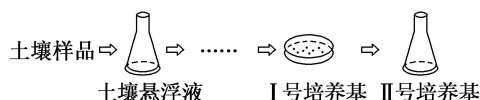


检测（二十七） “生物技术实践” 课前诊断卷

考点一

微生物的利用

1.为解决塑料袋(化学成分为聚乙烯)造成的“白色污染”这一问题,某同学试图从土壤中寻找一种能加速塑料袋自然降解过程的目的菌,以下是该同学从土壤中寻找并筛选目的菌的流程,请回答下列问题:



(1)对培养基灭菌常用的方法是_____。在接种前需要检测使用的培养基是否被污染,方法是_____

(2) I 号培养基属于_____ (按功能分)培养基,其作用是使目的菌能“脱颖而出”。如图采用的接种方法为_____。II 号培养基从物理性质来看,_____ (填“能”或“不能”)添加琼脂。

(3)该同学在稀释倍数为 10^4 的培养基中测得平板上菌落数的平均值为 20.4,则每毫升样品中的菌落数是_____个。(涂布平板时所用稀释液的体积为 0.2 mL)

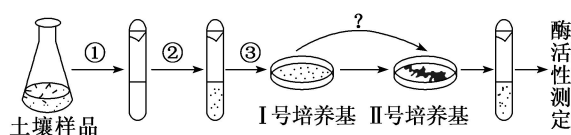
(4)假设该同学发现培养基上细菌数目过多而连成一片,说出一种可能的原因并提出合理的处理措施。原因:_____; 措施:_____。

解析: (1)培养基常采用高压蒸汽灭菌法进行灭菌。在接种前需要检测使用的培养基是否被污染,可以将未接种的培养基在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (或适宜温度)恒温箱中倒置培养一段时间,观察是否有菌落生成,若有菌落生成,则说明培养基已经被污染,否则没有被污染。(2)要筛选能降解聚乙烯塑料的微生物,应选择以聚乙烯塑料为唯一碳源的选择培养基。在 I 号培养基上采用的接种方法为稀释涂布平板法。II 号培养基应为液体培养基,因此不需要加凝固剂——琼脂。(3)根据题意可知,每毫升样品中的菌落数为 $20.4 \div 0.2 \times 10^4 = 1.02 \times 10^6$ (个)。(4)如果培养基上细菌数目过多而连成一片,可能的原因是菌液浓度过高或操作过程杂菌污染,还可能是接种时没有把细菌分散开,采取的措施有:增大稀释倍数或严格无菌操作程序或涂布均匀。

答案: (1)高压蒸汽灭菌法 将未接种的培养基在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (或适宜温度)恒温箱中倒置培养一段时间 (或 $1 \sim 2\text{ d}$), 观察是否有菌落生成 (2)选择 稀释涂布平板法 不能 (3) 1.02×10^6 (4)菌液浓度过高(或稀释倍数不够) 可以通过增大稀释倍数解决(或原因: 培养过程中被杂菌污染 严格无菌操作程序)

2. (2017·安阳市一模)如图表示研究者从土壤中筛选分解尿素的细菌并计数的相关实

验，请据图回答下列问题：



(1)进行过程①和②的目的分别是_____和_____；图中弧线箭头上“？”的具体操作是_____。

(2)进行培养基配制和灭菌时，灭菌与调节 pH 的先后顺序是_____。倒平板时，待平板冷却凝固后，应将平板倒过来放置，并用记号笔在皿底上标明培养微生物名称、平板上培养样品的稀释度、制作者姓名、培养日期及_____等信息。纯化菌种时为了得到单一菌落，常采用的接种方法是_____和_____。

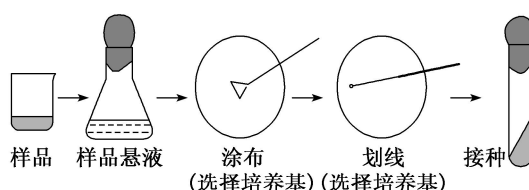
(3)在以尿素为唯一氮源的培养基中加入_____。培养后，若出现_____色就可以鉴定其中含有能够分解尿素的细菌。

(4)研究者可以通过观察培养形成的菌落的_____、隆起程度等特征，来判断培养基上是否感染了其他细菌。在实验中，研究者每隔 24 h 统计一次菌落数目，并选取菌落数目稳定时的记录作为结果，这样可以防止_____。

解析：(1)结合实验目的分析图解可知，①过程是从土壤中筛选分解尿素的细菌，目的是选择培养，②过程是扩大培养，目的是增加分解尿素的细菌的数量；图中弧线箭头上“？”的具体操作是挑出菌落。(2)灭菌与调节 pH 的顺序是先调节 pH，后灭菌。倒平板时，待平板冷却凝固后，应将平板倒过来放置，并用记号笔在皿底上标明培养微生物名称、平板上培养样品的稀释度、制作者姓名、培养日期及培养基种类等信息。纯化菌种时为了得到单一菌落，常采用的接种方法是平板划线法和稀释涂布平板法。(3)在以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂。培养后，若出现红色就可以鉴定其中含有能够分解尿素的细菌。(4)研究者可以通过观察培养形成的菌落的形状、大小、颜色、隆起程度等特征，来判断培养基上是否感染了其他细菌。在实验中，研究者每隔 24 h 统计一次菌落数目，并选取菌落数目稳定时的记录作为结果，这样可以防止因培养时间不足导致遗漏细菌数目。

答案：(1)选择培养 增加分解尿素的细菌的数量 挑出菌落 (2)先调节 pH，后灭菌 培养基种类 平板划线法 稀释涂布平板法 (3)酚红指示剂 红 (4)形状、大小、颜色 因培养时间不足导致遗漏细菌数目

3. 如图是分离、纯化及保存枯草芽孢杆菌菌株的过程示意图：将土壤表层土稀释液煮沸 5 min(枯草芽孢杆菌的芽孢不会失去活性)静置 5 min 后获得样品，进行如下操作：



请回答下列问题:

(1)由题意可知,除用选择培养基外,还有_____操作起到筛选作用。

(2)上图的划线操作中,培养基从物理状态分类上属于_____,接种环用_____法进行灭菌,划线过程中第一区和最后一区的划线_____(填“能”或“不能”)相连。

(3)用稀释涂布平板法在 5 个培养基平板上,均接种稀释倍数为 10^4 的样品液 0.1 mL,培养一段时间后,平板长出来的菌落数分别为 13,160,532,175 和 187。每毫升样品中的细菌数量为_____个。

(4)用上述方法统计出的菌落数往往比样品中活菌的实际数目_____,原因是

解析:(1)根据题干信息“将土壤表层土稀释液煮沸 5 min(枯草芽孢杆菌的芽孢不会失去活性)”可知,除用选择培养基外,还有煮沸操作起到筛选作用。(2)上图的划线操作中,培养基从物理状态分类上属于固体培养基;接种环用灼烧灭菌(灼烧)法进行灭菌;划线过程中第一区和最后一区的划线不能相连。(3)用稀释涂布平板法在 5 个培养基平板上,均接种稀释倍数为 10^4 的样品液 0.1 mL,培养一段时间后,平板长出来的菌落数分别为 13,160,532,175 和 187。为了保证结果准确,一般选择菌落数在 30~300 的平板进行计数,因此每毫升样品中的细菌数量为 $(160+175+187)\div 3\div 0.1\times 10^4=1.74\times 10^7$ (个)。(4)由于两个或者多个活菌连在一起时,平板上形成的只是一个菌落,因此用上述方法统计出的菌落数往往比样品中活菌的实际数目少。

答案:(1)煮沸 (2)固体培养基 灼烧灭菌(灼烧) 不能 (3) 1.74×10^7 (4)少 两个或者多个细胞连在一起时,平板上观察到的只是一个菌落

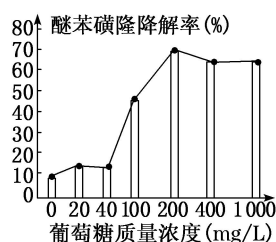
4.醚苯磺隆是常见的除草剂,在环境中难以降解。某实验小组从某农药厂的污泥中富集、筛选出了一株醚苯磺隆降解菌株 MB-1,并研究了其降解效率。请回答下列问题:

(1)该实验小组将取自生产醚苯磺隆农药厂废水处理池中的废水按 5% 的体积分数接入醚苯磺隆含量为 200 mg/L 的 MSM 液体培养基中,每 3 d 以 5% 的接种量接入新鲜的醚苯磺隆 MSM 液体培养基中,这一培养过程称为_____,其目的是_____。

(2)该实验小组将培养液进行梯度稀释后,将稀释倍数为 10^3 、 10^4 和 10^5 的培养液分别取 0.1 mL 接种到醚苯磺隆 MSM 固体培养基上,每个稀释倍数涂布三个培养基,最终形成的菌落数分别为 627、622、658; 58、62、63; 3、6、7 个,则原菌液每升含有的细菌数为_____个。若要检测水体中全部细菌(无论是否为活菌)的数目,应采用的方法是_____。

(3)研究发现当培养基中含有葡萄糖和醚苯磺隆时,MB-1 菌株只利用易于摄取的葡萄糖

作为能源和碳源，同时诱导产生一种能分解醚苯磺隆的关键酶，该实验小组研究了不同的葡萄糖浓度对 MB-1 降解醚苯磺隆能力的影响，实验结果如图所示。



①同时含有葡萄糖和醚苯磺隆的培养基比只含醚苯磺隆的培养基更有利于 MB-1 菌株的生长繁殖，其原因可能是_____。

②当葡萄糖浓度较低时，醚苯磺隆降解能力较弱的原因是_____，最有利于醚苯磺隆降解的葡萄糖浓度为_____。

解析：(1)取自生产醚苯磺隆农药厂废水处理池中的废水含有醚苯磺隆降解菌，按 5% 的体积分数接入醚苯磺隆含量为 200 mg/L 的 MSM 液体培养基中，每 3 d 以 5% 的接种量接入新鲜的醚苯磺隆 MSM 液体培养基中，这一培养过程称为选择培养，其目的是初步筛选醚苯磺隆降解菌，并增大醚苯磺隆降解菌的浓度。(2)菌落数统计应选择菌落数在 30~300 的培养皿计数，统计稀释倍数为 10^4 的培养液涂布的三个培养基，平均菌落数为 $(58+62+63) \div 3 = 61$ (个)，则原菌液每升含有的细菌数为 $61 \div 0.1 \times 10^4 \times 1000 = 6.1 \times 10^9$ (个)。若要检测水体中全部细菌(无论是否为活菌)的数目，应采用的方法是抽样检测法。(3)①MB-1 菌株更容易吸收葡萄糖作为碳源和能源，并且醚苯磺隆具有一定的毒害作用，因此同时含有葡萄糖和醚苯磺隆的培养基比只含醚苯磺隆的培养基更有利于 MB-1 菌株的生长繁殖。②当葡萄糖浓度较低时，MB-1 菌株的碳源和能源供应不足，导致其产生能分解醚苯磺隆的关键酶不足，对醚苯磺隆降解能力较弱，据图可知，醚苯磺隆降解率在葡萄糖质量浓度为 200 mg/L 时最高，此时有利于醚苯磺隆降解。

答案：(1)选择培养 初步筛选醚苯磺隆降解菌，并增大醚苯磺隆降解菌的浓度 (2) 6.1×10^9 抽样检测法

(3)① MB-1 菌株更容易吸收葡萄糖作为碳源和能源，并且醚苯磺隆具有一定的毒害作用 ② MB-1 菌株的碳源和能源供应不足，导致其产生能分解醚苯磺隆的关键酶不足 200 mg/L

5. (2017·湖南省长郡中学模拟)水污染是全球性的环境问题，微生物降解是水污染治理的有效手段之一。聚乙烯醇(PVA)是存在于化工污水中的一种难以降解的大分子有机物，PVA 分解菌能产生 PVA 酶分解 PVA，PVA 与碘作用时能产生蓝绿色复合物，当 PVA 被分解时蓝绿色复合物消失，形成白色透明斑，请回答下列问题：

(1)下表是筛选出能高效分解 PVA 的细菌的培养基配方，表中 X 物质最可能为

_____。实验中还应设置完全培养液对照组，将菌液稀释相同的倍数，对照组培养基上生长的菌落数目应明显_____ (填“多于”或“少于”)选择培养基上的数目，从而说明选择培养基具有筛选作用。

成分	MgSO ₄	蛋白质	X 物质	水	琼脂
用量	5 g	10 g	7 g	1 000 mL	20 g

(2)要测定土壤稀释液中微生物的数目，可在显微镜下用_____计数板直接计数。若将 100 mL 含有 PVA 分解菌的土壤样品溶液稀释 10^4 倍后，取 0.1 mL 稀释液均匀涂布在选择培养基表面，测得菌落数的平均值为 160 个，空白对照组平板上未出现菌落，则 100 mL 原菌液中有 PVA 分解菌_____ 个，该方法的测量值与实际值相比一般会_____ (填“偏大”“偏小”或“相等”)。

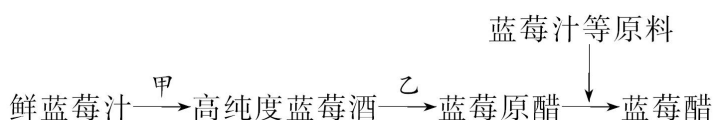
(3)要鉴定分离出的细菌是否为 PVA 分解菌，培养 PVA 分解菌的培养基中除了加入必需的营养物质外还需要加入_____用于鉴别 PVA 分解菌。若用上述培养基比较不同菌株降解 PVA 能力的大小，请用简洁的语言写出设计思路：_____。

解析：(1)分析题意可知，表格是筛选出能高效分解 PVA 的细菌的培养基配方，即该培养基属于选择培养基，因此表中 X 物质最可能为聚乙烯醇(或 PVA)。由于完全培养液中任何微生物都可以生长，因此对照组培养基上生长的菌落数目应明显多于选择培养基上的数目，从而说明选择培养基具有筛选作用。(2)要测定土壤稀释液中微生物的数目，可在显微镜下用血细胞计数板直接计数。若将 100 mL 含有 PVA 分解菌的土壤样品溶液稀释 10^4 倍后，取 0.1 mL 稀释液均匀涂布在选择培养基表面，测得菌落数的平均值为 160 个，空白对照组平板上未出现菌落，则 100 mL 原菌液中有 PVA 分解菌 $=160 \div 0.1 \times 10^4 \times 100 = 1.6 \times 10^9$ (个)；由于两个或多个细菌聚集在一起只能产生一个菌落，因此该方法的测量值与实际值相比一般会偏小。(3)根据题意可知，要鉴定分离出的细菌是否为 PVA 分解菌，培养 PVA 分解菌的培养基中还需要加入碘用于鉴别 PVA 分解菌。若用上述培养基比较不同菌株降解 PVA 能力的大小，可以用含相同 PVA 浓度的上述培养基来培养不同菌株，一定时间后，通过测定白色透明斑的大小(或直径)来确定不同菌株降解 PVA 能力的大小。

答案：(1)聚乙烯醇(或 PVA) 多于 (2)血细胞 1.6×10^9 偏小 (3)碘 用含相同 PVA 浓度的上述培养基来培养不同菌株，一定时间后，通过测定白色透明斑的大小(或直径)来确定不同菌株降解 PVA 能力的大小

考点二	生物技术在食品加工方面的应用
-----	----------------

6.(2017·济南市二模)下图是某兴趣小组以鲜蓝莓汁为原料，制作果酒和果醋的过程简图。请回答有关问题：



(1)为了提高出汁率和澄清度,可在果汁加工过程中加入_____酶。将鲜蓝莓汁装入发酵瓶时,要留有大约 1/3 的空间,其目的是_____。

(2)在甲过程中,每隔 12 h 左右要将发酵瓶的瓶盖拧松一次,目的是_____。10~12 d 后,先提纯再在酸性条件下用_____检测是否有酒精的产生。

(3)某研究小组利用石油醚为溶剂提取蓝莓中的花青素,能否成功?_____。理由是_____。

(4)为了从食醋中分离出过程乙所需的微生物,可采用_____法将其接种到培养基上纯化培养。使用后的培养基需要进行_____处理,以免污染环境。

解析: (1)鲜榨果汁中的不溶微粒主要是植物细胞壁的组成成分纤维素和果胶,用纤维素酶和果胶酶处理使纤维素和果胶水解,可以提高果汁的澄清度和出汁率;将鲜蓝莓汁装入发酵瓶时,要留有大约 1/3 的空间,其目的是先让酵母菌进行有氧呼吸,大量繁殖,耗尽 O_2 后再进行酒精发酵,同时防止发酵过程中产生的 CO_2 造成发酵液溢出。(2)甲过程表示果酒制作,甲过程中每隔 12 h 左右要将发酵瓶的瓶盖拧松一次,目的是放出 CO_2 ;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,重铬酸钾与酒精反应呈灰绿色。(3)花青素为水溶性色素,不溶于石油醚,所以利用石油醚为溶剂提取蓝莓中的花青素,不能成功。(4)过程乙是制作果醋,所需的微生物是醋酸菌,可以从食醋中分离纯化获得。微生物常用的接种方法有平板划线法和稀释涂布平板法;使用后的培养基需要进行灭菌处理,以免污染环境。

答案: (1)纤维素酶和果胶 使酵母菌进行有氧呼吸,大量繁殖,同时防止发酵液溢出 (2)放出 CO_2 重铬酸钾

(3)否 花青素为水溶性色素,不溶于石油醚 (4)平板划线(稀释涂布平板) 灭菌

7. 利用现代科技可提取植物的有效成分,请回答:

(1)玫瑰精油是制作高级香水的主要成分。为提高出油量,用于提炼的玫瑰花宜在_____期采收。若使用萃取法提取玫瑰精油,不足之处是_____。

(2)橘皮应用石灰水浸泡 10 h 以上,压榨时能提高_____,降低_____;将压榨液 pH 调至 7~8 的作用是_____。

(3)为探究提取胡萝卜素的有效方法，下列各方法中分别对 1 g 胡萝卜处理，检测提取液中胡萝卜素的相对含量，结果如下表：

方法	处理方法	相对含量 ($\mu\text{g/g}$)
a	直接用 10：1(体积比)丙酮—石油醚混合溶剂处理	85
b	NaOH 液处理后，用 10：1(体积比)丙酮—石油醚混合溶剂处理	120
c	NaOH 液处理后，用 3：7(体积比)丙酮—石油醚混合溶剂处理	140

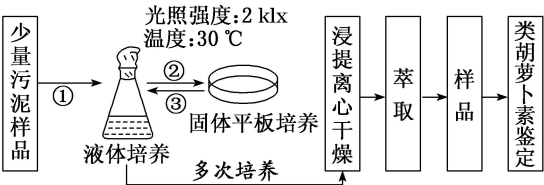
①由实验结果可知，方法 c 的提取液中胡萝卜素的相对含量最高，请对此结果做出合理解释：_____。

②请对比分析并指出实验结论：_____。

解析：(1)玫瑰花在盛花期玫瑰精油含量较高。若使用萃取法提取玫瑰精油，对萃取剂纯度要求高(若萃取剂含有杂质，影响玫瑰精油的品质)。(2)橘皮用石灰水浸泡，能够破坏细胞结构，分解果胶，防止橘皮压榨时滑脱，提高出油率，降低压榨液的黏稠度；将压榨液 pH 调至 7~8，可以使橘皮油易于与水分离。(3)①NaOH 液可以破坏细胞结构，使胡萝卜素更易溶出；胡萝卜素在石油醚比例高的丙酮—石油醚混合溶剂中溶解度高，所以方法 c 的提取液中胡萝卜素的相对含量最高。②方法 a 与 b 对比，说明 NaOH 液处理能提高胡萝卜素的提取率；方法 c 与 b 对比，说明体积比为 3：7 的丙酮—石油醚混合溶剂能提高胡萝卜素的提取率。

答案：(1) 花开的盛 对萃取剂纯度要求高(若萃取剂含有杂质，影响玫瑰精油的品质)
(2)出油率 压榨液的黏稠度 使橘皮油易于与水分离 (3)① NaOH 液处理破坏细胞结构，胡萝卜素更易溶出；胡萝卜素在石油醚比例高的丙酮—石油醚混合溶剂中溶解度高 ②方法 a 与 b 对比，说明 NaOH 液处理能提高胡萝卜素的提取率；方法 c 与 b 对比，说明体积比为 3：7 的丙酮—石油醚混合溶剂能提高胡萝卜素的提取率

8. (2017·福州市模拟)类胡萝卜素是一种常用的食品色素，并常用于临床治疗夜盲症等疾病。类胡萝卜素的主要来源是化学合成或从植物中提取，成本较高。科研人员尝试从光合细菌中提取类胡萝卜素，流程如下：



(1)将少量污泥样品接入液体培养基中，培养基中加入铵盐和谷氨酸钠为光合细菌的生长提供_____，培养基中没有加入有机碳，从功能上看这种培养基属于_____培养

基。

(2)②将样品涂布到固体培养基之前要进行梯度稀释，为了防止混淆，应该在培养皿的_____部位做好标记。从固体平板中挑选紫色非硫细菌(某光合细菌)的菌落，萃取效率主要取决于萃取剂的性质。通过③接种到新鲜培养基中继续培养，②、③过程需要重复几次，目的是_____。

(3)从浸提离心干燥后的菌体中提取胡萝卜素常用萃取法，萃取剂应该具有的特点是_____，萃取液的浓缩可直接使用_____装置。

(4)鉴定所提取的胡萝卜素样品常用的方法是_____，鉴定过程中需用_____作为对照。

解析：(1)培养基中的铵盐和谷氨酸钠能够为微生物的培养提供氮源；培养基中没有加入有机碳，光合细菌可以利用空气中的二氧化碳进行光合作用，而其他微生物不可以，所以该培养基属于选择培养基。(2)在稀释涂布平板法中，每个培养皿的底部做上标记，以区别不同的稀释梯度。图中②、③过程不断地涂布、稀释，目的是分离得到紫色非硫细菌的纯净培养物。(3)根据胡萝卜素化学性质稳定、易溶于有机溶剂，具有较高的沸点等特点，选用萃取法，胡萝卜素不具有挥发性，不能选用蒸馏法。萃取液的浓缩可直接使用蒸馏装置。(4)鉴定胡萝卜素常用纸层析法，鉴定的结果需要与胡萝卜素标准品作对比。

答案：(1)氮源 选择 (2)底部 分离得到紫色非硫细菌的纯净培养物 (3)具有较高的沸点，能溶解色素并且不与水混溶 蒸馏 (4)纸层析法 胡萝卜素标准品