

2023 级高二下学期生物培优 1——发酵工程

一. 判断正误

- (1)腐乳的制作需要多种微生物的参与,起主要作用的是毛霉()
- (2)泡菜制作中选材装至半坛时,放入蒜瓣、生姜及其他香辛料,继续装满()
- (3)泡菜的制作前期需要通入氧气,后期应严格保持无氧条件()
- (4)“杏花村酒”的酿制,酵母菌只进行无氧呼吸。()
- (5)各种葡萄都可以酿制出红葡萄酒()
- (6)葡萄皮上有酵母菌和醋酸菌,制作好葡萄酒后,可直接通入无菌空气制作葡萄醋()
- (7)只有在糖源充足的情况下才能进行醋酸发酵()
- (8)在青霉素生产过程中如果污染了杂菌,某些杂菌会分泌酶将青霉素分解掉()
- (9)谷氨酸的发酵生产:在中性和弱碱性条件下会积累谷氨酸;在酸性条件下则容易形成谷氨酰胺和 *N*-乙酰谷氨酰胺()
- (10)单细胞蛋白是通过发酵产生的大量微生物分泌蛋白()
- (11)发酵工程一般用半固体培养基()
- (12)培养基一般都含有水、碳源、氮源和无机盐,有时还需要加入一些特殊的物质()
- (13)培养细菌时需将培养基的 pH 调至中性或弱碱性()
- (14)倒平板时,应将打开的皿盖放到一边,以免培养基溅到皿盖上()
- (15)消毒的原则是既杀死材料表面的微生物,又减少消毒剂对细胞的伤害()
- (16)为了防止污染,接种环经火焰灭菌后应趁热快速挑取菌落()
- (17)对实验操作的空间、操作者的衣着和手,进行清洁和灭菌()
- (18)利用稀释涂布平板法统计菌落数目时,统计的菌落数就是活菌的实际数()
- (19)统计菌落数目时为保证结果准确,一般选择菌落数目最多的平板进行统计()
- (20)利用稀释涂布平板法和平板划线法均可实现细菌的分离和计数()

二、情境推理

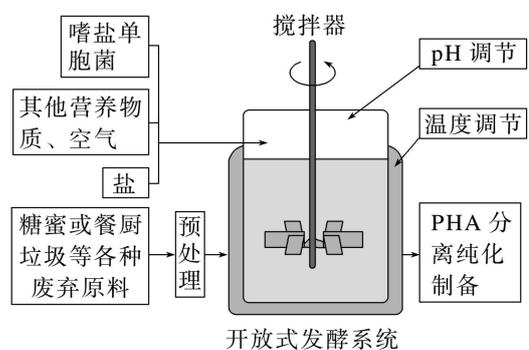
1. (2022·河北, 23 节选)番茄灰霉病菌严重影响番茄生产,枯草芽孢杆菌可以产生对多种病原菌具有抑制作用的蛋白质。为探究枯草芽孢杆菌能否用于番茄灰霉病的生物防治,研究者设计了相关实验。回答下列问题:

枯草芽孢杆菌为好氧微生物,液体培养时应采用_____ (填“静置”或“摇床震荡”)培养。培养过程中抽样检测活菌数量时,应采用_____ (填“稀释涂布平板法”或“显微镜直接计数法”),其原因是_____

2. (2021·广东, 21 节选)中国科学家运用合成生物学方法构建了一株嗜盐单胞菌 H,以糖蜜(甘蔗榨糖后的废弃液,含较多蔗糖)为原料,在实验室发酵生产 PHA 等新型高附加值可降解材料,期望提高甘蔗的整体利用价值。工艺流程如图。

回答下列问题:

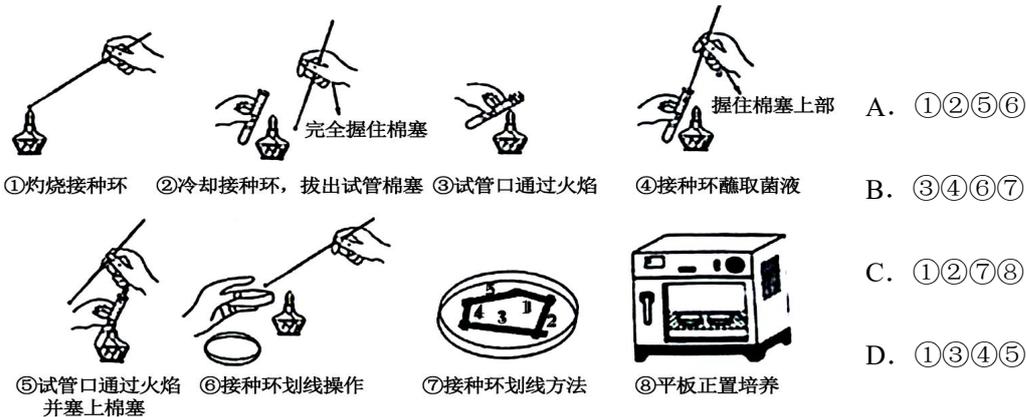
基于菌株 H 嗜盐、酸碱耐受能力强等特性,研究人员设计了一种不需要灭菌的发酵系统,其培养基盐浓度设为 60 g/L, pH 为 10,菌株 H 可正常持续发酵 60 d 以上。该系统不需要灭菌的原因是_____



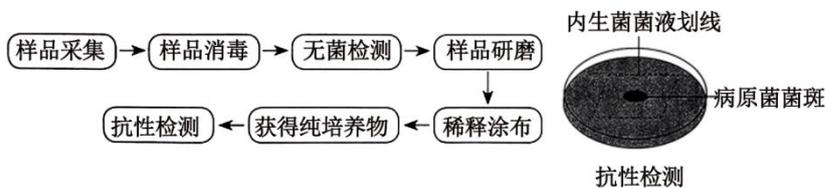
(答出两点即可)。

三、综合提升

1. 微生物平板划线和培养的具体操作如图所示，下列操作正确的是（ ）



2. (不定项) 某些香蕉植株组织中存在的内生菌可防治香蕉枯萎病，其筛选流程及抗性检测如图。下列操作正确的是（ ）

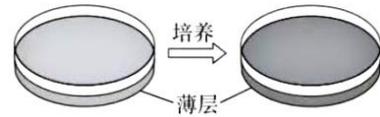


- A. 在大量感染香蕉枯萎病的香蕉种植园内，从感病植株上采集样品
 - B. 将采集的样品充分消毒后，用蒸馏水冲洗，收集冲洗液进行无菌检测
 - C. 将无菌检测合格的样品研磨，经稀释涂布平板法分离得到内生菌的单菌落
 - D. 判断内生菌的抗性效果需比较有接种内生菌的平板上的病原菌菌斑大小
3. 为避免航天器在执行载人航天任务时出现微生物污染风险，需要对航天器及洁净的组装车间进行环境微生物检测。下列叙述错误的是（ ）
- A. 航天器上存在适应营养物质匮乏等环境的极端微生物
 - B. 细菌形成菌膜粘附于航天器设备表面产生生物腐蚀
 - C. 在组装车间地面和设备表面采集环境微生物样品
 - D. 采用平板划线法等分离培养微生物，观察菌落特征
4. 制醋、制饴、制酒是我国传统发酵技术。醋酸菌属于好氧型原核生物，常用于食用醋的发酵。下列叙述错误的是（ ）
- A. 食用醋的酸味主要来源于乙酸
 - B. 醋酸菌不适宜在无氧条件下生存
 - C. 醋酸菌含有催化乙醇氧化成乙酸的酶
 - D. 葡萄糖在醋酸菌中的氧化分解发生在线粒体内
5. 在发酵过程中，多个黑曲霉菌体常聚集成团形成菌球体，菌球体大小仅由菌体数量决定。黑曲霉利用糖类发酵产生柠檬酸时需要充足的氧。菌体内铵离子浓度升高时，可解除柠檬酸对其合成途径的反馈抑制。下列说法错误的是（ ）
- A. 相同菌体密度下，菌球体越大柠檬酸产生速率越慢
 - B. 发酵中期添加一定量的硫酸铵可提高柠檬酸产量
 - C. 发酵过程中 pH 下降可抑制大部分细菌的生长
 - D. 发酵结束后，将过滤所得的固体物质进行干燥即可获得柠檬酸产品
6. (不定项) 中国传统白酒多以泥窖为发酵基础，素有“千年老窖万年糟”“以窖养糟，以糟养泥”之说。多年反复利用的老窖池内壁窖泥中含有大量与酿酒相关的微生物。下列叙述正确的是（ ）
- A. 传统白酒的酿造是在以酿酒酵母为主的多种微生物共同作用下完成的
 - B. 窖池内各种微生物形成了相对稳定的体系，使酿造过程不易污染杂菌
 - C. 从窖泥中分离的酿酒酵母扩大培养时，需在 CO₂ 或 N₂ 环境中进行
 - D. 从谷物原料发酵形成的酒糟中，可分离出产淀粉酶的微生物

7. 自然界中不同微生物之间存在着复杂的相互作用。有些细菌具有溶菌特性，能够破坏其他细菌的结构使细胞内容物释出。科学家试图从某湖泊水样中分离出有溶菌特性的细菌。

(1)用于分离细菌的固体培养基包含水、葡萄糖、蛋白胨和琼脂等成分，其中蛋白胨主要为细菌提供_____和维生素等。

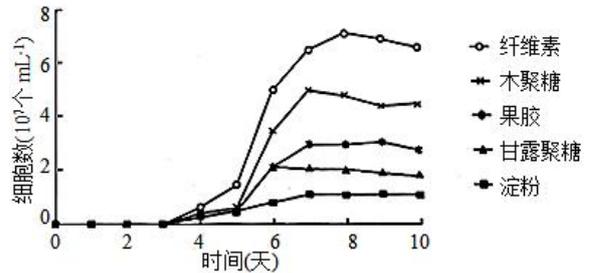
(2)A 菌通常被用做溶菌对象。研究者将含有一定浓度 A 菌的少量培养基倾倒在固体培养平板上，凝固形成薄层。培养一段时间后，薄层变浑浊（如图），表明_____。



(3)为分离出具有溶菌作用的细菌，需要合适的菌落密度，因此应将含菌量较高的湖泊水样_____后，依次分别涂布于不同的浑浊薄层上。培养一段时间后，能溶解 A 菌的菌落周围会出现_____。采用这种方法，研究者分离、培养并鉴定出 P 菌。

(4)为探究 P 菌溶解破坏 A 菌的方式，请提出一个假设，该假设能用以下材料和设备加以验证（主要实验材料和设备：P 菌、A 菌、培养基、圆形滤纸小片、离心机和细菌培养箱）_____。

8. 研究深海独特的生态环境对于开发海洋资源具有重要意义。近期在“科学号”考察船对中国南海科考中，中国科学家采集了某海域 1146 米深海冷泉附近沉积物样品，分离、鉴定得到新的微生物菌株并进一步研究了其生物学特性。回答下列问题：



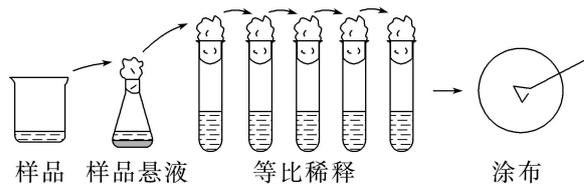
(1)研究者先制备富集培养基，然后采用_____法灭菌，冷却后再接入沉积物样品，28℃ 厌氧培养一段时间后，获得了含拟杆菌的混合培养物，为了获得纯种培养物，除了稀释涂布平板法，还可采用_____法。据图分析，拟杆菌新菌株在以_____为碳源时生长状况最好。

(2)研究发现，将采集的样品置于各种培养基中培养，仍有很多微生物不能被分离筛选出来，推测其原因可能是_____。（答一点即可）

(3)藻类细胞解体后的难降解多糖物质，通常会聚集形成碎屑沉降到深海底部。从生态系统组成成分的角度考虑，拟杆菌对深海生态系统碳循环的作用可能是_____。

(4)深海冷泉环境特殊，推测此环境下生存的拟杆菌所分泌的各种多糖降解酶，除具有酶的一般共性外，其特性可能还有_____。

9.菌落总数可作为判定食品被污染程度的标志，也可以用于观察细菌在食品中繁殖的动态，以便对送检样品进行卫生学评估提供证据。下图是某样品培养简化流程图，请分析回答下列问题：



(1)该营养琼脂培养基配制过程中，其基本步骤包括按照培养基配方准确计算、称量、溶化、调节 pH、_____法灭菌等。然后将培养基放入 47℃ 水浴锅保温，选择此温度的理由是_____。

(2)实验过程中须将样品剪碎并使用均质器 $10\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 处理 1 min，其目的是_____。从水浴锅取出营养琼脂培养基倒平板适量，稍冷却后移液 0.2 mL 样品于培养皿进行涂布，涂布时可_____，使涂布更均匀。

(3)本实验用菌落计数的原理是基于_____，运用这种方法统计的结果往往较实际值偏_____。具体培养结果如下表。选取菌落数 30~300 的培养皿作为菌落总数的测定标准。当只有一个稀释浓度的平均菌落数符合此范围，以该培养皿菌落数×稀释倍数报告。当有两个浓度菌落值在 30~300 之间，报告结果由二者菌落数比值决定，若比值不大于 2，则取平均数，且菌落数大于 100 取两位有效数字，两位之后的数值四舍五入；若比值大于 2，则报告稀释度较低(稀释次数越多，稀释度越高)的培养皿菌落数。请填写例次 3 中“？”处的菌落总数为_____。

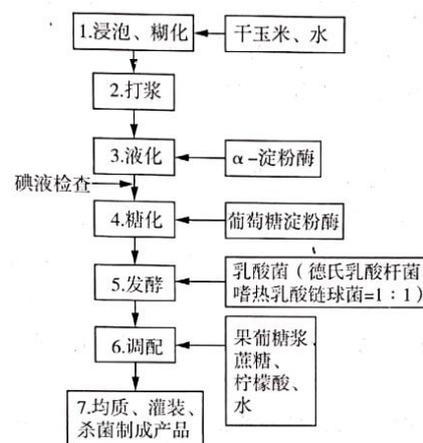
例次	不同稀释度平均菌落数			两稀释度菌落数之比	菌落总数/[CFU/mL(g)]
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
1	1 365	164	20	—	16 400
2	2 760	295	46	1.6	38 000
3	2 890	271	60	2.2	?

(4)利用鲜奶进行工业生产酸奶时，不能使用_____污染的鲜奶为原料，否则会使乳酸菌生长受到限制；利用_____法可以除去鲜奶中的白细胞、杂菌和其他肉眼可见的异物，取其上清液用于发酵制酸奶。

(5)密封良好的泡菜坛内有时会长一层白膜，这些白膜是_____ (填“乳酸菌”或“酵母菌”)繁殖产生的。在泡菜腌制过程中坛、蔬菜等均未进行严格灭菌，而在发酵过程中一般不会出现其他杂菌大量繁殖，其原因是_____ (填序号)。

- ①发酵的原料中缺乏杂菌生长需要的各种营养物质 ②发酵过程的温度不适合杂菌的生长
③乳酸菌产生较多乳酸，许多好氧菌被杀死 ④在自然界中乳酸菌占优势

10. 近年来，谷物饮料因其“营养、健康”深受大众喜爱，为玉米资源开发的一个新途径。玉米饮料生产的常规技术方案是：鲜嫩玉米→脱粒→预煮→打浆→过滤→调配→均质→灌装→杀菌→冷却→成品。某科研所新研发了“玉米乳酸发酵饮料的生产工艺”专利，其工艺流程如图（注： α -淀粉酶水解淀粉产物以葡萄糖为主，还有少量麦芽三糖及麦芽糖）



(1) 本专利步骤3液化和步骤4糖化的目的分别是_____。

(2) 步骤5发酵需要提供无氧环境的原因是_____，步骤7中杀菌宜采用的方法是_____。

(3) 与玉米饮料生产的常规技术方案相比，该专利的突出优点有哪些？_____ (至少写两条)。

(4) 影印平板法是将长有若干个菌落的平板作为母平板，将其倒置于包有一层灭菌丝绒布的印章上，使之均匀地沾满来自母平板的菌落然后通过此印章将母平板上的菌落“忠实地”接种到不同选择培养基上的培养方法。通过比较影印平板与母平板上菌落生长情况，可以筛选出所需要的菌种。已知地衣芽孢杆菌能产生耐高温 α -淀粉酶用于上述生产过程，野生型地衣芽孢杆菌对头孢菌素和庆大霉素均有抗性，利用诱变技术获得的对头孢菌素和庆大霉素同时具有敏感性的突变菌株为合成耐高温 α -淀粉酶的高产菌株。请利用提供的实验材料，通过影印平板法筛选出此高产菌株。简要写出实验思路。

实验材料：待测地衣芽孢杆菌浓缩菌悬液（含各种突变菌株），头孢菌素，庆大霉素，直径较平板略小的覆有灭菌丝绒布的印章（即影印接种工具）完全培养基原料，琼脂，相关无菌操作工具。
实验思路：_____

_____。