) تجبن اللبن (٢١٣) هضم كازين اللبن (٢١٥) تغير طعم اللبن ورائحته (٢١٦) انتاج الأحماض الطيارة والكحول باللبن (٢١٨) التغيرات الناتجة عن عوامل غير ميكروبية (٢١٩) ميزات التغيرات التى تحدثها البكتريا باللبن (٢٢١) كيفية اختيار التغيرات البكتريولوجية والوقوف على منشأها (٢٢٢)

الباب الرابع عشر — بكتريولوجيا القشدة والزبد ٢٢٥

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

الباب الخامس عشر — بكتريولوجيا الألبان المختمرة ٢٥٢

اليوغورت (٢٥٣) لبن الأسيدوفيلس (٢٥٧) الكفير (٢٥٩) الكوميس (٢٦١) الميكروبات المرضية فى الالبان المختمرة (٢٦٢)

الباب السادس عشر — بكتريولوجيا الألبان المكثفة والمجففة ٢٦٤

الالبان المكثفة (٢٦٤) اللبن المكثف غير المحلى (٢٦٤) اللبن المكثف المحلى (٢٦٩) الالبان المجففة (٢٧٥) الميكروبات المرضية فى الالبان المكثفة والمجففة (٢٨٠)

الباب السابع عشر — بكتريولوجيا المثلجات اللبنية ٢٨٣

عدد وأنواع البكتريا التى توجد بالمثلجات (٢٨٣) مصادر تلوث المثلجات بالبكتريا (٢٨٤) أثر العمليات المختلفة فى عدد البكتريا بالمثلجات (٢٨٧) الاحتياطات المؤدية الى انخفاض عدد البكتريا بالمثلجات (٢٨٩) الميكروبات المرضية فى المثلجات (٢٨٩)

الباب الثامن عشر — بكتريولوجيا الجبن ٢٩١

انتخاب اللبن المستعمل فى الصناعة (٢٩٢) انضاج اللبن (٢٩٢) التنفيح ومعاملة الخثرة (٢٩٣) انضاج الجبن (٢٩٤) جبن تشدر (٢٩٦) جبن امنتال (٢٩٨) جبن روكفور (٣٠٠) جبن كامبير (٣٠١) عيوب الجبن (٣٠٣) أثر البسترة فى صناعة الجبن (٣٠٤) الميكروبات المرضية فى الجبن (٣٠٥)

صفحة

الجزء الثالث

الباب التاسع عشر — أهمية الفحص البكتريولوجى ونظام معامله ٣٠٨

أهمية الفحص البكتريولوجى (٣٠٨) المعدات اللازمة للتحاليل البكتريولوجية (٣٠٩) كيفية اعداد الأدوات والمواد لاستعمالها فى الأشغال البكتريولوجية (٣١٢) تأثيث معمل التحاليل البكتريولوجية (٣١٥) القواعد الواجب مراعاتها في معمل الفحص (٣١٦)

الباب العشرون — طرق أخذ عينات اللبن للفحص البكتريولوجى ٣١٨

الادوات اللازمة لاخذ العينة (٣١٨) طرق أخذ العينة (٣٢٠) تدوين البيانات الخاصة بالعينة (٣٢٣) نقل العينات إلى المعمل وحفظها لحين الفحص (٣٢٣)

الباب الحادى والعشرون — تقدير عدد البكتريا فى اللبن ٣٢٥

طريقة الاطباق (٣٢٥) طريقة بريد (٣٤٦) طريقة فروست (٣٥٥) طريقة بورى (٣٥٦)

الباب الثانى والعشرون — اختبارات وجود الميكروبات المكونة لغازات فى اللبن ٣٥٨

الباب الثالث والعشرون — اختبار اللبن بالطرق البسيطة ٣٦٧

اختبار اختزال أزرق الميثيلين (٣٦٧) اختبار الراسب (٣٧٢) اختبار الحفظ (٣٧٦)

الباب الرابع والعشرون — اختبارات متنوعة تستعمل لفحص اللبن فى أحوال خاصة ٣٨٠

اختبار الاختمار (٣٨٠) اختبار المنفحة (٣٨١) تقدير الحموضة (٣٨٣) اختبار الغليان (٣٨٥) اختبار الكحول (٣٨٦) اختبار الكاتالاز (٣٨٧) اختبار البروم كريسول الارجوانى (٣٨٩) اختبار وجود البكتريا الثرموفيلية (٣٩٠)

الباب الخامس والعشرون — طرق الكشف عن الميكروبات المرضية فى اللبن ٣٩٣

الكشف عن الميكروب المسبب لالتهاب الضرع (٣٩٣) الكشف عن ميكروب السل (٣٩٤) الكشف عن ميكروب التيفود (٣٩٧) الكشف عن ميكروب الدفتريا (٤٠٠) الكشف عن ميكروب الاجهاض المعدى (٤٠١)

الباب السادس والعشرون — طريقة تدوين النتائج ومراقبة انتاج اللبن ومعاملته بالاختبار البكتريولوجى ٤٠٤

تدوين نتائج الفحص البكتريولوجى وإعداد التقارير (٤٠٤) مراقبة انتاج اللبن ومعاملته بالاختبار البكتريولوجى (٤٠٧)

الباب السابع والعشرون — الفحص البكتريولوجى للماء والأوانى والأدوات ٤١١

الفحص البكتريولوجى للماء (٤١١) الفحص البكتريولوجى للاوانى والادوات (٤٢٤)

الباب الثامن والعشرون — الفحص البكتريولوجى لمنتجات اللبن ٤٢٧

فحص الزبد (٤٢٧) فحص الزبدة (٤٢٩) فحص الالبان المختمرة (٤٣٠) فحص الجبن (٤٣١) فحص المثلجات (٤٣٣) فحص اللبن المركز (٤٣٤) فحص اللبن المجفف (٤٣٥)

المراجع ٤٣٧

مراقب الطبع : محمد القناوى عبد الحافظ
مساعد قسم البكتريولوجيا

تم طبع هذا الكتاب بحمد الله
بمطبعة العلوم
بالقاهرة