

H. 吕提 U. 费策 著
杜 朋 杜 莹 译

果 酒 和 果 料 汁 饮 料 实 用 显 微 图 谱



● 中国轻工业出版社

果酒和果汁饮料实用显微图谱

〔瑞士〕 H. 吕提 U. 费策 著
 杜朋 杜莹 译

中國輕工業出版社

(京) 新登字034 号

内 容 提 要

本书共分为二部分。第一部分：引言；技术说明；标本的判断。第二部分显微图谱（70幅）：微生物菌种；由微生物引起的浑浊物；其他浑浊物。

本书可供果酒厂、果汁饮料厂、啤酒厂、卫生防疫部门和外贸商检部门的化验人员和技术人员，以及有关研究所的科研人员和大专院校师生阅读参考。

PRACTICAL MICROSCOPIC EVALUATION

OF WINES AND FRUIT JUICES

H. LÜTHI U. VETSCH

C. Schliessmann Kellerei-Chemie

GmbH & Co KG Schwäbisch Hall 1981

果酒和果汁饮料实用显微图谱

〔瑞士〕 H. 吕提 U. 费策 著

杜朋 杜莹 译

责任编辑 李亦兵

中国轻工业出版社出版

（北京市东长安街6号）

河北三河市宏达印刷厂

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

850×1168 毫米：1/32 印张：4.375 字数：100千字

1984年4月 第1版第1次印刷

印数：1—4000 定价：14.00元

ISBN7—5019—1603—9/TS·1046

译者序

这是一本非常有实用价值的小册子。

我国的果蔬汁饮料工业是一个新兴的工业,除了个别企业外,总体而言相当落后。其落后程度不仅体现在工艺、技术、设备诸方面,同时也体现在生产管理、产品标准、质量控制、质量检测等方面。目前我国有关果蔬汁饮料和果酒生产的书籍已经相当不少了,但是有关果蔬汁饮料和果酒的显微检验方面的文献资料,却仍然是一片空白。

进行果蔬汁饮料和果酒的显微检验,不仅需要深厚而坚实的理论基础,而且还需要丰富的实践经验。但是要有关果蔬汁饮料和果酒的显微检验方面的实践经验整理成文献资料,还需要良好而流畅的语言表达能力。所以就世界范围而言,本书也是本领域填补空白的第一本书。

在检验果蔬汁饮料和果酒质量时,显微检验方法是非常重要的手段。当果蔬汁饮料和果酒出现质量问题(或者是果蔬汁饮料和果酒腐败变质,或者是出现浑浊物或沉淀物)时,人们往往需要对其进行显微检验,以判断出造成果蔬汁饮料和果酒质量问题的原因。但是对于企业的普通质量检验人员,由于缺乏理论基础和实践经验。因此不能判断显微镜下各种物质的真实属性,面对显微镜下标本中所显示的各种各样、五花八门的物质,往往束手无策,无法作出正确的结论。所以企业在生产实践中迫切需要一本有指导意义的、权威性的、可以按图索骥(使用十分方便)的文献资料。本书即是这样一本文献资料。

原书中“wine”一词，含义很广，主要指的是葡萄酒和一切用水果原汁酿造出来的低度酒，但从实际应用而言，应还包括其他低度酒和啤酒。本书中将其译为“果酒”。

本书第一部分由杜莹翻译，第二部分由杜朋翻译。全书由北京农业工程大学车凤琴同志校对。不妥之处，敬请读者指正。

译者

原著第二版

前 言

这本小册子问世已有两年了，在这两年间，它已经进入了欧洲和海外（美洲）最主要的葡萄酒生产国。作者未曾料到读者对本书会有这么强烈的反响，高兴之余，常常感到激励和鼓舞。它证明至今为止有关果汁饮料和果酒的显微检验的专业书籍还是很缺乏的。特别使我们高兴的是，许多科研报告说明，我们这本小册子是在科研工作和实际工作中是经常被使用的。

我们认为出新版书是很必要的。由于已经对本书第一版已经作了编辑上的润饰，并且将某些显微照片调整到了合适的放大倍数，所以我们不打算对本书作重大变动。所以我们希望读者对本书提出批评性的意见和建设性的建议。我们对此表示衷心的感谢。

作者

1981年1月于苏黎世和威登斯维尔

目录

第一部分	(1)
1. 引言	(1)
2. 技术说明	(3)
2.1. 显微镜和工作场所	(3)
2.2. 离心分离	(5)
2.3. 标本的制作	(5)
2.4. 显微镜的调整	(6)
3. 标本的判断	(8)
3.1. 概述	(8)
3.2. 由微生物引起的浑浊物	(8)
3.3. 由饮料“析出物”引起的浑浊物	(9)
3.4. 外来物所引起的浑浊物	(9)
3.5. 瓶装果酒由微生物引起的浑浊物的定量判断	(10)
第二部分	(12)
1. 微生物菌种	(12)
1.1. 酵母菌 (图 1~9)	(12)
1.2. 细菌 (图 10~20)	(29)
1.3. 霉菌 (图 21~32)	(49)
2. 由微生物引起的浑浊物 (图 33~43)	(69)
3. 其他浑浊物	(87)
3.1. 晶体 (图 44~53)	(87)
3.2. 由饮料成分组成的沉积物 (图 54~64)	(104)
3.3. 硅藻土过滤材料 (图 65~69)	(122)
3.4. 醋线虫 (图 70)	(130)

第 一 部 分

1. 引 言

这本显微图谱集是我们在多年的饮料微生物检验的过程中逐步写成并完善的。我们经常用这本图谱集作为辅助教材向青年学生和年轻的技术人员介绍有关饮料微生物检验方面的知识，其中许多照片在教学示范中深受欢迎。

大多数饮料生产企业的实验室中并没有自己的化学专家或微生物专家。但是许多实验室却拥有至少一台显微镜。如果拥有的是适合进行饮料质量判断的光学显微镜（可放大 1000 倍的相差显微镜），那么毋庸置疑，这种显微镜是判断饮料浑浊度的准确、迅捷而可靠的工具。

企业管理人员和饮料加工专家通常在其学习或培训期间便已获得了有关饮料判断的化学基础知识和微生物基础知识。在此期间他们也学会了显微镜的操作方法和如何准确地进行饮料微生物性质的快速判断。但是显而易见，他们之中的大多数人缺少专门用于各种特定情况下进行判断的专的对照材料，而这种材料对专家来说是唾手可得的。

根据我们的教学经验，这本显微照片集将给那些缺乏实践经验的人以可以信赖的良好服务。由于缺乏经验，他们往往可能会对如何确定每一个标本的最终判断结果感到棘手，或者对如何选择实验方法感到无所适从。本书将帮助他们做出正确的判断。

本书对与其内容相关连的有关学科如分类学等并不作具体的阐述。建议对此有兴趣的读者查阅较好的微生物学专著。对于企业管理人员，我们认为最重要的是实用性，所以在本书中我们对标本尽可能通俗地进行分类和区别。

我们相信，本书列举的饮料的各种显微照片及其解释文字，基本上（绝大部分）囊括了人们在实践中所能遇到的各种情况。这本显微照片集还可以被学校和专业进修班用作为基础教材。我们在使用这本书的时候，总能收到很好的教学效果。

在过去的几年中，饮料专家们常常要求我们发表这本显微照片集。现在我们精选了这些显微照片编辑成集，并希望它成为一本至今为止仍然缺乏的、在生产中实用的饮料显微判断的工具。

最后我们特别提及我们的两位同事：将本书译成法文的食物工程师 Philippe • Cuénat 先生和将本书译成英文的 Morley • Strachan 先生。我们谨向他们致以最诚挚的谢意。

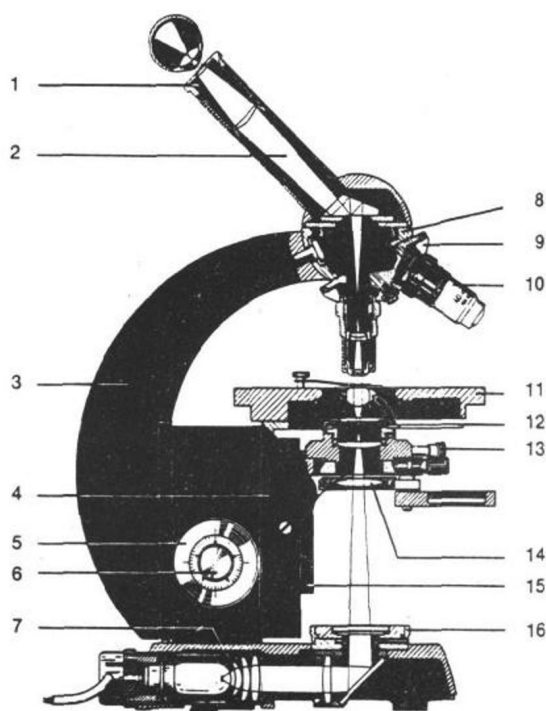
**Ulrich Vetsch
Hans R. Lüthi**

1977 年冬季于苏黎世和威登斯维尔

2. 技术说明

2.1. 显微镜和工作场所

下面为一台显微镜的示意图：



- 1—目镜 2—镜筒 3—镜臂 4—显微镜载物台托架 5—焦距粗调旋钮 6—焦距细调旋钮 7—装有聚光灯的灯室 8—显微镜架头 9—物镜转换器 10—物镜
11—机械载物台 12—聚光圈 13—调整聚光镜前透镜的旋钮 14—聚光镜前旋钮
15—聚光镜座 16—外光阑

我们应该配置一台合适的显微镜以供使用。在购置显微镜时，我们通常或是寻求某位在一个企业中工作，其工作场所就有显微镜而且也会使用它的人的帮助，或者委托某位会操作显微镜的人购置。在任何情况下，本书的所有显微照片、而不是其他任何文献，可以作为显微镜教材用于学校和各种专业培训班中。如果一个门外汉打算在手头拥有包括“理论基础”在内的一本工具书，那么本书对它是非常有价值的。此处涉及的这些基础，范围是很广泛的。

代替有关显微镜种类、工作原理和操作方法的冗长的叙述，我们打算向一些感兴趣的读者介绍本领域的几本专门著作。我们推荐下列几本书：

Stehli:《Mikroskopie für Jedermann (大众显微镜)》(KOSMOS-Verlag Stuttgart)

Meiring:《Mikroskopieren von Anfang an (显微入门)》(Verlag LEBEN im BILD, Dr. Konrad Theis, Aalen/Württ.)

D. Gerlach:《Das Lichtmikroskop, Eine Einführung in Funktion, Handhabung und Spezialverfahren für Mediziner und Biologen (光学显微镜入门，功能、操作方法和特殊使用方法，供医生和生物学家用)》(Thieme Verlag, Stuttgart.)

好的工具能够提高工作质量，这已是一个陈旧的概念。按照我们的理解，一台用于饮料和果酒质量判断的显微镜应该配置如下：应该带内置光源，有至少三种（放大倍数分别为 $10\times$ 、 $40\times$ 和 $100\times$ ）相差物镜，其中 $100\times$ 的相差物镜是一种油浸式物镜。如果再添置合适的物镜，便可以将物体放大到 100 倍至 1000 倍。

同样必不可少的是由一台由相差聚光镜、辅助镜头（相差矫正透镜）和上文提过的相差物镜所组成的相差显微镜装置。

除此之外，仪器还应配有可移动的载物台来移动样品载玻片，还应配有比单目镜更能使工作轻松的双目镜。

这样配置的显微镜具有很高的价值，我们必须精心维护它。每

次使用后保持其清洁意义极其重要。

显微镜应当放置在最适宜的环境中(除尘,干燥),不要锁在柜子里(因为您可能会把它置之脑后);应当盖上塑料罩防止灰尘。

我们必须随时将清洁的载玻片和盖玻片、油浸镜头用油、柔软的纸(即用于清洁物镜的 Josef 纸)和玻璃毛细管或巴斯德毛细管。

收集浑浊物质的离心分离机可以放置在其他房间(实验室,工厂)内。

当标本的制作以及其后的标本的判断工作完成后,您应该从一开始就严格遵循下文给予的简单的和可靠的规程,并使其成为习惯性。不规范的和草率的操作将导致制作不一致(不可重复)的标本并由此而产生误判断。

对我们而言,对最重要的技术提示的限制是一个特殊的要求。所以我们力求简练地阐明必须阐明的实际问题。

2.2. 离 心 分 离

通常需要用离心分离技术来分离已确定的浑浊物。我们建议您使用转速大约为 3000~4000r/min 的实验室用离心机。离心分离机的污物瓶(或者最好用塑料小管)的容量应该为 10mL。

采得的饮料试样至少要经离心分离处理 10min。对于非常细微的难以沉淀的浑浊物,离心分离处理时间必须加倍。经过离心分离处理后,小心地徐徐倒出饮料上清液,再用数秒钟时间滴出塑料小管中的液体。这些液体用于制作显微镜标本。

2.3. 标本的制作

用玻璃毛细管或巴斯德细导管将余液与在离心分离机塑料小管中积累的沉淀物很好地混合在一起,接着将一小滴这种沉淀物

混合液细心地滴在干净无油的载玻片中央。盖上一片同样清洁的盖玻片（18×18mm），并轻轻地挤压盖玻片，使液体铺开，到达盖玻片所有的边缘。如果液体太少，不能到达盖玻片所有的边缘，就需要将更多的沉淀物混合液添加到载玻片上。但是如果液体过多并且溢出盖玻片，那么必须用一条吸墨水纸或滤纸吸去多余液体，必要时还要同时用钳子或铅笔轻轻挤压盖玻片（绝不能用手）。这样做可以避免盖玻片下面液体产生流动，妨碍其后的观察。

在制作标本时，必须谨慎小心地安放载玻片，这样做会节省时间，而且还会消除制作新的载玻片的烦恼。

采用相差光学系统，我们能够在明亮的背景下清楚地观察到微生物的深色形体。新手在经过一些练习后以及有经验的人能够从微生物明暗程度的差别判断出微生物，特别是酵母菌的生理状态及“活力”。

我们相当关注购置相差光学系统的显微镜的事宜，由于使用相差显微镜能够对微生物真实的活力状态作出可靠的判断，因而显微镜购置事宜是非常重要的。

原则上我们不推荐制造染色标本。其原因是对于操作人员而言，必须掌握了新的标本的染色技术之后才能对标本进行染色。染色技术比较复杂。染色工作会使标本制造时间大大延长。但是最重要的是，染色作业会使标本制造工作增加新的困难因素和新的不安全因素，降低判断结论的准确性。

由于在大多数情况下被检验的微生物在标本染色过程中会死亡，所以观察报告的准确性不可避免地会下降。特别是对于新手，常常还会增加一项误判：错认物质种类，如将标本中物质错认为在标本中根本不存在的细菌或浑浊物。

2.4. 显微镜的调整

将这种谨慎小心地制造的显微镜标本置放在显微镜的载物台

上，用固定装置将其固定，然后再观察标本，看聚光镜的反射光束是否恰好通过标本的中心。完成此步骤后便可以将标本放大 $100\times$ （目镜 10 倍，物镜 10 倍），再对已经放大的可以进行的浑浊物部分进行调焦，使其清晰易辨。同时为了更容易用 10 倍物镜找到标本的光学平面，可以将聚光镜相差镜片调整到 100 倍油浸镜头的位置。用这种方法能够产生一个暗视场，微小的浑浊物颗粒便能够在深色的背景的衬托下变得光亮、清晰。

正确调整标本（照片）平面的另一个标志是标本中最小的固体颗粒作“之”字形运动；这种运动是由液体分子的相互碰撞引起的，即所谓的“布朗运动”。

接着将一滴（镜头）浸没油滴在盖玻片的中央。这时将标本放大至 1000 倍，我们便可以借助于油浸式物镜识别和鉴定最小的浑浊物颗粒如细菌或化学物质析出物。

在进行标本的显微鉴定时，最后应该将标本在“十”字载物台上移动多次，也就是说，直到完成鉴定前必须搜索许多图象，以寻求最佳效果。

如果出现疑问，必须制作 2~5 个来自同一沉淀物的标本以供鉴定。

为了对各个浑浊物的准确的尺寸关系有一个深刻的印象，对同一种类观察对象的标本，永远要用同一个放大倍数进行观察。

3. 标本的判断

3.1. 概 述

我们必须能够区分：

- a) 微生物（酵母菌，细菌，霉菌）；
- b) 各种化学物质的析出物（丹宁，蛋白质，酒石酸盐等等）；
- c) 来自饮料和果酒之外的外来物（例如过滤材料）。

3.2. 由微生物引起的浑浊物

当我们应用经验或者按照照片进行比较以判断由微生物引起的浑浊物的类别时，我们必须说明，这种浑浊物是由哪一种微生物引起的。

这时我们必须分清这种微生物对饮料或果酒是有益的还是有害的。任何一种微生物的生长繁殖对已经包装好了的饮料和果酒都是有害的。然而在供水果原汁发酵用的贮存容器中存在一些酵母菌，并且容许存在某些可以分解酸类物质的细菌。

在许多未经贮藏的新果酒中，需要能够分解苹果酸的细菌生长繁殖，甚至需要刺激能够分解苹果酸的细菌，使其迅速生长繁殖。在这种情况下，需要扩大对这种微生物的一致性和对最终产生有害影响的异常微生物（醋酸菌，霉菌等等）的显微检查。

在检查一个微生物菌种时，照片中的菌种看上去应该是一模一样的，但是当然我们不会指望一个微生物菌种的所有细胞都一样大小。在观察醋酸菌菌种时，我们经常还会看到形状毫无规律

的巨大细胞，对这种情况我们也只能将其称之为“正常”。

如果我们观察到的显微照片与预测不一致，就必须寻找原因。如果饮料和果酒中的浑浊物是由酵母菌、细菌或霉菌引起的并且危害产品的最终质量，那么首先必须查明产生微生物污染的原因，采取相应的措施。最重要的是找出污染源并消除污染源。

3.3. 由饮料“析出物”引起的浑浊物

如果我们观察到的浑浊物与微生物无关，那么它们可能是由下列原因引起的：

- a) 浑浊饮料的乳浊状成分（水果细胞成分）的析出物；
- b) 晶体析出物；
- c) 非晶体析出物，通常是细小的、大小与细菌相似的浑浊物。

浑浊饮料的乳浊状成分引起的浑浊物相对其他浑浊物而言比较轻，通常我们可以通过颜色和其团块状聚集物识别。它们之中的大多数具有典型形状，略加放大，便可见到其晶体沉淀物。

通过显微镜是无法肯定地识别细小的非晶体析出物的。但是通过不利的化学反应我们便能在显微镜下观察这类析出物。如果果酒中含有酚类物质的话，通常我们先进行的是一个简单的氧化反应再进行一个聚合反应。但是还有另一个造成非晶体析出物的原因：饮料和果酒中的金属（铜，铁）含量过高。无论如何，只有采用化学方法才能识别这种析出物。

此外必须一提的是，加热或冷却会引起蛋白质析出。

3.4. 外来物所引起的浑浊物

实际上在饮料与果酒中“真正”的由外来物所引起的浑浊物极少。通常我们遇到的“浑浊物”只是一些降低澄清型饮料和果酒质量的较大的固体颗粒。在显微镜下我们发现，这些由外来物

所引起的浑浊物往往只是一些过滤材料，例如细小的“针”状石棉、硅藻土、珍珠岩或棉花纤维，以及“污物”。

3.5. 瓶装果酒由微生物引起的浑浊物的定量判断

在饮料和果酒显微镜判断上有经验的专业人员可以对饮料和果酒的“状态”和由于微生物的生长繁殖而引起的质量变化作出结论性意见。但是能够对此作出结论性意见的先决条件便是准确按照本书对标本制作所提的诸项事项进行操作。

在离心分离作业之后，根据我们的经验，在排空了的10mL离心分离机塑料小管中大约还有0.2mL残留液体，晃动塑料小管可以使沉淀物再次悬浮。如果取出如上文所述的合适的数量（即在轻轻挤压之后能够恰好充满盖玻片和载玻片之间的空间）的液体，那么在进行显微观察之后我们可以作出判断：

放大1000倍时一个目镜视野内的微生物数量	每mL饮料中的微生物大约个数	饮料和果酒的状态
1—3	100000—300000	感官质量无变化
4—10	350000—800000	有变化，然而变化轻微， 气味和滋味的变化不明显
11—50	900000—5000000	开始腐败变质，挥发酸含量增加， 气味和滋味变化明显
>50	>5000000	腐败变质，不可饮用

在企业中，除了显微检验外，通常能够取得足够的饮料或果酒样品供感官质量实验用。如果两种检验都能进行，那么就能够大大减少作出错误结论的可能性。将饮料和果酒的显微检验结果和