

专题十三 生物技术实践

考纲要求

1. 微生物的利用:(1)微生物的分离和培养;(2)某种微生物数量的测定;(3)培养基对微生物的选择作用;(4)利用微生物发酵来生产特定的产物以及微生物在其他方面的应用。2. 酶的应用:(1)酶活力测定的一般原理和方法;(2)酶在食品制造和洗涤方面的应用;(3)制备和应用固定化酶。3. 生物技术在食品加工及其他方面的应用:(1)从生物材料中提取某些特定的成分;(2)运用发酵加工食品的基本方法;(3)测定食品加工中可能产生的有害物质;(4)蛋白质的提取和分离。

主干整合

(一)传统发酵技术的应用

1. 4种传统发酵食品的生产技术

项目	果酒	果醋	腐乳	泡菜
菌种	酵母菌	醋酸杆菌	毛霉	乳酸菌
原理	酵母菌 _____产生酒精	醋酸杆菌 _____产生醋酸	毛霉代谢产生 _____	乳酸菌 _____产生乳酸
控制条件	前期有氧后期无氧, ____℃左右	有氧,____ ____℃	有氧,____ ____℃	无氧,常温
实验流程	挑选葡萄 ↓ 冲洗 ↓ 榨汁 ↓ 酒精发酵 → 得到果酒 ↓ 醋酸发酵 → 得到果醋	让豆腐上长出毛霉 ↓ 加盐腌制 ↓ 加卤汤装瓶 ↓ 密封腌制	选择原料 ↓ 修整、洗涤、晾晒、切分成条状或片状 ↓ 加入调味料、装坛 ↓ 发酵 ↓ 成品	称取食盐 ↓ 配制盐水 ↓ 泡菜盐水 ↓ 加入调味料、装坛 ↓ 发酵 ↓ 成品

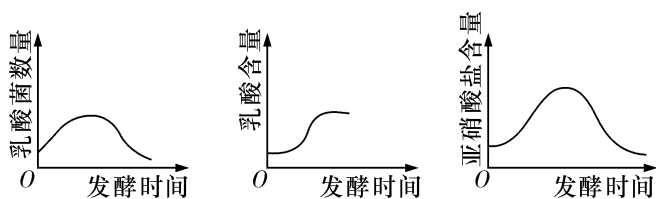
2. 果酒和果醋发酵装置的设计思路

(1)因酵母菌的繁殖需要空气,醋酸菌是好氧菌,所以在果酒制作的前期和果醋制作的整个过程中都_____。因酵母菌产生酒精是在无氧条件下,应控制充入氧的量,故应在_____设置开关。

(2)由于在酒精发酵过程中产生_____,因此又需设置排气口;为防止_____,排气口应连接一个长而弯曲的胶管。

(3)为便于取样及监测发酵情况,需要设置_____。

3. 下图表示乳酸菌、乳酸、亚硝酸盐的量随时间变化的曲线



(1)在泡菜制作过程中,亚硝酸盐的含量也是变化的,一般是_____,测定亚硝酸盐含量的目的是掌握取食泡菜的最佳时间。

(2)在盐酸酸化条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生_____反应后,与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成_____染料,通过_____比较,可大致估算出亚硝酸盐的含量。

(二)微生物的培养与应用

1. 微生物培养中的无菌操作技术

(1)3种常用的消毒方法:_____,_____及化学药剂消毒法。

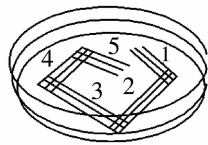
(2)3种常用的灭菌方法:_____灭菌——接种环、接种针等金属器具;_____灭菌——主要针对玻璃器皿等;_____灭菌——主要针对培养基等。

2. 理清微生物培养的4种基本操作

(1)培养基的制备:计算→称量→溶化→_____→_____。

(2)倒平板操作:待培养基冷却至_____左右时,在_____附近倒平板。

(3)平板划线操作:通过接种环在琼脂固体培养基表面_____



_____的操作,将聚集的菌种_____

_____分散到培养基的表面。注意划线的方法如右图所示。

(4)稀释涂布平板法:先将菌液进行一系列的_____稀释,然后将不同稀释度的菌液分别涂布到琼脂固体培养基的表面,进行培养。在_____的菌液里,聚集在一起的微生物将被分散成_____,从而能在培养基表面形成单个的菌落。

3. 掌握微生物分离与计数的两个实例

(1)土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

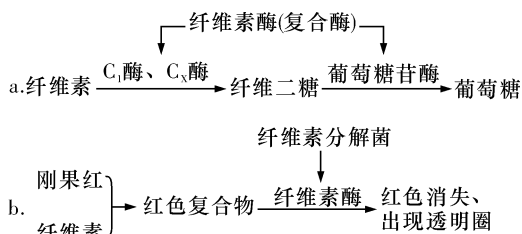
①筛选菌株:利用_____筛选菌株。
②过程:土壤取样→_____→微生物的培养与观察→细菌的计数。

③测定微生物数量的常用方法:活菌计数法和_____直接计数。

④鉴定方法:用含酚红指示剂的并以_____为唯一氮源的培养基培养细菌→指示剂_____,则该菌能分解尿素。

(2)分解纤维素的微生物的分离

①原理:



②流程: 土壤取样 → _____ → 梯度稀释 → _____ → 挑选菌落。

a. 分离能分解纤维素的微生物时,有时需要进行选择培养,选择培养的目的是 _____, 以确保用 _____ 法鉴别时确实能得到所需菌种。

b. 培养基: 以 _____ 为唯一碳源的选择培养基。

c. 筛选方法: 刚果红染色法, 即通过是否产生 _____ 来筛选纤维素分解菌。

4. 掌握统计微生物数目的方法

(1)显微镜直接计数法

①原理: 利用特定细菌计数板或血细胞计数板, 在显微镜下计算一定容积的样品中微生物的数量。

②缺点: 不能区分 _____。

(2)间接计数法(活菌计数法)

①原理: 当样品的稀释度足够高时, 培养基表面生长的一个菌落, 来源于样品稀释液中的 _____, 通过统计平板上的菌落数, 就能推测出样品中大约含有多少个活菌。

②计算公式: 每克样品中的菌株数 = $(C \div V) \times M$, 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。

③操作: 设置 _____, 增强实验的说服力与准确性。同时为了保证结果准确, 一般选择菌落数在 _____ 的平板进行计数。

(三)酶的研究与应用

1. 直接使用酶、固定化酶和固定化细胞的比较

	直接使用酶	固定化酶	固定化细胞
制作方法		① _____ 法固定化、② _____ 法固定化	③ _____ 固定化
是否需要营养物质	否	否	是
催化反应	单一或多种	单一	一系列
反应底物	各种物质(大分子、小分子)	各种物质(大分子、小分子)	④ _____

	直接使用酶	固定化酶	固定化细胞
缺点	①对环境条件非常敏感, 易失活; ②难回收, 成本高, 影响产品质量	不利于催化一系列酶促反应	反应物不易与酶接近, 尤其是大分子物质, 反应效率下降
优点	催化效率高、耗能低、低污染	⑤ _____; ⑥ _____	成本低、操作容易

2. 加酶洗衣粉的洗涤效果的探究

(1)判断加酶洗衣粉洗涤效果的方法: 可在洗涤后比较污物的残留状况, 如 _____ 等。

(2)加酶洗衣粉的洗涤效果的探究方法: 实验设计遵循的原则是 _____ 原则和 _____ 原则, 如探究普通洗衣粉和加酶洗衣粉对衣物污渍的洗涤效果有何不同时, 以控制洗衣粉的种类为变量, 其他条件完全一致; 同时, 普通洗衣粉处理污物与加酶洗衣粉处理污物形成对照实验。

(3)变量的分析和控制: 影响加酶洗衣粉洗涤效果的因素有 _____、衣物的材质、衣物大小、浸泡时间、洗涤的方式和洗涤的时间等。在选择适宜的变量作为探究课题的时候, 应注意切合实际, 如选择水温时, 我们可以选择一年中冬季、春季、秋季和夏季的实际常温 5℃、15℃、25℃和 35℃进行实验。

(四)血红蛋白的提取和分离

血红蛋白的提取、分离及纯度鉴定的两种方法三个操作四个步骤

1. 提取、分离血红蛋白的两种方法: _____ 法和电泳法。

2. 分离、提纯血红蛋白和纯度鉴定的三个操作: 样品的处理及粗分离 → _____ 操作 → SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳。

3. 血红蛋白样品提取和分离的四个步骤: 样品处理 → _____ → _____ → 纯度鉴定。

4. 血红蛋白样品处理及粗分离的四个步骤: 红细胞的洗涤 → _____ → _____ → 透析。

(五)植物有效成分的提取

1. 植物有效成分提取的 3 种方法的比较

提取方法	实验原理	适用范围
水蒸气蒸馏法	利用水蒸气将挥发性较强的植物芳香油携带出来, 形成 _____, 冷却后, 混合物又会重新分出 _____	适用于提取玫瑰油、薄荷油等 _____ 的芳香油

提取方法	实验原理	适用范围
压榨法	通过机械加压,压榨出果皮中的芳香油	适用于柑橘、柠檬等易_____原料中芳香油的提取
有机溶剂萃取法	使芳香油溶解在_____中,蒸发溶剂后就可获得芳香油	适用范围广,要求原料的颗粒要尽可能细小,使芳香油能充分溶解在有机溶剂中

2. 植物芳香油提取实验流程设计

(1) 玫瑰精油提取的实验流程

鲜玫瑰花+清水(1:4)→_____→油水混

合物 $\xrightarrow[\text{NaCl}]{\text{加入}}$ 分离油层 $\xrightarrow[\text{Na}_2\text{SO}_4]{\text{加入无水}}$ _____ $\xrightarrow{\text{过滤}}$ 玫瑰精油。

(2) 橘皮精油提取的实验流程

_____ 浸泡橘皮→漂洗→_____→过滤→静置→再次过滤→橘皮精油。

(3) 提取胡萝卜素的实验流程:胡萝卜→粉碎→干燥

→_____→过滤→_____→胡萝卜素。

高分必知

(正确的划“√”,错误的划“×”)

- 果醋发酵包括无氧发酵和有氧发酵。 ()
- 酵母菌在无氧条件下利用葡萄汁产生酒精。 ()
- 泡菜腌制利用了乳酸菌的乳酸发酵。 ()
- 腐乳制作利用了毛霉等微生物的蛋白酶和脂肪酶。 ()
- 在制作腐乳时,将长满毛霉的豆腐装瓶腌制时,底层和近瓶口处需加大用盐量。 ()
- 某研究小组从有机废水中分离微生物用于废水处理,接种后的培养皿须放在光照培养箱中培养。 ()
- 纯化菌种时,为了得到单菌落,常采用的接种方法有平板划线法和稀释涂布平板法。 ()
- 在琼脂固体培养基上长出的单个菌落含有多种细菌。 ()
- 检测土壤中细菌总数实验操作中,确定对照组无菌后,选择菌落数在 300 以上的实验组平板进行计数。 ()
- 培养微生物的培养基分装到培养皿后进行灭菌。 ()
- 如果将酶直接添加到洗衣粉中,过不了多久,酶就会失活。 ()
- 凝胶色谱法是根据相对分子质量的大小分离蛋白质的有效方法。 ()
- SDS 与蛋白质结合后,能掩盖不同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。 ()

14. 提取血红蛋白时,红细胞需要重复洗涤三次直到上清液呈黄色。 ()

15. 薄荷油是挥发性物质,提取薄荷油时应选用干薄荷叶作原料,可采用水蒸气蒸馏法提取。 ()

16. 用萃取法提取薄荷油时,采用的溶剂是酒精,原理是薄荷油易溶于有机溶剂酒精中。 ()

17. 用萃取法提取胡萝卜素的主要步骤是:干燥、粉碎、萃取、浓缩、过滤。 ()

18. 在胡萝卜颗粒的加热干燥过程中,温度过高和时间过长会导致胡萝卜素分解。 ()

19. 提取的胡萝卜素可通过纸层析法进行鉴定,在鉴定过程中不需要对照。 ()

20. 新鲜的胡萝卜含水量高,干燥时可采用高温以节省时间。 ()

归纳提炼

1. 传统发酵技术必须控制的发酵条件

(1) 发酵过程都需要进行器材消毒、灭菌和无菌操作。

(2) 加入抑制杂菌繁殖的物质,如酒精、香辛料等。

(3) 控制发酵温度、pH、氧气浓度和发酵时间。

2. 腐乳制作中盐、酒和各种香辛料的作用有共同之处:

既具有调味作用,也具有杀菌防腐的作用。

3. 有关选择培养基作用原理的 3 个易错点

(1) 在培养基中加入某种化学物质。例如,加入青霉素可以分离出酵母菌和霉菌;加入高浓度的食盐可以得到金黄色葡萄球菌。这里的“加入”是在主要营养成分完备的基础上进行的。

(2) 改变培养基中的营养成分。缺乏氮源时可以分离出固氮微生物;以石油作为唯一碳源时,可以分离出能消除石油污染的微生物。

(3) 改变微生物的培养条件。例如,将培养基放在高温环境下培养,可以得到耐高温的微生物。

4. 关注两种对照组与一种重复组

(1) 将一未接种的选择培养基与接种的选择培养基一起培养——用于确认培养基灭菌是否彻底(制备是否合格)。

(2) 将一接种的普通培养基与接种的选择培养基一起培养——用于确认选择培养基是否起到“筛选”作用。

(3) 进行微生物计数时,每一稀释度下涂布三个平板,即设置重复组,是为了求平均值,提高计数准确度。

5. 植物有效成分提取的 3 个易错点

(1) 在玫瑰精油的提取过程中,加入 NaCl 的目的是增加盐的浓度,有利于玫瑰精油与水分层,加入无水 Na_2SO_4 的目的是吸收精油中残留的水分。

(2) 提取橘皮精油时,橘皮要浸透,这样压榨时不易滑脱,且出油率高,过滤时不会堵塞筛眼。提取橘皮精油

时需两次过滤:第一次用普通的布袋过滤,第二次用滤纸过滤。

(3)影响萃取的因素:萃取的效率主要取决于萃取剂的性质和使用量,此外,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也能影响萃取效果。因此在萃取的过程中,要先将胡萝卜粉碎,并干燥脱水,使之与萃取剂充分接触,可提高萃取效率。另外,一般萃取时间长一些,效果就会好些。

真题感悟

【例 1】(2019 全国卷 I · 37)已知一种有机物 X(仅含有 C、H 两种元素)不易降解,会造成环境污染。某小组用三种培养基筛选土壤中能高效降解 X 的细菌(目标菌)。

I 号培养基:在牛肉膏蛋白胨培养基中加入 X(5 g/L)。

II 号培养基:氯化钠(5 g/L),硝酸铵(3 g/L),其他无机盐(适量),X(15 g/L)。

III 号培养基:氯化钠(5 g/L),硝酸铵(3 g/L),其他无机盐(适量),X(45 g/L)。

回答下列问题:

(1)在 I 号培养基中,为微生物提供氮源的是_____。II、III 号培养基中为微生物提供碳源的有机物是_____。

(2)若将土壤悬浮液接种在 II 号液体培养基中,培养一段时间后,不能降解 X 的细菌比例会_____,其原因是_____。

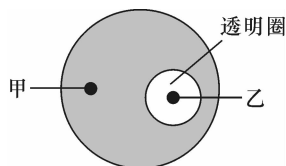
(3)II 号培养基加入琼脂后可以制成固体培养基,若要以此固体培养基培养目标菌并对菌落进行计数,接种时,应采用的方法是_____。

(4)假设从 III 号培养基中得到了能高效降解 X 的细菌,且该菌能将 X 代谢为丙酮酸,则在有氧条件下,丙酮酸可为该菌的生长提供_____和_____。

【例 2】(2019 全国卷 II · 37)物质 W 是一种含氮有机物,会污染土壤。W 在培养基中达到一定量时培养基表现为不透明。某研究小组欲从土壤中筛选出能降解 W 的细菌(目标菌)。回答下列问题:

(1)要从土壤中分离目标菌,所用选择培养基中的氮源应该是_____。

(2)在从土壤中分离目标菌的过程中,发现培养基上甲、乙两种细菌都能生长并形成菌落(如图所示)。如果要得到目标菌,应该选择_____菌落进一步纯化,选择的依据是_____。



(3)土壤中的某些微生物可以利用空气中的氮气作为氮源。若要设计实验进一步确定甲、乙菌能否利用空气中的氮气作为氮源,请简要写出实验思路、预期结果和结论,即_____。

(4)该小组将人工合成的一段 DNA 转入大肠杆菌,使大肠杆菌产生能降解 W 的酶(酶 E)。为了比较酶 E 与天然酶降解 W 能力的差异,该小组拟进行如下实验,请完善相关内容。

①在含有一定浓度 W 的固体培养基上,A 处滴加酶 E 的缓冲液,B 处滴加含有相同浓度天然酶的缓冲液,C 处滴加_____,三处滴加量相同。

②一段时间后,测量透明圈的直径。若 C 处没有出现透明圈,说明_____;若 A、B 处形成的透明圈直径大小相近,说明_____。

【例 3】(2019 全国卷 III · 37)回答下列与细菌培养相关的问题。

(1)在细菌培养时,培养基中能同时提供碳源、氮源的成分是_____ (填“蛋白胨”“葡萄糖”或“ NaNO_3 ”)。通常,制备培养基时要根据所培养细菌的不同来调节培养基的 pH,其原因是_____。

硝化细菌在没有碳源的培养基上_____ (填“能够”或“不能”)生长,原因是_____。

(2)用平板培养细菌时一般需要将平板_____ (填“倒置”或“正置”)。

(3)单个细菌在平板上会形成菌落,研究人员通常可根据菌落的形状、大小、颜色等特征来初步区分不同种的微生物,原因是_____。

(4)有些使用后的培养基在丢弃前需要经过_____处理,这种处理可以杀死丢弃物中所有的微生物。

【例 4】(2018 全国 I 卷 · 37)将马铃薯去皮切块,加水煮沸一定时间,过滤得到马铃薯浸出液。在马铃薯浸出液中加入一定量蔗糖和琼脂,用水定容后灭菌,得到 M 培养基。回答下列问题:

(1)M 培养基若用于真菌的筛选,则培养基中应加入链霉素以抑制_____的生长,加入了链霉素的培养基属于_____培养基。

(2)M 培养基中的马铃薯浸出液为微生物生长提供了多种营养物质,营养物质类型除氮源外还有_____ (答出两点即可)。氮源进入细胞后,可参与合成的生物大分子有_____ (答出两点即可)。

(3)若在 M 培养基中用淀粉取代蔗糖,接种土壤滤

液并培养,平板上长出菌落后可通过加入显色剂筛选出能产淀粉酶的微生物。加入的显色剂是_____ ,该方法能筛选出产淀粉酶微生物的原理是_____。

(4)甲、乙两位同学用稀释涂布平板法测定某一土壤样品中微生物的数量,在同一稀释倍数下得到以下结果:

甲同学涂布了3个平板,统计的菌落数分别是110、140和149,取平均值133;

乙同学涂布了3个平板,统计的菌落数分别是27、169和176,取平均值124。

有人认为这两位同学的结果中,乙同学的结果可信度低,其原因是_____。

【例5】(2018全国Ⅱ卷·37)在生产、生活和科研实践中,经常通过消毒和灭菌来避免杂菌的污染。回答下列问题:

(1)在实验室中,玻璃和金属材质的实验器具_____ (填“可以”或“不可以”)放入干热灭菌箱中进行干热灭菌。

(2)牛奶的消毒常采用巴氏消毒法或高温瞬时消毒法,与煮沸消毒法相比,这两种方法的优点是_____。

(3)密闭空间内的空气可采用紫外线照射消毒,其原因是紫外线能_____,在照射前,适量喷洒

_____,可强化消毒效果。

(4)水厂供应的自来水通常是经过_____ (填“氯气”“乙醇”或“高锰酸钾”)消毒的。

(5)某同学在使用高压蒸汽灭菌锅时,若压力达到设定要求,而锅内并没有达到相应温度,最可能的原因是_____。

【例6】(2018全国Ⅲ卷·37)回答下列与酵母菌有关的问题:

(1)分离培养酵母菌通常使用_____ (填“牛肉膏蛋白胨”“MS”或“麦芽汁琼脂”)培养基,该培养基应采用_____ 灭菌法灭菌。若将酵母菌划线接种在平板上,培养一段时间后会观察到菌落,菌落的含义是_____。

(2)酵母菌液体培养时,若通入氧气,可促进_____ (填“菌体快速增殖”“乙醇产生”或“乳酸产生”);若进行厌氧培养,可促进_____ (填“菌体快速增殖”“乙醇产生”或“乳酸产生”)。

(3)制作面包时,为使面包松软通常要在面粉中添加一定量的酵母菌,酵母菌引起面包松软的原因是_____。

温馨提示:请完成考点限时训练(十四)P137