

专题十三 生物技术实践

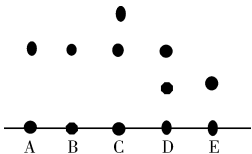
考点限时训练(十四)

1. 泡菜与酸奶均采用乳酸菌进行发酵,现有研究人员打算从泡菜中获取可用于酸奶发酵的乳酸菌种,其操作如下:

- (1)使用_____法将少量泡菜汁接种于培养基上,经厌氧培养后得到图示结果。
- (2)将上述培养基中各菌落转移至 MRS—碳酸钙固体培养基(配置方法为当 MRS 培养基冷却至 45~50℃ 时,加入已灭菌的碳酸钙,充分混匀,倒平板),厌氧培养 48 小时后,发现有部分菌落周围出现透明圈,其原因是_____。



- (3)将上述培养基中具有透明圈的菌落,转入 MRS 液体培养基,发酵 48 小时后,进行纸层析后显色处理,得到下列实验结果(A 为 1.5% 乳酸标样,其余为不同菌种发酵液),则下列菌种属于乳酸菌的是_____。



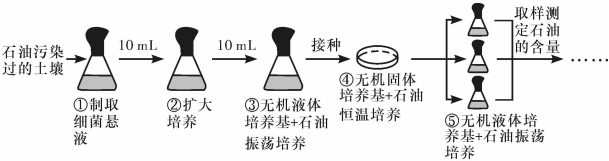
- (4)在鲜奶中加入上述菌种进行发酵后会出现固形物凝聚成团的现象,推测出现该现象的原因是_____。
- (5)因为菌种相同,部分研究人员猜测制作酸奶的过程中可能会产生亚硝酸盐,进而测出酸奶中的亚硝酸盐含量为 1 mg/kg,于是他们认为制作酸奶的过程中会产生亚硝酸盐,但是另一些研究人员认为这个结论不可靠,其理由是_____。

请给出改进实验的思路,进一步确定此结论的可靠性:

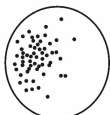
方案改进:_____。

预期结果和结论:若_____,则说明酸奶发酵过程中会产生亚硝酸盐。

2. 为了分离和纯化高效分解石油的细菌,科研人员利用被石油污染过的土壤进行如图中 A 所示的实验。

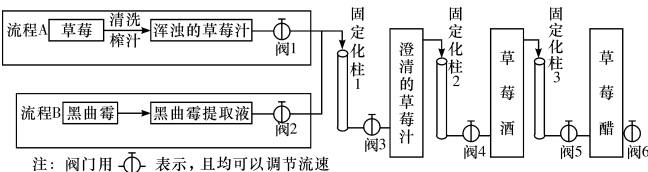


A



B

- (1)在微生物培养操作过程中,为防止杂菌污染,需对培养基和培养器皿进行_____ (填“消毒”或“灭菌”)处理;操作者的双手需要进行清洗和_____ ;步骤③与步骤②中培养基成分相比,最大的区别是_____。
 - (2)同学甲进行步骤④的操作,其中一个平板经培养后的菌落分布如图 B 所示。该同学的接种方法是_____,在操作时,滴加到培养基表面的菌悬液量不宜过多的原因是_____ ;出现图中结果可能的操作失误是_____。
 - (3)步骤⑤后取样测定石油含量的目的是_____。
 - (4)筛选和鉴别不同微生物的方法有一定的差异,在鉴别纤维素分解菌时,在该培养基中需要加入的特殊染料是_____,当形成菌落以后可以根据菌落周围是否产生_____ 来筛选纤维素分解菌。
3. 草莓是时令水果,可以制作成草莓汁、草莓酒和草莓醋三种产品,且深受大众喜爱。某企业进行相关的制作实验,如下图所示。



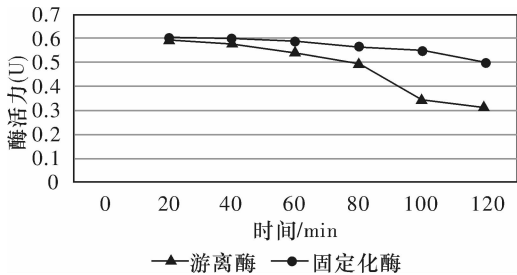
注: 阀门用 表示,且均可以调节流速

- (1)生产草莓酒、草莓醋常用的菌种分别是_____,黑曲霉提取液中含有使果汁澄清的酶包括_____ 三种。
- (2)检测草莓酒、草莓醋的制作是否成功,均可用_____ 这两种最简易方法来初步判断。
- (3)生产中先打开阀门 2,目的是让固定化柱 1 中填充的石英砂,通过_____ 方式将酶固定化。固定化柱 2 中选择固定化酶还是固定化细胞更有利于生产,请从酶的角度说明原因:_____。
- (4)工业生产上述三种产品时,固定化柱 1、2、3 中需要防止外来杂菌的是_____ (填写编号),如果固定化柱 3 中固定的是优良菌种,且流入的草莓酒质量很好,但是生产的草莓醋产量和质量不够高,排除温度和 pH 以外的原因可能是_____ (写三点)。

4. 纤维素酶在生产、生活中应用十分广泛,请回答下列问题:

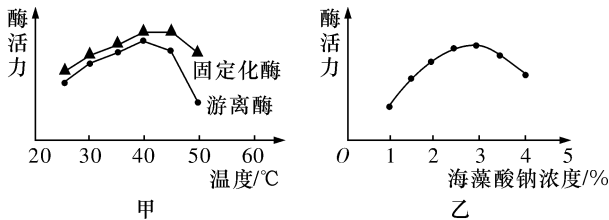
- (1)一般认为,纤维素酶至少包括三种组分,即_____。

- (2)可以利用分解纤维素的微生物提取纤维素酶,鉴别这类微生物可用_____法。
- (3)棉麻织物的主要成分是纤维素,但含纤维素酶的洗衣粉仍可洗涤这类衣物,原因是_____。
- (4)为提高纤维素酶的利用率,科研人员将纤维素酶与海藻酸钠混合后,滴加到一定浓度的氯化钙溶液中,使液滴形成凝胶珠,该方法称为_____。其中氯化钙的作用是_____。若凝胶珠中纤维素酶量少,原因可能是_____。
- (5)该科研人员进一步探究纤维素酶固定化后的热稳定性变化。将固定化酶和游离酶置于 60 ℃ 水浴中,每 20 min 测定其活力一次。结果如图所示。

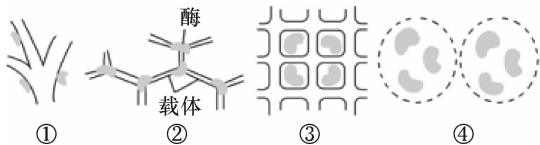


据图分析,纤维素酶固定后热稳定性_____,依据是_____。

5. 东北农业大学科研人员利用双重固定法,即采用戊二醛作交联剂(使酶相互连接),海藻酸钠作为包埋剂来固定小麦酯酶,研究固定化酶的性质,并对其最佳固定条件进行了探究。如图显示的是部分研究结果(注:酶活力为固定化酶催化化学反应的总效率,包括酶活性和酶的数量),请分析回答下列问题:



- (1)下列所示的酶固定化技术中属于包埋法的是_____。



- (2)从对温度变化的适应性和应用范围的角度分析,图甲所示结果可以得出的结论是_____对温度变化的适应性更强且应用范围更广。
- (3)图乙曲线表明浓度为_____的海藻酸钠溶液包埋效果最好,当海藻酸钠溶液浓度较低时,酶活力低的原因是_____。
- (4)固定小麦酯酶不采用海藻酸钠直接包埋,而是用戊二醛作交联剂,这是因为_____。

6. 某同学对“血红蛋白的提取和分离”实验进行改进和研究,实验步骤如图 1 所示。请回答下列问题:

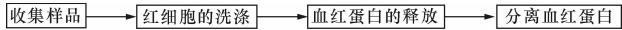


图1

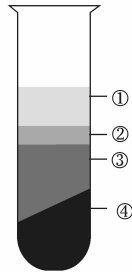
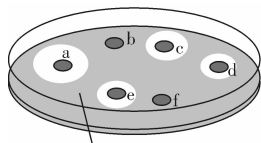


图2

- (1)血红蛋白由 4 条肽链组成,包括_____,血红蛋白因含有_____而呈红色,这有利于对提取过程的监测。
- (2)洗涤红细胞的目的是_____。将样品稀释后转移至离心管中,离心后选取_____ (填“上层”或“下层”)暗红色的红细胞液体并将其转入烧杯中,加入 5 倍体积的_____进行洗涤。
- (3)待红细胞破裂释放血红蛋白后,将得到的混合溶液充分搅拌并离心,结果如图 2 所示。血红蛋白分布在图 2 的_____ (填序号)层,用滤纸过滤,可得到含血红蛋白的滤液。
- (4)将滤液装入透析袋中,可除去_____的杂质。
7. 枯草芽孢杆菌盛产的蛋白酶,在生物医药和日用化工等生产领域具有重要的经济价值。为筛选枯草芽孢杆菌的蛋白酶高产株,将分别浸过不同菌株(a~e)的分泌物提取液及无菌水(f)的无菌圆纸片置于含某种高浓度蛋白质的平板培养基表面;在 37 ℃ 恒温箱中放置 2~3 天,结果如图 1。图 2 是枯草芽孢杆菌的蛋白酶和其他酶的热稳定性数据(酶在不同温度下保温足够长的时间,再在酶活性最高的温度下测其酶活性)。请回答问题:



灭菌后培养基中高浓度的蛋白质导致培养基不透明
图1

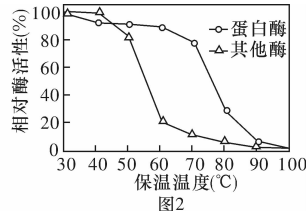
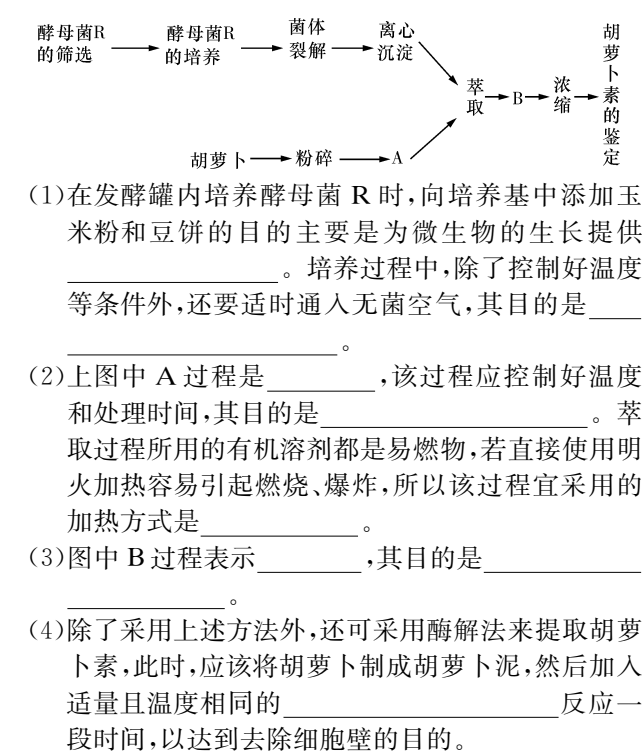


图2

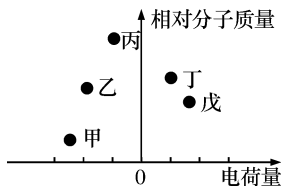
- (1)在培养包括枯草芽孢杆菌在内的异养型微生物时,培养基营养成分应包括水、_____(填 3 种),配制如图 1 培养基的基本步骤是计算→称量→_____→灭菌→倒平板。
- (2)大规模产业化生产应首选的菌株是_____ (用字母回答),菌株 b 提取物周围没有形成明显清晰区的可能原因是_____。
- (3)在该蛋白酶的工业化生产过程中,通常需对发酵液在 60~70 ℃ 保温一定时间,再制备酶制剂。在 60~70 ℃ 保温一定时间的作用是_____。

- (4)欲从 a 菌株中提取和分离相关蛋白酶,一般步骤为_____。分离出来的样品加入到_____进行洗脱,待蛋白质接近色谱柱底端时用试管收集流出液。
- 8.β-胡萝卜素是一种对人体有益的天然色素,被广泛地用作食品、饮料、饲料的添加剂。下图表示从产胡萝卜素的酵母菌菌体或胡萝卜中提取、获得胡萝卜素的操作流程。请回答下列问题:



- (1)在发酵罐内培养酵母菌 R 时,向培养基中添加玉米粉和豆饼的目的主要是为微生物的生长提供_____。培养过程中,除了控制好温度等条件外,还要适时通入无菌空气,其目的是_____。
- (2)上图中 A 过程是_____,该过程应控制好温度和处理时间,其目的是_____。萃取过程所用的有机溶剂都是易燃物,若直接使用明火加热容易引起燃烧、爆炸,所以该过程宜采用的加热方式是_____。
- (3)图中 B 过程表示_____,其目的是_____。
- (4)除了采用上述方法外,还可采用酶解法来提取胡萝卜素,此时,应该将胡萝卜制成胡萝卜泥,然后加入适量且温度相同的_____反应一段时间,以达到去除细胞壁的目的。

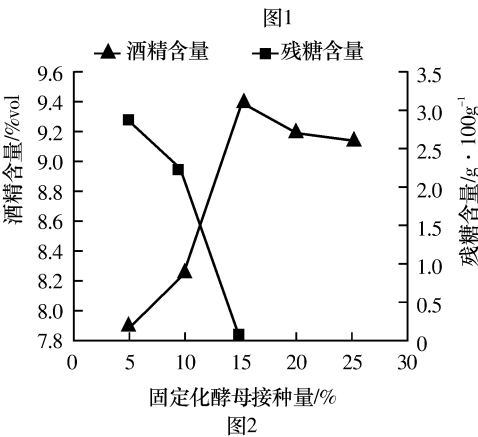
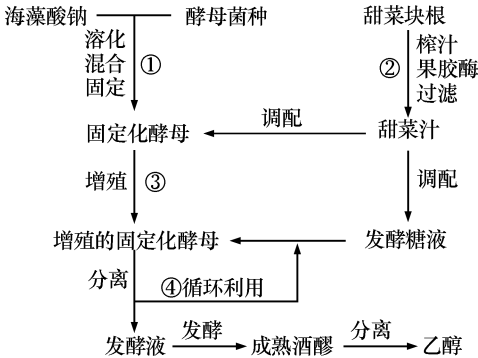
- 9.根据现代生物技术的相关知识,回答下列问题:
- (1)用葡萄制作的果酒酒味纯正,放置一段时间后,发现果酒带有明显的酸味,原因是密封不严,醋酸菌进行有氧呼吸,将果酒转变成了果醋,用反应式表示:_____ ; 果酒发酵结束后,为方便后续使用,可将菌液转移到甘油中,与之充分混匀后,放在-20℃的冷冻箱中保存,此方法叫做_____。
- (2)对分离的能分解尿素的细菌进行鉴定,在以尿素为唯一氮源的培养基中加入_____,培养后如果 pH 升高,指示剂将变红,因为细菌合成的_____能将尿素分解成氨,使培养基碱性增强。
- (3)已知某样品中存在甲、乙、丙、丁、戊五种蛋白质分子,其分子大小、所带电荷的性质和数量情况如图所示。



- ①将样品装入透析袋中透析 12 h,若分子乙保留在袋内,则分子_____也保留在袋内。

- ②若用凝胶色谱柱分离样品中的蛋白质,则分子_____移动速度最快。
- ③若将样品以 2 000 r/min 的速度离心 10 min,分子戊存在于沉淀中,则分子_____可能不存在于沉淀中。

- 10.研究人员利用固定化酵母直接发酵甜菜汁生产燃料乙醇,下图 1 表示相关的工艺流程,图 2 为不同固定化酵母接种量对发酵的影响。请分析回答:



- (1)图 1 的步骤①中,溶化海藻酸钠时要注意_____,步骤②中加入果胶酶的作用是_____。步骤③中进行增殖培养的目的是_____。
- (2)图 1 的步骤④体现了固定化酵母_____的优点。研究表明使用固定化酵母的酒精产量平均值高于游离酵母的对照组,可能的原因是_____。
- (3)由图 2 可知,固定化酵母接种量为_____时酒精产量最高。接种量过高,酒精产量反而有所降低的原因是_____。
- (4)研究表明,固定化酵母更适于甜菜糖液的发酵环境,由此可以通过_____的方法来提高固定化酵母对发酵糖液的耐受性,从而达到提高发酵效率的目的。