

专题1 传统发酵技术的应用

课题1 果酒和果醋的制作

【新课探究】

知识点一

- (1)酵母菌 异养兼性厌氧型 (2)无氧 酒精发酵
(3)温度 氧气 ①20℃左右 18~25℃
②无氧 (4)野生型酵母菌 (5)色素
- (1)醋酸菌 异养需氧型 (2)①氧气、糖源 糖
②糖源 乙醇 $C_2H_5OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O$
(3)30~35℃

例1 D 【解析】酵母菌的代谢类型为异养兼性厌氧型,A项正确;在果酒制作过程中,有氧条件下,酵母菌进行有氧呼吸,大量繁殖,酵母菌数量的增多有利于后续的酒精发酵,B项正确;密封使得发酵装置中处于低氧或无氧条件,酵母菌可进行无氧呼吸产生酒精,C项正确;随着无氧呼吸的不断进行,营养物质逐渐减少,酵母菌数量减少,产生的酒精也逐渐减少,D项错误。

例2 C 【解析】醋酸菌的代谢类型为异养需氧型,酵母菌的代谢类型为异养兼性厌氧型,A项错误。醋酸菌的最适生长温度是30~35℃,而不是50℃,B项错误。当糖源不足时,醋酸菌可将酒精变成乙醛,再将乙醛变为醋酸,C项正确。要使果酒变成果醋需通入氧气,加入醋酸菌,还需再将温度调节为30~35℃才可,D项错误。

知识点二

- 一、1. (1)酒精 (2)冲洗 (4)18~25 (5)酸性 灰绿 (6)30~35
2. (1)排出装置内的 CO_2 打开
(2)果醋发酵 排出果酒发酵时产生的 CO_2 取样 既可以排出 CO_2 ,又可以防止杂菌污染 充气口
3. (1)冲洗的目的是除去浮尘等污物;先冲洗,再除去枝梗,可以避免除去枝梗时引起葡萄破损,从而减少杂菌污染的机会。
(2)榨汁机要清洗干净,并晾干,发酵瓶要清洗干净,并用体积分数为70%的酒精消毒。

- 二、1. (1)深红色 红葡萄皮
(2) CO_2 (3)醋酸菌

2. (1)灰绿 (2)pH 显微镜

例 (1)18~25℃ 通入氧气 30~35℃ 重铬酸钾 灰绿

(2)不能。因为果酒发酵时的缺氧环境能抑制醋酸菌生长,且醋酸菌发酵需要充足的氧气

【解析】(1)果酒的制作离不开酵母菌,在酵母菌的酒精发酵过程中,通常将温度控制在18~25℃。由果酒转变成果醋的制作时,需要改变的环境条件是持续通入氧气并将温度控制在30~35℃。果汁发酵后是否有酒精产生,可用重铬酸钾来检测,在酸性条件下呈现灰绿色

证明有酒精产生。(2)如果果汁中已含有醋酸菌,在果酒发酵旺盛时,醋酸菌不能将果汁中的糖发酵为醋酸,因为果酒发酵是在缺氧环境中进行的,而醋酸菌是好氧菌,果酒发酵时的缺氧环境能抑制醋酸菌生长。

【当堂自测】

1. B 【解析】果酒制作的适宜温度是18~25℃,果醋制作的适宜温度是30~35℃。
2. B 【解析】果酒发酵的适宜温度应控制在18~25℃,醋酸发酵的适宜温度应控制在30~35℃,A项错误;制作果酒时选用的菌种为酵母菌,其原理是利用酵母菌无氧呼吸产生酒精,制作果醋时的菌种为醋酸菌,醋酸菌是一种好氧细菌,在氧气充足、缺少糖源时,醋酸菌可以先将乙醇变为乙醛,再将乙醛变为醋酸,因此两种装置都可以先用于果酒的制作,后用于果醋的制作,B项正确;将葡萄汁装入发酵瓶时,要留下约1/3的空间,不能装满,C项错误;装置乙中b为充气口,c为排气口,可防止空气中微生物的污染,D项错误。
3. D 【解析】在果酒、果醋的制作过程中,都有微生物数量的变化以及发酵液pH的变化等。由于发酵过程应严格控制温度的变化,因此不能通过检测发酵前后发酵液温度的变化来评价果酒和果醋的制作是否成功。
4. (1)附着在葡萄皮上的野生型酵母菌
(2)醋酸菌 30~35℃
(3)空气中的醋酸菌混入葡萄酒后发酵产生了醋酸

【解析】(1)在葡萄酒的自然发酵过程中起主要作用的是附着在葡萄皮上的野生型酵母菌。(2)苹果醋在生产过程中利用了醋酸菌的发酵作用,醋酸菌适宜的生长温度为30~35℃,因此需要将温度控制在30~35℃。(3)喝剩的葡萄酒放置一段时间后,空气中的醋酸菌混入葡萄酒,醋酸菌发酵产生了醋酸,最后导致葡萄酒变酸。

课题2 腐乳的制作

【新课探究】

知识点一

1. 毛霉 氨基酸 蛋白酶 脂肪 脂肪酶
2. (1)毛霉孢子 (2)毛霉菌种
3. 异养需氧型

【想一想】臭是由于组成豆腐的蛋白质中含有S和N的氨基酸在多种微生物作用下充分水解,产生具有浓烈臭味的硫化物、氨等。香是由于经多种微生物的协同作用,蛋白酶将蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸,脂肪酶将脂肪分解成甘油和脂肪酸,而氨基酸和脂肪酸均会使臭豆腐具有鲜美的滋味。

例1 C

例2 C 【解析】在腐乳制作中除毛霉外,还有根霉、曲霉、酵母菌等真菌参与发酵,但以毛霉的作用为主,它们产生的蛋白酶和脂肪酶能分别将豆腐中的蛋白质和

脂肪水解成小分子的肽、氨基酸及甘油、脂肪酸;这些微生物多营腐生生活,是异养型生物。

知识点二

1. 毛霉孢子 15~18℃ 湿度 增加盐量 铺厚一些 水分 微生物的生长 12% 抑制 腐乳风味 防腐杀菌

2. (1)①沸水 ②迅速小心 酒精灯的火焰

(2)卤汤 酒 香辛料 酒 食盐 70%

例 1 B **【解析】**用来制作腐乳的豆腐不是含水量越高越好,豆腐的含水量以70%为宜,水分过多则腐乳不易成形。

例 2 D **【解析】**含水量为70%左右的豆腐适于制作腐乳,含水量过高,腐乳不易成形;加盐可以析出豆腐中的水分,使豆腐变硬,加盐量过多,腐乳硬度会变大;腐乳“皮”是毛霉的菌丝形成的,温度过低不利于毛霉生长;酒有抑制微生物生长的作用,其用量过多时才会使腐乳成熟时间延长。

【当堂自测】

1. D **【解析】**有多种微生物参与豆腐的发酵过程,如毛霉、曲霉、根霉、酵母菌等真菌。乳酸菌属于细菌,与豆腐发酵作用无关。

2. B **【解析】**前期发酵主要是让毛霉快速生长,毛霉生长的适宜温度是15~18℃,A项正确。豆腐腌制时要逐层加盐,并随着层数的加高而增加盐量,接近瓶口表面的盐要铺厚一些,B项错误。卤汤中的酒量应控制在12%左右,C项正确。腐乳制作时,玻璃瓶要用沸水消毒,密封时,要将瓶口经过酒精灯的火焰,D项正确。

3. (1)毛霉 小分子肽 氨基酸 脂肪酶 甘油 脂肪酸

(2)微生物

(3)风味(其他合理答案也可)

【解析】(1)腐乳制作过程中起作用的微生物有多种,如酵母菌、根霉、曲霉、毛霉等,其中起主要作用的是毛霉,毛霉产生的蛋白酶可将豆腐中的蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸,产生的脂肪酶能将豆腐中的脂肪水解为甘油和脂肪酸。

(2)发酵完成后加盐腌制,不仅可以调制风味,而且能够抑制其他微生物的生长繁殖。

(3)腐乳制作后期加入卤汤,卤汤不仅具有防腐杀菌作用,还可以使腐乳具有独特的风味(或香味)。

课题3 制作泡菜并检测亚硝酸盐含量

【新课探究】

知识点一

1. (1)乳酸菌 乳酸链球菌 乳酸杆菌 空气、土壤、植物体表、人或动物的肠道内 (2)异养厌氧型 (3)①无氧 乳酸菌 乳酸

2. (1)新鲜 4:1 煮沸冷却 半坛 八成满 盐水 全部菜料 温度

(2)过高 食盐用量 过短 含量增加

例 1 A **【解析】**泡菜制作中清水与盐的质量比为4:1,A项错误。乳酸菌为异养厌氧型细菌,B项正确。菜料装坛时不能装满,盐水要没过全部菜料,C项正确。在坛盖边沿的水槽中注满水,可防止空气进入坛内,保

证坛内的无氧环境,D项正确。

例 2 (1)一是去除水中的氧,二是杀灭盐水中的杂菌增加乳酸菌的数量

(2)无氧呼吸 细胞质基质

(3)乳酸菌数量增多,杂菌数量减少 乳酸菌比杂菌更耐酸

【解析】(1)制作泡菜时,为了防止杂菌污染,所用盐水需要煮沸,加入陈泡菜液可以增加乳酸菌的数量。

(2)乳酸菌为原核生物,可通过无氧呼吸将葡萄糖分解为乳酸,其无氧呼吸的场所是细胞质基质。(3)由于乳酸菌比杂菌更耐酸,所以在酸性环境中,乳酸菌能够正常增殖,而杂菌的繁殖将受到抑制,所以在此过程中,乳酸菌数量增多,杂菌数量减少。

知识点二

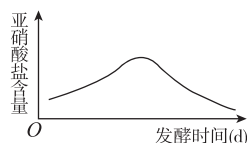
1. 白色 添加剂 蔬菜、咸菜 0.3~0.5 g 3 g 随尿排出 亚硝酸胺

2. (2)比色法 (3)标准显色液 比色

3. (1)火候好 无砂眼 盖子吻合好 (2)时间 食盐

(3)食盐用量过低 腌制时间过短 10 10

【想一想】发酵初期,乳酸菌和乳酸的量较少,由于硝酸盐还原菌的活动,亚硝酸盐含量有所增加;发酵中期,由于乳酸大量积累,硝酸盐还原菌的活性受到抑制,同时形成的亚硝酸盐又被分解,因而亚硝酸盐含量下降;发酵后期,硝酸盐还原菌的活性完全被抑制,亚硝酸盐含量下降至最低并保持稳定。其变化规律如图:



例 1 C **【解析】**制备样品处理液时,氢氧化铝乳液的作用是吸附样品滤液中的杂质,使滤液变得无色透明,便于观察颜色变化。

例 2 (1)①不同浓度的亚硝酸钠标准溶液 ②不同泡制天数的泡菜滤液 ③样品管 相同(或接近)

(2)亚硝酸盐含量随泡制时间的变化

(3)乳酸菌

【解析】(1)在亚硝酸盐含量的测定中,可利用亚硝酸盐与显色剂发生颜色反应,根据颜色的深浅来确定亚硝酸盐含量的多少。用不同浓度的亚硝酸钠标准溶液与显色剂可制成颜色深浅不同的系列标准管,不同颜色深浅对应的亚硝酸钠浓度是已知的;用不同泡制天数的泡菜滤液与显色剂反应,制备一系列的样品管,将样品管的颜色与标准管进行比对,找到与样品管颜色深浅最接近的标准管,所对应的亚硝酸钠浓度即可代表样品管中的亚硝酸盐含量。

(2)图示曲线横轴为时间,纵轴为亚硝酸盐含量,则该曲线表示泡菜中亚硝酸盐含量随发酵时间的变化趋势。

(3)泡菜制作的原理是乳酸发酵,产酸的细菌主要是乳酸菌。

【当堂自测】

1. C **【解析】**将白菜制成酸菜所利用的细菌是乳酸菌,它通过无氧呼吸产生乳酸,其代谢类型是异养厌氧型。

2. B **【解析】** 煮沸的盐水需冷却后才能向已加入蔬菜和香辛料的泡菜坛内注入,否则会杀死存在于蔬菜上的乳酸菌。
3. C **【解析】** 制备样品处理液时,应先加入氢氧化钠溶液,过滤后再加入氢氧化铝乳液。
4. C **【解析】** 在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应后,与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成玫瑰红色染料。
5. (1)新鲜蔬菜中亚硝酸盐的含量低
(2)4:1 加热煮沸是为了杀灭杂菌,冷却之后使用是为了保证乳酸菌等微生物的生命活动不受影响。
(3)经常补充坛盖边沿水槽中的水
(4)各坛中微生物种类和数量可能存在差异
(5)泡菜坛密封不严或取食工具不卫生,或盐的比例过小,都会引起杂菌滋生、泡菜变质。
(6)比色法
(7)制作条件
- 【解析】** (1)有些蔬菜中含有丰富的硝酸盐。蔬菜放置过久,蔬菜中的硝酸盐会被微生物还原成亚硝酸盐,危害人体健康。
(2)制作泡菜时,按照清水与盐的质量比为 4:1 的比例配制盐水。

- (3)成功制作泡菜的关键是营造无氧环境,常用的方法是将坛口用水封好,防止外界空气进入。因此要经常补充坛盖边沿水槽中的水。
- (4)泡菜开始腌制时,坛内环境有利于某些细菌的繁殖(包括一些硝酸盐还原菌),这些细菌可以促进硝酸盐还原为亚硝酸盐,各坛内的细菌种类和数量不同,使得其中的亚硝酸盐含量有所差异,随着腌制时间的延长,乳酸菌也大量繁殖,对硝酸盐还原菌产生一定的抑制作用,使其生长繁殖受到影响,造成泡菜中亚硝酸盐的含量又有所下降。
- (5)腌制过程中,要严格控制腌制条件,注意创造无氧环境,如果密封不严易滋生杂菌;要控制温度和食盐的用量,温度过高、食盐用量不足 10%,容易造成细菌大量繁殖。
- (6)测定亚硝酸盐含量的方法是比色法,原理是在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应后,与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成玫瑰红色染料,将显色反应后的样品与已知浓度的标准显色液进行目测比较,可以大致估算出泡菜中亚硝酸盐的含量。
- (7)进行实验时必须遵守实验设计的单一变量原则,否则得出的结果就不可信。

专题 2 微生物的培养与应用

课题 1 微生物的实验室培养

【新课探究】

知识点一

- 一、1. 营养物质 营养基质 2. 琼脂 菌落
3. 水 碳源 氮源 无机盐 pH 氧气 维生素
酸性 中性或微碱性 无氧
- 【想一想】** 牛肉膏主要为微生物提供碳源、氮源、磷酸盐和维生素;蛋白胨主要为微生物提供氮源和维生素。
- 二、1. 防止外来杂菌的入侵 ①空间 消毒 ②灭菌
③酒精灯火焰 ④周围物品 防止微生物感染实验操作者
2. 温和 表面 内部 强烈 芽孢 孢子 煮沸 巴氏 化学药剂 干热
- 例** (1)葡萄糖 NH_4NO_3 无机盐 异养型
(2)维生素
(3)酸 中性或微碱
(4)高压蒸汽灭菌 琼脂(或凝固剂)
(5)B
- 【解析】** 葡萄糖是最常用的碳源。充当氮源的是含氮物质,培养基中的含氮物质是 NH_4NO_3 。该培养基中有有机碳源,所以其培养的微生物的同化作用类型应为异养型。培养乳酸杆菌时需在培养基中加入维生素。霉菌适宜在酸性条件下生长,细菌适宜在微碱性或中性条件下生长。培养基的灭菌方法为高压蒸汽灭菌法。观察菌落需要用固体培养基,制备固体培养基需加入琼脂等凝固剂。干热灭菌法适用于玻璃器皿的灭菌,如培养皿等;用酒精擦拭法对手进行消毒;火焰灼烧灭菌适用于

接种针、接种环等其他金属用具的灭菌。

知识点二

1. (1)一定体积 (2)称量纸
(3)称量纸 蛋白胨 琼脂
(4)pH 高压蒸汽 121 °C 15~30
(5)50 °C 酒精灯火焰
- 【想一想】** (1)不是。配制的培养基除满足微生物的营养物质需求外,还需满足微生物对 pH、氧气等的要求,所以培养基各组分溶化后需先调 pH 再进行灭菌。
(2)将未接种的培养基在恒温箱中保温 1~2 d,若无菌落生长,则说明培养基制备合格。
2. (1)A 连续划线 (2)B 固体培养基 菌落
3. (1)接种 (2)杂菌污染 (3)长出菌落
4. (1)临时保藏 (2)甘油管藏
- 例 1** A **【解析】** 制备牛肉膏蛋白胨固体培养基的步骤是计算、称量、溶化、灭菌、倒平板,顺序不能颠倒;称好牛肉膏后,将其连同称量纸一同放入烧杯,当牛肉膏溶化并与称量纸分离后,再用玻璃棒取出称量纸;待培养基冷却至 50 °C 左右时,才能倒平板;平板冷却凝固后还需倒置。
- 例 2** (1)空气中的微生物 干热灭菌
(2)梯度 琼脂固体培养基
(3)①灼烧灭菌 温度太高杀死菌种
②相交(相接、相连、交叉等)
③培养基
- 【解析】** (1)空气中含有细菌的孢子等,因此接种过程要在酒精灯火焰附近进行;玻璃器皿有其特殊性,宜采用干热灭菌的方式进行灭菌。(2)将菌液进行一系列的梯

度稀释,最终将聚集在一起的微生物分散成单个细胞,在固体培养基上形成单菌落,从而达到纯化的目的。(3)本小题考查平板划线法的操作方法,如果划线相重合则不能分离出纯种;在整个操作过程中,应注意严格灭菌。

【当堂自测】

1. D 【解析】微生物生长所需要的营养物质主要有碳源、氮源、无机盐、水、特殊营养物质等。
2. B 【解析】消毒是指使用较为温和的物理或化学方法仅杀死物体表面或内部一部分微生物(不包括芽孢和孢子)。灭菌则是指使用强烈的理化因素杀死物体内外所有的微生物,包括芽孢和孢子。两者实质有很大区别。
3. B 【解析】接种获得的菌落可能是由一个细菌细胞繁殖形成的,也可能是两个或多个细胞连在一起共同繁殖形成的。
4. D 【解析】划线操作前后都要将接种环放在火焰上进行灼烧灭菌;划线操作须在火焰旁进行,而不是在火焰上进行;所有划线区域都有可能得到所需要的菌落。
5. (1)碳源、氮源、水和无机盐 异养型
(2)维生素 酸性
(3)高压蒸汽灭菌法

【解析】(1)根据表格分析,该培养基的成分包括碳源、氮源、水和无机盐。培养基中含有有机碳源——葡萄糖,所以该培养基培养的微生物的同化作用类型为异养型。(2)培养乳酸杆菌的培养基需要添加维生素,培养霉菌的培养基的 pH 应调至酸性。(3)培养基的灭菌一般用高压蒸汽灭菌法。

课题2 土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

【新课探究】

知识点一

一、1. (1)生存环境

2. (1)目的菌株 抑制或阻止

(2)选择 ①特定 阻止或抑制 ②尿素 脲酶

二、1. 稀释涂布平板 (1)①稀释度 活菌 ②菌落数

(2) $(C \div V) \times M$ 平均菌落数 体积 稀释倍数

(3)30~300 (4)低 一个菌落

2. 显微镜

【想一想】该做法是设置重复实验,目的是增强实验的说服力和准确性。将同一稀释度的稀释液接种三个平板,经涂布、培养,计算出菌落平均数,可使结果更接近真实值。

三、非测试因素 可信度 未接种 被测试 相同

【想一想】证明培养基未被污染,需要用空白培养基作对照。以全营养培养基为对照,进行与选择培养基同样的接种、培养过程,来证明选择培养基的选择作用。

例1 A 【解析】筛选微生物应该用选择培养基。选择培养基是允许特定种类的微生物生长,同时抑制或阻止其他种类微生物生长的培养基。使用选择培养基的目的是从众多微生物中分离出所需要的微生物。使用全营养的培养基,达不到筛选大肠杆菌的目的。

例2 A 【解析】除了活菌计数法外,显微镜直接计数也是测定微生物数量的常用方法。

知识点二

1. (1)表层 (2)30~300 (3)稀释涂布平板

(4)30~37 5~7 25~28 3~4

(6)稳定 稀释度 平均值 稀释度

【想一想】若实验得到了2个或2个以上菌落数目在30~300之间的平板,则说明稀释操作比较成功,并能够进行菌落的计数。

2. (1)脲酶 2NH_3 红 (2)尿素 酚红 红

例 (1)脲酶(分解尿素的酶) 氨(NH_3)

(2)凝固 酚红

(3)D

(4)检测培养基平板灭菌是否合格 4.7×10^8 低

【解析】(1)分解尿素的酶是脲酶,所以分解尿素的微生物含有脲酶。尿素含有C、H、O、N,其水解产物是二氧化碳和氨气,氨气使培养基的碱性增强。(2)琼脂是凝固剂,使培养基呈固态;培养基中的碱性物质可以与酚红反应产生红色环带。(3)由于尿素加热会分解,故对尿素溶液进行灭菌的最适方法是过滤灭菌法。(4)空白平板先行培养一段时间的作用是检测培养基平板灭菌是否合格,根据题干提供的数据进行计算,每升瘤胃样液中分解尿素的微生物活菌数为 $(49+47+45) \div 3 \times 1000 \times 10 \times 1000 = 4.7 \times 10^8$ (个)。由于两个或多个细胞连在一起时,平板上观察到的只是一个菌落,所以统计的菌落数往往低于接种的实际活菌数目。

【当堂自测】

1. C 【解析】利用适合某种细菌生长但同时抑制或阻止其他种类微生物生长的选择培养基可得到大量被选择的微生物。
2. A 【解析】分解尿素的细菌能以尿素为氮源,其他微生物不能以尿素为氮源,分解尿素的细菌的培养基中,应在保证其他营养供应充足的前提下,以尿素为唯一氮源。
3. C
4. C 【解析】取土壤过程中,要进行无菌操作,应注意以下几点:取土样用的小铁铲和盛土样用的信封在使用前都需要灭菌;应在火焰旁称取土壤;在稀释土壤溶液的过程中,每一步都要在火焰旁进行。
5. C 【解析】在尿素分解菌的分离和鉴定过程中,首先用以尿素为唯一氮源的培养基来选择尿素分解菌,然后加入酚红指示剂进行鉴定,C项正确。

6. B 【解析】根据公式:每克样品中的菌株数 = $\frac{C}{V} \times M$

[其中C代表某一稀释度下平板上生长的平均菌落数,V代表涂布平板时所用的稀释液的体积(mL),M代表稀释倍数],易求每克样品中的菌株数是 2.25×10^9 (个)。

课题3 分解纤维素的微生物的分离

【新课探究】

知识点一

一、1. (1)C、H、O 葡萄糖 多糖 (2)纤维素 细胞壁

2. (1)复合酶 C_1 酶、 C_x 酶、葡萄糖苷酶

(2) C_1 酶、 C_x 酶 葡萄糖苷酶

【想一想】构成纤维素和纤维素酶(本质是蛋白质)的单体分别是葡萄糖和氨基酸。

二、1. 纤维素 2. 红色复合物 透明圈

3. 刚果红 微生物 刚果红 倒平板

【想一想】是。从培养基上能观察到产生了透明圈的菌落。

例 (1)纤维二糖 葡萄糖

(2)红 透明圈

(3)不能 液体培养基不能用于分离单菌落 不能 乙培养基中没有纤维素,不会形成刚果红—纤维素红色复合物,即使出现单菌落也不能确定其为纤维素分解菌

【解析】(1)纤维素能被 C_1 酶和 C_x 酶分解为纤维二糖,纤维二糖能被葡萄糖苷酶分解为葡萄糖。(2)刚果红与纤维素可形成红色复合物,当纤维素被纤维素酶分解后,红色复合物就无法形成,出现以纤维素分解菌为中心的透明圈,我们可以通过是否产生透明圈来筛选纤维素分解菌。(3)分离和鉴别纤维素分解菌的培养基为固体培养基,且需加入纤维素和刚果红。

知识点二

1. (1)纤维素 (2)富含纤维素 (4)鉴别纤维素分解菌 (5)透明圈

【想一想】该环节不一定需要设置,根据样品中目的微生物数量的多少来确定。选择培养的目的是增加纤维素分解菌的浓度;在选择培养条件下,可以使能够适应人工设置的营养条件的微生物迅速繁殖,而不适应的微生物的繁殖受到抑制。

2. (1)纤维素酶 液体发酵 固体发酵 (2)葡萄糖 定量

【想一想】产生透明圈的菌落除了纤维素分解菌外,还可能是能产生淀粉酶的微生物,也可能是能降解刚果红的菌种,所以需要进一步鉴定。

例 1 A 【解析】鉴别纤维素分解菌的实验过程在选择培养之后,要经过梯度稀释,再将样品涂布到鉴别纤维素分解菌的培养基上;选择培养的过程是可以省略的;可以先培养微生物,再用刚果红染色;设置对照能证明经选择培养的确得到了欲分离的微生物。

例 2 C 【解析】利用刚果红筛选纤维素分解菌时,刚果红可以在细菌菌落形成前倒平板时加入,也可以在菌落形成后加入。在细菌菌落形成前倒平板时加入刚果红,刚果红要进行灭菌处理,以防杂菌的侵入,影响纤维素分解菌菌落的形成;在菌落形成后加入刚果红,则刚果红不需要灭菌。

【当堂自测】

1. A 【解析】热带雨林中的土壤腐殖质多,纤维素含量高,纤维素分解菌含量较多。
2. D 【解析】葡萄糖苷酶可把纤维二糖分解为葡萄糖,而不能直接分解纤维素,D项错误。
3. A 【解析】在纤维素分解菌的鉴定实验中,纤维素酶活性的测定方法一般是对纤维素酶分解纤维素后所产生的葡萄糖进行定量测定,A项错误;细菌只能发生基因突变一种类型的变异,因此纤维素酶高产菌株的产生是基因突变的结果,B项正确;在含纤维素的培养基中加入刚果红可形成红色复合物,C项正确;刚果红培养基中透明圈越大,说明该菌降解纤维素的能力越强,D项正确。
4. A 【解析】常用的刚果红染色法有两种,一种是先培养微生物,再加入刚果红进行颜色反应,另一种是在倒平板时就加入刚果红,两种刚果红染色法的结果都能出现透明圈。
5. (1)选择纤维素含量丰富的环境采集土样

(2)培养基中纤维素是主要碳源,有利于纤维素分解菌生长,同时抑制其他微生物生长

(3)刚果红 稀释涂布平板 透明圈

(4)向一定量的纤维素分解菌培养液中加入定量足够的纤维素,定时测量葡萄糖产量的变化

【解析】富含纤维素的土壤中含有以纤维素为碳源的纤维素分解菌,且数量较多。培养基中纤维素为含纤维素酶的微生物提供碳源和能源,不能分解纤维素的微生物由于缺乏碳源而不能正常生长繁殖,因此该培养基具有选择作用,能够增加样品中纤维素分解菌的浓度。纤维素量一定时,纤维素酶产量与分解产生的葡萄糖的量成正比。

专题 3 植物的组织培养技术

课题 1 菊花的组织培养

【新课探究】

知识点一

一、1. (1)遗传信息 完整个体 全能性 (2)稳定性 基因的选择性表达

2. 植物组织 愈伤组织 疏松而无规则 液泡化 薄壁 愈伤组织 根或芽

二、1. (1)差别很大 (2)年龄 保存时间 (3)未开花 茎上部新萌生的侧枝

3. (1)生长素 细胞分裂素

(2)高 低 适中

4. 温度 光照

例 1 C 【解析】脱分化指高度分化的植物器官、组织或细胞产生愈伤组织的过程。

例 2 B 【解析】植物组织培养过程中,植物激素的使用顺序和配比都会影响培养过程,先使用生长素,后使用细胞分裂素,有利于细胞分裂,但细胞不分化。

知识点二

1. (1)激素类 维生素类 (3)高压蒸汽

2. 流水 体积分数为 70% 的酒精 无菌水 质量分数为 0.1% 的氯化汞 无菌水

3. (1)用体积分数为 70% 的酒精 (2)倒插

4. 无菌箱 消毒 18~22 ℃

5. 消过毒

例 (1)MS 固体培养基 大量元素 植物激素 高压

蒸汽灭菌

(2)消毒 幼嫩(或分裂能力强、分化程度低)

(3)不能倒插 脱分化 排列疏松而无规则,是一种高度液泡化的呈无定形状态的薄壁细胞

(4)A

【解析】 本题考查植物组织培养的相关知识。(1)培养离体的植物组织和细胞时,常用 MS 固体培养基,其主要成分包括大量元素、微量元素、有机物,还常常需要添加植物激素;对培养基要采用高压蒸汽灭菌法灭菌。(2)选取合适的外植体作为起始材料,接种前还要对其进行消毒处理。为提高组培成功率,常选择幼嫩的材料作为外植体。(3)如果外植体选取的材料为茎段,插入培养基时应注意方向,不能倒插。培养一段时间后,外植体会通过脱分化形成愈伤组织,愈伤组织细胞的特点是排列疏松而无规则,是一种高度液泡化的呈无定形状态的薄壁细胞。(4)在移栽生根的菊花试管苗之前,应先打开培养瓶的封口膜,让试管苗在培养间生长几日,然后用流水清洗根部的培养基,将幼苗移植到消过毒的蛭石或珍珠岩等环境下生活一段时间,等幼苗长壮后再移栽到土壤中。

【当堂自测】

1. B **【解析】** 植物组织培养的过程是离体的植物器官、组织或细胞经脱分化形成愈伤组织,经再分化形成根、芽,后进一步发育成植株。
2. B **【解析】** 菊花茎段组织培养属于无性繁殖,可保持亲本的优良性状,包括脱分化和再分化过程。植物组织培养不能用于筛选具有优良性状的新品种。
3. D **【解析】** 在植物组织培养过程中,整个接种过程必须在严格的无菌条件下进行,不能谈话,防止呼吸产生污染。接种的外植体放入培养基时应注意方向,不能倒插,而且分布均匀,不能随机放入,以保证必要的营养面积和光照条件。
4. A **【解析】** 材料的选择、环境、营养条件、培养基的配制、激素的比例等都影响植物组织培养。

课题2 月季的花药培养

【新课探究】

知识点一

一、1. 花粉母细胞 单倍体

2. 小孢子四分体时期 单核靠边期 原生质 花粉管细胞核 生殖细胞核 营养细胞 生殖细胞 两个精子

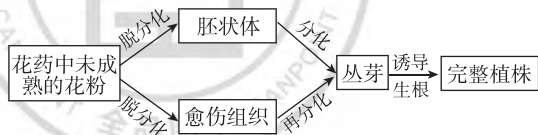
二、1. 脱分化 胚状体 愈伤组织 再分化 丛芽

2. 培养基中激素的种类及其浓度配比

例 (1)脱分化 再分化 胚状体 分化(或发育) 生根

(2)激素 单倍体 全能性

【解析】 本题考查花药培养的过程及应用。花药的培育过程可表示如下:



从花粉形成完整植株的途径有两条,一条是花粉通过胚状体阶段发育为植株,另一条是花粉在诱导培养基上先形成愈伤组织,再将其诱导分化成植株。花粉具体通过哪一条途径形成完整植株主要取决于培养基成分中植物激素的种类及其浓度配比,最后由未成熟花粉培养得到的完整植株都称为单倍体植株。未成熟花粉经培养能形成完整植株,说明未成熟花粉具有全能性。

知识点二

一、1. (1)很不相同 ①完全未开放 ②初花 ③由中央移向细胞一侧 (2)组成

2. 生长条件 低温预处理

二、1. 镜检 醋酸洋红 焙花青-铬矾

2. 氯化汞 3. (1)花丝

4. 25 ℃ 幼小植株形成

5. 分化培养基 花药开裂

6. 染色体组的数目

例 (1)植物细胞具有全能性 培养基中激素的种类和浓度配比

(2)排列疏松而无规则,是一种高度液泡化的呈无定形状态的薄壁细胞

(3)单核 焙花青-铬矾 培养基的成分

(4)愈伤组织 染色体组

【解析】 (1)用花粉培育出花粉植株,利用了花粉细胞的全能性。将花粉培育成花粉植株有两条途径,这两条途径之间没有绝对的界限,主要取决于培养基中激素的种类和浓度配比。(2)A 为愈伤组织,其细胞排列疏松而无规则,是一种高度液泡化的呈无定形状态的薄壁细胞。(3)影响花药培养的主要因素是材料的选取和培养基的组成,选择处于单核期的花药诱导成功率较高。对于细胞核不易着色的花粉细胞,需采用焙花青-铬矾法来确定花粉发育时期。(4)花药损伤后,容易从损伤部位长出愈伤组织。通过愈伤组织形成的花粉植株的染色体组数目可能会发生变化,所以需要作进一步筛选和鉴定。

【当堂自测】

1. B **【解析】** 花粉是由花粉母细胞经减数分裂形成的。1 个花粉母细胞经减数分裂可形成 4 个小孢子,即 4 个花粉粒。双核期两个细胞核是由一个核经过有丝分裂形成的,所以具有完全相同的遗传物质。花粉在发育过程中,细胞核由中央移向细胞一侧。
2. C **【解析】** 灭菌会杀死细胞,因此对花粉进行消毒处理,以防止杂菌污染。
3. C **【解析】** 花粉细胞核内有染色体,醋酸洋红为碱性染色剂,能把染色体染成深色,通过染色,可以确定花粉发育时期。
4. A **【解析】** 确定花粉发育时期最常用的方法是醋酸洋红法,有些植物的花粉细胞核不易着色,需采用焙花青-铬矾法染色。

专题4 酶的研究与应用

课题1 果胶酶在果汁生产中的作用

【新课探究】

知识点一

- (1)半乳糖醛酸 细胞壁和胞间层
(2)分解果胶 多聚半乳糖醛酸 果胶酯
(3)细胞壁及胞间层 澄清 出汁率 半乳糖醛酸
- (1)化学反应 (2)反应速度 (3)反应物的减少量
产物的增加量 (4)温度 pH
- 浪费 限制

【想一想】确定果胶酶的最适温度、最适 pH 等条件。

例1 D 【解析】果胶酶能将果胶分解成半乳糖醛酸。

例2 B 【解析】酶的活性是指酶催化一定化学反应的能力,其高低可以用在一定条件下,酶所催化的某一化学反应的反应速度来表示,即可用单位时间内、单位体积中产物的生成量或反应物的减少量来表示。酶的活性受外界条件影响,温度、pH 等对酶的活性都有较大影响,反应物浓度与酶的活性高低无关。

知识点二

- (1)①pH 梯度 ②温度梯度 (2)温度或 pH 果胶酶 苹果泥 (3)①产生苹果汁的体积 果胶酶的活性越高 ②澄清度
 - (1)①果胶酶的用量 ②温度 pH (2)①酶的用量不足 ②酶的用量已经足够
- 例 (1)受反应中酶浓度的限制
(2)酶催化反应的最适温度 在适宜温度范围内尝试减小温度梯度,重新进行实验
(3)在一定范围内,果胶酶的活性随温度升高而升高超过最适温度,果胶酶的活性随温度的升高而下降
(4)反应速率加快 无催化反应
(5)产生果汁的量(或果汁的澄清度)

【解析】(1)酶是具有催化能力的有机物,其催化效率受反应物浓度、温度、pH 的影响。图 I 中,当反应物在较低浓度范围内增加时,反应速率迅速增加;当反应物达到一定浓度时,随反应物浓度的增加,反应速率不再增加,此时反应速率受酶浓度限制。(2)图 II 中,b 点酶的催化效率最高,因此它所对应的温度就是酶催化反应的最适温度。如果根据实验数据只能得到果胶酶的适宜温度范围,若想确定其最适温度,应在适宜的温度范围内尝试减小温度梯度,重新进行实验。(3)图 II 中,ab 段曲线上升,这是因为在一定范围内,随温度升高,酶活性升高;bc 段曲线下降,这是因为超过最适温度后随温度升高,酶活性降低,温度过高会导致酶变性失活。(4)甲试管处于 12℃ 的水浴锅中时,由于温度较低,酶活性较低,反应速率较慢,当转入 40℃ 的水浴锅中加热时,酶活性升高,其反应速率迅速增加。乙试管在 90℃ 高温下,酶的空间结构被破坏,酶已变性失活,当转入 40℃ 的水浴锅中保温时,酶活性不再恢复,故无催化反应。(5)图 III 表示在果胶酶浓度、反应物浓度、温度等一定时,果胶酶催化反应的速率随 pH 变化的曲线,实验时可根据产生果汁的量(或果汁的澄清度)来判定果胶酶的活性,以此判定果胶酶的最适 pH。

【当堂自测】

- B 【解析】果胶是由半乳糖醛酸聚合而成的一种高分子化合物,不是蛋白质。
- D
- C 【解析】酶的活性是指酶催化一定化学反应的能力。酶活性的高低可以用在一定条件下,酶所催化的某一化学反应的速度来表示。酶反应速度用单位时间内、单位体积中反应物的减少量或产物的增加量来表示。
- D 【解析】本题考查果胶酶及其相关实验。探究果胶酶的用量时,pH、温度会影响实验结果。葡萄糖异构酶不属于果胶酶。在探究温度对果胶酶活性影响的实验中,温度为单一变量,即自变量,其他因素应保持不变或相同。
- D 【解析】实验过程中应先将果泥和果胶酶在同一温度下保温一段时间后再混合,A 项正确;避免无关变量的干扰是保证实验结果的科学性的重要措施,本实验各组混合处理时间和过滤果汁时间都是无关变量,应保持相同且适宜,B 项正确;从表格数据看,应在 45~55℃ 之间设置更小的温度梯度进行实验,以探究果胶酶的最适温度,C 项正确;本实验的自变量是温度,因变量是酶的活性,D 项错误。

课题2 探讨加酶洗衣粉的洗涤效果

【新课探究】

知识点一

- 酶制剂
- 小分子肽 甘油 麦芽糖或葡萄糖 纤维二糖或葡萄糖
- 表面活性剂 三聚磷酸钠 低磷无磷
- 温度

【想一想】1. 不能。

2. 不能,因为洗衣粉中的表面活性剂会降低酶的活性。科学家将通过基因工程生产出的酶用特殊水溶性物质包裹起来,使其与洗衣粉的其他成分隔离开来。

例 A 【解析】加酶洗衣粉中含有多种酶制剂,如蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶和纤维素酶,且酶的活性会受到多种因素的影响,如温度过高时,加酶洗衣粉的洗涤效果不一定比普通洗衣粉的好,A 项错误,B、C 项正确。加酶洗衣粉可以降低表面活性剂和三聚磷酸钠的用量,使洗涤剂向低磷无磷的方向发展,有利于保护环境,D 项正确。

知识点二

- (1)洗衣粉的类型 (2)加酶洗衣粉 生活经验
(3)单一变量 对照
- (1)水温
- (1)加酶洗衣粉的种类 (2)种类 完全相同

【想一想】在测出洗涤效果最适的温度范围后,如 35~45℃,应设置梯度更小的实验组,如 35℃、36℃、37℃……45℃,进行实验,直至测出比较精确的最适温度为止。

例 (1)检验该洗衣粉是否含有蛋白酶(或检验该洗衣粉中的蛋白酶是否有活性)

(2)①自 无关 ②45 ℃ ③75 ℃时酶的空间结构已遭到破坏,使酶永久失活 ④胶片上的蛋白膜消失所需时间的长短

(3)丝质和毛质衣物所含的蛋白质会被加酶洗衣粉中的蛋白酶分解,从而破坏衣物

(4)因为皮肤细胞中含有蛋白质,若不彻底洗手,就会使手部皮肤受到损伤

[解析] (1)由图示可知,该实验的目的是检验该洗衣粉是否含有蛋白酶(或检验该洗衣粉中的蛋白酶是否有活性)。若A组中胶片上的蛋白膜消失,B组中胶片上的蛋白膜不消失,则说明该洗衣粉中含蛋白酶(或蛋白酶有活性);若A、B两组胶片上的蛋白膜都不消失,则说明该洗衣粉不含蛋白酶(或蛋白酶活性丧失)。(2)利用(1)的实验材料及方法探究该洗衣粉中酶催化作用的最适温度的实验中,温度、pH分别属于自变量、无关变量。分析题图可知,使用该加酶洗衣粉的最适宜温度约为45 ℃。由于该酶在75 ℃条件下已失活,再度回到45 ℃,其催化作用也不能恢复。该学生在实验过程中可通过直接测定胶片上的蛋白膜消失所需时间的长短来表示酶的催化效率。(3)由于丝质和毛质衣物所含的蛋白质会被加酶洗衣粉中的蛋白酶分解,从而破坏衣物,因此该加酶洗衣粉不能用于洗涤丝质和毛质衣物。(4)因为皮肤细胞中含有蛋白质,若不彻底洗手,就会使手部皮肤受到损伤,故使用该洗衣粉后需要彻底清洗双手。

【当堂自测】

1. C **[解析]** 加酶洗衣粉中的酶并不是直接加到洗衣粉中,而是通过一定化学物质包裹,使酶与洗衣粉的其他成分隔离,以保持其活性,A错误;目前常用的酶制剂有四类:蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、纤维素酶,B错误;影响加酶洗衣粉中酶活性的因素有很多,主要有温度、酸碱度和表面活性剂等,C正确;普通洗衣粉一般含有P等化学元素,会污染环境,D错误。
2. D **[解析]** 毛料衣服的主要成分是蛋白质,可被加酶洗衣粉中的蛋白酶分解,A错误;加酶洗衣粉中添加的酶在开水中活性受到影响,因此不能用开水浸泡,B错误;低温不会使酶丧失活性,C错误;由于碱性蛋白酶对人体皮肤的蛋白质有损伤,因此使用添加了碱性蛋白酶的洗衣粉洗衣服后应立即冲洗双手,D正确。
3. A **[解析]** 本实验的自变量是水温,因变量是加酶洗衣粉的洗涤效果,水的用量和布料的大小、污染程度等属于无关变量,要保持相同且适宜。
4. A **[解析]** 探究不同洗衣粉的洗涤效果的实验中,应注意控制无关变量,各组温度应控制在最适,所选衣物的质地、数量相同,污渍大小和污染程度等也应相同;第4组为空白对照组;洗涤效果可比较洗涤相同时间后的污渍大小。
5. B **[解析]** 加酶洗衣粉中的纤维素酶能去浮毛,使衣物蓬松柔软,A项正确;加酶洗衣粉因为添加了酶制剂,减少了含磷物质的使用,所以比普通洗衣粉更环保,B项错误;使用加酶洗衣粉时,浸泡时间充足可使酶充分发挥作用,浸泡时间不足会影响洗涤效果,C项正确;加酶洗衣粉去污的原理是酶将蛋白质、淀粉、脂肪等水解成溶于水的小分子物质,D项正确。

【新课探究】

知识点一

一、1. 葡萄糖异构酶

2. 载体

3. (1)葡萄糖溶液 (2)葡萄糖异构酶

4. 生产成本 产量 质量

二、1. (1)化学 空间 化学结合 (2)反应物 产物 反复

2. (1)物理 空间 包埋法 (2)低 容易

(3)微生物 多孔性 明胶

[想一想] 1. 物理吸附法。

2. 固定化细胞多采用包埋法。因为细胞体积大,难以被吸附或结合。

3. 前者应固定细胞,后者应固定酶。理由是固定化细胞可以固定一系列酶,催化一系列化学反应,而固定化酶只能固定一种酶,催化一种反应。

4. ①固定化细胞对酶的活性影响较小。因为固定化细胞保证了细胞的完整性,酶所处环境改变小,对其活性影响小。②固定化细胞使用的是活细胞,为了保证活细胞的正常生活状态,应为其提供一定的营养物质。

例1 C **[解析]** 高果糖浆的生产需要使用葡萄糖异构酶,A错误;在反应柱的底端装上分布着很多小孔的筛板,目的是防止酶通过,B错误;将葡萄糖溶液从反应柱的上端注入,在反应柱中葡萄糖被葡萄糖异构酶催化形成果糖,果糖从反应柱下端流出,C正确;固定化酶技术复杂,但降低了成本,D错误。

例2 C **[解析]** 由于细胞体积大,而酶分子很小,因此细胞多采用包埋法固定化,酶适合于采用化学结合和物理吸附法固定化,C项错误。

知识点二

1. 蒸馏水 活化 小火 间断加热 已活化 CaCl_2 溶液

2. (1)凝胶珠 葡萄糖 (2)气泡 酒味

[想一想] 1. 酵母菌的酒精发酵需要无氧条件。

2. 需要。

例1 D **[解析]** 制备固定化酵母细胞的正确步骤是④酵母细胞的活化→①配制 CaCl_2 溶液→②配制海藻酸钠溶液→③海藻酸钠溶液与酵母细胞混合→⑤固定化酵母细胞。

例2 (1)正常的生活 体积会增大

(2)配制海藻酸钠溶液 小火或间断加热

(3)海藻酸钠的浓度偏高

(4)包埋法 酶分子很小,容易从包埋材料中漏出

(5)使胶体聚沉

[解析] (1)在缺水状态下,微生物处于休眠状态。活化就是让处于休眠状态的微生物重新恢复正常的生活状态。因为酵母细胞活化时体积会增大,所以活化前应选择足够大的容器。(2)制备固定化酵母细胞的实验中,影响该实验成败的关键步骤是配制海藻酸钠溶液,该过程为了防止海藻酸钠焦糊,应用小火或间断加热。(3)如果形成的凝胶珠不是圆形或椭圆形,说明海藻酸钠的浓度偏高,制作失败。(4)由于酶分子很小,容易从

包埋材料中漏出,因此制备固定化酶不宜用包埋法。

(5)实验中 CaCl_2 溶液的作用是使胶体聚沉。

【当堂自测】

1. C 【解析】反应柱底端装着分布着很多小孔的筛板,酶颗粒无法通过筛板上的小孔,而反应物溶液可以自由通过。
2. A 【解析】一般来说,酶更适合采用化学结合法和物理吸附法固定化,细胞多采用包埋法固定化。这是因为细胞体积大,而酶分子很小;体积大的细胞难以被吸附或结合,而体积小的酶容易从包埋材料中漏出。

专题5 DNA和蛋白质技术

课题1 DNA的粗提取与鉴定

【新课探究】

知识点一

1. 物理或化学

2. (1)①溶解 析出 溶解 析出 溶解 80 60~80 ②细胞膜

(2)沸水浴 蓝

【想一想】1. 鸡血细胞核 DNA 含量丰富,取材容易。猪血细胞中 DNA 含量很少。

2. 洗涤剂是一种离子去污剂,能瓦解细胞膜,有利于 DNA 的释放;食盐的主要成分是 NaCl,有利于 DNA 与杂质的分离。

例 (1)猪血细胞含 DNA 太少

(2)C

【解析】本题考查“DNA 的粗提取与鉴定”的实验材料选择及原理。猪血细胞中 DNA 分子含量少,因此不适合作为“DNA 的粗提取与鉴定”的实验材料。DNA 粗提取利用的原理是 DNA 在不同浓度的 NaCl 溶液中溶解度不同,DNA 在 0.14 mol/L 的 NaCl 溶液中溶解度最低;利用 DNA 不溶于酒精而蛋白质溶于酒精的性质,可除去蛋白质得到较纯的 DNA;鉴定 DNA 利用的原理是 DNA 和二苯胺在沸水浴条件下变蓝色。

知识点二

一、1. DNA 含量相对较高

2. (1)蒸馏水 (2)洗涤剂

3. NaCl 溶液 嫩肉粉 木瓜蛋白酶

4. (1)酒精 静置 白色丝状物 玻璃棒 丝状物

(2)2 mol/L 丝状物 NaCl 溶液 二苯胺 沸水浴 变蓝

二、1. DNA 主要存在于鸡血细胞的细胞核内 柠檬酸钠

3. 使鸡血细胞充分破碎,完全释放出 DNA

4. 轻缓、柔和 泡沫 加剧 DNA 分子的断裂 絮状沉淀

5. 充分冷却 6. 现配现用

例 (1)使鸡血细胞吸水涨破,释放出 DNA

(2)使 DNA 充分溶解于 NaCl 溶液中

(3)调节 NaCl 溶液的浓度,使 DNA 因溶解度下降而析出

(4)H (5)在沸水浴条件下,DNA 与二苯胺反应呈现蓝色

3. D 【解析】固定化酶是将酶固定在不溶于水的载体上,所以固定化酶难溶于水。固定化酶既能与反应物接触,又能与产物分离,同时,还可以被反复利用。

4. C 【解析】细胞体积大,酶分子体积很小,体积大的细胞难以被吸附或结合,而体积小的酶容易从包埋材料中漏出,所以酶更适合采用化学结合法和物理吸附法固定化,而细胞多采用包埋法固定化。

5. D 【解析】用注射器滴加溶液时不要接近 CaCl_2 溶液的液面,以恒定速度滴加至 CaCl_2 溶液中,防止凝胶珠形状不是球形或椭圆形。

【解析】(1)步骤 A 中,向鸡血细胞液中加入蒸馏水后,因细胞内渗透压较高,故鸡血细胞吸水涨破。(2)向步骤 B 获得的滤液中加入 2 mol/L 的 NaCl 溶液,可使 DNA 溶解而杂质析出。(3)步骤 C 中,加入蒸馏水后,NaCl 溶液浓度会降低,当 NaCl 溶液浓度降至 0.14 mol/L 时,DNA 的溶解度最低。(4)在滤液 H 中,因 DNA 不溶于体积分数为 95% 的冷却酒精,故该滤液中含 DNA 最少。(5)DNA 在沸水浴条件下会被二苯胺染成蓝色。

【当堂自测】

1. C 【解析】DNA 主要分布于真核细胞的细胞核中,人的成熟红细胞中无细胞核,无 DNA,因而不能用人的成熟红细胞作为 DNA 提取的实验材料。

2. C 【解析】DNA 在不同浓度的 NaCl 溶液中溶解度不同,在 0.14 mol · L⁻¹ NaCl 溶液中的溶解度最低,A 项错误;研磨植物细胞时加入洗涤剂是为了溶解细胞膜,B 项错误;DNA 不溶于酒精,而某些蛋白质可溶于酒精,C 项正确;DNA 溶液遇二苯胺试剂,沸水浴冷却后呈蓝色,D 项错误。

3. (1)蒸馏水

(2)滤液

(3)DNA 和蛋白质等其他成分在不同浓度的 NaCl 溶液中溶解度不同,通过控制 NaCl 溶液的浓度可去除杂质 蒸馏水 0.14

(4)滤液 体积分数为 95% 的酒精 白

(5)二苯胺 蓝

【解析】第一步加入蒸馏水的目的是使鸡血细胞涨破,释放出核物质;第二步收集含有核物质的滤液;由于 DNA 和蛋白质等其他成分在不同浓度的 NaCl 溶液中溶解度不同,所以通过控制 NaCl 溶液的浓度可以使 DNA 与杂质分离;第四步加入蒸馏水的目的是逐渐稀释 NaCl 溶液,使其物质的量浓度为 0.14 mol/L,这时 DNA 在 NaCl 溶液中溶解度最低,该稀释过程中 DNA 逐渐析出。DNA 不溶于冷却酒精,某些蛋白质可以溶于冷却酒精,这样可以进一步提纯 DNA。在沸水浴条件下,DNA 与二苯胺反应呈蓝色。

课题2 多聚酶链式反应扩增 DNA 片段

【新课探究】

知识点一

1. 脱氧核苷酸 DNA 聚合酶 3'端

2. (1)PCR 体外

(2)热变性 变性 冷却

(3)5'端 3'端

(4)两种引物 Taq DNA 聚合酶 缓冲液

【想一想】引物是一小段 DNA 或 RNA,它能与 DNA 母链的一段碱基序列互补配对,用于 PCR 的引物长度通常为 20~30 个核苷酸。DNA 聚合酶不能从头合成 DNA,而只能从 3'端延伸 DNA 链,因此 DNA 复制需要引物。

例 1 C **【解析】**PCR 是一种体外扩增 DNA 片段的技术,是一种酶促反应,利用了 DNA 的热变性原理,引物决定了扩增的特异性,扩增片段一般以 2^n 的方式积累,C 正确。

例 2 D **【解析】**PCR 技术又称多聚酶链式反应,是一项在生物体外复制特定 DNA 分子的核酸合成技术。该过程需要①稳定的缓冲液环境、②DNA 模板、③合成引物、④四种脱氧核苷酸(原料)、⑤耐热的 DNA 聚合酶(催化延伸过程)、⑧温控设备,故 D 项正确。PCR 技术通过高温使 DNA 解旋,不需要 DNA 解旋酶,也不需要限制性核酸内切酶,⑥⑦错误,因此,A、B、C 项错误。

知识点二

一、变性、复性和延伸 1. 90 ℃ 2. 碱基互补配对

3. 耐热的 DNA 聚合酶 碱基互补配对原则

二、1. (1)温度 恒温水浴锅

(2)PCR 反应的场所

2. 微量移液器 混合 使反应液集中在离心管底部 PCR 仪

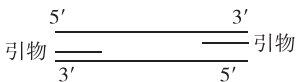
3. (1)高压灭菌 (2)-20 ℃ (3)更换 (4)离心

4. (1)260 nm 的紫外线 (2)260 nm 的读数 稀释倍数

【想一想】缓冲液相当于细胞内的核基质(核液)。

例 (1)使 DNA 变性(使 DNA 的两条链解开) 解旋酶的催化

(2)单链 DNA 或 RNA 分子 如图所示:



(3) $2^{11}-2$

(4)从 5'端到 3'端 DNA 聚合酶只能从引物的 3'端开始连接单个脱氧核苷酸分子

【解析】(1)在 PCR 技术中,用 95 ℃ 高温处理的目的是使 DNA 分子中的氢键断裂,两条链解开,即使 DNA 分子变性。(2)引物是一小段单链 DNA 或 RNA 分子。(3)在 DNA 分子扩增时,需要 2 种引物,由于新合成的子链都需要引物作为复制的起点,故所需的引物数目等于新合成的 DNA 子链数目,即 $2 \times 2^{10} - 2 = 2^{11} - 2$ (个)。(4)引物能与解开的 DNA 母链的 3'端结合,为 DNA 聚合酶提供吸附位点,使 DNA 聚合酶从引物的 3'端开始连接脱氧核苷酸,从而决定了 DNA 子链延伸的方向是从 5'端到 3'端。

【当堂自测】

1. C **【解析】**PCR 是一种体外迅速扩增 DNA 片段的技术,其延伸过程中需要 DNA 聚合酶和四种脱氧核苷酸。
2. C **【解析】**为了避免外源 DNA 等因素的污染,PCR 实验中使用的微量离心管、枪头、缓冲液以及蒸馏水等在使用前必须进行高压灭菌;PCR 所用的缓冲液及酶应分装成小份,并在 -20 ℃ 保存;在冰箱中放置的缓冲液和酶从冰箱中取出后应放在冰块上缓慢融化,而不能迅速融化;每添加一种成分,移液器上的枪头都必须更换。

3. (1)解旋 PCR 中 DNA 的解旋通过直接加热实现,而在细胞中 DNA 的解旋是通过解旋酶催化完成的

(2)DNA 复制

(3)耐热的 DNA 聚合(Taq DNA 聚合) 分别与两条模板链相结合的两种引物

(4)31 000

【解析】(1)图中 A 表示 DNA 在高温下解旋的过程。实现该过程的方法与细胞内的不同点是 PCR 中 DNA 的解旋通过直接加热实现,而在细胞中 DNA 的解旋是通过解旋酶催化完成的。(2)PCR 的原理是 DNA 复制。(3)PCR 反应需要模板、原料、耐热的 DNA 聚合酶和分别与两条模板链相结合的两种引物。(4)根据题干可求出,每个样品 DNA 分子中有腺嘌呤脱氧核苷酸 1000 个,经 5 次循环后,子代 DNA 分子共 2^5 个,相当于新合成了 31 个子代 DNA 分子,忽略引物所对应的片段,至少需要向试管中加入 $1000 \times 31 = 31\,000$ (个)腺嘌呤脱氧核苷酸。

课题 3 血红蛋白的提取和分离

【新课探究】

知识点一

1. 形状和大小 电荷

2. (1)分配色谱 相对分子质量 (2)①多孔球体 多糖类化合物 贯穿的通道 ②较小 长 相对分子质量较大 短 相对分子质量

3. (1)酸和碱 (2)缓冲剂 缓冲剂

4. (1)带电 迁移

(2)①pH 正电或负电 ②带电 相反 ③带电性质 分子本身 形状 迁移速度 (3)聚丙烯酰胺凝胶

【想一想】维持人体血液 pH 稳态的缓冲对有 $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 等;在血红蛋白的提取和分离实验中用的缓冲液是磷酸缓冲液,利用缓冲液的目的是模拟细胞内的 pH 环境,保证血红蛋白的正常结构和功能,便于观察。

例 1 B **【解析】**凝胶实际上是一些微小的多孔球体,在小球体内部有许多贯穿的通道,当相对分子质量不同的蛋白质通过凝胶时,相对分子质量较小的蛋白质容易进入凝胶内部的通道,路程较长,移动速度较慢;而相对分子质量较大的蛋白质无法进入凝胶内部的通道,只能在凝胶外部移动,路程较短,移动速度较快。

例 2 C **【解析】**蛋白质在聚丙烯酰胺凝胶中的迁移率取决于它所带净电荷的多少以及分子的大小等因素。SDS 能与各种蛋白质形成蛋白质—SDS 复合物,SDS 所带负电荷的量大大超过了蛋白质分子原有的电荷量,因而掩盖了不同种蛋白质间的电荷差异,使电泳迁移率完全取决于分子的大小。

知识点二

一、1. (1)①去除杂蛋白 ②低 短 黄色血浆 低 短

(2)蒸馏水 甲苯

(3)无色透明 脂溶性物质 白 血红蛋白 红 滤纸 过滤 红色透明液体

(4)①小分子 大分子 ②透析袋 磷酸缓冲液 ③相对分子质量较小

2. 相对分子质量较大 凝胶色谱柱 装填 缓冲液 气泡 样品的加入和洗脱

3. SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳

二、1. 洗涤次数 洗涤次数 白细胞等一同沉淀

2. 洗脱液 用沸水浴加热 3. 气泡 洗脱次序 分离效果 4. 均匀一致

【想一想】在蒸馏水和甲苯作用下,红细胞破裂释放出血红蛋白。加入甲苯的目的是溶解细胞膜,有利于血红蛋白的释放和分离。

例 (1)血红蛋白的释放 样品的加入和洗脱 相对分子质量的大小

(2)杂蛋白(血浆蛋白) 血浆蛋白 白细胞等 离心后的上清液中没有黄色 蒸馏水和甲苯

(3)模拟生物体内的生理环境,保持体外的 pH 和体内的一致 均匀一致地移动

【解析】血红蛋白的提取和分离实验中,在样品处理过程中,洗涤红细胞的目的是去除杂蛋白,以利于后续步骤的分离纯化;分离时应采用低速短时间离心,离心速度过高和时间过长会使白细胞等一同沉淀,达不到分离的效果;红细胞洗涤干净的标志是离心后的上清液中没有黄色。在洗脱过程中应加入物质的量浓度为 20 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 为 7.0),其目的是模拟生物体内的生理环境,保持体外的 pH 和体内的一致,以保

证血红蛋白的正常结构和功能。若红色区带均匀一致地移动,则说明色谱柱制作成功。

【当堂自测】

1. C **【解析】**SDS 能与各种蛋白质形成蛋白质—SDS 复合物,SDS 所带负电荷的量大大超过了蛋白质分子原有的电荷量,因而掩盖了不同种蛋白质间的电荷差别,使电泳迁移率完全取决于分子的大小。

2. C **【解析】**提取和分离血红蛋白的实验包括样品处理、粗分离、纯化和纯度鉴定,样品处理过程包括红细胞洗涤、血红蛋白释放、分离血红蛋白溶液和透析,洗涤红细胞时用生理盐水,防止红细胞破裂提前释放蛋白质;血红蛋白的释放要用蒸馏水和甲苯,使红细胞渗透吸水涨破,释放出其中的蛋白质;透析时应用磷酸缓冲液,以维持 pH 的相对稳定。

3. C **【解析】**血红蛋白的释放过程应加入的是蒸馏水和甲苯。

4. (1)样品处理 粗分离 纯化 纯度鉴定

(2)①防止血液凝固 ②释放血红蛋白

(3)将样品中相对分子质量较小的杂质蛋白除去

(4)通过凝胶色谱法将相对分子质量大的杂质蛋白除去

【解析】本题考查蛋白质的分离与纯化的过程和原理。该过程总起来说可分为四步:样品处理、粗分离、纯化、纯度鉴定。采集血液时应加入抗凝剂柠檬酸钠,防止血液凝固,从血液中分离出红细胞后,应进行红细胞洗涤、分离血红蛋白溶液、透析等处理,得到蛋白质的粗制品,由于粗制品中仍有杂质蛋白,所以需经过进一步的纯化,最后进行纯度鉴定。

专题 6 植物有效成分的提取

课题 1 植物芳香油的提取

【新课探究】

知识点一

1. (1)动物 (2)挥发 (3)萜类化合物

2. (1)①挥发性 ②原料放置的位置 水中 水气

(2)①机械加压 ②原料焦糊 水解

(3)①有机溶剂 ②有机溶剂 有机溶剂 ③有机溶剂 杂质

【想一想】向乳浊液中加入 NaCl,增加盐的浓度,乳浊液就会出现明显的分层,再用分液漏斗将这两层分开。分离的油层会含一定的水分,一般可以加入一些无水 Na_2SO_4 吸水,放置过夜,再过滤除去固体 Na_2SO_4 就可以得到玫瑰精油了。

例 1 C **【解析】**本题考查植物芳香油的理化性质。植物芳香油是植物有效成分的提取液,具有特殊的植物香味和较强的挥发性,且易溶于有机溶剂,难溶于水。

例 2 D **【解析】**蒸馏、压榨和萃取是提取植物芳香油的三种基本方法;水蒸气蒸馏法的原理是利用水蒸气将挥发性强的芳香油携带出来,形成油水混合物,冷却后,混合物又重新分出油层和水层;压榨法的原理是通过机械加压,压榨出果皮中的芳香油;萃取法的原理是将粉碎、干燥的植物原料用有机溶剂浸泡,使芳香油溶解在有机溶剂中,蒸发溶剂后就可获得芳香油。

知识点二

1. (2)稳定 有机溶剂 (3)水蒸气蒸馏

(4)1:4 盐的浓度 残留的水分 固体 Na_2SO_4

2. (1)柠檬烯 无色 (3)压榨

(4)①出油率 ②石灰水 ③ NaHCO_3 Na_2SO_4 7~8

④布袋 离心 ⑥滤纸

【想一想】加入 NaHCO_3 和 Na_2SO_4 可以使橘皮油易于与水分离。

3. (1)太高 太短

(2)石灰水

例 (1) NaCl 无水 Na_2SO_4

(2)易挥发、难溶于水、化学性质稳定

(3)蒸馏温度

(4)压榨 橘皮精油的有效成分在用水蒸气蒸馏时会发生部分水解,使用水中蒸馏法又会产生原料焦糊的问题 防止橘皮压榨时滑脱,提高出油率

【解析】(1)玫瑰油的提取过程中,鲜玫瑰花加入清水后可进行水蒸气蒸馏,得到油水混合物后,加入 NaCl 分离出油层,再加入无水 Na_2SO_4 除水即可。(2)玫瑰油具有易挥发、难溶于水、化学性质稳定等性质,适合用水蒸气蒸馏法提取。(3)当蒸馏瓶中的水和原料量一定时,蒸馏过程中,影响精油提取量的主要因素有蒸馏时间和蒸馏温度。(4)由于橘皮精油的有效成分在用水蒸气蒸馏时会发生部分水解,使用水中蒸馏法又会产生原料焦

糊的问题,故一般不采用水蒸气蒸馏法提取橘皮精油,而采用压榨法提取橘皮精油。橘皮精油提取过程中,使用石灰水浸泡橘皮的目的是防止橘皮压榨时滑脱,提高出油率。

【当堂自测】

- 1. D 【解析】植物芳香油的主要成分包括萜类化合物及其衍生物。
- 2. C 【解析】水蒸气蒸馏法是植物芳香油提取的常用方法,但会导致原料焦糊或有效成分水解等问题,若植物有效成分易水解,则不宜采用此法提取,但可以采用压榨或萃取的方法提取。
- 3. A 【解析】玫瑰精油提取的一般流程是先将鲜玫瑰花和清水按 1:4 的质量比混合,然后利用水蒸气蒸馏法获得油水混合物,再加入 NaCl,分离油层,进而加入无水 Na₂SO₄ 来进一步除去油层中的水,最后过滤获得玫瑰精油。
- 4. (1)蒸馏法 萃取法
(2)水 有机溶剂 有机溶剂(其他合理答案也可)
(3)橘子皮 芳香油含量较高
(4)过滤(其他合理答案也可)
(5)上 油层的密度比水层小(其他合理答案也可) 增加盐的浓度,使油和水分层
(6)吸收芳香油中残留的水分

【解析】植物芳香油的提取可采用的方法有压榨法、蒸馏法、萃取法;橘皮精油的主要成分是柠檬烯,用水中蒸馏法提取会发生原料焦糊和柠檬烯分解,因此一般用压榨法提取。对材料压榨后可得到糊状液体,为除去其中的固体物获得乳浊液,可采用的方法是过滤。由于油层的密度比水层小,得到的乳浊液加入氯化钠并放置一段时间后,芳香油将分布于液体的上层,最后加入无水硫酸钠的作用是吸收芳香油中残留的水分。

课题 2 胡萝卜素的提取

【新课探究】

知识点一

- 1. 橘黄色 稳定 水 乙醇 石油醚
- 2. (1)分子式中碳碳双键的数目
(2) α 、 β 、 γ β -胡萝卜素
- 3. (1)维生素 A (2)食品色素 (3)癌变细胞
- 4. (1)植物 (2)岩藻 (3)微生物的发酵

【想一想】由于胡萝卜素的水溶性和挥发性较差,因而不适用蒸馏法和压榨法提取;由于胡萝卜素易溶于石油醚等有机溶剂,因而可用萃取法提取胡萝卜素。

例 A 【解析】胡萝卜素不溶于水,微溶于乙醇,A 项错误。天然胡萝卜素具有使癌变细胞恢复成正常细胞的作用,B 项正确。工业生产中,提取天然 β -胡萝卜素的方法主要有三种:一是从植物中提取;二是从大面积养殖的岩藻中获得;三是利用微生物发酵生产,C 项正确。根据分子式中碳碳双键的数目可将胡萝卜素分为三种,D 项正确。

知识点二

- 一、1. 萃取 2. 粉碎 萃取 浓缩 3. (1)水溶性有机溶剂 水不溶性有机溶剂 (2)较高的沸点 水 萃取效率 产品质量

- 4. (1)性质和使用量 (2)含水量 (3)温度 时间
- 5. (1)水浴加热 (2)回流冷凝 (3)蒸馏装置 (4)萃取液中的不溶物
- 6. (1)太高 太长 (2)破碎程度 干燥方式
- 二、1. 纸层析
- 2. 标准样品 提取样品 滤纸 色谱容器 样品色素 标准色素
- 3. β -胡萝卜素 其他色素
- 4. (1)用手直接接触滤纸 (2)大 高 (3)溶剂沿滤纸两边的移动加快使溶剂前沿不齐

例 1 C 【解析】干燥处理时的温度太高、时间太会导致胡萝卜素分解,A 项错误;萃取胡萝卜素的有机溶剂应该具有较高的沸点,B 项错误;萃取液的浓缩是通过蒸馏装置,除去滤液中易挥发的有机溶剂,C 项正确;工业生产上提取天然 β -胡萝卜素的方法主要有三种,一是从植物中提取,二是从大面积养殖的岩藻中获得,三是利用微生物的发酵生产,D 项错误。

例 2 A 【解析】纸层析法鉴定胡萝卜素样品的基本操作步骤:制作层析滤纸(画基线、点样点)→点样(用最细的注射器针头在 A、D 点上点标准样品,在 B、C 点上点提取样品)→层析(将滤纸卷成筒状,置于盛 1 cm 深的石油醚的密封容器内层析)→观察对比。

【当堂自测】

- 1. D 【解析】胡萝卜素是光合色素,在叶肉细胞中存在于叶绿体类囊体薄膜上,A 正确;胡萝卜素的化学分子式中包含多个碳碳双键,根据双键的数目可划分为 α 、 β 、 γ 三类, β -胡萝卜素是其中最主要的组成成分,B 正确;胡萝卜素具有使癌变细胞恢复成正常细胞的作用,C 正确; β -胡萝卜素大多存在于蔬菜中,也存在于其他生物中,如岩藻,D 错误。
- 2. B 【解析】胡萝卜素是橘黄色结晶,不溶于水,微溶于乙醇,易溶于石油醚等有机溶剂。
- 3. B 【解析】对提取出的胡萝卜素进行纸层析鉴定时,滤纸上的点样处应距滤纸下端 2 cm。层析液所用的试剂为石油醚。在纸层析过程中,应保持色谱容器的密封状态,以防止石油醚挥发。点样过程中,应快速细致,形成直径相同的圆点。
- 4. (1)萃取剂的性质 使用量 颗粒的大小 紧密程度 含水量 温度 时间
(2)原料颗粒小,萃取温度高,时间长
(3)水浴 有机溶剂都是易燃物,直接使用明火加热容易引起燃烧、爆炸
(4)防止加热时有机溶剂挥发

【解析】(1)胡萝卜素萃取的效率主要取决于萃取剂的性质和使用量,同时还受到原料颗粒的大小、紧密程度、含水量、萃取的温度和时间等条件的影响。(2)一般来说,要想萃取效果好,要保证原料颗粒小,萃取温度高,时间长。(3)萃取过程应该避免明火加热,因为有机溶剂都是易燃物,直接使用明火加热容易引起燃烧、爆炸,因此采用水浴加热。(4)为了防止加热时有机溶剂挥发,需要在加热瓶口安装回流冷凝装置。

专题1 传统发酵技术的应用

课题1 果酒和果醋的制作

1. C [解析] 醋酸菌在 30~35 ℃ 时生长较快,而酵母菌生长的适宜温度是 18~25 ℃,A 项正确。酵母菌是真核生物,有成形的细胞核和各种细胞器,可能发生染色体变异,醋酸菌是原核生物,没有成形的细胞核,只有核糖体一种细胞器,不会发生染色体变异,B、D 项正确。有醋酸菌、有氧气未必就能将果酒变成果醋,因为果醋发酵还需要适宜的温度等条件,C 项错误。
2. B [解析] 在果酒制作过程中,精选葡萄后应先冲洗 1~2 次,再除去枝梗,若冲洗次数太多会洗去附着在葡萄表面的酵母菌,先去枝梗会造成破损部位被污染;酵母菌进行酒精发酵的适宜温度是 18~25 ℃;酒精发酵过程是酵母菌进行无氧呼吸的过程,不能进行通气;在果酒制作时,一定要将器具消毒,以免杂菌污染影响酵母菌的作用,从而影响酒的品质。
3. C [解析] 在呈酸性、缺氧的发酵液中,酵母菌可以生长繁殖,而绝大多数其他微生物因无法适应这一环境而受到抑制,C 项正确。
4. B [解析] 温度对酵母菌和醋酸菌的发酵都有影响,在制作果酒时温度要控制在 18~25 ℃,而在制作果醋时则要将温度控制在 30~35 ℃。
5. B [解析] 制作果醋用的菌种是醋酸菌。醋酸菌是好氧细菌,在其发酵过程中需要不断通气,故阀 a 和阀 b 应该打开。醋酸菌的最适生长温度是 30~35 ℃。
6. C [解析] 发酵时间不同,发酵产物的量明显不同,且随着发酵时间的延长,原料减少,产物产生速率下降;酿酒和酿醋利用的微生物是不同的;醋酸菌是好氧菌,需要在有氧条件下培养。
7. D [解析] ①过程应先清洗再切块,先切块后清洗会增加杂菌污染的机会,A 项错误;酒精发酵所需酵母菌为真核生物,B 项错误;果醋发酵时需将充气口打开,不断充入无菌氧气(或空气),C 项错误;③过程为酒精发酵,该过程中酵母菌将葡萄糖分解为酒精和 CO₂,CO₂ 溶入发酵液,使发酵液 pH 降低,④过程中产生醋酸,发酵液 pH 降低,D 项正确。
8. C [解析] 葡萄酿制为果酒、果醋的过程是微生物发酵的过程,在这个过程中,微生物要消耗掉部分能量,通过微生物的作用,有机物种类增多。
9. B [解析] 在果醋的发酵过程中,首先瓶中进行的是酵母菌有氧呼吸产生 CO₂,会使 pH 下降;一段时间后由于氧气消耗殆尽,酵母菌开始进行无氧呼吸,也可产生

CO₂,会使 pH 继续下降;后期接种醋酸菌后进行醋酸发酵生成醋酸,会使 pH 迅速下降。

10. (1)醋酸发酵 (2)洗去浮尘 反复冲洗
(3)酒精发酵 醋酸发酵 泵入无菌空气(氧气)
(4)酵母菌 CO₂
(5)酒精发酵: $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$;
醋酸发酵: $C_2H_5OH + O_2 \xrightarrow{\text{酶}} CH_3COOH + H_2O$
(6)不能,因为酒精发酵旺盛时的缺氧环境能抑制醋酸菌生长,醋酸菌发酵需要充足的氧气
(7)18~25 ℃ 30~35 ℃

[解析] 本题主要考查果酒、果醋制作的基本过程和原理,同时还考查两种微生物的代谢类型、生存环境。酵母菌是兼性厌氧型微生物,在有氧条件下,进行有氧呼吸,反应式为 $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2 \xrightarrow{\text{酶}} 6CO_2 + 12H_2O$;在无氧条件下,进行酒精发酵,反应式为 $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$ 。因此,在制作果酒时,应选择在缺氧的环境中进行。醋酸菌是好氧细菌,在有氧条件下能将乙醇变为醋酸,反应式为 $C_2H_5OH + O_2 \xrightarrow{\text{酶}} CH_3COOH + H_2O$ 。

11. (1)附着在苹果皮上的野生型酵母菌
(2)为酵母菌细胞呼吸提供更多原料,以产生更多的酒精
(3)在有氧条件下大量繁殖 在无氧条件下产生酒精
(4)低
(5)缺少糖源 氧气、糖源充足

[解析] (1)家庭自制苹果酒可以自然发酵,菌种主要来自附着在苹果皮上的野生型酵母菌。(2)制酒的苹果汁中要适当加些白糖进行糖分调整,加白糖可以为酵母菌细胞呼吸提供更多原料,以产生更多的酒精。(3)制作果酒的条件是先通气后密封,先通入无菌空气的目的是让酵母菌在有氧条件下大量繁殖;后密封的目的是让酵母菌在无氧条件下产生酒精。(4)酵母菌适宜生长的温度是 18~25 ℃,醋酸菌适宜生长的温度为 30~35 ℃,即制酒控制的温度比制醋控制的温度低。(5)醋酸菌在缺少糖源时,将酒精变成乙醛,再将乙醛变成醋酸;醋酸菌在氧气、糖源充足时,可以将葡萄糖直接转变成醋酸。

12. (1)酵母菌
(2)葡萄糖 酒精 CO₂
(3)未夹住发酵瓶的充气管 发酵液从充气管流出,发

酵液变酸 瓶中发酵液过多,淹没了排气管在瓶内的管口 排气时发酵液从排气管流出 葡萄醋(或果醋)

葡萄酒(或果酒) 葡萄酒(或果酒)

(4)未及时排气

【解析】葡萄酒制作的原理是酵母菌无氧呼吸产生酒精和 CO_2 。甲同学的错误是未夹住发酵瓶的充气管,导致发酵液从充气管流出,并且空气会进入发酵瓶,抑制酵母菌的酒精发酵;在有氧条件下,醋酸菌利用葡萄糖进行有氧呼吸生成醋酸。乙同学操作正确,得到果酒。丙同学的错误是瓶中发酵液过多,淹没了排气管在瓶内的管口,使排气时发酵液从排气管流出,得到的产品也是果酒。

13. (1)果酒 重铬酸钾

(2)将等量的三种品系酵母菌分别接种在酒精浓度为6%、8%、10%、12%的液体培养基中

(3)① CO_2

② Y_1 菌在第1~4天(前期/初期)的瓶重减轻量(产生 CO_2 的量/发酵速率/发酵能力)大于 Y_3 (或 Y_3 前期发酵能力不如 Y_1)

【解析】(1)用同一套装置和材料进行果酒、果醋发酵实验时,应先进行果酒发酵。酒精可以用酸性重铬酸钾溶液检测,颜色由橙色变成灰绿色。(2)要测定三种品系酵母菌(分别标记为 Y_1 、 Y_2 、 Y_3)对体积分数为6%、8%、10%、12%的酒精耐受能力,自变量是酒精浓度,因此可设计以下实验:第一步,将等量的三种品系酵母菌分别接种在酒精浓度为6%、8%、10%、12%的液体培养基中。第二步,使用一定的方法收集各组酵母菌产生的气体,记录产气量,比较三种品系酵母菌耐酒精能力。(3)①酵母菌细胞呼吸过程中会释放 CO_2 ,因此瓶重减轻量主要为酵母菌在酒精发酵中产生的 CO_2 的量。② Y_1 比 Y_3 更适合作为生产米酒的菌种,理由是 Y_1 菌在第1~4天(前期/初期)的瓶重减轻量(产生 CO_2 的量/发酵速率/发酵能力)大于 Y_3 (或 Y_3 前期发酵能力不如 Y_1)。

课题2 腐乳的制作

1. C **【解析】**毛霉是真菌,属于真核生物,且具有细胞壁;其代谢类型为异养需氧型,可进行有氧呼吸,但不能进行光合作用。

2. A **【解析】**豆腐的主要成分是蛋白质和脂肪,在腐乳制作过程中,毛霉等微生物产生的蛋白酶能将豆腐中的蛋白质分解为小分子的肽和氨基酸;脂肪酶可将脂肪水解为甘油和脂肪酸。

3. B **【解析】**豆腐含有的营养成分主要是蛋白质和脂肪,腐乳发酵时,蛋白质在毛霉等多种微生物分泌的蛋白酶的作用下分解成小分子的肽和氨基酸,脂肪在脂肪酶的作用下分解为甘油和脂肪酸。

4. C **【解析】**在腐乳制作过程中,前期发酵都是相同的,后期因卤汤中香辛料的不同,才形成了腐乳的不同风味,且卤汤中酒的含量应控制在12%左右。卤汤中的酒和香辛料都有杀菌作用,但卤汤不能加强腐乳的营养。

5. B **【解析】**含水量为70%的豆腐最适宜制作腐乳,含水量过高的豆腐制作腐乳不易成形,故B项错误。

6. D **【解析】**豆腐坯用食盐腌制可以析出豆腐中的水分,使豆腐块变硬,在后期制作过程中不会酥烂,也会给腐乳以必要的咸味。同时,盐能抑制微生物生长,避免豆腐腐败变质。

7. D **【解析】**腐乳外部的“皮”是豆腐坯在一定温度、湿度条件下,毛霉与根霉等生长繁殖于腐乳表面,形成的大量菌丝。它对人体无害,并可防止腐乳变质。

8. D **【解析】**在严格无菌的条件下,将优良毛霉菌种直接接种在豆腐上,可以避免其他菌种的污染,保证产品质量。

9. A **【解析】**传统腐乳的生产中,豆腐块上生长的毛霉来自空气中的毛霉孢子;加盐腌制时,盐分抑制了杂菌的生长,故这两个时期都不需要严格杀菌。但加卤汤装瓶和密封腌制时,为了防止杂菌污染,需要严格杀菌。

10. C **【解析】**豆腐腐败变质是杂菌繁殖造成的。用来腌制腐乳的玻璃瓶没有用沸水消毒;装瓶后,没有将瓶口密封;用盐腌制时,加盐量太少,都会导致杂菌大量繁殖。卤汤中酒的含量应控制在12%左右,酒精含量过高,腐乳成熟的时间将会延长;酒精含量过低,不足以抑制微生物生长,可能会导致豆腐腐败。

11. (1)蛋白质 小分子肽和氨基酸

(2)不足以抑制杂菌的生长,导致豆腐腐败

【解析】(1)制作腐乳的原料中蛋白质含量比较高,毛霉可利用体内的酶将该成分分解成小分子肽和氨基酸。(2)盐具有杀菌作用,在用盐腌制腐乳的过程中,若盐的浓度过低则不足以抑制杂菌的生长,会导致豆腐腐败。

12. (1)加卤汤装瓶

(2)70% 析出豆腐中的水分使豆腐块变硬,同时抑制微生物生长

(3)蛋白酶 脂肪酶 脂肪酸

(4)空气中的毛霉孢子 无菌

【解析】(1)腐乳制作的具体过程:让豆腐上长出毛霉→加盐腌制→加卤汤装瓶→密封腌制。(2)含水量为70%左右的豆腐适合用来制作腐乳。腐乳制作过程中,加盐的作用是析出豆腐中的水分使豆腐块变硬,同时抑制微生物的生长,避免豆腐块腐败变质。(3)腐乳制作的原理是毛霉等微生物产生的蛋白酶能够将豆腐中的蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸,脂肪酶能够将脂肪水解为甘油和脂肪酸。(4)传统制作腐乳,豆腐块上的毛霉来自空气中的毛霉孢子,现代腐乳生产是在严格无菌的条件下,将优良的毛霉菌种直接接种在豆腐上,避免其他菌种的污染,保证产品的质量。

13. (1)毛霉 菌丝(或匍匐菌丝)

(2)豆腐中的蛋白质在蛋白酶催化下分解成小分子肽和氨基酸,豆腐中的脂肪在脂肪酶的催化下分解成甘油和脂肪酸

(3)不足以抑制微生物的生长,可能导致豆腐腐败 腐

乳成熟的时间延长

(4)探究制作腐乳的最佳温度(言之有理即可)

【解析】(1)民间制作腐乳过程中所用的微生物主要是毛霉,腐乳表面有一层致密的“皮”,其属于毛霉的白色菌丝,它对人体是无害的。(2)腐乳易被人体吸收是因为豆腐中的成分发生了如下变化:豆腐中的蛋白质在蛋白酶催化下分解成小分子肽和氨基酸,豆腐中的脂肪在脂肪酶的催化下分解成甘油和脂肪酸。(3)决定腐乳特殊风味的是卤汤,人们可根据个人喜好调整卤汤成分,但其中要加入一定量的酒精,酒精含量过低,不足以抑制微生物的生长,可能导致豆腐腐败,酒精含量过高会导致腐乳成熟的时间延长。(4)腐乳制作过程中可供研究的课题:如探究制作腐乳的最佳温度等(合理即可)。

14. (1)毛霉 曲霉、根霉、酵母菌

(2)蛋白酶、脂肪酶等酶类 增多

(3)酒 香辛料

(4)色泽、口味、块形

【解析】(1)腐乳制作过程中有多种微生物参与,如毛霉、曲霉、根霉和酵母菌等,其中起主要作用的是毛霉。(2)豆腐发酵主要利用了微生物产生的蛋白酶、脂肪酶等酶类,通过发酵,豆腐中营养物质的种类增多,且更易于消化和吸收。(3)在腐乳制作过程中,抑制微生物生长的物质有盐、酒、香辛料等。(4)若完成了腐乳制作,可以从色泽、口味、块形等方面来评价腐乳的质量。

15. (1)15~18 °C

(2)毛霉等微生物产生的蛋白酶促进蛋白质水解产生 GABA

(3)逐层加盐,随着层数的加高而增加盐量,接近瓶口表面的盐要铺厚一些 降低

(4)60

【解析】(1)制作腐乳时起主要作用的微生物是毛霉,毛霉生长的适宜温度为 15~18 °C。(2)据图可知,前发酵过程中,毛坯的 GABA 含量明显升高,原因是毛霉等微生物产生的蛋白酶促进蛋白质水解产生 GABA。(3)加盐腌制时,将长满毛霉的豆腐块分层整齐地摆放在瓶中,同时逐层加盐,随着层数的加高而增加盐量,接近瓶口表面的盐要铺厚一些。此过程腐乳干重中的 GABA 含量下降,一方面与食盐抑制毛霉生长,使酶活性降低有关;另一方面部分 GABA 会溶于水,从而导致其测定值减小。(4)后发酵 60 d 后的白方腐乳出厂销售比较适宜。

16. (1)①加盐时应该是随着层数的加高而增加盐量

②加盐腌制的时间过短,应为 8 天左右

③腌制的腐乳表面有黄色微生物出现,说明加盐量少,没有很好地抑制其他微生物的生长

④卤汤中酒精含量太高,应该为 12% 左右

(2)异养需氧型 孢子生殖 现代腐乳生产是在严格无菌的条件下,将优良的毛霉菌种直接接种到豆腐上,避免其他菌种的污染

课题 3 制作泡菜并检测亚硝酸盐含量

1. B **【解析】**乳酸菌是原核生物,没有细胞核,其遗传物质 DNA 主要分布在拟核;在无氧条件下,乳酸菌能将葡萄糖分解为乳酸,但不产生 CO₂。

2. C **【解析】**亚硝酸盐分布广泛,在土壤、水、鱼、谷、绿色蔬菜中都存在。亚硝酸盐在食品生产中可用作食品添加剂,但量多会使人中毒。亚硝酸盐在动物和人体内,在特定条件下可转变为亚硝胺。需要注意的是,亚硝酸盐本身不具有致癌作用,其转化成的亚硝胺具有致癌作用。

3. A **【解析】**制作泡菜所利用的乳酸菌最初主要来自于所选蔬菜自身携带的。

4. B **【解析】**乳酸菌是严格的厌氧微生物。

5. A **【解析】**向坛盖边沿的水槽中注满水,是为了阻止空气进入坛中,一般不会造成污染。

6. D **【解析】**测定亚硝酸盐含量的原理:在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应后,与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成玫瑰红色染料,在此过程中亚硝酸盐的理化性质发生了很大变化。

7. D **【解析】**泡菜发酵时,在乳酸菌等的作用下主要产生乳酸;测定亚硝酸盐含量用的是比色法;在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应后,与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成玫瑰红色染料。

8. D **【解析】**斐林试剂用于还原糖的鉴定,泡菜制作中不需斐林试剂。

9. C **【解析】**经过检测发现,泡菜腌制几天后,泡菜中的亚硝酸盐的含量达到最高峰,但随着腌制时间延长,乳酸菌大量繁殖产生乳酸,抑制硝酸盐还原菌繁殖,致使泡菜中亚硝酸盐的含量下降。

10. B **【解析】**陈泡菜液中含有乳酸菌菌种,所以加入陈泡菜液的目的是增加菌种数量,缩短制作时间;乳酸菌对酸的耐受能力更强,所以它产生的乳酸能使其在与其他菌种的竞争中占据优势;火候好、无裂纹、无砂眼、坛沿深、盖子吻合好的泡菜坛能保持坛内缺氧的环境,有利于乳酸菌的生长、繁殖;亚硝酸盐含量测定的实验中提取剂是氧化镉和氯化钡溶液。

11. (1)透气性差 乳酸菌

(2)4:1 水中的氧气 杂菌

(3)1/5 盐水

(4)严格密封

(5)温度 用量

【解析】为满足乳酸菌所需的厌氧环境应该选择透气性差的容器,且在原料、调味料装坛后要严格密封。在泡菜的腌制过程中,要控制腌制的时间、温度和食盐用量。温度过高、食盐用量不足 10%、腌制时间过短,容易造成细菌大量繁殖,亚硝酸盐含量增加。

12. (1)亚硝酸盐的含量低

(2)乳酸菌 没有以核膜为界限的细胞核(或没有成形的细胞核)

(3)避免高温杀死存在于蔬菜上的乳酸菌

(4)对氨基苯磺酸 玫瑰红

(5)除去杂质

【解析】(1)制作泡菜应选用新鲜的蔬菜,因为新鲜的蔬菜中亚硝酸盐含量低。(2)制作泡菜所利用的菌种主要是乳酸菌,而酿造果酒利用的是酵母菌,乳酸菌是原核生物,酵母菌是真核生物,两者最大的区别是乳酸菌没有以核膜为界限的细胞核(或没有成形的细胞核)。(3)盐水煮沸后冷却的目的是避免高温杀死乳酸菌。(4)测定亚硝酸盐含量的原理是在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应后,与N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成玫瑰红色染料。然后将显色反应后的样品与已知浓度的标准显色液进行目测比较,可以大致估算出泡菜中亚硝酸盐的含量。(5)提取亚硝酸盐的过程中使用的氢氧化铝乳液的作用是去除杂质。

13. (1)清洗并消毒

(2)产膜(假丝)酵母繁殖形成的 青霉素能够抑制乳酸菌的生长

(3)加入的食盐过少

(4)N-1-萘基乙二胺盐酸盐 玫瑰红 标准显色液 氢氧化铝乳液

【解析】(1)加入蔬菜前要对泡菜坛做彻底清洗并用白酒擦拭消毒。(2)在家制作泡菜时,常发现泡菜坛内长一层白膜,这层白膜是产膜(假丝)酵母繁殖形成的。为避免杂菌污染,向泡菜坛中加入了青霉素,结果发酵失败,原因可能是青霉素能够抑制乳酸菌的生长。(3)有时制作的泡菜会“酸而不咸”,最可能的原因是加入的食盐过少。(4)测定亚硝酸盐含量的原理是在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸的反应产物能与N-1-萘基乙二胺盐酸盐偶联成玫瑰红色化合物。测定亚硝酸盐含量的操作流程是配制溶液→制备标准显色液→制备样品处理液→比色。其中,使滤液变得无色澄清透明的是氢氧化铝乳液。

14. (1)无氧条件下,乳酸菌将葡萄糖分解成乳酸 新鲜的蔬菜中亚硝酸盐的含量低

(2)盐酸酸化 重氮化 玫瑰红

(3)白萝卜 避免植物中色素对显色反应的干扰

(4)5% 食盐质量分数为5%的泡菜中亚硝酸盐含量变化最快,说明乳酸菌代谢最旺盛,且在发酵11 d后亚硝酸盐含量降到最低值

【解析】(1)泡菜制作的原理是在无氧条件下,乳酸菌将葡萄糖分解成乳酸。与储存时间较久的蔬菜相比,

新鲜蔬菜中亚硝酸盐含量较低,故制作泡菜宜选择新鲜蔬菜。

(2)亚硝酸盐含量的测定原理是在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应后,与N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成玫瑰红色染料,将显色后的样品与标准样品比色,可估测泡菜中亚硝酸盐含量。

(3)实验中需对比颜色,红萝卜中的色素会干扰实验结果,不是理想的实验材料。

(4)图中曲线显示食盐质量分数为5%的泡菜中亚硝酸盐含量变化最快,说明乳酸菌代谢活动最强,且在发酵11 d后亚硝酸盐含量降到最低值。

15. (1)隔绝空气,创造无氧环境 丙酮酸、[H]、ATP

(2)亚硝酸盐含量更低 乳酸发酵产生的乳酸积累

(3)

	4%		5%		6%		7%		8%		9%		10%	
	普	优	普	优	普	优	普	优	普	优	普	优	普	优
第1天														
第2天														
⋮														
第10天														

结论:在一定的浓度范围内,随食盐浓度的增大,亚硝酸盐浓度增大,第7天后亚硝酸盐含量明显下降,且优选乳酸菌降低亚硝酸盐的效果比普通乳酸菌的明显。

【解析】(1)乳酸菌为厌氧菌,在泡菜制作过程中,乳酸菌在无氧条件下发酵产生乳酸,因此需为其提供无氧环境。

(2)据图可知,第3天亚硝酸盐含量最高,第8天亚硝酸盐含量较低,而亚硝酸盐对人体健康存在潜在危害,因此亚硝酸盐含量低的泡菜适于食用。乳酸发酵产生乳酸,随着发酵的进行,乳酸量越来越多,故pH逐渐下降。

(3)该实验的目的是比较食盐浓度在4%~10%内普通乳酸菌与“优选”乳酸菌发酵效果的优劣,并确定其发酵适宜条件,因此该实验的自变量为盐的浓度和乳酸菌类型,因变量为亚硝酸盐含量,而题干信息“优选”乳酸菌亚硝酸盐还原酶活力比普通乳酸菌的高5倍,因此推测在一定的浓度范围内,随食盐浓度的增大,亚硝酸盐浓度增大,第7天后亚硝酸盐含量明显下降,且优选乳酸菌降低亚硝酸盐的效果比普通乳酸菌的明显。

专题2 微生物的培养与应用

课题1 微生物的实验室培养

1. C

2. A 【解析】本题考查消毒和灭菌的方法。培养基用高压蒸汽灭菌法灭菌;培养皿耐高温,需用干热灭菌法灭菌;接种环可用灼烧灭菌的方法迅速彻底地灭菌;实验操作者的双手可用化学药剂进行消毒,如用酒精棉球擦

拭双手;空气可用紫外线消毒;牛奶为不破坏其营养成分可采用巴氏消毒法消毒。

3. B

4. D 【解析】高压蒸汽灭菌加热结束后,当压力表的压力降到零时,才能打开排气阀,打开盖子,A项错误。倒平板时,应只将培养皿打开一条缝隙,不能将皿盖放到一

- 边,B项错误。接种时,接种环经灼烧灭菌并冷却后再挑取菌落,不能趁热挑取,C项错误。用记号笔标记培养皿中的菌落时,应标记在皿底,D项正确。
5. C **【解析】** 整个倒平板的过程要防止外来杂菌的污染,因此灭过菌的培养皿应放在火焰旁;打开的锥形瓶瓶口要迅速通过火焰;倒平板时,只能将培养皿打开一条缝隙,不能将皿盖完全打开;待平板冷却凝固后需要将平板倒过来放置。
6. D
7. D **【解析】** 菌种保藏是为了保持菌种的纯净,A项正确。菌种的临时保藏可用固体斜面培养基,B项正确。菌种的长期保存常采用甘油管藏法,其所用的甘油需进行灭菌处理,C项正确,D项错误。
8. C **【解析】** 用平板划线法和稀释涂布平板法纯化大肠杆菌时,都需要使用固体培养基,且要在酒精灯火焰旁进行接种以防止杂菌污染;平板划线法采用接种环进行接种,而稀释涂布平板法则采用滴管和涂布器来进行接种,并且稀释涂布平板法还可以对活菌进行计数。
9. B **【解析】** 分析培养基上是否有杂菌常用的方法是将接种后的培养基和一个未接种的培养基都放入 37 ℃ 恒温箱培养,看未接种的培养基是否有菌落产生,若有菌落产生,则说明培养基上生有杂菌。
10. (1)自养型 空气中的 CO₂
(2)水、无机盐、氮源
(3)自生固氮微生物
(4)碳源、氮源和特殊营养
(5)凝固剂(琼脂)
【解析】 (1)从培养基的成分看,该培养基无有机物,因此可以培养自养型微生物,微生物所需的碳源只能由空气中的 CO₂ 提供。(2)表中培养基中的成分包括微生物需要的氮源、无机盐和水。(3)培养基中的①是该培养基中唯一的氮源,去掉后则成为无氮培养基,可用于培养自生固氮微生物,因为自生固氮微生物可以利用大气中的 N₂ 作为氮源。但是自生固氮微生物是异养型微生物,因此培养自生固氮微生物的培养基除不含氮源外,还应含有有机物。(4)在培养基中加入氨基酸,可以为微生物提供碳源、氮源和特殊营养。(5)微生物的菌落形成于固体培养基的表面,因此培养基中需要添加凝固剂(琼脂),使液体培养基凝固成固体培养基。
11. (1)平板划线 稀释涂布平板 接种环 涂布器 灼烧灭菌
(2)火焰附近存在无菌区域
(3)防止培养皿盖上的冷凝水污染培养基
(4)稀释涂布平板法
【解析】 图甲和图乙所示接种方法分别是平板划线法和稀释涂布平板法,这两种方法所用的接种工具分别是接种环、涂布器。由于在火焰附近存在无菌区域,因此接种操作常在火焰附近进行。在微生物培养过程中,为防止培养皿盖上的冷凝水滴入培养基中对培养

- 基造成污染,需要将培养皿倒置培养。
12. (1)高压蒸汽灭菌法 倒置
(2)6
(3)氮源和无机盐
(4)涂布平板时涂布不均匀
【解析】 (1)在微生物的培养过程中,实验室对培养基灭菌常用的方法是高压蒸汽灭菌法。为防止冷凝水影响细菌的生长,需将培养皿倒置培养。(2)接种时,接种环需要灼烧灭菌;在第二次及以后划线时,总是从上一次划线的末端开始划线,这样做的目的是通过划线次数的增加,使每次划线时菌体数目逐渐减少,以便得到单个菌落,每次划线之前及接种操作结束后,都要对接种环进行灭菌,因此划 5 个区域,需要灼烧接种环 6 次。(3)培养大肠杆菌的培养基除了为大肠杆菌的生长繁殖提供水和碳源外,还应提供氮源和无机盐等基本营养成分。(4)图中菌落分布不均匀,推测该同学接种时可能出现的失误是涂布不均匀。
13. (1)琼脂 前
(2)干热灭菌、高压蒸汽灭菌
(3)线条末端细菌的数目比线条起始处要少 倒置 避免培养基被污染 防止培养基水分过快挥发
(4)菌落数目稳定时的记录 防止因培养时间不足而遗漏菌落的数目
【解析】 (1)琼脂是制备固体培养基时常用的凝固剂;培养基需在灭菌之前调节 pH。(2)玻璃器皿和培养基分别采用干热灭菌和高压蒸汽灭菌的方法来进行灭菌。(3)平板划线的操作中,在做第二次以及其后的划线操作时,总是从上一次划线的末端开始划线,原因在于线条末端细菌的数目比线条起始处要少,如此操作就能将聚集的菌种逐步稀释分散到培养基的表面,最终可以得到由单个活菌形成的菌落;接种后盖上皿盖,将平板倒置放入恒温箱中培养,这样放置既可以防止形成的冷凝水滴落在培养基上,避免培养基被污染,又可以防止培养基水分过快挥发。(4)统计活菌数目时应当选取菌落数目稳定时的记录作为结果,这样才能防止因培养时间不足而遗漏菌落的数目,造成计数结果出现偏差。
14. (1)维生素 调 pH
(2)稀释涂布平板法
(3)敏感 抗生素 C 的耐药菌
【解析】 (1)配制的细菌培养基除了含有水、碳源、氮源和无机盐等主要营养成分外,还需要加入特殊的营养物质——维生素,由于该培养基为固体培养基,因此还应加入适量的琼脂作为凝固剂。在培养基各成分溶化与灭菌之间,要调 pH。(2)接种微生物的方法有很多,图中过程③所示的方法为稀释涂布平板法。(3)在抗性检验过程中,如果在菌落周围出现透明的圆圈,说明此种抗生素可抑制该乳酸菌生长,因此该乳酸菌对抗生素 A 敏感;含 C 的滤纸片周围的透明圈比含 A 的小,且透明圈中出现了一个菌落,在排除杂菌污染的情

况下,此菌落很可能是抗生素 C 的耐药菌。

课题 2 土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

1. C 【解析】土壤深层的含氧量较低,厌氧细菌可以生存,A 不符合题意;人或动物体内是一个较为缺氧的环境,厌氧细菌可以生存,B 不符合题意;真空环境下由于细胞内外具有压强差,厌氧细菌会因压强差过大而爆裂,无法生存,C 符合题意;池塘淤泥中是一个缺氧环境,厌氧细菌可以生存,D 不符合题意。
2. A 【解析】允许特定种类的微生物生长,同时抑制或阻止其他种类微生物生长的培养基,称作选择培养基。
3. A 【解析】分解尿素的细菌与其他细菌的重要区别是分解尿素的细菌能以尿素为氮源,该细菌合成的脲酶将尿素分解成了氨,氨会使培养基的碱性增强,pH 升高。在以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂,培养某种细菌后,如果 pH 升高,指示剂将变红,我们可以准确地鉴定出该种细菌能够分解尿素。
4. D 【解析】土壤中细菌的分离与计数实验过程中要注意无菌技术的操作,其中称取土壤、稀释土壤溶液、涂布平板等步骤要在酒精灯火焰旁进行。
5. D 【解析】本题考查微生物的活菌计数法。由稀释涂布平板法的操作过程来看,在某一稀释度下涂布的平板菌体数具有一定的随机性,并不是绝对均匀,所以取若干个平板菌落数量的平均值比较接近样品中菌体数量的真实值。
6. B 【解析】测定土壤中细菌的数量,一般选 10^4 、 10^5 、 10^6 倍的稀释液进行平板培养;而测定真菌的数量,一般选用 10^2 、 10^3 和 10^4 倍稀释;当第一次测量某种细菌的数量时,可以将 $10^3 \sim 10^7$ 倍的稀释液分别涂布到平板上培养。
7. A 【解析】A 同学比其他同学所得的实验结果的数据大许多,可能是由于选取的土样不同、培养基灭菌不彻底或操作过程中培养基被污染,也可能是操作失误造成的,如所配制的培养基中混入其他含氮物质、稀释度不够准确等。
8. D 【解析】将土壤用无菌水进行一系列的梯度稀释,以便于统计样品中活菌的数目,A 项正确。为避免偶然误差对实验结果的影响,同一浓度的土壤稀释液应至少涂布三个平板,B 项正确。生物实验要遵循对照原则,故要将未接种的培养基在相同条件下培养作为对照,排除非测试因素对实验结果的影响,可使结论更有说服力,C 项正确。在以尿素为唯一氮源的选择培养基中加入酚红指示剂可筛选出分解尿素的细菌,D 项错误。
9. B 【解析】平板划线法只能用于微生物的分离,不能用于计数,一般用稀释涂布平板法进行计数,A 项正确;当选择培养基上的菌落数目明显小于牛肉膏蛋白胨培养基上的菌落数目时,说明选择培养基已筛选出一些细菌菌落,B 项错误;如果得到了 3 个或 3 个以上菌落数目在 30~300 的平板,则说明稀释操作比较成功,并能够进行菌落的计数,C 项正确;土壤中细菌总量高于能分解尿素的细菌的数量,所以测定时选用的稀释范围不

同,D 项正确。

10. (1)稀释涂布平板 少 酒精灯火焰
(2)高压蒸汽灭菌法 将未接种的培养基放在适宜温度的恒温箱中倒置培养一段时间,观察是否有菌落生成
(3)有机物含量丰富 表 尿素
(4)变红 氨(或 NH_3)
【解析】(1)将样液进行一系列梯度稀释后进行接种的方法是稀释涂布平板法,该方法可以对菌落进行计数。利用稀释涂布平板法统计菌落数目时,当两个或多个细胞连在一起时,培养基上观察到的只是一个菌落,因此通常统计得到的菌落数比活菌的实际数目少。稀释涂布平板法的各步操作均应在酒精灯的火焰旁进行。
(2)对培养基的灭菌通常采用高压蒸汽灭菌法。若要检测使用的培养基是否被污染,通常需要设置空白对照,即将未接种的培养基在适宜温度的恒温箱中倒置培养一段时间,观察是否有菌落生成,若无菌落生成,则说明培养基的制作是合格的。
(3)土壤中分解尿素的细菌生活在有机物含量丰富的土壤表层,因此若要筛选出尿素分解菌,应从有机物含量丰富的土壤表层取样,培养用的培养基应为以尿素为唯一氮源的选择培养基。
(4)由于分解尿素的细菌能够合成脲酶,脲酶能将培养基中的尿素分解产生氨(NH_3),使培养基的 pH 升高,从而使酚红指示剂变红。
11. (1)平板划线
(2) NaNO_3 尿素和葡萄糖 氮源和碳源
(3) 2.33×10^9
【解析】(1)据图分析,图示接种方法为平板划线法,平板划线操作就是把聚集的菌种逐步稀释分散到培养基的表面。
(2)题干所给的培养基配方中缺少碳源,氮源是 NaNO_3 ,若此培养基用于分离分解尿素的细菌,则应该使用以尿素为唯一氮源的选择培养基,同时尿素分解菌属于异养型生物,需加入葡萄糖作为碳源。
(3)根据题意可知,每毫升样品中的菌株数=平板上菌落数的平均值 \div 涂布所用稀释液的体积 \times 稀释倍数= $233 \div 0.1 \times 10^6 = 2.33 \times 10^9$ 。
12. (1)脲酶 分解尿素的细菌是异养生物,不能利用 CO_2 来合成有机物 为细胞生命活动提供能量,为其他有机物的合成提供原料
(2)尿素 其他两组都含有 NH_4NO_3 ,能分解尿素的细菌和不能分解尿素的细菌都能利用 NH_4NO_3 ,不能起到筛选作用
(3)为细菌生长提供无机营养,作为缓冲剂保持细胞生长过程中 pH 稳定
【解析】(1)催化尿素分解的酶为脲酶。分解尿素的细菌是异养生物,不能利用 CO_2 来合成有机物。进入细菌体内的葡萄糖的主要作用是作为细胞生命活动提供能量,葡萄糖的代谢中间产物可以作为合成其他有机物的原料。
(2)能分解尿素的细菌和不能分解尿素的细菌都能利

用 NH_4NO_3 , 如果培养基中含有 NH_4NO_3 , 则不能起到筛选作用。

(3) 培养基中的 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 可以为微生物生长提供钠离子、钾离子等, 其还可以作为缓冲剂保持细胞生长过程中 pH 稳定。

13. (1) 不能 培养基含蛋白胨, 尿素不是唯一氮源

(2) 稀释涂布平板 菌落数目

(3) (高压蒸汽) 灭菌 无菌

(4) 菌液浓度过高 加大稀释倍数

【解析】(1) 据表分析, 表中的蛋白胨可以为微生物的生长提供氮源, 所以该同学不能分离出尿素分解菌。

(2) 固体培养基上的接种方法有稀释涂布平板法和平板划线法, 稀释涂布平板法适用于微生物的统计计数, 根据土壤样品的稀释倍数和接种稀释液的体积, 统计平板上的菌落数目能够推测出样品中的活菌数目。

(3) 培养基常用高压蒸汽灭菌法灭菌, 微生物筛选与分离成功的关键是无菌操作。(4) 培养基上的菌落连成一片, 最可能的原因是菌液稀释度不够, 浓度过高。要避免此种现象需要对菌液加大稀释倍数。

14. (1) ①②③

(2) 尿素 目的菌能分解尿素

(3) 没有成形的细胞核 异养型(微生物)

(4) 稀释涂布平板 10^6

【解析】(1) 实验过程中, 培养皿、培养基、玻璃棒、锥形瓶、吸管等都需要灭菌, 但是瘤胃中的液体不能灭菌, 否则会杀死目的菌。(2) 该实验的目的菌是能降解尿素的细菌, 所以培养基应该以尿素为唯一氮源。加入酚红指示剂后变红色, 说明目的菌能分解尿素。(3) 细菌是原核生物, 酵母菌是真核生物, 原核生物没有成形的细胞核。该细菌以尿素为氮源, 不能自己合成有机物, 属于异养型微生物。(4) 稀释后再接种的方法属于稀释涂布平板法。观察并统计具有红色环带的菌落数时, 菌落不宜太多, 便于统计, 表格中 10^6 倍的稀释比较合适。

课题3 分解纤维素的微生物的分离

1. D 【解析】纤维素酶的化学本质是蛋白质, 其基本组成单位是氨基酸, A 项错误; 纤维素酶包括 C_1 酶、 C_x 酶和葡萄糖苷酶等, B 项错误; 纤维素能与刚果红结合形成红色复合物, 而不是纤维素酶, C 项错误; 纤维素酶将纤维素最终分解成葡萄糖, D 项正确。

2. B 【解析】培养基成分中含有凝固剂(琼脂), 说明该培养基是固体培养基; CMC-Na 提供碳源; 酵母膏和土豆汁中含有生长因子; 蒸馏水在使用前无须灭菌。

3. B 【解析】纤维素酶的发酵方法有液体发酵和固体发酵两种。对分解纤维素的微生物进行初步筛选只是分离纯化的第一步。为确定得到的是纤维素分解菌, 还需要进行发酵产纤维素酶的实验。纤维素酶的测定方法, 一般是对纤维素酶分解滤纸等纤维素后所产生的葡萄糖进行定量的测定。

4. A 【解析】分离土壤中的纤维素分解菌, 先进行选择

培养, 再进行稀释涂布平板培养, 然后挑选产生透明圈的菌落以获得纯系菌株。

5. C 【解析】通过选择培养可以增加纤维素分解菌的浓度, 以确保能够从样品中分离到所需要的微生物。

6. C 【解析】一般用刚果红染色法进行分解纤维素的微生物的鉴定, 常用方法有两种, 这两种方法分别在倒平板时和培养基上长出菌落时加入刚果红。

7. A 【解析】刚果红是一种染料, 它可以与像纤维素这样的多糖物质形成红色复合物, 但并不和纤维素水解后的纤维二糖及葡萄糖发生这种反应, 也不会与纤维素酶或纤维素分解菌结合形成红色复合物。

8. C 【解析】土壤稀释液中含有目的菌株, 如果对其进行灭菌, 则会导致在选择培养基上不能分离到降解原油的菌种。

9. A 【解析】先培养微生物, 待培养基上长出菌落时再加入刚果红进行颜色反应的方法中, 才需要加入 1 mol/L NaCl 处理 15 分钟。

10. (1) 葡萄糖 C_1 酶、 C_x 酶

(2) 防止外来杂菌的入侵 酒精灯火焰 干热灭菌

(3) 纤维素 在倒平板时就加入刚果红 培养基表面的菌悬液过多会导致菌体堆积, 影响分离效果

【解析】(1) 纤维素是一种多糖, 其基本组成单位是葡萄糖; 纤维素酶是一种复合酶, 其中的 C_1 酶、 C_x 酶能使纤维素分解成纤维二糖。(2) 微生物分离和纯化培养的关键环节是防止外来杂菌的入侵; 为避免周围环境中微生物的污染, 实验操作应在酒精灯火焰附近进行; 倒平板用的培养皿需要保持干燥, 可以采用干热灭菌法进行灭菌。(3) 为了分离出纤维素分解菌, 配制的选择培养基要以纤维素作为唯一碳源。筛选纤维素分解菌时, 常用的刚果红染色法有两种, 一种是先培养微生物, 待培养基上长出菌落时再加入刚果红进行颜色反应, 另一种是在倒平板时就加入刚果红。在涂布平板时滴加到培养基表面的菌悬液量不宜过多, 原因是培养基表面的菌悬液过多会导致菌体堆积, 影响分离效果。

11. (1) 复合 葡萄糖苷酶

(2) 枯枝落叶多的腐殖 刚果红 存在以该菌落为中心的透明圈 透明圈大的

(3) 保持无氧环境 高压蒸汽灭菌法 选择

(4) 稀释涂布平板法

(5) 离心 斐林

【解析】(1) 纤维素酶是一种复合酶, 包括 C_1 酶、 C_x 酶和葡萄糖苷酶三种, 其中能够将纤维二糖分解为葡萄糖的是葡萄糖苷酶。(2) 枯枝落叶多的腐殖土壤中含有较多的纤维素, 所以纤维素分解菌也较多。对纤维素分解菌常采用刚果红染色法进行鉴定, 刚果红可以与纤维素结合形成红色复合物, 纤维素分解菌由于能够将纤维素分解而在平板上的菌落周围出现无色的透明圈, 透明圈的大小可以反映纤维素分解菌产生的酶的多少。透明圈越大说明纤维素分解菌分解纤维素的

能力越强。(3)从土壤中筛选的纤维素分解菌属于好氧菌,而马的胃中是无氧环境,从其中分离的纤维素分解菌属于厌氧菌,所以从马胃中分离的纤维素分解菌需要培养在无氧环境中。培养基一般采用高压蒸汽灭菌法灭菌,筛选纤维素分解菌的培养基属于选择培养基。(4)微生物纯化的接种方法主要有稀释涂布平板法和平板划线法,稀释涂布平板法还可以用于微生物的计数。(5)用物理和化学的方法使筛选出的纤维素分解菌破裂后,用离心的方法可将纤维素酶溶液与其他细胞成分分离开。纤维素酶能催化纤维素分解为具有还原性的葡萄糖,葡萄糖可以用斐林试剂进行检测。

12. (1)富含纤维素(或“落叶较多”)等 纤维素

(2)纤维素 刚果红(CR) 透明圈

(3)涂布不均匀 避免培养基污染棉塞

(4)酵母菌 碳源

【解析】(1)富含纤维素的环境中纤维素分解菌较多;②中获得的酶是纤维素酶,该酶是一种复合酶,包括 C_1 酶、 C_x 酶、葡萄糖苷酶。(2)筛选纤维素分解菌时使用以纤维素作为唯一碳源的选择培养基;在培养基中加入刚果红,其可与培养基中的纤维素形成红色复合物,当纤维素被分解后,红色复合物不能形成,培养基中会出现以纤维素分解菌为中心的透明圈,从而可筛选出纤维素分解菌。(3)纯化菌种时,为了得到单一菌落,常采用的接种方法有两种,即平板划线法和稀释涂布平板法,图中采用的是稀释涂布平板法,但菌落分布不均,其原因是涂布不均匀。向试管内分装含琼脂的培养基时,若试管口粘附有培养基,需要用酒精棉球擦净,这样可以避免培养基污染棉塞。(4)参与酒精发酵的常见菌种是酵母菌;玉米秸秆中的纤维素经充分水解后的产物可为该微生物的生长提供碳源。

13. (1)纤维素 高压蒸汽灭菌

(2) 1.17×10^8

(3)当两个或多个细胞连在一起时,平板上观察到的的是一个菌落

(4)酵母菌 细胞质基质

【解析】(1)植物秸秆的主要成分为纤维素,因此若要从土壤中分离出能降解植物秸秆的微生物,培养基中应以纤维素作为唯一碳源,对该培养基可采取高压蒸汽灭菌的方法进行灭菌。(2)在稀释倍数为 10^5 所对应的培养基中测定平板上菌落数的平均值为234,则每毫升样品中的细菌数是(涂布平板时稀释液的体积为0.2 mL) $=234 \div 0.2 \times 10^5 = 1.17 \times 10^8$ (个)。(3)当两个或多个细胞连在一起时,平板上观察到的的是一个菌落,因此用稀释涂布平板法测定目的菌的密度时,样品中实际活菌数量要比测得的菌落数量多。(4)题述流程图中,一般利用酵母菌的无氧呼吸将糖液发酵产生乙醇,无氧呼吸发生在细胞质基质中。

14. (1)平板划线 纤维素 纤维素酶

(2)高压蒸汽灭菌 灼烧

(3)酵母菌 无氧

(4)提高能量利用率,减轻环境污染

【解析】(1)从土壤中分离获取某种特定微生物,可采用稀释涂布平板法或平板划线法,图甲中为平板划线法。培养基中以纤维素作为唯一碳源时,只有能利用该物质的微生物才能生长繁殖,因此该培养基起到选择培养目的菌的作用。(2)对培养基的灭菌利用的是高压蒸汽灭菌法,对接种环采用火焰灼烧法进行灭菌。(3)根据图乙中的结果,可推测微生物X是酵母菌,它在无氧条件下可以产生乙醇。(4)利用纤维素酶制取生物燃料可以变废为宝,提高能量利用率,减轻环境污染。

单元测评(一)

1. A 【解析】腐乳发酵所需的适宜温度是 $15 \sim 18^\circ\text{C}$,因此不易在夏季进行腐乳制作;果酒发酵过程中温度应控制在 $18 \sim 25^\circ\text{C}$;果醋发酵是严格的有氧发酵;三种发酵所需菌种以DNA为遗传物质。

2. B 【解析】葡萄汁装入发酵瓶时,要留有约 $1/3$ 的空间,为酵母菌的繁殖提供氧气,A项正确,B项错误;制作葡萄酒的过程中,时间应控制在 $10 \sim 12$ d,C项正确;制作葡萄醋的温度($30 \sim 35^\circ\text{C}$)要比制作葡萄酒($18 \sim 25^\circ\text{C}$)的温度高些,但时间控制在 $7 \sim 8$ d,D项正确。

3. A 【解析】醋酸菌是好氧细菌,因此醋酸发酵时要适时通过充气口进行充气。

4. C 【解析】毛霉为好氧型真菌,为避免其无氧呼吸,码放豆腐时要留出一定缝隙,A项正确;加盐腌制的主要目的是析出豆腐中的水分使之变硬,同时能抑制微生物的生长,B项正确;腐乳的发酵有多种微生物参与,其中毛霉和根霉为竞争关系,C项错误;用胶条密封瓶口时,最好将瓶口通过酒精灯的火焰,以防止瓶口污染,D项正确。

5. D 【解析】泡菜发酵过程中会产生亚硝酸盐,摄入过多亚硝酸盐会对身体造成伤害,A项正确。煮沸泡菜盐水的目的是除去水中的氧气和杀灭盐水中的杂菌,B项正确。制作泡菜利用的菌种是乳酸菌,其代谢类型为异养厌氧型,C项正确。泡菜腌制时食盐用量过低,容易造成细菌大量繁殖,亚硝酸盐含量增加,D项错误。

6. A 【解析】对泡菜滤液起净化作用的是氢氧化铝溶液。

7. D 【解析】果酒制作时所需的微生物是酵母菌,它属于真核生物中的真菌,果醋制作时所需的微生物是原核生物中的醋酸菌,泡菜制作时所需的微生物是原核生物中的乳酸菌,A项错误;灭菌应是杀灭物体内外所有的微生物,包括芽孢和孢子,在果酒、果醋和泡菜制作时对原料只进行了清洗和消毒处理,没有进行灭菌处理,B项错误;酵母菌的代谢类型是异养兼性厌氧型,醋酸菌的代谢类型是异养需氧型,乳酸菌属于异养厌氧细菌,C项错误;果酒制作时产生 CO_2 ,所以发酵液呈酸性,果醋、泡菜制作时因为分别产生醋酸和乳酸,所以发酵液呈酸性,D项正确。

8. D 【解析】果酒发酵后是否有酒精产生,可以用酸性重

- 铬酸钾试剂检验,A项正确。醋酸没有毒,且酸性不强,具有挥发性,因此检验醋酸产生的简单易行的方法是闻气味,B项正确。泡菜制作产生的亚硝酸盐可以用对氨基苯磺酸和N-1-萘基乙二胺盐酸盐检验,C项正确。乳酸含量的测定不能用比色法,D项错误。
9. C [解析] 酿酒时如果密封不严,就会使好氧的醋酸菌繁殖并在变酸的酒表面形成白膜;同理,制作泡菜时密封不好,也会使酵母菌在泡菜坛内液体表面繁殖,形成白膜;而腐乳制作需要的是毛霉,毛霉的菌丝会在豆腐块的表面形成致密的“皮”,使腐乳容易成形。
10. B [解析] 果酒制作的装置中液体太多,发酵液可能会从排气管溢出,A项错误。制作果醋时使用的是醋酸菌,醋酸菌是好氧细菌,在有氧条件下,可生成醋酸,制作装置中的充气口是连接气泵输入氧气或空气用的,排气口通过一个长而弯曲的胶管与瓶身连接,B项正确。制作腐乳时应先接种毛霉后加盐腌制,C项错误。制作泡菜时应选用乳酸菌,D项错误。
11. B [解析] 大量培养菌种一般用液体培养基,而该培养基为固体培养基,A项错误。牛肉膏和蛋白胨都可以为微生物提供氮源,B项正确。琼脂是凝固剂,不能为微生物提供能源,C项错误。该培养基中牛肉膏能为微生物提供磷酸盐(无机盐),D项错误。
12. B [解析] 醋酸菌是好氧菌,所以在果醋发酵过程中,要适时通过充气口充气,这样有利于醋酸菌的代谢,A项错误;制作腐乳时,加盐腌制可使豆腐块变硬且能抑制杂菌生长,B项正确;乳酸菌是厌氧菌,用乳酸菌制作酸奶时需要严格密封,C项错误;果酒自然发酵利用的是葡萄皮上面的野生型酵母菌,新鲜的葡萄不能反复冲洗,防止冲洗掉葡萄皮上面的野生型酵母菌,D项错误。
13. B [解析] A项中的方法属于化学药剂消毒,B项中的方法属于灼烧灭菌,C项中的方法属于高温消毒,D项中的方法属于化学药剂消毒。
14. C [解析] 平板划线时的正确操作是左手将皿盖打开一条缝隙,右手将沾有菌种的接种环迅速伸入平板内,划三至五条平行线,盖上皿盖。注意不要划破培养基。然后灼烧接种环,待其冷却后,从第一区域划线的末端开始往第二区域内划线。重复以上操作,在三、四、五区域内划线。注意不要将最后一区的划线与第一区相连。
15. C [解析] 从土壤中分离细菌的步骤为土壤取样→制备土壤溶液→梯度稀释→涂布平板,C项正确。
16. C [解析] 从土壤中分离以尿素为氮源的细菌时,将土壤用无菌水稀释,制备土壤稀释液,将不同浓度的土壤稀释液涂布于不同平板上;用加入酚红指示剂的鉴别培养基可以鉴别分解尿素的细菌;从周围出现红色环带的菌落中挑取能够分泌脲酶的菌株。
17. D [解析] ①菌落的形状是菌落的特征之一;②菌落的大小是菌落的特征之一;③菌落的多少不属于菌落的特征;④隆起程度属于菌落特征;⑤菌落的颜色属于

- 菌落特征;⑥有无荚膜是单个细菌细胞的特征,不是菌落的特征。
18. D [解析] 在以尿素作为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂鉴定尿素分解菌,D项错误。
19. D [解析] 稀释涂布平板法可以用于分离微生物以及对微生物计数;接种时要连续划线,这样可以获得单菌落;以尿素为唯一氮源且含酚红指示剂的培养基可用来选择和鉴别尿素分解菌;在大白菜腌制过程中,开始时细菌大量繁殖,亚硝酸盐含量增加,一般在腌制10天后亚硝酸盐含量开始下降。
20. D [解析] 对于频繁使用的菌种,可以采用临时保藏的方法,A项正确;临时保藏的菌种一般是接种到试管的固体斜面培养基上,在合适的温度下培养,等到菌落长成后,放入冰箱低温保藏,B项正确;临时保藏的菌种由于频繁转种,容易被污染或产生变异,C项正确;对于需要长期保存的菌种,可以采用甘油管藏的方法,置于-20℃的冷冻箱中,D项错误。
21. (1)①有以核膜为界限的细胞核
②体积分数为70%的酒精
③果醋 防止空气中杂菌的污染,排出发酵过程产生的气体
(2)乳酸菌
[解析] (1)①酵母菌属于真核生物,而醋酸菌属于原核生物,真核细胞和原核细胞在结构上的主要区别是真核细胞有以核膜为界限的细胞核。②葡萄汁装入发酵瓶之前要将发酵瓶清洗干净,用体积分数为70%的酒精消毒。③醋酸菌是需氧型生物,因此制作果醋时应将开关2打开;长而弯曲的胶管1在发酵过程中的作用是防止空气中杂菌的污染,排出发酵过程中产生的气体。(2)用鲜牛奶发酵制作酸奶时,发挥作用的微生物是乳酸菌。
22. (1)固体 避免其他菌种污染,保证产品的质量
(2)析出豆腐中的水分,使豆腐块变硬 抑制微生物的生长,避免豆腐块腐败变质
(3)尿素 葡萄糖 为目的菌提供氧气
(4)稀释涂布平板法(或平板划线法)
(5)灭菌
[解析] (1)腐乳的生产过程中,豆腐块相当于毛霉的培养基,按其状态称为固体培养基。现代腐乳的生产需要严格的无菌操作,将毛霉菌种接种在豆腐上,可以避免其他菌种污染,保证产品的质量。(2)制作腐乳时,加盐腌制的目的是析出豆腐块中的水分,使豆腐块变硬和抑制微生物的生长,避免豆腐块腐败变质。(3)筛选尿素分解菌时的选择培养基中的氮源为尿素,碳源为葡萄糖。尿素分解菌是异养需氧型微生物,培养时需要振荡培养,可以为目的菌提供氧气。(4)获得单菌落常用的接种方法是稀释涂布平板法或平板划线法。(5)实验结束后,为避免感染操作者和污染环境,对使用过的培养基应进行灭菌处理后才能倒掉。
23. (1)丙酮酸、[H]、ATP 创造无氧环境

- (2)重氮化 亚硝酸
(3)乳酸积累
(4)有氧呼吸 酸性重铬酸钾
(5)种群
- 【解析】**(1)泡菜制作使用的菌种是乳酸菌,该菌只能进行无氧呼吸,其呼吸第一阶段的产物有丙酮酸、 $[H]$ 、ATP。在泡菜的腌制过程中,泡菜坛一般用水密封,目的是创造无氧环境,有利于乳酸菌的代谢、繁殖。(2)蔬菜在腌制过程中会产生亚硝酸盐,在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应。亚硝酸盐在特定的条件下会转变为致癌物亚硝胺。(3)泡菜腌制后期,乳酸积累会导致泡菜中 pH 下降。(4)从图可知,乙图的搅拌是为了增加溶氧量,以利于酵母菌进行有氧呼吸,增加数量;丙图隔绝空气利于酵母菌发酵产生酒精;酒精可用酸性重铬酸钾试剂检验。(5)从野生酵母菌群中分离纯化酵母菌接种后,培养基上会出现一些分别由一个酵母菌繁殖而成的种群。
24. (1)灼烧灭菌 干热灭菌
(2)酒精灯火焰 倒置 恒温培养箱
(3)鉴别 氨 越强
(4)B
- 【解析】**(1)常用的灭菌方法有高压蒸汽灭菌、灼烧灭菌和干热灭菌。(2)在稀释土壤溶液的过程中每一步都要在酒精灯火焰旁进行操作,防止杂菌污染;接种后的培养皿倒置于 37°C 的恒温培养箱中培养,培养皿倒置既可避免培养基中的水分过快地挥发,又可防止皿盖上的水珠落入培养基,造成污染,恒温为微生物的快速生长提供温度条件。(3)含有酚红指示剂的培养基从功能上划分属于鉴别培养基;尿素被分解产生的氨使 pH 升高,酚红指示剂产生颜色变化;变色区域越大,表明该菌株利用尿素的能力越强。(4)全营养培养基中营养全面,菌落数多,以尿素为唯一氮源的培养基中只有能分解尿素的微生物能生长,其他微生物不能生长,菌落数少,选 B。
25. (1)倒平板 灭菌
(2)平板划线法 6
(3)临时保藏 菌种容易被污染或产生变异
(4)能量 $30\sim 35$
- 【解析】**(1)①是制备培养基时倒平板中的主要操作,该操作需使锥形瓶的瓶口通过火焰,目的是通过灭菌,防止瓶口的微生物污染培养基。(2)根据图④可知,该纯化醋酸菌的接种方法是平板划线法。平板划线时,每次划线前都要灼烧接种环,最后一次划线结束也要灼烧接种环,因此共需要进行 6 次灼烧处理。(3)纯化的醋酸菌菌种将频繁用于果醋生产,则可以采用临时保藏的方法保存菌种,但这种方法保存的时间不长,原因是菌种容易被污染或产生变异。(4)将醋酸菌加入果酒中,乙醇可为醋酸菌的生命活动提供能量;果醋发酵的适宜温度是 $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ 。

26. (1)固体 选择(性)
(2)样品稀释液中的一个活菌
(3) $30\sim 300$ 两个或多个细胞连在一起时,平板上观察到的的是一个菌落
(4)经 X 射线照射后导致尿素分解菌发生基因突变,从而缺少合成某种维生素所必需的酶
- 【解析】**(1)培养基配方中含有琼脂(凝固剂),所以该培养基是固体培养基;培养基中的氮源只有尿素,因此能筛选出尿素分解菌,故该培养基属于选择培养基。(2)当样品稀释度足够高时,培养基表面生长的一个菌落来源于样品稀释液中的一个活菌,此时通过统计平板上的菌落数,就能推测出样品中的活菌数。(3)为了保证结果准确,一般选择菌落数在 $30\sim 300$ 的平板进行计数。即使样品稀释度足够高,但仍有可能两个或多个细胞连到一起,此时平板上观察到的只是一个菌落,因此统计的菌落数往往比活菌的真实数目低。(4)用 X 射线照射尿素分解菌,可能诱导其发生基因突变,若基因突变使尿素分解菌缺少合成某种维生素所必需的酶,则其不能在缺某种维生素的培养基中生长。
27. (1)纤维素 C_1 酶、 C_x 酶和葡萄糖苷酶
(2)纤维素 刚果红 红 透明圈
(3)富含纤维素(答案合理即可) 灭菌
- 【解析】**(1)纤维素酶是一种复合酶,一般认为它至少包含三种组分,即 C_1 酶、 C_x 酶、葡萄糖苷酶,前两种酶使纤维素分解为纤维二糖,第三种酶将纤维二糖分解为葡萄糖;正是在这三种酶的协同作用下,纤维素最终被分解为葡萄糖,为微生物的生长提供营养,同样,也可以被人类利用。(2)一般利用添加了纤维素的选择培养基分离纤维素分解菌,利用刚果红染色法筛选纤维素分解菌,这种方法能够通过向培养基中加入刚果红,看是否产生透明圈直接对微生物进行筛选。(3)能产生纤维素酶的微生物应多分布在富含纤维素的环境中。接种前需要对接种植器材进行灭菌处理。
28. (1)蛋白胨、苯酚 (2)增加 稀释涂布 凝固剂
(3)③ (4)0、0.2、0.4、0.6、0.8 ③
- 【解析】**(1)蛋白胨、苯酚都可以作为碳源。(2)为了筛选酚降解菌,苯酚用量应随转接次数增加而逐渐增加。若平板中菌落过于密集,说明浓度太大,为方便菌落计数与分离,应进一步稀释涂布。平板培养基为固体培养基,制备时必须添加凝固剂。(3)连续划线法中在划线的末尾区域菌种浓度最小,更易获得单菌落。(4)1 号比色管作为对照,苯酚浓度为 0 mg/L ,1~6 号比色管苯酚浓度由 0 mg/L 逐渐增加到 1 mg/L ,且有梯度,所以 1~5 号比色管的苯酚浓度应分别为 0 mg/L 、 0.2 mg/L 、 0.4 mg/L 、 0.6 mg/L 、 0.8 mg/L 。废水为 50 mg/L 苯酚溶液,降解后约有 21% 的苯酚残留,则需将残留液稀释③20 倍后,再进行比色。