

模块整体感悟

《生物技术实践》是高中生物的选修模块之一。本模块的教材内容以“专题——课题”的形式展开,共分 6 个专题,依次是:传统发酵技术的应用,微生物的培养与应用,植物的组织培养技术,酶的研究与应用,DNA 和蛋白质技术以及植物有效成分的提取。各个专题之间相对独立,没有严格的顺序关系。

本模块的特点是实践,可以根据实际条件,选做其中的 5~7 个课题。根据《2016 年普通高等学校招生全国统一考试理科综合科考试大纲的说明》(课程标准实验版),本模块参加高考必做的实验包括:(1)微生物的分离和培养;(2)培养基对微生物的选择作用;(3)利用微生物进行发酵来生产特定的产物;(4)从生物材料中提取某些特定的成分;(5)运用发酵加工食品的基本方法;(6)植物的组织培养。这些实验中有的要了解基本原理或获得基本知识的,有的是偏重于实际应用的。你可以在自学有关知识的基础上,在教师的指导下自己设计并进行实验,然后收集和整理资料,写出报告,进行口头交流,相互讨论。相信通过本模块的学习以及你自己的动手操作,你一定能制作出香甜的葡萄酒和美味的泡菜,也能让你的同学、家人和朋友分享你自己提取的玫瑰精油。

专题 1 传统发酵技术的应用

本专题整体感知

人类总是与知识一起进步、成长！

本专题学习内容

1. 果酒与果醋的制作技术
2. 腐乳的制作技术
3. 泡菜的腌制与亚硝酸盐含量的测定

本专题学习目标

知识方面

1. 说明发酵制作果酒和果醋的一般原理。
2. 熟悉发酵制作果酒和果醋的一般步骤。
3. 说明制作腐乳的微生物的种类，分析腐乳制作的条件。
4. 说明制作腐乳的一般原理和步骤。
5. 了解乳酸菌发酵的特点以及制作泡菜的一般步骤。
6. 了解亚硝酸盐含量的测定原理及测定步骤。

情感态度与价值观方面

1. 提高学生动手能力及热爱生物科学的热情。
2. 以制作腐乳为例，了解古代人民对发酵技术的应用。
3. 通过对泡菜中亚硝酸盐含量的测定，引导学生关注食品安全，维护身体健康，形成正确的社会责任感。

能力方面

学会制作果酒、果醋、腐乳和泡菜。

本专题学法指导

怎样才能学好“传统发酵技术的应用”的有关知识呢？解决这个问题的关键是我们要知道这部分知识的内容特点。了解酵母菌的来源、生活方式，发酵需要的适宜条件；酒变醋的

原理，醋酸菌的来源；毛霉等在腐乳制作中的作用；乳酸菌在自然界中的分布，乳酸菌发酵的原理；亚硝酸盐的有关知识及危害等。

在本专题的学习中，学生需要了解传统发酵食品的制作工艺，并尽量动手实践。学生应该学会设计简易的实验装置，应当掌握发酵食品加工的基本原理和方法。如酵母菌发酵的适宜条件，醋酸菌发酵条件的控制，亚硝酸盐含量的测定方法等。

课题 1 果酒和果醋的制作

板块一 创设问题，引领目标

知人论世，设疑激趣

问题呈现

“葡萄美酒夜光杯，欲饮琵琶马上催。醉卧沙场君莫笑，古来征战几人回。”你品尝过果酒和果醋吗？在享用果酒、果醋的时候，你是否想亲自动手来做一做？本课题将向你介绍果酒、果醋的制作原理，在此基础上，告诉你怎样进行装置的设计，然后完成果酒、果醋的制作。

板块二 自学思疑，初探问题

自主学习十分重要

教材导读

1. 果酒简单来说就是汲取了水果中的营养而做成的酒，其中含有丰富的维生素和必需的氨基酸。果酒制作的原理是什么？酵母菌有什么特点？在使用的过程中应该注意什么问题？

2. 果醋含有丰富的有机酸、氨基酸等人体必需的营养物质，对人体的多项功能有良好的功效。果醋制作的原理是什么？醋酸菌有什么特征？在酿醋的过程中应该注意什么问题？



自主测评

自我检测一下学习效果

1. 果酒制作的原理

(1) 果酒发酵的菌种是_____。

(2) 酵母菌的异化作用类型是_____，有氧条件下进行有氧呼吸的反应式是_____，无氧条件下进行酒精发酵的反应式是_____。

(3) 温度是酵母菌生长和发酵的重要条件。温度为_____左右时，最适合酵母菌繁殖。酒精发酵时一般将温度控制在_____。

(4) 在_____、_____的发酵液中，酵母菌可以生长繁殖，而绝大多数其他微生物都因无法适应这一环境而受到抑制。

2. 果醋制作的原理

(1) 醋酸菌的异化作用类型是_____，只有当_____充足时，才能进行旺盛的生理活动，其最适生长温度为_____。

(2) 当_____、_____都充足时，醋酸菌将葡萄汁中的糖分解成醋酸；当缺少_____时，醋酸菌将乙醇变为_____，再将乙醛变为_____，反应式为_____。

3. 制作过程

(1) 选择新鲜的葡萄，榨汁前先将葡萄_____，然后再除去_____。

(2) 发酵瓶要清洗干净，用体积分数为70%的_____消毒。

(3) 制葡萄酒的过程中，要将温度严格控制在_____，时间控制在_____；制葡萄醋的过程中，要将温度严格控制在_____，时间控制在_____，并注意适时通过_____充气。

4. 酒精检测

检测酒精可以用_____。在_____条件下，其与酒精反应呈现_____。



疑点归纳

梳理问题，自我归纳

通过自学本节内容，你还有哪些未解决的问题，请提出来并归纳在下表中。在合作学习时请同学帮助或提供给老师解决。

疑点 1	
疑点 2	
疑点 3	



板块三 合作互助，共析问题

训练合作能力，达到双赢目的



思考与讨论一

1. 你认为应该先冲洗葡萄还是先除去枝梗？为什么？

2. 你认为应该从哪些方面防止发酵液被杂菌污染？

3. 制葡萄酒时，为什么要将温度控制在18~25℃？制葡萄醋时，为什么要将温度控制在30~35℃？

4. 制葡萄醋时，为什么要适时通过充气口充气？



思考与讨论二

下图是两位同学所使用的发酵装置，你认为他们的发酵装置有哪些可取之处，哪些地方还需要改进？你将如何设计发酵装置进行实验呢？



图1 用带盖的瓶子制葡萄酒

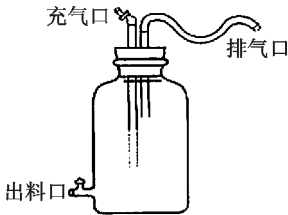


图2 果酒和果醋的发酵装置

为什么排气口要通过一个长而弯曲的胶管与瓶身连接？结合果酒、果醋的制作原理，你认为应该如何使用这个发酵装置？



指导要求

给你一点阅读提示

1. 果酒是利用兼性厌氧型微生物——酵母菌制作完成的，发酵过程应该严格控制无氧条件且要避免其他杂菌污染。
2. 果醋的制作是在果酒制作的基础上利用醋酸菌完成的。醋酸菌是一种好氧细菌，只有氧气充足时，才能进行旺盛的生理活动。



板块四 展示交流,探究问题

深入地探究，大方地展示吧

问题呈现

1. 果酒、果醋的制作有何不同？
2. 如何设置用重铬酸钾检测酒精的对照实验？

展题设计

1. 利用酵母菌酿酒时，从开始便持续向发酵罐内通入氧气，其结果是 ()
 - A. 酵母菌大量死亡，酒精减产
 - B. 酵母菌数量不变，酒精产量不变
 - C. 酵母菌数量增多，酒精减产
 - D. 酵母菌数量增多，不产生酒精

思路指点

酵母菌是兼性厌氧型微生物，可以进行

有氧呼吸和无氧呼吸，但条件和结果不同。有氧呼吸是在有氧条件下进行的，菌体可以大量繁殖；无氧呼吸是在无氧条件下进行的，可以产生酒精。通入氧气，在有氧条件下，酵母菌进行有氧呼吸，大量繁殖，此时不能进行无氧呼吸，没有酒精产生。因此 D 选项正确。

展示要求

展示时，要把自己的思路向同学阐述，还要允许其他同学质疑。

2. 在果酒的制作实验结束时检测是否有酒精产生，正确的操作步骤是 ()
 - A. 先在试管中加入适量的发酵液，然后再加入硫酸和重铬酸钾的混合液
 - B. 先在试管中加入适量的发酵液，然后再加入重铬酸钾，混匀后滴加硫酸
 - C. 先在试管中加入适量的发酵液，然后再加入硫酸，混匀后滴加重铬酸钾
 - D. 先在试管中加入适量的发酵液，然后再加入硫酸，混匀后滴加重铬酸钾，并加热

思路指点

重铬酸钾与酒精的反应是在酸性条件下进行的，而不是以混合液的形式进行，重铬酸钾与硫酸反应后，不仅失去了酸性条件，而且实际上也没有重铬酸钾了。直接振荡就可以看到颜色变化，不需要加热。在酸性条件下，重铬酸钾与酒精反应呈现灰绿色，可用来检验酒精。因此 C 选项正确。

展示要求

展示时，要面对同学，声音要达到让每位同学都听清楚的程度，理由阐述要准确，还要允许其他同学质疑。



将自己的小结与下面的小结进行对比，把你的成功之处写在下面的小结内或找一空白处记录下来，有机会在班内交流或展示给同学看。

D. 深紫色并带金属光泽



能力从训练中获得，水平在质疑中提高



6. 一瓶葡萄糖溶液，内有适量酵母菌，经测定，瓶中放出的二氧化碳与吸收的氧气体积之比为 5 : 3，这是因为 ()

A. 有 $\frac{2}{3}$ 的酵母菌在进行无氧呼吸
B. 有 $\frac{1}{2}$ 的酵母菌在进行有氧呼吸
C. 有 $\frac{1}{3}$ 的酵母菌在进行无氧呼吸
D. 有 $\frac{1}{4}$ 的酵母菌在进行有氧呼吸

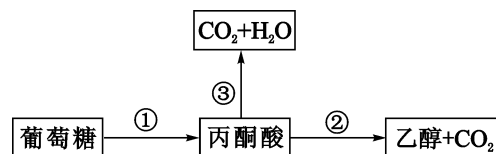
7. 下列哪种条件下，醋酸菌将葡萄汁中的糖分解成醋酸 ()

A. 氧气、糖源充足
B. 氧气充足、缺少糖源
C. 缺少氧气、糖源充足
D. 氧气、糖源都缺少

8. 用带盖瓶子制作果酒时，每隔一段时间要对瓶盖进行一次操作，下列关于操作及作用正确的组合是 ()

A. 拧松，进入空气
B. 拧松，放出 CO_2
C. 打开，进入空气
D. 打开，放出 CO_2

9. 苹果醋是以苹果汁为原料经发酵而成的。回答下列问题：



(1) 酵母菌的呼吸代谢途径如图所示。图中过程①和②是苹果醋生产的第一阶段,

在酵母菌细胞的_____中进行，其产物乙醇与_____试剂反应呈现灰绿色，这一反应可用于乙醇的检验；过程③在酵母菌细胞的_____中进行。与无氧条件相比，在有氧条件下，酵母菌的增殖速度_____。

(2) 第二阶段是在醋酸杆菌的作用下将第一阶段产生的乙醇转变为醋酸的过程，根据醋酸杆菌的呼吸作用类型，该过程需要在_____条件下才能完成。

(3) 在生产过程中，第一阶段和第二阶段的发酵温度不同，第一阶段的温度_____ (填“低于”或“高于”)第二阶段的。

(4) 醋酸杆菌属于_____核生物，其细胞结构中_____ (填“含有”或“不含”)线粒体。



能力测控

知识与技能的结合

1. 在果酒制作过程中，下列操作会导致发酵液被污染的是 ()

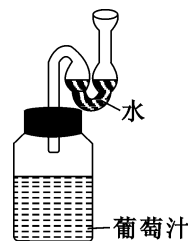
- A. 榨汁机用热水进行清洗，并晾干
- B. 发酵瓶先用温水清洗，再用 75% 的酒精擦拭后晾干使用
- C. 葡萄先去除枝梗，再冲洗多次
- D. 每次排气时，只需拧松瓶盖，不需将盖完全揭开

2. 某研究性学习小组以樱桃番茄为材料进行果酒、果醋发酵实验。下列相关叙述正确的是 ()

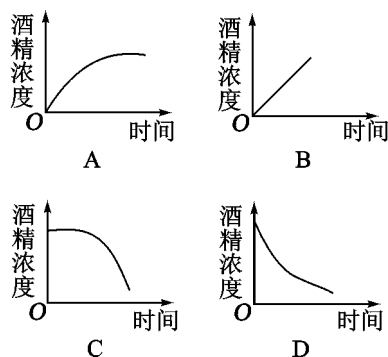
- A. 酵母菌是嗜温菌，所以果酒发酵所需的最适温度较高
- B. 先供氧进行果醋发酵，然后隔绝空气进行果酒发酵
- C. 与人工接种的发酵相比，自然发酵获得的产品品质更好
- D. 适当加大接种量可以提高发酵速率、抑制杂菌生长繁殖

3. 某同学设计了右图所示的发酵装置，下列有关叙述错误的是 ()

- A. 该装置可阻止空气进入，用于果酒发酵
- B. 该装置便于果酒发酵中产生的气体排出
- C. 去除弯管中的水后，该装置可满足果醋发酵时底层发酵液中大量醋酸菌的呼吸
- D. 去除弯管中的水后，该装置既能导气，又能防止杂菌的污染



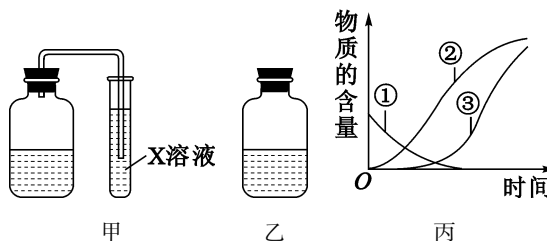
4. 在普通密封的锥形瓶中加入含有酵母菌的葡萄糖溶液，下面有关坐标图正确的是 ()



5. 酵母菌培养液常含有一定浓度的葡萄糖，但当葡萄糖浓度过高时，反而抑制酵母菌的生长，其主要原因是 ()

- A. 碳源供应太充足
- B. 细胞会发生质壁分离
- C. 酵母菌代谢旺盛，导致培养基严重缺 O_2 ，影响菌体生长
- D. 葡萄糖不是酵母菌代谢的原料

6. 葡萄酒是葡萄汁经酵母菌发酵而成的，酿制葡萄酒的两个简易装置如图所示。回答下列问题：



(1) 试管中的 X 溶液有助于维持甲装置的瓶中气压相对稳定, 与乙装置相比, 用甲装置酿制葡萄酒的优点是 _____、_____。(答出两点即可)

(2) 葡萄汁装入甲装置时, 要留有 $\frac{1}{3}$ 的空间, 这种做法的目的是 _____、_____。(答出两点即可)

(3) 某同学若用乙装置进行发酵, 并设置两个不同处理组 (乙 A 和乙 B), 乙 A 装置中保留一定量的氧气, 乙 B 装置中没有氧气。在其他条件相同且适宜的情况下, 测得一段时间内乙 A 和乙 B 中酒精含量的变化趋势及乙 A 中氧气含量的变化趋势如曲线图丙所示。图中曲线 ①、②、③ 依次表示 _____、_____、_____ 含量的变化趋势。

(4) 从细胞呼吸类型看, 酵母菌属于 _____ 生物; 从同化作用的类型看, 酵母菌属于 _____ (填“自养”或“异养”) 生物。



拓展创新

重现过程与方法

利用已有知识回答下列问题: 将酵母菌研磨, 取一部分匀浆离心, 得到上清液 (含

细胞质基质) 和沉淀物 (含细胞器)。将等量的上清液、沉淀物和未离心的匀浆分别加入甲、乙、丙三支试管中, 分别进行以下几项实验:

(1) 向三支试管中分别加入等量的葡萄糖溶液, 三支试管中的最终产物分别是甲 _____、乙 _____、丙 _____。

(2) 隔绝空气的情况下, 重复步骤 (1), 三支试管中的产物分别是甲 _____、乙 _____、丙 _____。

(3) 向三支试管中分别加入等量的丙酮酸溶液, 置于空气中, 三支试管中的最终产物分别是甲 _____、乙 _____、丙 _____。

(4) 隔绝空气的情况下, 重复步骤 (3), 三支试管中的产物分别是甲 _____、乙 _____、丙 _____。



再生新疑

回头看看很有必要

你如何证实葡萄汁转化成葡萄酒是由于酵母菌的发酵作用造成的? 你能想出什么简单易行的方法, 证明葡萄醋中的确有醋酸生成吗?

课题 2 腐乳的制作



板块一 创设问题, 引领目标

知人论世, 设疑激趣

问题呈现

腐乳是我国古代劳动人民创造出的一种经过微生物发酵的大豆食品。千百

年来, 腐乳一直受到人们的喜爱。你喜欢吃腐乳吗? 腐乳是怎样做成的呢? 在本课题中, 你将首先学习制作腐乳的原理, 然后自己动手实践, 并在此基础上探究影响腐乳品质的各种因素。



板块二 自学思疑,初探问题

自主学习十分重要



教材导读

1. 同学们吃过“王致和腐乳”吗？在制作腐乳的时候为什么要用毛霉？它的作用是什么呢？

2. 拌凉菜时加盐会有水分析出，在腐乳制作过程中为什么要加盐？为什么要加酒？盐和酒的用量对腐乳的制作有什么影响？



自主测评

自我检测一下学习效果

1. 多种微生物参与了豆腐的发酵，其中起主要作用的是_____。毛霉是一种丝状_____，分布广泛，生长迅速，具有发达的_____。

2. 毛霉等微生物产生的_____能将豆腐中的蛋白质分解成小分子的_____和_____；_____可将脂肪水解为_____和_____。

3. 制作流程：（1）毛霉的生长：将豆腐块平放在笼屉内，温度控制在_____，并保持一定的湿度。豆腐块上生长的毛霉来自空气中的毛霉_____。

（2）加盐腌制：盐可以析出豆腐中的_____，使豆腐块变硬，同时盐能抑制_____的生长，避免豆腐块腐败变质。要控制盐的用量，盐浓度过低，不足以抑制_____；盐浓度过高，会影响_____。

（3）配制卤汤：加酒可以抑制_____的生长，同时能使腐乳具有_____。卤汤中的酒含量应控制在_____左右。酒精含量过高，腐乳成熟的时间将会_____；酒精含量过低，不足以_____，可能导致豆腐腐败。



疑点归纳

梳理问题，自我归纳

通过自学本节内容，你还有哪些未解决的问题，请提出来并归纳在下表中。在合作学习时请同学帮助或提供给老师解决。

疑点 1	
疑点 2	
疑点 3	



板块三 合作互助,共析问题

训练合作能力，达到双赢目的



思考与讨论

1. 你能利用所学的生物学知识，解释豆腐长白毛是怎么回事吗？

2. 王致和为什么要撒许多盐，将长毛的豆腐腌起来？

3. 请尝试总结王致和做腐乳的方法。

4. 我们平常吃的豆腐中,哪种适合做腐乳?为什么?

5. 吃腐乳时,你会发现腐乳外部有一层致密的“皮”。这层“皮”是怎样形成的?它对人体有害吗?它的作用是什么?



指导要求

给你一点阅读提示

大豆是一种富含蛋白质的植物性食物资源,其蛋白质含量为36%~40%。经常食用大豆制品,可有效补充蛋白质。含水量为70%左右的豆腐适合做腐乳。在豆腐表面有时 would 看到白毛,那是毛霉的直立菌丝。



板块四 展示交流,探究问题

深入地探究,大方地展示吧



问题呈现

1. 如何控制腐乳发酵过程中的杂菌?

2. 豆腐变为腐乳的过程中,有机物总量、有机物种类有何变化?

展题设计

1. 在制作腐乳时,如果没有加盐,结果会

()

- A. 豆腐容易腐败
- B. 腐乳口味不好
- C. 豆腐不易酥烂
- D. 发酵时间延长

思路指点

在制作腐乳的过程中,盐的作用是析出豆腐中的水分,使豆腐块变硬,在发酵后期不会过早酥烂;能抑制微生物生长,避免豆腐腐败。因此A选项正确。

展示要求

展示时,声音要洪亮,最好将盐的作用表述出来。

2. 下列对腐乳实验操作过程的叙述,错误的是

()

- A. 前期发酵,将笼屉中的温度控制在15~18℃
- B. 豆腐块分层摆放,逐层加盐,层数加高,盐量不变
- C. 卤汤中的酒量应控制在12%左右
- D. 腌制腐乳的玻璃瓶冲洗后要用沸水消毒,装瓶后密封,瓶口通过酒精灯火焰

思路指点

学生只有对“制作腐乳”的整个原理以及“操作提示”有所了解才能作出正确选择。在制作腐乳时,豆腐块分层摆放,逐层加盐,层数增高,盐量增加,因为越接近瓶口,感染杂菌的可能性越大,在接近瓶口的表面需要将盐铺厚一些,以有效防止杂菌的污染。因此B选项是错误的。

展示要求

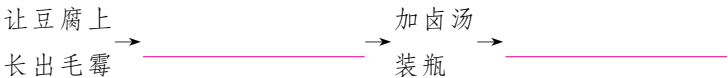
展示时,声音要洪亮,要将4个选项都分析明白,并允许其他同学提出问题。



归纳小结

写写课内学习心得吧

将自己的小结与下面的小结进行对比，把你的成功之处写在下面的小结内或找一空白处记录下来，有机会在班内交流或展示给同学看。



板块五 应用演练,再生新疑

能力从训练中获得，水平在质疑中提高



基础反思

举一反三，逐步提高

1. 关于腐乳发酵原理的叙述，不正确的是 ()

A. 多种微生物参与了腐乳发酵

B. 发酵过程中毛霉和根霉为互利共生关系

C. 发酵过程中蛋白质分解成多肽和氨基酸

D. 装瓶后腐乳坯上的各种微生物会继续发酵

2. 某同学在制作腐乳的过程中，发现豆腐腐败变质，下列不属于其原因的是 ()

A. 用来腌制腐乳的玻璃瓶没有用沸水消毒

B. 用盐腌制时，加盐量太少

C. 制作卤汤时，料酒加的量较多

D. 装瓶后，没有用胶条将瓶口密封

3. 吃腐乳时，外部有一层致密的“皮”，这层“皮”是由什么形成的 ()

A. 毛霉分泌物

B. 毛霉白色菌丝

C. 豆腐块表面失水后变硬

D. 毛霉白色菌丝上的孢子囊

4. 在腐乳制作的过程中，不需要严格灭菌的步骤是 ()
- ①让豆腐长出毛霉 ②加盐腌制 ③加卤汤装瓶 ④密封腌制

A. ①② B. ②③

C. ③④ D. ①④

5. 在制作腐乳时加一定量盐的作用是 ()

①给腐乳以咸味 ②抑制杂菌的生长繁殖 ③浸提毛霉菌丝上的蛋白酶，使之充分溶于食盐溶液中，充分分解豆腐中的蛋白质 ④析出豆腐中的水分

A. ②③④ B. ①②③

C. ①②③④ D. ①③④

6. 下列有关卤汤的描述，错误的是 ()

A. 卤汤是决定腐乳类型的关键因素

B. 卤汤是由酒和各种香辛料配制而成的

C. 卤汤有加强腐乳营养的作用

D. 卤汤有防腐杀菌的作用

7. 下列关于腐乳制作的叙述，错误的是 ()

A. 在腐乳制作过程中必须有能产生蛋白酶的微生物参与

B. 卤汤中酒的含量应控制在 12% 左右

C. 装瓶时，应将瓶口通过酒精灯火焰

D. 主要菌种为毛霉，毛霉可通过光合作用制造有机物

8. 市售腐乳有时口感不好，豆腐较硬，下列原因不可能的是 ()

A. 发酵时间短

B. 菌种老化

- C. 豆腐块含水量高
D. 调味品加入量不足

9. 腐乳的品种很多，红方腐乳因加入了红曲而呈红色，味厚醇香；糟方腐乳因加入了酒糟而糟香扑鼻；青方腐乳不加辅料，用豆腐本身渗出的水加盐腌制而成。腐乳的品种还会因豆腐的含水量、酒的种类和用量等因素而不同。回答下列问题：

(1) 腐乳制作时有多种微生物参与，其中起主要作用的是_____。

(2) 豆腐发酵主要利用了微生物产生的_____，通过发酵，豆腐中营养物质的种类_____，且更易于消化和吸收。

(3) 在腐乳制作过程中，抑制微生物的物质有食盐、_____、_____等。

(4) 含水量为_____左右的豆腐适于制作腐乳。若你完成了腐乳制作，可以从_____等方面评价腐乳的质量。

10. 回答下列有关腐乳制作的问题：

(1) 腐乳是经微生物发酵后制成的食品，多种微生物参与了该发酵过程，其中起主要作用的微生物是_____，其产生的蛋白酶可以使豆腐中的蛋白质被分解为_____和_____。

(2) 发酵完成后，需装瓶加盐腌制，瓶子一般采用的消毒方法是_____，加盐的目的是_____。腐乳制作的后期可加入由酒和多种香辛料配制而成的卤汤，卤汤除了使腐乳具有一定的_____外，还具有防腐作用。

(3) 封瓶的时候，需要把瓶口在酒精灯火焰上过一下，原因是_____。

(4) 含水量高的豆腐不适合用来做腐乳，原因是_____。



能力测控

知识与技能的结合

1. 我国民间常用盐渍法来保存食物，其中的道理是 ()

- A. 盐可以使细菌毒素失效
B. Cl^- 可以杀灭细菌
C. 盐中缺乏细菌需要的营养
D. 盐可以使细菌脱水死亡

2. 在腐乳制作过程中，经检测发现一个毛霉细胞中的 RNA 比一个青霉细胞中的 RNA 多，下列最有可能的是 ()

- A. DNA 的含量：毛霉比青霉多
B. DNA 的含量：青霉比毛霉多
C. 合成的蛋白质：毛霉比青霉多
D. 合成的蛋白质：青霉比毛霉多

3. 以下微生物都参与豆腐的发酵，从代谢类型上考虑，哪一项与其他三项有明显区别 ()

- A. 青霉 B. 酵母菌
C. 曲霉 D. 毛霉

4. 豆腐发酵过程中，毛霉消耗的能量主要来自哪种物质的分解 ()

- A. 脂肪 B. 磷脂
C. 葡萄糖 D. 蛋白质

5. 下列关于中学“腐乳的制作”实验，叙述正确的是 ()

- A. 加盐主要是为了调节水分，利于毛霉生长
B. 加料酒主要是为了灭菌，避免腐乳变质
C. 控制发酵温度的主要目的是腐乳调味
D. 实验室制作的腐乳不宜直接食用

6. 下列关于“腐乳的制作”实验，叙述正确的是 ()

- A. 控制发酵温度的主要目的是腐乳调味
B. 腐乳制作后期加入香辛料和料酒有防腐作用
C. 毛霉的主要作用是分解脂肪和淀粉
D. 成品腐乳表面的黏性物质主要由细

菌产生



拓展创新

重现过程与方法

腐乳是我国民间传统的发酵食品，味道鲜美，营养丰富，风味独特，易于消化。请回答下列问题：

(1) 在腐乳的制作过程中，起主要作用的微生物是什么？它与乳酸菌在结构上的主要区别是什么？

(2) 腐乳含有丰富的氨基酸、甘油、脂肪酸等小分子物质，与此有关的物质变化有哪些？参与这些物质变化的酶有哪些？

(3) 在腐乳的制作过程中需加盐腌制，用盐腌制的目的是什么？

(4) 在腐乳的制作中，卤汤是由酒及各种香辛料配制而成的。请问卤汤中酒的含量为何要控制在 12% 左右？



再生新疑

回头看看很有必要

通过探究，你能说明盐的用量、发酵温度、发酵时间等因素是如何影响腐乳的风味和质量的吗？

课题 3 制作泡菜并检测亚硝酸盐含量



板块一 创设问题，引领目标

知人论世，设疑激趣

问题呈现

千百年来，泡菜不但以其酸鲜纯正、脆嫩芳香、清爽可口、回味悠长的特点吸引了众多食客，还因其开胃口、促消化、解荤腥、增食欲的功效为世人所青睐。泡菜是我国古代劳动人民创造出的一种经过微生物发酵的腌制食品。泡菜是怎样腌制成的呢？在腌制过程中，为什么需要对亚硝酸盐的含量进行测定呢？



板块二 自学思疑，初探问题

自主学习十分重要

教材导读

1. 泡菜酸酸的、辣辣的，鲜嫩清脆，可以增进食欲，帮助消化与吸收。泡菜是如何制作的呢？

2. 有一些人不太爱吃泡菜，担心其中的亚硝酸盐含量过高，影响健康。亚硝酸盐在食品中的作用是什么？测定亚硝酸盐含量的原理是什么？



自主测评

自我检测一下学习效果

1. 基础知识

(1) 在泡菜制作过程中发挥作用的微生物是_____。其在空气、土壤、人或动物的肠道内及_____都有分布。乳酸菌是_____氧细菌，在_____的情况下，将_____分解成乳酸。常见的乳酸菌有_____。

(2) 亚硝酸盐为_____色粉末，易溶于_____，在食品生产中用作_____。膳食中的亚硝酸盐一般_____危害人体健康，但是，当人体摄入的亚硝酸盐总量有_____g时，会引起中毒，当摄入总量达到3g时，会引起_____。我国卫生标准规定，亚硝酸盐的残留量在肉制品中不得超过_____mg/kg，酱腌菜中不超过_____mg/kg，婴幼儿奶粉中不得超过_____mg/kg。膳食中的绝大部分亚硝酸盐的去向是_____，只有在适宜pH、温度和一定的_____作用下，才会转变成致癌物——_____。

2. 实验设计

(1) 按照_____与_____的质量比为_____的比例配制盐水，并将盐水_____待用。加入经过预处理的新鲜蔬菜、香辛料，注入盐水到_____，盖好坛盖，在坛盖边沿的水槽中注满水，其目的是_____。发酵时间长短受_____的影响。

(2) 在_____酸化条件下，亚硝酸盐与_____发生重氮化反应后，与N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成_____色染料，将显色后的样品与_____进行目测比较，可以大致估算泡菜中亚硝酸盐的含量。

3. 发酵操作

(1) 泡菜坛的选择标准是_____，否则容易引起蔬菜腐烂。

(2) 腌制时要注意控制腌制的_____。

(3) 亚硝酸盐含量测定的操作包括：①需要配制质量浓度为4mg/mL的_____、质量浓度为2mg/mL的_____、质量浓度为5μg/mL的_____及_____；②制备_____；③制备_____；④_____并计算出亚硝酸盐的含量。



疑点归纳

梳理问题，自我归纳

通过自学本节内容，你还有哪些未解决的问题，请提出来并归纳在下表中。在合作学习时请同学帮助或提供给老师解决。

疑点 1	
疑点 2	
疑点 3	



板块三 合作互助,共析问题

训练合作能力，达到双赢目的



思考与讨论一

1. 为什么含有抗生素的牛奶不能发酵成酸奶？

2. 为什么日常生活中要多吃新鲜蔬菜，

不吃存放时间过长、变质的蔬菜？

3. 为什么泡菜坛内有时会长一层白膜？
你认为这层白膜是怎样形成的？

4. 你能根据实验数据，绘制亚硝酸盐含量随腌制时间变化的曲线图吗？



思考与讨论二

1. 你能否用光学显微镜观察到腌制泡菜的乳酸菌的形态结构？

2. 随着腌制泡菜时间的延长，乳酸菌、乳酸和亚硝酸盐含量的变化趋势如何？你能分析形成这种趋势的原因吗？



指导要求

给你一点阅读提示

1. 酸奶的制作依靠的是乳酸菌的发酵作用，而抗生素能够杀死乳酸菌或抑制乳酸菌的生长。

2. 在腌制过程中，硝酸盐会被微生物还原成亚硝酸盐，危害人体健康。



板块四 展示交流,探究问题

深入地探究，大方地展示吧



问题呈现

1. 泡菜制作过程中如何预防杂菌污染？

2. 制备样品处理液的三次过滤操作，花费时间较长，每次过滤约需一个小时。比较简单、省时的方法是什么？

3. 辨析比较亚硝酸盐与食盐的不同。

展题设计

1. 制作泡菜时，所用的泡菜坛子必须密封，其原因是 ()

- A. 防止水分的蒸发
- B. 防止菜叶萎蔫
- C. 乳酸菌在有氧条件下发酵被抑制
- D. 防止产生的乳酸挥发

思路指点

泡菜制作是利用乳酸菌的发酵作用而进行的，而乳酸菌是厌氧菌，所以要密封泡菜坛子，避免氧气对其发酵作用的抑制。利用乳酸菌制作泡菜时，为了营造其所需的无氧条件，要注意在坛盖边沿的水槽中注满水。因此 C 选项正确。

展示要求

展示时，要面对同学，声音要达到让每位同学都听清楚的程度，理由阐述要准确，还要允许其他同学质疑。

2. 有关膳食中的亚硝酸盐对人体健康的影响，下列说法正确的是 ()

- A. 膳食中的亚硝酸盐在人体内会随尿液全部排出
- B. 亚硝酸盐在人体内积累有致癌作用
- C. 亚硝酸盐只有在特定条件下才会转变成致癌物质
- D. 亚硝酸盐对人体健康不会有任何影响

思路指点

研究表明膳食中的亚硝酸盐一般不会危害人体健康，当人体摄入量达到某一数值后才会致病。亚硝酸盐绝大部分会随尿液排出体外，其本身无致癌作用，但在特定条件下会转变成致癌物质。因此 C 选项正确。

展示要求

展示时，要能说明亚硝酸盐的相关知

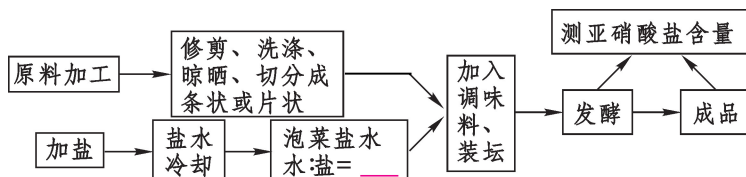
识，其他同学可以适当补充。



归纳小结

写写课内学习心得吧

将自己的小结与下面的小结进行对比，把你的成功之处写在下面的小结内或找一空白处记录下来，有机会在班内交流或展示给同学看。



板块五 应用演练,再生新疑

能力从训练中获得，水平在质疑中提高



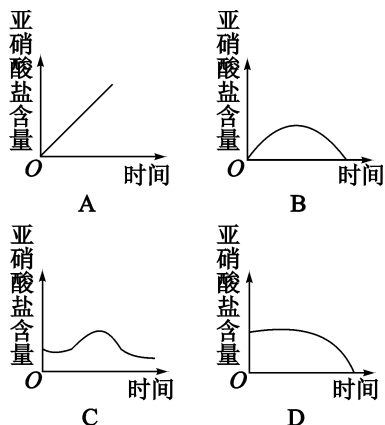
基础反思

举一反三，逐步提高

1. 膳食中一般都含有一定量的亚硝酸盐，下列有关叙述中，不正确的是 ()

- A. 当人体摄入亚硝酸盐的总量达到 0.3 g 时，会引起死亡
- B. 在肉制品中亚硝酸盐的含量不得超过 30 mg/kg
- C. 酱腌菜中亚硝酸盐的含量不得超过 20 mg/kg
- D. 婴幼儿奶粉中亚硝酸盐的含量不得超过 2 mg/kg

2. 下图为泡菜腌制过程中亚硝酸盐含量变化的曲线，其中正确的是 ()



3. 有关测定亚硝酸盐含量的叙述，不正确的是 ()

- A. 显色反应后亚硝酸盐的理化性质没有发生改变
- B. 不同浓度的亚硝酸盐显色深浅不同
- C. 样品液显色后，通过与已知浓度的标准液比色，可大致估算出样品液中亚硝酸盐的含量
- D. 亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应需在盐酸酸化条件下

4. 使泡菜制作成功最主要的条件是 ()

- A. 缺氧环境
- B. 有氧环境
- C. 加盐
- D. 加香辛料

5. 在制备泡菜样品处理液时，对滤液起到净化作用的物质是 ()

- A. 氢氧化铝溶液
- B. 氢氧化钠溶液
- C. 氯化镉溶液
- D. 氯化钡溶液

6. 下列发酵环境会引起泡菜中亚硝酸盐含量上升的是 ()

- A. 温度较低
- B. 食盐含量高
- C. 杂菌污染
- D. 腌制时间长

7. 在配制下列测定亚硝酸盐的试剂时，需加入盐酸的是 ()

- ①氨基苯磺酸液 ②N-1-萘基乙二胺盐酸盐溶液 ③提取剂

- A. ①②③
- B. ①②

- C. ①③ D. ②③
8. 在制作泡菜的过程中，不正确的是 ()
- A. 按照清水与盐的质量比为 4 : 1 的比例配制盐水
- B. 按照清水与盐的质量比为 5 : 1 的比例配制盐水
- C. 盐水入坛前要煮沸冷却，以防污染
- D. 泡菜制作的过程中，发酵时间长短受室内温度影响
9. 下列关于测定亚硝酸盐含量原理的叙述，不正确的是 ()
- A. 亚硝酸盐经一定方式显色反应呈玫瑰红色
- B. 样品液显色后，通过与已知浓度的标准液比色，可大致估算出样品液中亚硝酸盐的含量
- C. 不同浓度的亚硝酸盐显色深浅不同
- D. 显色反应后亚硝酸盐的理化性质没有发生改变



能力测控

知识与技能的结合

1. 选择泡菜坛的原则是：选用火候好、无裂纹、无砂眼的泡菜坛，其主要目的是 ()
- A. 防止泡菜制作过程中 O_2 进入坛内
- B. 防止泡菜汁液渗出，影响口感
- C. 防止杂菌污染
- D. 为使泡菜坛美观
2. 泡菜发酵的微生物主要是乳酸菌，在发酵初期，水槽内经常有气泡产生，这些气泡产生的原因及成分分别是 ()
- A. 乳酸菌是兼性厌氧型微生物，初期进行有氧呼吸产生 CO_2 ；气体为 CO_2
- B. 因腌制过程中盐进入蔬菜使蔬菜体积缩小，气体被排出；气体为空气

- C. 发酵初期活动强烈的是酵母菌，其利用氧产生 CO_2 ；气体为 CO_2
- D. 乳酸菌在发酵过程中产生了热量，使坛内温度升高，空气受热膨胀排出；气体为空气
3. 泡菜制作过程中，许多乳酸菌产生大量乳酸，共同抑制其他菌的生长；乳酸积累过多，又会抑制乳酸菌自身的生长。以上体现出的生物关系依次是 ()
- A. 种内互助、种内斗争、种间斗争
- B. 种内互助、种间斗争、种内斗争
- C. 种内斗争、种间斗争、种内互助
- D. 种间斗争、种内斗争、种内互助
4. 酸牛奶是营养丰富的饮品，其主要成分有水、蛋白质、脂肪、糖类、无机盐等。请根据所提供的材料和用具设计一种简易的方法，用于家庭制作酸牛奶。
- (1) 材料和用具：酸牛奶、市售鲜牛奶、洁净的奶瓶若干个、盛水器皿（如菜盆）、温度计。
- (2) 制备方法
- ①分装：_____；
- ②接种：_____；
- ③发酵：_____。
- (3) 品尝自己制作的酸牛奶的同时，请回答：
- 酸牛奶与鲜牛奶相比，营养价值_____（填“提高”或“降低”），能量_____（填“增加”或“减少”），所以饮用_____牛奶，更有利于我们的健康。
5. 为了研究影响酸奶发酵的因素，某小组在 A、B 两容器中加入一定量的鲜牛奶，将等量的甲、乙两菌种（都能产生乳酸）分别接入其中并混匀，密封后再将两者置于适宜条件下进行发酵，并在 6 h 内定期

取样观测发酵效果。回答下列问题：

(1) 上述过程中可能会影响酸奶品质的操作是_____，为什么？_____。

(2) 在家庭制作葡萄酒时，容器瓶的盖子选下列哪种？_____（填“有螺旋可旋转的”或“密封不可开启的”），为什么？_____。

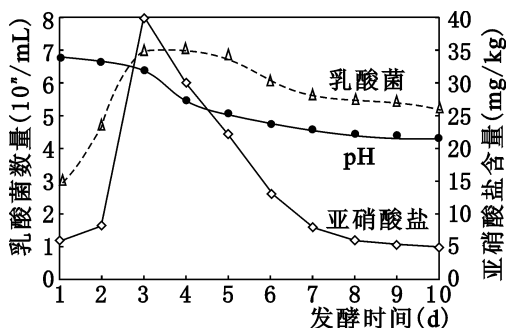
(3) 在制作酸奶时，人们还会在鲜奶中加一定量的蔗糖，其目的是_____。发现6 h 内的酸奶发酵效果越来越好，无法确定发酵的最佳时间，若要确定最佳发酵时间，可以_____。实验结果表明，酸奶制作时间有长有短，有的季节2~3 h 即可，有的季节需要10~12 h。由此可知，影响发酵效果的非生物因素可能是_____。



拓展创新

重现过程与方法

泡菜是我国的传统食品之一，但制作过程中产生的亚硝酸盐对人体健康有潜在危害。某兴趣小组准备参加“科技创新大赛”，查阅资料得到下图。



(1) 制作泡菜时，泡菜坛一般用水密封，目的是_____。乳酸菌发酵第一阶段的产物有_____。

(2) 据图，与第3 d 相比，第8 d 后的泡菜更适于食用，因为后者_____；

pH 呈下降趋势，原因是_____。

(3) 该小组得到一株“优选”乳酸菌（亚硝酸盐还原酶活力比普通乳酸菌高5 倍），拟参照资料的实验方案和食盐浓度（4%~10%），探究与普通乳酸菌相比用“优选”乳酸菌制作泡菜过程中亚硝酸盐含量的高低，并确定其最适条件。请你设计一个实验结果记录表，并推测实验结论。



再生新疑

回头看看很有必要

结合亚硝酸盐含量的变化趋势，分析在泡菜的腌制过程中，什么时候食用最好，为什么？有没有更好的制作泡菜的方法呢？



本专题学习报告

你已经学完专题 1 “传统发酵技术的应用”，请你在下面的矩形方框内，从知识、方法、能力等方面回顾并总结你的收获。

市专题测试题

一、选择题（每小题只有1个选项符合题意，每小题2分，共40分）

1. 下列关于醋酸菌的叙述，正确的是 ()
- A. 醋酸菌为严格有氧呼吸
B. 醋酸菌有氧无氧都能生存
C. 醋酸菌能形成芽孢
D. 醋酸菌能将淀粉分解成醋酸
2. 在酒精发酵装置中，排气口要和一个长而弯曲的胶管连接，其主要目的是 ()
- A. 让产生的气体缓慢排出
B. 防止杂菌污染
C. 防止散热过多
D. 有利于通过排气口进行气体交换
3. 腐乳味道鲜美，易于消化、吸收，是因为其含有的主要营养成分有 ()
- A. 无机盐、水、维生素
B. NaCl、水、蛋白质
C. 多肽、氨基酸、甘油和脂肪酸
D. 蛋白质、脂肪、NaCl、水
4. 下列不是制作腐乳时加一定量酒精的原因是 ()
- A. 抑制微生物的生长
B. 保证腐乳成熟
C. 使腐乳具有独特的香味
D. 脱去腐乳中的水分
5. 下列关于传统发酵技术的应用实验中，叙述正确的是 ()
- A. 腐乳发酵过程中加盐和加酒主要是为了灭菌，避免腐乳腐败变质
B. 分两阶段发酵果醋时，第一阶段比第二阶段的发酵温度要高一些
C. 变酸的酒表面的菌膜含大量酵母

- 菌，腐乳的“皮”为毛霉菌丝
- D. 实验室制作的腐乳可能因其中含有有害的微生物而不宜直接食用
6. 关于亚硝酸盐含量测定原理的正确描述是 ()
- A. 重氮化→酸化→显色→比色
B. 重氮化→酸化→比色→显色
C. 酸化→重氮化→显色→比色
D. 酸化→重氮化→比色→显色
7. 微生物发酵中不会直接引起 pH 变化的是 ()
- A. 营养物质的消耗
B. 微生物呼出的 CO_2
C. 微生物细胞数目的增加
D. 代谢产物的积累
8. 下列关于测定亚硝酸盐含量的实验操作，正确的是 ()
- A. 泡菜制作需要配制盐水，其中盐与水的质量比为 4∶1
B. 泡菜坛应该选择材料好、外表美观的坛子，只要不漏水、不渗水就行
C. 泡菜制作时可以加入少许“陈泡菜水”，目的是增加乳酸菌菌种
D. 泡菜腌制时间长短会影响亚硝酸盐的含量，但温度和食盐的用量不影响其含量
9. 葡萄酒呈现红色的原因是 ()
- A. 在发酵过程中产生了红色物质
B. 在发酵的最后程序中，加入了红色的食用色素
C. 红色葡萄皮中的色素溶解在发酵液中
D. 酒精发酵的最终产物 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 是红色的

10. 乳酸菌培养液中常含有一定浓度的葡萄糖, 但当葡萄糖浓度过高时, 反而抑制微生物的生长, 其原因是 ()

- A. 碳源供应太充足
- B. 细胞会发生质壁分离
- C. 改变了乳酸菌的 pH
- D. 葡萄糖不是乳酸菌的原料

11. 下列评价果酒和果醋制作是否成功的方法中, 不合理的是 ()

- A. 通过向果酒发酵样液加入酸性重铬酸钾试剂进行鉴定
- B. 通过检测果酒发酵前后发酵液的温度变化进行鉴定
- C. 通过检测果醋发酵前后发酵样液的 pH 变化进行鉴定
- D. 通过观察相关微生物的存在或数量变化进行鉴定

12. 在发酵条件的控制中, 错误的是 ()

- A. 葡萄汁装入发酵瓶时, 要留有约 1/3 的空间
- B. 要想一次得到较多的果酒, 在葡萄汁装入发酵瓶时, 要将瓶装满
- C. 制葡萄酒的过程中, 除在适宜的条件下之外, 时间应控制在 10~12 d
- D. 制葡萄醋的温度要比制葡萄酒的温度高些, 但时间一般控制在 7~8 d

13. 下列关于乳酸菌的叙述, 不正确的是 ()

- A. 乳酸菌的种类很多, 常见的有乳酸链球菌和乳酸杆菌
- B. 在自然界中分布广泛, 空气、土壤、植物体表、人和动物的肠道内均有
- C. 乳酸菌是兼性厌氧型生物
- D. 乳酸菌是严格厌氧型微生物

14. 下列有关果酒、果醋和腐乳制作的叙述, 错误的是 ()

- A. 生成果酒与果醋的生化反应一定产

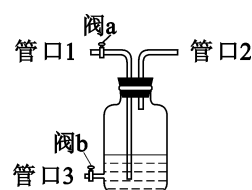
生 CO_2

- B. 高品质果酒与果醋的制作一般要接种纯菌种
- C. 腐乳制作前期和后期发酵均有胞外酶的作用
- D. 制作果酒、果醋和腐乳的微生物均是异养型

15. 含有抗生素的牛奶不能发酵成酸奶, 原因是 ()

- A. 抗生素能够杀死或抑制乳酸菌的生长
- B. 抗生素呈碱性, 会与乳酸发生中和反应
- C. 抗生素能够抑制酵母菌的生长
- D. 抗生素在酸性环境中会被分解破坏

16. 将图中果酒发酵装置改装后用于探究酵母菌呼吸方式的实验, 下列相关操作错误的是 ()



- A. 探究有氧条件下酵母菌呼吸方式时打开阀 a
- B. 经管口 3 取样检测酒精和 CO_2 的产生情况
- C. 实验开始前对改装后的整个装置进行气密性检查
- D. 改装时将盛有澄清石灰水的试剂瓶与管口 2 连通

17. 下列与腐乳制作过程相关的操作, 错误的是 ()

- A. 为了有利于毛霉的生长, 豆腐块应整齐排放, 保持适当的距离
- B. 豆腐块装瓶时, 为了避免影响口味, 逐层加盐量大致相等
- C. 装瓶时, 将瓶口通过酒精灯火焰,

- 迅速用胶条密封保存
- D. 加入胡椒、花椒、八角、桂皮、姜、辣椒等香辛料，调节口味
18. 在制果酒、果醋、泡菜、腐乳时，发酵过程中对氧气的需求分别是 ()
- A. 兼氧、无氧、无氧、有氧
- B. 无氧、有氧、有氧、无氧
- C. 兼氧、无氧、有氧、无氧
- D. 无氧、有氧、无氧、有氧
19. 下列叙述错误的是 ()
- A. 醋酸菌在无氧条件下利用乙醇产生醋酸
- B. 酵母菌在无氧条件下利用葡萄糖汁产生酒精
- C. 泡菜腌制利用了乳酸菌的乳酸发酵
- D. 腐乳制作利用了毛霉等微生物的蛋白酶和脂肪酶
20. 下列有关生物技术的叙述不正确的是 ()
- A. 制作果醋时，必须向发酵装置不断地补充氧气，以保证醋酸菌的生长
- B. 制作腐乳时，加盐腌制可使豆腐块变硬且能抑制杂菌生长
- C. 制作泡菜时坛子需加水密封，目的是隔绝空气，抑制细菌繁殖
- D. 用带盖瓶子制作果酒时，每隔一段时间要拧松瓶盖一次，目的是放出 CO_2

二、非选择题 (共 60 分)

21. (10 分) 红遍大江南北的一档电视节目《舌尖上的中国》，有一期讲到了发酵，因为发酵丰富了我们的餐饮生活。其实我们的日常生活与传统发酵技术密不可分，如常见的果酒、果醋、腐乳、泡菜等，结合所学知识回答下列问题：
- (1) 实验室制作果酒时，将葡萄汁装入发酵瓶要留 $\frac{1}{3}$ 空间，以保证含有一定量氧气的目的是_____。发酵后

- 期，发酵瓶中酒精产生速率下降，最终发酵液中酒精浓度不再增加，出现这种现象的原因有_____。
- (2) 与酵母菌相比，醋酸杆菌在细胞结构上的显著特点是_____；与制作果酒相比，利用醋酸杆菌制作果醋需在_____的条件下完成。
- (3) 制作腐乳时，毛霉产生的_____能将豆腐中的蛋白质和脂肪分解成易于消化吸收的小分子物质。卤汤中酒精含量应控制在 12% 左右，酒精含量过高导致的结果是_____。装瓶时，需在豆腐块上逐层加盐，目的是_____。
- (4) 泡菜制作需要配制盐水，其中盐与水的质量比为_____；在泡菜的腌制过程中，应控制的条件是_____、_____和_____；在测定泡菜中亚硝酸盐的含量时所用的方法是_____。
22. (2017·保定) (15 分) 太原井晒醋是自贡市的名优土特产品，该产品面市已有 150 多年的历史。中草药制曲和天然发酵，是太原井晒醋与其他食醋的区别。下表表示太原井晒醋不同陈酿方法下的一些理化指标。回答下列问题：
- | 项目 | 自然陈酿 | 恒温陈酿 |
|-----------------------------------|-------|------|
| 总酸 (以乙酸计)，
(g/100 mL) $\geq$ | 6.50 | 4.20 |
| 可溶性无盐固形物，
(g/100 mL) $\geq$ | 20.00 | 5.00 |
| 不挥发酸 (以乳酸计)，
(g/100 mL) $\geq$ | 3.50 | 2.00 |
| 还原糖 (以葡萄糖计)，
(g/100 mL) $\geq$ | 3.00 | 2.00 |
- (1) 醋的制作需要以_____作为菌

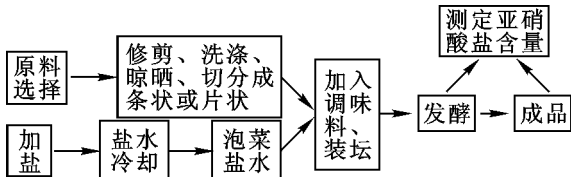
种，请写出一个表示制醋原理的反应式_____。
从生态系统的成分看，该微生物属于生态系统中的_____。

(2) 传统酿醋工艺中，主要是依靠自然界中的菌种，其生产性能不稳定且出醋率低，因而要对菌种进行纯化培养。纯化菌种可用_____法或稀释涂布平板法将样本接种于固体培养基表面，经过选择培养、鉴别等步骤获得。接种前需随机选取若干灭菌后的空白平板先行培养一段时间，其目的是_____。

(3) 恒温陈酿时，需将温度控制在_____范围内；由表中数据可知_____法可提高晒醋质量。

(4) 用一定的方法进行脱色处理后，食醋中的还原糖可用_____试剂检测，在水浴煮沸的条件下，该试剂与还原糖发生反应产生的现象是_____。

23. (10 分) 如图是制作泡菜及测定亚硝酸盐含量的实验流程示意图，请据图回答：



(1) 制作泡菜宜选用新鲜的蔬菜或其他原料，原因是_____。

(2) 制备泡菜的盐水中清水与盐的质量比约为_____，盐水需煮沸并冷却后才可使用，原因是_____。

(3) 泡菜的制作方法不当，很容易造成泡菜变质，甚至发霉变味，试分析可能的原因：_____。

(4) 测定亚硝酸盐含量的方法是_____。

24. (10 分) 果酒的制作依靠的是_____

发酵，在发酵过程中为了检验发酵液中
有无酒精生成，要用_____进行检验，若
有酒精存在，将出现_____色。而泡菜
的制作依靠的是_____的_____发酵，在
制作泡菜的过程中，刚开始由于某些微生物
的作用，可将蔬菜中含有的硝酸盐还原为_____
，为检测泡菜中它的含量，我们一
般用的方法是：在盐酸酸化条件下，让它与_____
发生重氮化反应后，与 N-1-萘
基乙二胺盐酸盐结合形成_____色染料，
再与标准显色液进行对照，可大致估算出亚
硝酸盐的含量。

25. (15 分) 回答下列有关泡菜制作的问题：

(1) 制作泡菜时，所用盐水需煮沸，其
目的是_____。为了缩短制作时间，有人
还会在冷却后的盐水中加入少量“陈泡菜
液”，加入“陈泡菜液”的作用是_____。

(2) 泡菜制作过程中，乳酸发酵的过程
即为乳酸菌进行_____的过程。该过程发
生在乳酸菌细胞的_____中。

(3) 泡菜制作过程中，影响亚硝酸盐含
量的因素有_____、_____和
_____等。

(4) 从开始制作到泡菜品质最佳这段时
间内，泡菜液逐渐变酸，这段时间内泡菜坛
中乳酸菌和其他杂菌的消长规律是_____
，原因是_____。

(5) 提取亚硝酸盐所用的提取剂有_____
和_____，提取的过程中使用的
氢氧化铝乳液的作用是_____。

专题 2 微生物的培养与应用

本专题整体感知

人类总是与知识一起进步、成长！

本专题学习内容

微生物的培养与应用

微生物的实验室培养

微生物的应用实例

培养基的制备

纯化大肠杆菌

微生物的分离与计数

无菌技术

菌种保藏

土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

分解纤维素的微生物的分离

本专题学习目标

知识方面

1. 说出培养基的制备过程。
2. 举例说出消毒和灭菌的方法。
3. 描述倒平板操作、平板划线操作、系列稀释操作和涂布平板操作。
4. 简述纤维素酶的组成和作用。
5. 辨析两种刚果红染色法。

情感态度与价值观方面

1. 领悟科学探究的方法，发展科学思维 and 创新能力。
2. 形成勇于实践，严谨求实的科学态度和科学精神。

能力方面

1. 初步学会微生物的分离和培养方法。
2. 初步学会测定某种微生物数量的方法。
3. 尝试运用选择培养基分离某种特定的微生物。

neirong
内容
本专题学法指导

本专题共设三个课题，实验教学时间相对较长。学习中，要注意把原理和操作结合在一起，进行实验时要掌握相关的基础知识、基本原理，不能盲目地操作。可以采用比较法学习基础知识和基本原理，如平板划线法和稀释涂布平板法，消毒和灭菌，两种刚果红染色法以及不同类型的培养基的用途等。可以通过多次实践，掌握基本操作技能，如培养基的制备、无菌操作技术、平板划线法和稀释涂布平板法等。

明确微生物培养技术的设计流程：发现和明确问题→制订设计方案→实施设计方案→结果分析和评价→表达和交流；同时要学会确认变量、作出假设和预期、设计可行的实验方案、实施实验方案，收集证据并利用数学方法处理、解释数据。

课题 1 微生物的实验室培养



板块一 创设问题，引领目标

知人论世，设疑激趣

问题呈现

当你觉得形单影只、孤身一人的时候，或许你根本想象不到，在我们身边或是身体内部有很多“小东西”一直陪伴着我们——这就是微生物。自有人类以来，人类就在和微生物打交道。人们利用微生物酿酒、制醋、做酸奶，沤制有机肥料等，当然微生物也可引发人类和牲畜的各种疾病。这些单个的微生物细胞，我们用肉眼是看不到的，然而，将其在培养基上培养，当其大量繁殖时，便可形成肉眼可见的菌落。那么，什么是菌落？什么是培养基？培养基中含有哪几类物质？如何在实验室培养微生物？培养过程又如何避免杂菌污染？



板块二 自学思疑，初探问题

自主学习十分重要

教材导读

1. 在实验室培养微生物，需要为培养的微生物提供合适的营养和环境条件。供微生物生长繁殖的营养基质叫培养基。它的化学成分主要包括什么？从细胞的化学元素组成来看，培养基中为什么含有这些营养成分？为什么有些微生物的培养基中需加入特殊营养物质？
2. 配制培养基的过程中有时要加入琼脂，你知道它的成分和作用吗？
3. 实验室培养微生物时，需要确保其他微生物无法混入，如何防止外来杂菌入

侵？消毒和灭菌的原理、实质相同吗？



自主测评

自我检测一下学习效果

1. 培养基是人们按照微生物对_____的不同需求，配制出供微生物_____的营养基质。依据培养基的物理状态，可以分为_____和_____。微生物在_____表面生长，可以形成肉眼可见的_____。
2. 培养基一般都含有_____、_____、_____和_____。另外还需要满足微生物生长对_____、_____以及_____的要求。
3. 获得纯净培养物的关键是_____。
4. 请判断以下材料或用具是否需要消毒或灭菌？如果需要，请选择合适的方法。
(1) 培养细菌用的培养基与培养皿。
(2) 玻璃棒、试管、烧瓶和吸管。
(3) 实验操作者的双手。
5. 实验室常用的消毒方法是_____和_____，此外，人们也常使用化学药剂进行消毒，如用_____、用_____等。常用的灭菌方法有_____、_____、_____。



疑点归纳

梳理问题，自我归纳

通过自学本节内容，你还有哪些未解决的问题，请提出来并归纳在下表中。在合作学习时请同学帮助或提供给老师解决。

疑点 1	
疑点 2	
疑点 3	

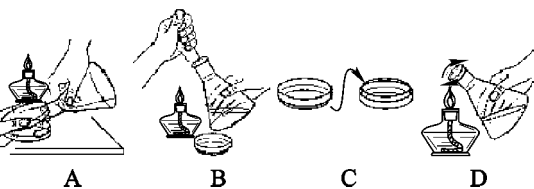


板块三 合作互助,共析问题

训练合作能力，达到双赢目的



思考与讨论一

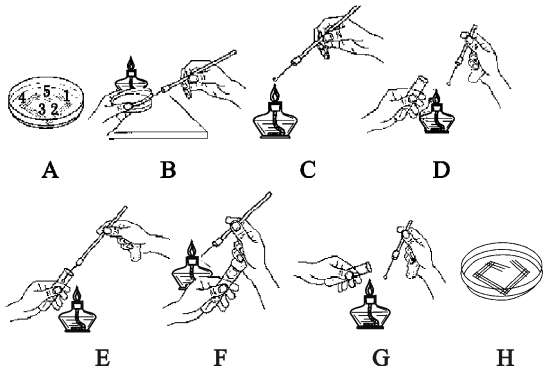
1. 培养基灭菌后，需要冷却到多少摄氏度左右时，才能用来倒平板？你用什么办法来估计培养基的温度？
2. 下图是倒平板的操作过程，正确的顺序是什么？和同伴一起练习操作。

3. 在倒平板的操作过程中，锥形瓶的瓶口要迅速通过酒精灯火焰，为什么？

4. 平板冷凝后，将平板倒置的原因是什么？

5. 在倒平板的过程中，如果不小心将培养基溅在皿盖与皿底之间的某部位，这个平板还能用来培养微生物吗？为什么？

 思考与讨论二

1. 练习平板划线操作，说出平板划线操作的正确步骤。



2. 为什么在操作的第一步以及每次划线之前都要灼烧接种环？在划线操作结束时，仍然需要灼烧接种环吗？为什么？

3. 在灼烧接种环之后，为什么要等其冷却后再进行划线？

4. 在做第二次以及其后的划线操作时，为什么总是从上一次划线的末端开始划线？

 思考与讨论三

1. 什么是稀释涂布平板法？与平板划线法有什么不同之处？

2. 系列稀释操作和涂布平板操作时应如何进行无菌操作？

3. 操作结束后，为什么要将一个未接种的培养基和一个接种的培养基放在一起培养？未接种的培养基表面是否有菌落生长很关键，如果有菌落生长，说明了什么？

 指导要求

给你一点阅读提示

1. 制备牛肉膏蛋白胨固体培养基
(1) 制备牛肉膏蛋白胨固体培养基的一般步骤

计算→称量→溶化→灭菌→倒平板。

(2) 培养基需冷却至 50℃ 时开始倒平板的原因

琼脂是一种多糖，在 98℃ 以上熔化，在 44℃ 以下凝固。倒平板时，高于 50℃ 则会烫手，当低于 50℃ 时，若不及时操作，琼脂会凝固。

(3) 注意事项

① 全程要求无菌操作。无菌技术除了用来防止实验室的培养物被其他外来微生物污染外，还要有效地避免实验操作者被微生物

感染；

②培养基灭菌后，需要冷却到 50 ℃ 左右时，才能用来倒平板。可以用手触摸盛有培养基的锥形瓶，当感觉到锥形瓶的温度下降到刚刚不烫手时，就可以进行倒平板。操作时应使锥形瓶的瓶口通过火焰，以防止瓶口的微生物污染培养基；

③平板冷凝后皿盖上会凝结水珠，凝固后的培养基表面的湿度也比较高，若将平板倒置，既可以使培养基表面的水分更好地挥发，又可以防止皿盖上的水珠落入培养基，造成污染；

④在倒平板的过程中，若不小心将培养基溅到皿盖与皿底之间任何部位，这个平板将不能再使用，因为空气中的微生物可能在皿盖与皿底之间的培养基上滋生。

(4) 培养基的配制原则

①目的要明确

根据不同种类微生物的营养需要选择不同的原料配制培养基。例如，自养型微生物的培养基可由简单的无机物组成，异养型微生物的培养基至少要含有一种有机物。

②营养要协调

不同种类的微生物对各种营养物质的需求量不同，配制培养基时要注意各种营养物质的浓度和比例。例如，培养谷氨酸棒状杆菌时，当培养基中的碳源和氮源的比为 4 ∶ 1 时，谷氨酸棒状杆菌大量生长而谷氨酸合成量少；当碳源与氮源的比为 3 ∶ 1 时，菌体的繁殖受抑制，谷氨酸合成量增加。

③pH 要适宜

各种微生物所要求的最适 pH 不同。例如，培养霉菌时需将培养基的 pH 调至酸性，培养细菌时需要将 pH 调至中性或微碱性。

2. 微生物接种的两种常用方法比较

	平板划线法	稀释涂布平板法
特点	操作简单，但是不易获得单个菌落	操作复杂，但易获得单个菌落
原理	连续划线。划线后，线条末端细菌的数目比线条起始处要少，每次从上一次划线的末端开始，能使细菌的数目随着划线次数的增加而逐步减少，最终能得到由单个细菌繁殖而来的菌落。	将菌液进行一系列的梯度稀释，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。在稀释度足够高的菌液里，聚集在一起的微生物将被分散成单个细胞，从而能在培养基表面形成单个的菌落。
操作注意事项	第一步以及每次划线之前都要灼烧接种环，在划线操作结束时，仍然需要灼烧接种环。在灼烧接种环之后，要等其冷却后再进行划线，避免接种环温度太高，杀死菌种。	涂布平板的所有操作都应在火焰附近进行。应从操作的各个细节保证“无菌”。例如：酒精灯与培养皿的距离要合适、吸管头不要接触任何其他物体、吸管要在酒精灯火焰周围。

3. 无菌技术

(1) 无菌技术的主要内容

①对实验操作的空间、操作者的衣着和手，进行清洁和消毒；

②将用于微生物培养的器皿、接种用具和培养基等进行灭菌；

③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；

④实验操作时应避免已经灭菌处理的材料用具与周围的物品相接触。

(2) 实验室常用的消毒方法

煮沸消毒法、巴氏消毒法、化学药剂消毒、紫外线消毒。

(3) 实验室常用的灭菌方法

①灼烧灭菌：将微生物的接种工具，如接种环、接种针或其他金属工具，直接在酒精灯火焰的充分燃烧层灼烧，可以迅速彻底地灭菌。此外，在接种过程中，试管口或瓶口等容易被污染的部位，也可以通过火焰灼烧来灭菌；

②干热灭菌：能耐高温的，需要保持干燥的物品，如玻璃器皿（吸管、培养皿）和金属用具等，可以采用这种方法灭菌；

③高压蒸汽灭菌：将灭菌物品放置在盛有适量水的高压蒸汽灭菌锅内灭菌。为达到良好的灭菌效果，一般在压力为 100 kPa，温度为 121 ℃ 的条件下，维持 15~30 min。



板块四 展示交流,探究问题

深入地探究，大方地展示吧

问题呈现

1. 说出培养基的基本组成成分，并结合必修模块《分子与细胞》中的知识，从构成生物体的基本元素这一角度理解培养基中为什么都需要具备这些基本成分。

2. 无菌操作和无菌培养是生物科学、医学等领域最基本的实验技能。无菌技术主要包括哪些方面？

3. 微生物很早就用于生产发酵食品，如酒精、面包和发酵的奶制品，微生物的新用途包括生产新型燃料、酶、药物以及污水处理等。培养微生物需制备培养基，请举例说出制备培养基的一般步骤并在实验室展示微生物接种时最常用方法的操作过程。

4. 为了保持菌种的纯净，怎样进行菌种的保藏？

展题设计

1. 下列属于平板划线法和稀释涂布平板法的正确操作分别有哪些？

(1) 将接种环放在火焰上灼烧。

(2) 将已冷却的接种环伸入菌液中沾取一环菌液。

(3) 沾取菌液和划线要在火焰旁进行。

(4) 划线时要将最后一区的划线与第一区的划线相连。

(5) 首先将菌液进行一系列的梯度稀释。

(6) 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。

(7) 适宜条件下培养。

(8) 结果都可在培养基表面形成单个的菌落。

思路指点

平板划线接种法的操作过程是：①将接种环放在火焰上灼烧，直到接种环烧红；②在火焰旁冷却接种环，并打开盛有菌液的试管的棉塞；③将试管口通过火焰；④将已冷却的接种环伸入菌液中，沾取一环菌液；⑤将试管口通过火焰，并塞上棉塞；⑥划线；⑦重复。注意：操作中不要将最后一区的划线与第一区相连。

稀释涂布平板法是将菌液进行一系列的梯度稀释，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。用不同稀释度的菌液接种，只有在稀释度足够高的菌液里，聚集在一起的微生物被分散成

单个细胞，才能够在培养基表面形成单个菌落，而不是所有培养基上均可出现单个菌落。

展示要求

展示时，要面对同学，声音要达到让每位同学都听清楚的程度，理由阐述要准确，还要允许其他同学质疑。

2. 为了保持菌种的纯净，需要进行菌种的保藏，下列有关叙述正确的是 ()

- A. 对于频繁使用的菌种，可以采用甘油管藏的方法
- B. 临时保藏的菌种一般是接种到试管的固体斜面培养基上
- C. 甘油管藏的菌种容易被污染或产生变异
- D. 对于需要长期保存的菌种，可以采用-4℃低温保藏的方法

思路指点

要明确不同保藏方法的适用范围。对于频繁使用的菌种，采用临时保藏的方法，将菌种接种到试管的固体斜面培养基上，在合适的温度下培养，当菌落长成后，将试管放入4℃的冰箱中保藏；对于需要长期保藏的菌种，可采用甘油管藏法，即在3 mL的甘油瓶中装入1 mL甘油后灭菌，将1 mL培养的菌液转移到甘油瓶中，与甘油充分混匀后，

放在-20℃的冷冻箱中保存。

展示要求

展示时，声音要洪亮，理由阐述要准确，问题分析要全面、深刻，并使用准确的生物术语，还要允许其他同学质疑。

3. 下列关于无菌操作转接培养物的叙述中，正确的有哪些？

- (1) 接种环在火焰上灼烧灭菌。
- (2) 在火焰旁冷却接种环，并打开棉塞。
- (3) 打开棉塞的试管口通过火焰。
- (4) 将已冷却的接种环伸入菌液，沾取一环菌液转移到一装有无菌培养基的试管中。
- (5) 将试管口塞上棉塞。
- (6) 接种环进行灭菌。

思路指点

无菌操作转接培养物的操作过程是在火焰上灼烧接种环灭菌，在火焰旁冷却接种环，并打开棉塞，把打开棉塞的试管口通过火焰，再将已冷却的接种环伸入菌液，沾取一环菌液转移到一装有无菌培养基的试管中，将试管口塞上棉塞，接种环进行灭菌。

展示要求

展示时，思路要清晰，分析问题时层次要分明，要允许其他同学质疑，并给予耐心解答。



归纳小结

写写课内学习心得吧

将自己的小结与下面的小结进行对比，把你的成功之处写在下面的小结内或找一空白处记录下来，有机会在班内交流或展示给同学看。

微生物的实验室培养 { 配制培养基 { 培养基的营养物质：_____
制备培养基的流程：_____
纯化大肠杆菌常用的方法：____、_____
无菌操作技术 { 消毒方法：_____
灭菌方法：_____
菌种的保藏方法：____、_____



板块五 应用演练,再生新疑

能力从训练中获得,水平在质疑中提高



基础反思

举一反三,逐步提高

1. 自养型微生物与异养型微生物的培养基的主要差别是 ()

- A. 碳源
- B. 氮源
- C. 无机盐
- D. 特殊营养物质

2. 下列有关培养基的叙述正确的是 ()

- A. 培养基是为微生物的生长繁殖提供营养的基质
- B. 培养基只有两类:液体培养基和固体培养基
- C. 固体培养基中加入少量水即可制成液体培养基
- D. 微生物在固体培养基上生长时,可以形成肉眼可见的单个细菌

3. 下列关于制备牛肉膏蛋白胨固体培养基的叙述正确的是 ()

- A. 制备步骤是计算→称量→灭菌→溶化→倒平板
- B. 待培养基冷却到室温时进行倒平板
- C. 灭菌时用到的灭菌工具是干热灭菌箱
- D. 倒平板操作时需在酒精灯火焰附近进行

4. 在接种操作的过程中,不正确的是 ()

- A. 要将接种环灼烧灭菌
- B. 取下棉塞后要将试管口灼烧灭菌
- C. 将接种环伸入试管内,先接触长菌多的部位
- D. 接种后还要将管口灭菌加塞

5. 培养基、培养皿、接种环、实验操作者的双手、空气、牛奶等所采用的灭菌或消毒方法依次是 ()

- ①化学消毒 ②灼烧灭菌 ③干热灭菌
- ④紫外线消毒 ⑤高压蒸汽灭菌 ⑥巴氏消毒法

- A. ⑤③②①④⑥
- B. ⑤③②④①⑥
- C. ⑥②③④①⑤
- D. ③④②①⑥⑤

6. 获得纯净培养物的关键是 ()

- A. 将用于微生物培养的器皿、接种用具进行灭菌
- B. 接种纯种细菌
- C. 适宜环境条件下培养
- D. 防止外来杂菌的入侵

7. 灭菌的目的是 ()

- A. 杀死所有的微生物
- B. 杀死所有的病原体
- C. 杀死所有的微生物,包括芽孢和孢子
- D. 使病原菌不再生长

8. 有关倒平板的操作,错误的是 ()

- A. 将灭过菌的培养皿放在火焰旁的桌面上
- B. 使打开的锥形瓶瓶口迅速通过火焰
- C. 将培养皿打开,培养皿盖倒放在桌子上
- D. 等待平板冷却凝固后需要倒过来放置

9. 下列叙述不正确的是 ()

- A. 培养厌氧细菌时需提供无氧条件
- B. 培养霉菌时需将培养基 pH 调至中性或微碱性
- C. 培养乳酸菌时需在培养基中添加维生素
- D. 培养硝化细菌时无需在培养基中添加

加有机碳源

10. 平板冷凝后, 要将平板倒置, 其原因之一是 ()

- A. 接种时再拿起来方便
- B. 在皿底上标记日期等方便
- C. 正着放置容易破碎
- D. 防止皿盖上的冷凝水落入培养基造成污染

11. 请回答下列问题:

(1) 在大肠杆菌培养过程中, 除考虑营养条件外, 还要考虑_____、_____和渗透压等条件。由于该细菌具有体积小、结构简单、变异类型容易选择、_____、_____等优点, 因此常作为遗传学研究的实验材料。

(2) 在微生物培养操作过程中, 为防止杂菌污染, 需对培养基和培养皿进行_____ (填“消毒”或“灭菌”); 操作者的双手需要进行清洗和_____ ; 静止空气中的细菌可用紫外线杀灭, 其原因是紫外线能使蛋白质变性, 还能_____。

(3) 若用稀释涂布平板法计数大肠杆菌活菌的个数, 要想使所得估计值更接近实际值, 除应严格操作、多次重复外, 还应保证待测样品稀释的_____。

(4) 通常, 对获得的纯菌种还可以依据菌落的形状、大小等菌落特征对细菌进行初步的_____。

(5) 培养大肠杆菌时, 在接种前需要检测培养基是否被污染。对于固体培养基应采用的检测方法是_____。

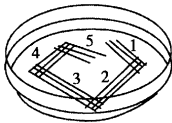
(6) 若用大肠杆菌进行实验, 使用过的培养基及其培养物必须经过_____处理后才能丢弃, 以防止培养物的扩散。



能力测控

知识与技能的结合

1. 下列有关菌落的叙述中, 不正确的是 ()
- A. 菌落的特征可以作为鉴定菌种的主要依据
 - B. 细菌在固体培养基上才能形成菌落
 - C. 无荚膜的球菌形成的菌落边缘不整齐
 - D. 每个菌落均是由大量不同种细菌组成的
2. 如图所示是微生物平板划线示意图, 下列操作方法正确的是 ()



- A. 操作前要将接种环放在火焰边灼烧灭菌
 - B. 划线操作须在火焰上进行
 - C. 只在 5 区域中才可以得到所需菌落
 - D. 每次划线前后都要对接种环灭菌
3. 现有两种固体培养基, 已知其配制时所加的成分如下表:

成分	含量	KH_2PO_4	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	NaCl	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	CaCO_3	葡萄糖	纯淀粉
甲培养基		0.02%	0.02%	0.02%	0.01%	0.5%	0.5%	2%
乙培养基		0.02%	0.02%	0.02%	0.01%	0.5%	—	—

用这两种培养基培养两种微生物, 你认为它们适于培养 ()

- A. 甲培养基适于培养自养型自生固氮菌; 乙培养基适于培养异养型自生固氮菌
- B. 甲培养基适于培养酵母菌; 乙培养基适于培养真菌
- C. 甲培养基适于培养异养型的固氮菌; 乙培养基适于培养自养型的固

- 氮菌
- D. 甲培养基适于培养异养型共生细菌；乙培养基适于培养异养型共生固氮菌
4. 某微生物培养过程中分别采用高压蒸汽灭菌、酒精、火焰灼烧等几种不同的无菌操作方法，这些方法依次用于消灭哪些部位的杂菌 ()
- A. 培养基、培养皿、接种环
B. 培养基、手、接种环
C. 接种环、手、涂布器
D. 接种环、培养基、培养皿
5. 利用稀释涂布平板法纯化的大肠杆菌，经培养后，发现培养基上出现了多种菌落，不可能的原因是 ()
- A. 培养基制备过程中被杂菌污染
B. 接种过程中，无菌操作不符合要求
C. 系列稀释时，无菌操作不符合要求
D. 由不同种类的大肠杆菌形成的
6. 培养某种禽流感病毒时，应选用 ()
- A. 牛肉膏蛋白胨培养基
B. 含多种有机物的培养基
C. 活鸡胚
D. 含多种无机盐的培养基
7. 某小组同学为了调查湖水中细菌的污染情况而进行了实验。实验包括制备培养基、灭菌、接种及培养、菌落观察计数。请回答与此实验相关的问题。
- (1) 培养基中含有的蛋白胨、淀粉分别为细菌培养提供了_____和_____。除此之外，培养基还必须含有的基本成分是_____和_____。
- (2) 对培养基进行灭菌，应该采用的方法是_____。
- (3) 为了尽快观察到细菌培养的实验结果，应将接种了湖水样品的平板置于_____中培养，培养的温度设定在 37 ℃。

要使该实验所得结果可靠，还应该同时在另一平板上接种_____作为对照进行实验。

(4) 培养 20 h 后，观察到平板上有形态和颜色不同的菌落，这说明湖水样品中有_____种细菌。一般说来，菌落总数越多，湖水遭受细菌污染的程度越_____。

8. 牛肉膏蛋白胨培养基是一种应用十分广泛的天然培养基，多数微生物能够在该培养基上生长。牛肉膏蛋白胨培养基的营养构成如下表，请回答下列问题：

物质	用量
牛肉膏	5 g
蛋白胨	10 g
NaCl	5 g
琼脂	20 g
水	定容至 1 000 mL

(1) 按物理状态划分，该培养基属于_____。该培养基中提供碳源的物质是_____，除此之外，该培养基还需要满足微生物生长对 pH、_____以及_____的要求。

(2) 获得纯净培养物的关键是_____，对该培养基进行灭菌的方法是_____。接种环在使用前后要进行_____灭菌。

(3) 在此培养基上生长形成的菌落是由_____繁殖而来的_____。



拓展创新

重现过程与方法

国家标准规定每毫升酸奶产品中乳酸菌菌数不得低于 1×10^6 。为了解某酸奶中的乳酸菌含量是否达到国家标准，某兴趣小组进行了如下实验，请回答下列问题：

(1) 制备培养基：培养基的碳源为_____（填“含碳无机物”或“含碳有机物”）。检测培养基灭菌是否合格的方法是_____。

_____。

(2) 样品稀释：先将样品稀释 10 倍，可用无菌移液管吸取 25 mL 酸奶样品加入盛有 _____ mL 无菌水的三角瓶中，使样品与水充分混匀。然后进行系列梯度稀释操作，得到稀释 10^6 、 10^7 、 10^8 倍的样品。

(3) 培养与统计：吸取不同稀释度的样品各 1 mL，分别置于不同培养皿内，加入适宜温度的溶化状态的培养基，使之混合均匀，冷却成平板。每个稀释度做 3 个重复。在适宜条件下培养一段时间后，对平板的菌落数进行统计，结果如下：

稀释度 (倍)	10^6			10^7			10^8		
平板	1	2	3	1	2	3	1	2	3
平板菌落数 (个)	432	421	445	78	67	74	9	6	8

为了保证结果准确，应选择上述稀释 _____ 倍的平板菌落数作为统计结果，计算出样品中每毫升乳酸菌菌落数为 _____ 个。

(4) 测定微生物的数量常采用稀释涂布平板法，其统计的数值往往比实际数目 _____，原因是 _____。



再生新疑

回头看看很有必要

通过本课题的学习，你已经了解微生物的实验室培养，那么如何进行微生物的分离和计数呢？你将在本专题的课题 2 中学习。

课题 2 土壤中分解尿素的细菌的分离与计数



板块一 创设问题，引领目标

知人论世，设疑激趣

问题呈现

1926 年美国科学家萨姆纳从刀豆的种子中提取出脲酶的结晶，并且通过化学实验证实脲酶是一种蛋白质。你知道脲酶的作用吗？土壤中的一些细菌也含有这种酶。如何筛选土壤中分解尿素的细菌呢？怎样才能排除实验组中非测试因素对实验结果的影响，从而提高实验结果的可信度呢？你能写出完整、详细的实验方案吗？



板块二 自学思疑，初探问题

自主学习十分重要

教材导读

1. 科学家能从热泉中把耐热细菌筛选出来的原理是什么？对我们有何启示？
2. 尿素是一种重要的农业氮肥。但是，尿素并不能直接被农作物吸收。只有当土壤中的细菌将尿素分解成氨之后，才能被植物

利用。土壤中的这些细菌能分解尿素的原理是什么？在实验室中筛选目的菌株的思路是什么？

3. 下面是本课题使用的培养基配方：

KH_2PO_4	1.4 g
Na_2HPO_4	2.1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2 g
葡萄糖	10.0 g
尿素	1.0 g
琼脂	15.0 g

将上述物质溶解后，用蒸馏水定容到 1000 mL。

请思考：

(1) 该培养基中，为微生物的生长提供碳源和氮源的分别是什么物质？琼脂的作用是什么？

(2) 该培养基对微生物是否具有筛选作用，为什么？

4. 实验室培养目的菌常常要统计菌落数目，其理论依据是什么？利用稀释涂布平板法成功统计菌落数目的关键是什么？为什么统计的菌落数比活菌的实际数目低？从平板上的菌落数推测出每克样品中的活菌数的计算方法是什么？



自主测评

自我检测一下学习效果

1. 选择培养基是指_____。
2. 对照实验是指_____。设置对照的主要目的是_____，提高实验结果的可信度。

3. 用稀释涂布平板法测定同一土壤样品中的细菌数，在对应稀释倍数为 10^6 的培养基中，得到以下几种统计结果，其中正确的是 ()

- A. 涂布了一个平板，统计的菌落数是 230
- B. 涂布了两个平板，统计的菌落数分别是 215 和 260，取平均值 238
- C. 涂布了三个平板，统计的菌落数分别是 21、212 和 256，取平均值 163
- D. 涂布了三个平板，统计的菌落数分别是 210、240 和 250，取平均

值 233



疑点归纳

梳理问题，自我归纳

通过自学本节内容，你还有哪些未解决的问题，请提出来并归纳在下表中。在合作学习时请同学帮助或提供给老师解决。

疑点 1	
疑点 2	
疑点 3	



板块三 合作互助,共析问题

训练合作能力，达到双赢目的



思考与讨论一

1. 土壤有“微生物的天然培养基”之称。同其他生物环境相比，土壤中的微生物数量大，种类多。本实验中，你打算选择什么样的土壤做实验呢？

2. 土壤中各类微生物的数量（单位：株/kg）是不同的，如在干旱土壤中的上层样本中，好氧及兼性厌氧细菌数约为 2185 万个，放线菌数约为 477 万个，霉菌数约为 23.1 万个。据此分析，测定土壤中细菌的总量和测定土壤中能分解尿素的细菌的数量，选用的稀释范围相同吗？如果不同，你打算选用多大的稀释范围？

3. 一般来说，在一定的培养条件下（相同的培养基、温度及培养时间），同种微生物表现出稳定的菌落特征。这些特征包括菌落的形状、大小、隆起程度和颜色等方面。请仔细观察你们所分离到的菌落，记录菌落特征。在菌落计数时，一般要每隔 24 h 统计一次菌落数目，选取菌落数目稳定时的记录作为结果，为什么？

4. 活菌计数技术广泛应用于土壤含菌量的测定、食品卫生和水源污染度的检验等方面。饮用水中大肠杆菌数量还可以通过什么方法测定？



思考与讨论二

1. 你们小组的培养物是否被杂菌污染？选择培养基能筛选出一些菌落吗？

2. 你们小组是否获得了某一稀释度下，菌落数目在 30~300 的平板？在这一稀释度下，是否至少有两个平板的菌落数相接近？

3. 你们统计的每克土壤中含有能分解尿素的细菌的菌落数是多少？与其他同学的结果接近吗？如果差异很大，可能是什么原因

因引起的？



指导要求

给你一点阅读提示

1. 统计菌落数目的方法

	显微镜直接计数法	间接计数法 (活菌计数法)
操作方法	(1) 用计数板计数时，先将待测样品制成悬液。 (2) 取一定量的悬液放在显微镜下进行计数。 (3) 根据在显微镜下观察到的微生物数目来计算出单位体积内的微生物总数。	(1) 设置重复组，增强实验的说服力与准确性。 (2) 为了保证结果准确，一定要选择恰当的稀释度。 (3) 选择菌落数在30~300的平板计数，并计算平均值。
缺点	不能区分死菌与活菌；难以计数微小的细菌；不适于对运动细菌的计数；需要相对高的细菌浓度。	只能计活菌数，受稀释度影响很大。

2. 分离土壤中分解尿素的细菌的实验设计

(1) 原理

尿素是一种重要的农业氮肥，只有当土壤中的细菌将尿素分解成氨之后，才能被植物利用。尿素分解菌能合成脲酶，在脲酶的作用下尿素被分解成氨。

(2) 实验流程

土壤取样→样品稀释→取样涂布→微生物培养→观察并记录结果→细菌计数。

(3) 结果分析

要判断固体培养基是否被污染，可将未接种的培养基在适宜的温度下培养一段时间作为对照。若发现有菌落说明培养基已被污染。

内容	现象	结论
判断有无杂菌污染	对照的培养皿中无菌落生长	未被杂菌污染
	菌落形态多样，菌落数偏高	培养物中混入其他氮源，被杂菌污染
选择培养基的筛选作用	牛肉膏培养基上的菌落数目大于选择培养基上的数目	选择培养基具有筛选作用
样品的稀释操作	得到 2 个或 2 个以上菌落数目在 30~300 的平板	操作成功
重复组的结果	若选择同一种土样，统计结果应接近	

3. 细菌的数目还可以通过滤膜法来测定（以测定饮用水中大肠杆菌的数目为例）。将已知体积的水过滤后，把滤膜放在伊红美蓝培养基上培养。在该培养基上，大肠杆菌的菌落呈现黑色。可以根据培养基上黑色菌落的数目，计算出水样中大肠杆菌的数量。

4. 菌落的特征是判断微生物种类的重要依据。对获得的纯菌种可以依据菌落的特征对细菌进行初步检测。

5. 进行微生物培养时，使用过的培养基及培养物必须经灭菌后才能丢弃，防止培养的微生物扩散到环境中造成危害。



板块四 展示交流,探究问题

深入地探究,大方地展示吧

问题呈现

1. 如何确认培养基制作与接种操作合格,请举例说明。
2. 说出分离土壤中分解尿素的细菌的正确操作步骤和统计菌落数目的正确方法。
3. 在自然环境中常常是多种不同的微生物混杂在一起,要对其中的某种微生物进行研究,就必须获得其纯净培养物,以排除其他微生物的干扰。描述选择培养基的选择作用。

展题设计

1. 土壤中分解尿素的细菌的分离与计数正确的操作步骤是_____。
 - ①土壤取样
 - ②称取 10 g 土壤,加入盛有 90 mL 无

菌水的锥形瓶中

③吸取 0.1 mL 进行涂布平板操作,培养后进行观察和计数

④依次稀释至 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 倍

思路指点

在分离土壤中某种细菌时,应选取土样(10 g),加无菌水获得土壤浸出液,进行不同倍数稀释,然后将稀释液涂布到培养基表面进行培养,再进行分离与计数。

展示要求

展示时,理由阐述要准确,同时认真听取同学的见解,对独特的思路或表达方法予以评价。

2. 判断选择培养基是否起到了选择作用需要设置的对照组是 ()

- A. 未接种的选择培养基
- B. 未接种的牛肉膏蛋白胨培养基
- C. 接种的牛肉膏蛋白胨培养基
- D. 接种的选择培养基

思路指点

作为对照实验,一定要注意遵循等量原则与单一变量控制原则。将菌液稀释相同的倍数,在牛肉膏蛋白胨培养基上生长的菌落数目明显多于选择培养基上的数目,说明选择培养基起到了选择作用。

展示要求

展示时,思路要清晰,分析问题时层次要分明,要允许其他同学质疑,并给予耐心解答。



归纳小结

写写课内学习心得吧

将自己的小结与下面的小结进行对比，把你的成功之处写在下面的小结内或找一空白处记录下来，有机会在班内交流或展示给同学看。

土壤取样

↓

样品稀释

↓

观察培养

↓

菌落计数

↓

课题延伸

土壤要求：_____

取样部位：_____

稀释度：_____，保证能从中选择出菌落数在 30~300 的平板进行计数

培养温度：_____；培养时间：_____；
选取_____稳定时的记录作为结果

菌落数：_____个，并取平均值

计算公式：_____

判断细菌合成的脲酶是否将尿素分解成了氨可以检测_____

初步鉴定该种细菌能够分解尿素的方法是_____



板块五 应用演练,再生新疑

能力从训练中获得，水平在质疑中提高



基础反思

举一反三，逐步提高

1. 从土壤中分离能分解尿素的细菌，所利用的选择培养基中，一定含有的成分有 ()

①尿素 ②其他有机氮化合物 ③无机盐 ④葡萄糖 ⑤水 ⑥无机碳化合物

- A. ①③④⑤
- B. ②③④⑤
- C. ①③⑤⑥
- D. ②③⑤⑥

2. 下列能选择出分解尿素的细菌的培养基是 ()

- A. KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、葡萄糖、尿素、琼脂、水
- B. KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、葡萄糖、琼脂、水
- C. KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、尿素、琼脂、水
- D. KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、牛肉膏、蛋白胨、琼脂、水

3. 在“土壤中分解尿素的细菌的分离

与计数”课题中，以土壤中的细菌为研究对象，要达到的目的是 ()

- ①从土壤中分离出能够分解尿素的细菌
- ②从土壤中分离出能够分解氨的细菌
- ③统计每克土壤样品中究竟含有多少分解尿素的细菌
- ④统计所取土壤样品中究竟含有多少分解尿素的细菌

- A. ①③
- B. ②④
- C. ①②
- D. ③④

4. 下列关于微生物的培养，叙述错误的是 ()

- A. 细菌一般在 $30\sim 37\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度下培养 1~2 d
- B. 放线菌一般在 $25\sim 28\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度下培养 5~7 d
- C. 霉菌一般在 $25\sim 28\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度下培养 3~4 d
- D. 不同种类的微生物，一般需要相同的培养温度和培养时间

5. 用以尿素为唯一氮源并加入酚红指示剂的培养基，培养分解尿素的细菌后，指示剂将 ()

- A. 变蓝色
- B. 变红色

- C. 变黑色 D. 变棕色
6. 关于土壤取样的叙述错误的是 ()
- A. 应选取肥沃、湿润的土壤取样
- B. 先铲去表层土 3 cm 左右, 再取样
- C. 取样用的小铁铲和信封在使用前不用灭菌
- D. 应在火焰旁称取土壤
7. 在微生物学中, 将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为 ()
- A. 固体培养基 B. 液体培养基
- C. 鉴别培养基 D. 选择培养基
8. 不同种类的细菌菌落表现为不同的特征, 下列属于菌落特征的是 ()
- ①菌落大小 ②菌落形状 ③菌落的隆起程度 ④菌落的颜色 ⑤菌落的透明度
- A. ①②③④ B. ②③④⑤
- C. ①③④⑤ D. ①②③④⑤
9. 某混合样品中微生物 R 含量极少, 要得到大量的微生物 R, 比较理想的方法是采用

- ()
- A. 天然培养基
- B. 稀释涂布平板法
- C. 利用适合 R 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
- D. 用显微镜直接观察、寻找, 再培养
10. 自然界中的微生物往往是混杂生长的。人们在研究微生物时一般要将它们分离提纯, 然后经过数量的测定。下面是对大肠杆菌进行数量测定的实验, 请回答有关问题。

实验步骤:

- A. 制备稀释倍数为 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 的系列稀释液
- B. 选用_____法接种样品
- C. 适宜温度下培养

结果分析:

- (1) 测定的大肠杆菌数, 在对应稀释倍数为 10^6 的培养基中, 得到以下几种统计结

果, 其中正确可信的是 ()

- A. 一个平板, 统计的菌落数是 23
- B. 两个平板, 统计的菌落数分别是 22 和 26, 取平均值 24
- C. 三个平板, 统计的菌落数分别是 21、5 和 52, 取平均值 26
- D. 四个平板, 统计的菌落数分别是 21、30、24 和 25, 取平均值 25

(2) 某同学在稀释倍数为 10^5 的培养基中测得平板上菌落数的平均值为 23.4, 那么每克样品中的菌落数是 (涂布平板时所用稀释液的体积为 0.2 mL)_____。

(3) 用这种方法测定密度, 实际活菌数量要比测得的数量_____, 因为_____。

(4) 某同学在测定大肠杆菌的密度时发现, 在培养基上还有其他杂菌的菌落, 能否肯定该大肠杆菌的品系被污染了?____。为什么?_____。



能力测控

知识与技能的结合

1. 下列叙述错误的是 ()
- A. 因为土壤中各类微生物的数量不同, 所以为获得不同类型的微生物要按不同的稀释倍数进行分离
- B. 测定土壤中细菌的总量和测定土壤中能分解尿素的细菌的数量, 选用的稀释范围不同
- C. 只有得到了 3 个或 3 个以上菌落数目在 30~300 的平板, 才说明稀释操作比较成功, 并能够进行菌落的计数
- D. 牛肉膏蛋白胨培养基的菌落数明显大于选择培养基的菌落数, 说明选择培养基已筛选出一些细菌菌落
2. 关于测定土壤中微生物的数量, 叙述正确的是 ()

- A. 一般选用 $10^3 \sim 10^7$ 倍的稀释液分别涂布
- B. 测定放线菌的数量, 一般选用 10^3 、 10^4 和 10^5 倍的稀释液
- C. 测定真菌的数量, 一般选用 10^3 、 10^4 和 10^5 倍的稀释液
- D. 当第一次测量某种细菌的数量时, 可以将 $10^4 \sim 10^6$ 倍的稀释液分别涂布到平板上培养

3. 用稀释涂布平板法统计酵母菌的数目时, 统计得到的数目是 ()

- A. 活细胞数 B. 死细胞数
- C. 总菌数 D. 菌落数

4. 以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂的目的是 ()

- A. 筛选出能分解尿素的细菌
- B. 对分离的菌种作进一步的鉴定
- C. 培养基中缺乏酚红指示剂作细菌的营养物质
- D. 如指示剂变蓝就能准确认定该菌能分解尿素

5. 某些土壤细菌可将尿素分解成 CO_2 和 NH_3 , 供植物吸收和利用。回答下列问题:

(1) 有些细菌能分解尿素, 有些细菌则不能, 原因是前者能产生_____。能分解尿素的细菌不能以尿素的分解产物 CO_2 作为碳源, 原因是_____, 但可用葡萄糖作为碳源, 进入细菌体内的葡萄糖的主要作用是_____ (答出两点即可)。

(2) 为了筛选可分解尿素的细菌, 在配制培养基时, 应选择_____ (填“尿素”“ NH_4NO_3 ”或“尿素 + NH_4NO_3 ”)作为氮源, 不选择其他两组的原因是_____。

(3) 用来筛选分解尿素细菌的培养基含有 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 , 其作用有_____

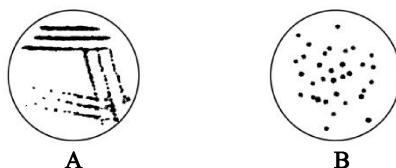
(答出两点即可)。

6. 为了调查某河流的水质状况, 某研究小组测定了该河流水样中的细菌含量, 并进行了细菌分离等工作。回答下列问题:

(1) 该小组采用稀释涂布平板法检测水样中的细菌含量。在涂布接种前, 随机取若干灭菌后的空白平板先行培养了一段时间, 这样做的目的是_____; 然后, 将 1 mL 水样稀释 100 倍, 在 3 个平板上用涂布法分别接入 0.1 mL 稀释液; 经适当培养后, 3 个平板上的菌落数分别为 39、38 和 37。据此可得出每升水样中的活菌数为_____。

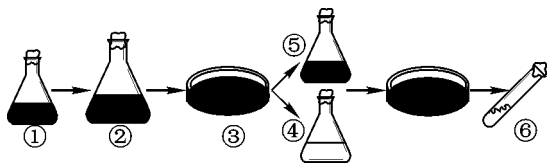
(2) 该小组采用平板划线法分离水样中的细菌。操作时, 接种环通过_____灭菌, 在第二次及以后的划线时, 总是从上一次划线的末端开始划线。这样做的目的是_____。

(3) 示意图 A 和 B 中, _____表示的是用稀释涂布平板法接种培养后得到的结果。



(4) 该小组将得到的菌株接种到液体培养基中并混匀, 一部分进行静置培养, 另一部分进行振荡培养。结果发现: 振荡培养的细菌比静置培养的细菌生长速度快。分析其原因是: 振荡培养能提高培养液中_____的含量, 同时可使菌体与培养液充分接触, 提高_____的利用率。

7. 苯酚是工业生产排放的有毒污染物质, 自然界中存在着降解苯酚的微生物。某工厂产生的废水中含有苯酚, 为了降解废水中的苯酚, 研究人员从土壤中筛选获得了只能降解利用苯酚的细菌菌株, 筛选的主要步骤如图所示, ①为土壤样品。请回答下列问题:



(1) ②中培养目的菌株的选择培养基中应加入_____作为碳源，②中不同浓度碳源的培养基_____（填“影响”或“不影响”）细菌的数量，如果要测定②中活细菌数量，常采用_____。

(2) ④为对照组，微生物在④中不生长，在⑤中生长，④与⑤的培养基的主要区别在于_____；使用_____法可以在⑥上获得单菌落。采用固体平板培养细菌时为什么进行倒置培养？_____。

(3) 如何比较不同菌株降解苯酚能力的大小的_____（现象）。

_____。

(4) 实验过程中如何防止其他微生物的污染？

_____。

8. 秋收季节，北方的玉米田里“狼烟滚滚”，这是没有被深埋的玉米秸秆被粮农焚烧的结果。秸秆焚烧不仅浪费了能源，还污染了环境。研究人员发现某种细菌在无氧条件下可利用秸秆发酵生产甲烷，实现了能量更多地流向人类的目标。请回答下列问题：

(1) 在实验室中纯化产甲烷的菌株时，为了得到单个菌落，可采用的培养基是_____（填“固体”或“液体”）培养基。将菌液接种于新的培养基上，该操作应在酒精灯火焰旁进行的原因是_____。

(2) 在生产过程中将秸秆粉碎后制成产甲烷细菌的培养液，一般无需灭菌但需要_____处理以减少培养液中的 O_2 。因不同种类的产甲烷细菌中_____不同，故需将装置置于不同温度条件下。

(3) 研究发现产甲烷细菌广泛分布在土壤中，推测其应分布在土壤的_____（填“深层”或“表层”）。硫基乙烷磺酸是产甲烷细菌特有的一种辅酶，利用该酶的特性制定的筛选产甲烷细菌的培养基称为_____。

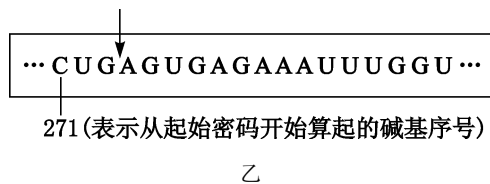
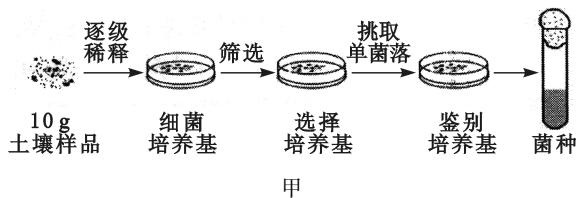
(4) 科学家在北方冻土中发现了一种食甲烷的细菌，随着温度升高，冻土融化，冻土中的食甲烷细菌也活跃起来，这样可以避免因冻土中甲烷、 CO_2 释放而引起更明显



拓展创新

重视过程与方法

图甲是从土壤中筛选产脲酶细菌的过程，图乙是脲酶基因转录的 mRNA 部分序列。



(1) 图中选择培养基应以_____为唯一氮源；鉴别培养基还需添加_____作指示剂，产脲酶细菌在该培养基上生长一段时间后，其菌落周围的指示剂将变成_____色。

(2) 在 5 个细菌培养基平板上，均接种稀释倍数为 10^5 的土壤样品溶液 0.1 mL，

培养一段时间后，平板上长出的细菌菌落数分别为 13、156、462、178 和 191。

该过程采取的接种方法是_____，每克土壤样品中的细菌数量为_____×10⁸个；与血细胞计数板相比，此计数方法测得的细菌数目较_____。

(3) 现有一菌株的脲酶由于基因突变而失活，突变后基因转录的 mRNA 在图乙箭头所示的位置增加了 70 个核苷酸，使图乙序列出现终止密码（终止密码有 UAG、

UGA 和 UAA）。突变基因转录的 mRNA 中，终止密码为_____，突变基因表达的蛋白含_____个氨基酸。



再生新疑

回头看看很有必要

通过本课题的学习，你已经了解微生物的分离与计数方法，那么分离微生物还有什么方法呢？你将在本专题的课题 3 中学习。

课题 3 分解纤维素的微生物的分离



板块一 创设问题，引领目标

知人论世，设疑激趣



问题呈现

纤维素是植物细胞壁的基本组成成分，是植物细胞中重要的多糖。人体内没有分解纤维素的酶，但某些微生物能够产生纤维素酶。这使人们能够利用秸秆等废弃物生产酒精，用纤维素酶处理服装面料等。如何分离土壤中能够分解纤维素的微生物呢？什么是刚果红染色法？如何通过此方法直接对微生物进行筛选呢？



板块二 自学思疑，初探问题

自主学习十分重要



教材导读

1. 纤维素是地球上含量最丰富的多糖类物质。植物的根、茎、叶等器官都含有大

量的纤维素。你知道自然界中富含纤维素的天然产物有什么吗？商品纤维素有哪些？

2. 地球上的植物每年产生的纤维素超过 70 亿吨，其中 40%~60% 能被土壤中某些微生物分解利用。这是因为这些微生物能够产生纤维素酶，那么纤维素酶的组成和作用分别是什么？

3. 你能说出刚果红染色法通过颜色反应直接对微生物进行筛选的原理吗？



自主测评

自我检测一下学习效果

1. 下列关于纤维素酶的叙述中，错误的是 ()
- A. 纤维素酶只有一种，只能将纤维素分解为葡萄糖
- B. 纤维素酶是一种复合酶，至少包括 C_1 酶、 C_x 酶和葡萄糖苷酶三种组分
- C. 纤维素可被纤维素酶水解成葡萄糖，为微生物提供营养物质
- D. 分解纤维素的细菌、真菌和放线菌都是通过产生纤维素酶来分解纤维素的
2. 下列关于纤维素的叙述中，不正确的是 ()
- A. 纤维素是由葡萄糖首尾相连而成的高分子化合物
- B. 纤维素能被土壤中某些微生物分解利用，是因为这些微生物能产生纤维素酶
- C. 植物的根、茎、叶等器官都含有大量的纤维素
- D. 自然界中的各种生物均能把纤维素分解成葡萄糖，从而作为生物体的能量来源
3. 纤维素、纤维素酶和控制纤维素酶合成的物质，它们的基本组成单位依次是 ()
- A. 葡萄糖、葡萄糖和氨基酸
- B. 葡萄糖、氨基酸和核苷酸
- C. 氨基酸、氨基酸和核苷酸
- D. 淀粉、蛋白质和核酸
4. 下列有关纤维素酶作用的验证实验的叙述，不正确的是 ()
- A. 可用报纸、复印纸来代替滤纸条
- B. 两支试管中所加缓冲液的量相等

- C. 在一定范围内，滤纸条的分解速度会随着纤维素酶量的增加而加快
- D. 振荡会加快滤纸条的分解
5. 在加入刚果红的培养基中会出现透明圈，产生的透明圈是 ()
- A. 刚果红与纤维素形成的复合物
- B. 刚果红与纤维二糖形成的复合物
- C. 纤维素分解后形成的葡萄糖导致的
- D. 以纤维素分解菌为中心形成的



疑点归纳

梳理问题，自我归纳

通过自学本节内容，你还有哪些未解决的问题，请提出来并归纳在下表中。在合作学习时请同学帮助或提供给老师解决。

疑点 1	
疑点 2	
疑点 3	



板块三 合作互助,共析问题

训练合作能力，达到双赢目的



思考与讨论一

1. 纤维素分解菌大多分布在富含纤维素的环境中，采集土样时，可以选择纤维素丰富的环境。如果人为创设这样的环境，你可以采取什么方法？简述具体操作程序。

2. 下面是纤维素分解菌培养基的配方，此配方是液体培养基还是固体培养基？为什么？

纤维素分解菌的选择培养基配方

纤维素粉	5 g
NaNO ₃	1 g
Na ₂ HPO ₄ · 7H ₂ O	1.2 g
KH ₂ PO ₄	0.9 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.5 g
酵母膏	0.5 g
水解酪素	0.5 g

将上述物质溶解后，用蒸馏水定容到 1000 mL。

3. 上面所示培养基对微生物是否具有选择作用？如果有，是如何进行选择的？你能否设计一个对照实验说明选择培养基的作用？为什么选择培养能够“浓缩”所需的微生物？

2. 列表比较两种刚果红染色法。你计划选用哪一种方法？



思考与讨论三

1. 培养基中有杂菌污染吗？你是否分离到了能够产生透明圈的微生物？它们是纤维素分解菌吗？

2. 怎样鉴定你所分离的微生物是纤维素分解菌？鉴定原理是什么？



思考与讨论二

1. 本课题与课题 2 都涉及微生物分离技术，实验流程有哪些异同？



指导要求

给你一点阅读提示

1. 按照用途来分，培养基可以分为选择培养基和鉴别培养基。

种类	制备方法	原理	用途
选择培养基	培养基中加入某种化学物质或改变营养成分等方法	依据某些微生物的特点，如针对某些物质的抗性而设计	从众多微生物中分离所需的微生物
鉴别培养基	培养基中加入某种试剂或化学药品	依据微生物产生的某种代谢产物或培养基中的营养物质与特定试剂或化学药品反应，产生明显的特征变化而设计	鉴别不同种类的微生物

2. 分解纤维素的微生物

分解纤维素的微生物有各种细菌、真菌和少数放线菌。分解纤维素的细菌为纤维杆菌、纤维弧菌、纤维球菌和纤维黏菌等；分解纤维素的真菌主要属于担子菌纲和半知菌纲，少数属于子囊菌纲。在偏酸性的贫瘠土壤中分解纤维素占优势的是真菌；在氮素丰富的中性土壤中分解纤维素的主要是细菌；黏重土壤中（特别在热带）常为兼性厌氧细菌和真菌；干燥土壤中常以放线菌为主。

3. 刚果红（简称 CR）

刚果红是酸性染料，呈枣红色粉末状，能溶于水和酒精，遇酸呈蓝色。它能作染料，也用作指示剂。它在植物制片中常作为苏木精或其他细胞染料的衬垫剂。它用来染细胞质时，能把胶质或纤维素染成红色。在

动物组织制片中用来染神经轴、弹性纤维、胚胎材料等。

4. 比较两种刚果红染色法

方法	操作	优点	缺点
方法 1	先培养微生物，再加入刚果红	显示出的颜色反应基本上是纤维素分解菌的作用	操作繁琐，加入刚果红溶液容易使菌落之间发生混杂
方法 2	倒平板时加入刚果红	操作简便，不存在菌落混杂的问题	①由于在纤维素粉和琼脂、土豆汁中都含有淀粉类物质，可以使能够产生淀粉酶的微生物出现透明圈较为模糊的假阳性反应； ②有些微生物具有降解色素的能力，长时间培养会降解刚果红而形成明显的透明圈

5. 比较尿素分解菌和纤维素分解菌的分离与鉴定

	尿素分解菌	纤维素分解菌
分离选择条件	尿素为唯一氮源	纤维素为唯一碳源
鉴定方法现象	培养基中加入酚红指示剂，变红色	在以 CMC—Na 为碳源的培养基上，应用刚果红染色法，出现透明圈

(续表)

	尿素分解菌	纤维素分解菌
鉴定原理	细菌等微生物生成脲酶，使尿素分解成 NH_3 ，使 pH 升高，加入酚红变红色	分解纤维素的微生物产生纤维素酶，将纤维素分解为纤维二糖、葡萄糖，使纤维素—刚果红复合物降解而出现透明圈
步骤差异	土壤取样→制备培养基→样品梯度稀释→涂布平板→培养观察	土壤取样→制备培养基→选择培养→梯度稀释→涂布培养→刚果红染色→挑取菌落→进一步鉴定



板块四 展示交流,探究问题

深入地探究，大方地展示吧

问题呈现

- 1. 利用微生物能使秸秆转化成乙醇等清洁能源，简述分离分解纤维素的微生物的实验流程。
- 2. 请说出分离能产生纤维素酶的细菌时，要使用刚果红的原因。
- 3. 比较纤维素分解菌筛选过程中用到的两种培养基。

展题设计

- 1. 下述分离纤维素分解菌的实验过程

中，操作有误的是 ()

- A. 经选择培养后将样品直接涂布到鉴别纤维素分解菌的培养基上
- B. 富集培养这一步可省略，但培养的纤维素分解菌少
- C. 经稀释培养后，用刚果红染色
- D. 对照组可用同样量的培养液涂布到不含纤维素的培养基上

思路指点

合理规范的操作过程包括：取样、选择、稀释、涂布、培养。本实验流程是土壤取样→选择培养→梯度稀释→将样品涂布到鉴别纤维素分解菌的培养基上→挑选产生透明圈的菌落。所以，经选择培养后，再经稀释，才能将样品涂布到鉴别纤维素分解菌的培养基上；富集培养可省略；经稀释培养后，用刚果红染色；设置对照组能证明经富集培养得到了欲分离的微生物。

展示要求

展示时，要面对同学，声音要达到让每位同学都听清楚的程度，理由阐述要准确，还要允许其他同学质疑。

- 2. 下列有关刚果红染色法的叙述中，不正确的是 ()
 - A. 刚果红可以在菌落形成前倒平板时加入
 - B. 刚果红可以在菌落形成后加入
 - C. 在菌落形成前倒平板时加入，刚果红不需要灭菌
 - D. 在菌落形成后加入刚果红时，刚果红不需要灭菌

思路指点

利用刚果红筛选纤维素分解菌时，刚果红可以在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，要进行灭菌，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，则不需要灭菌。

A. 可以增加纤维素分解菌的浓度
B. 以纤维素粉为唯一碳源
C. 所用培养基是固体培养基
D. 此步骤也可以省略



小结

土壤取样
↓
选择培养
(可省略)

实验样品：
取样的环境特点：
目的：
过程：

挑选产生透明圈的菌落 → 产生透明圈的菌落，一般即为分解纤维素的菌落



A. 完全除去其他微生物

面对同学展示时，内容分析要准确、细致，同时认真听取同学的见解，对独特的思路一定要给予激励评价。

- B. 没有意义, 去掉这一步更好

A. 在液体培养基中加入凝固剂琼脂制

- 成琼脂固体培养基
- B. 可利用固体培养基上菌落的特征来判断和鉴别细菌的类型
- C. 利用刚果红培养基上是否形成透明圈来筛选纤维素分解菌
- D. 在无氮培养基中加入酚红指示剂鉴定尿素分解菌
5. 通过分离分解纤维素的微生物实验,对分解纤维素的微生物进行了初步的筛选,这只是分离提纯的第一步,还需要进行

- ()
- A. 发酵产纤维素酶的实验
- B. 提取纤维二糖的实验
- C. 浓缩纤维素分解菌的实验
- D. 提取葡萄糖的实验

6. 纤维素酶的测定方法一般是 ()
- A. 对纤维素进行定量测定
- B. 对纤维素酶分解纤维素后所产生的葡萄糖量进行测定
- C. 对纤维素酶分解纤维素后所产生的纤维二糖进行定量测定
- D. 对纤维素分解菌进行定量测定

7. 某研究性学习小组的同学为了从土壤中筛选纤维素分解菌,利用下列材料和用具进行了实验,请完善下列实验步骤。

材料用具: 采集的土样、研钵、配制纤维素分解菌培养基的各种原料、琼脂、纤维素粉、刚果红溶液、培养箱、无菌水。

实验步骤:

- (1) 利用纤维素分解菌培养基的各种原料、琼脂及 _____, 配制固体培养基, 灭菌。
- (2) 将采集的土壤样品在研钵中研碎后 _____, 制成土壤匀浆。
- (3) 利用无菌操作方法把土壤匀浆 _____ 到培养基上, 放在培养箱内培养一段时间。
- (4) 用显微镜观察纤维素分解菌时, 要

从 _____ 中挑取材料制成临时装片。



能力测控

知识与技能的结合

1. 微生物体内能够使纤维素分解成纤维二糖的酶是 ()

- A. C_1 酶和 C_x 酶
- B. C_1 酶和葡萄糖苷酶
- C. C_1 酶、 C_x 酶和葡萄糖苷酶
- D. C_x 酶和葡萄糖苷酶

2. 酵母菌、乳酸菌、纤维素分解菌常用的碳源是 ()

- A. 糖类
- B. 脂肪
- C. 蛋白质
- D. 维生素

3. 纤维素分解菌的培养基中, 酵母膏能提供的主要营养物质是 ()

- ①碳源 ②氮源 ③特殊的营养物质

④无机盐

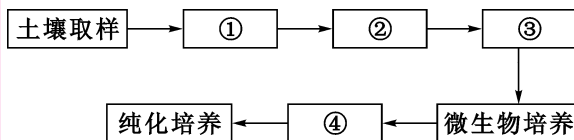
- A. ③
- B. ①②
- C. ①②③
- D. ①②③④

4. 使用刚果红染色时, 应在什么时刻加入刚果红 ()

- ①制备培养基 ②梯度稀释 ③倒平板
- ④涂布 ⑤长出菌落

- A. ①③
- B. ②⑤
- C. ①④
- D. ③⑤

5. 回答下列有关纤维素分解菌的分离实验的问题:



(1) 将流程图补充完整。

- ① _____; ② _____; ③ _____;
- ④ _____。

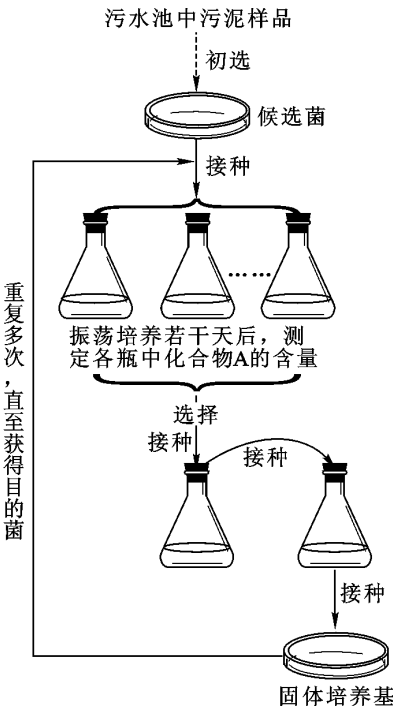
(2) 土壤取样: 采集土样时, 应选择富含 _____ 的环境。

(3) 选择培养的方法是称取土样 20 g, 在无菌条件下加入装有 30 mL 选择培养基的锥形瓶中, 将锥形瓶固定在 _____

上，在一定温度下振荡培养 1~2 d，直至培养液变_____。选择培养的目的是_____。

(4) 为了确定分离到的是纤维素分解菌，还需要进行_____的实验，纤维素酶的发酵方法有_____发酵和_____发酵。纤维素酶的测定方法是对纤维素酶分解滤纸等纤维素所产生的_____进行定量测定。

6. 某化工厂的污水池中含有一种有害的、难于降解的有机化合物 A。研究人员用化合物 A、磷酸盐、镁盐以及微量元素配制的培养基，成功地筛选到能高效降解化合物 A 的细菌（目的菌）。实验的主要步骤如图所示。请分析回答问题：



(1) 培养基中加入化合物 A 的目的是筛选_____，这种培养基属于_____培养基。

(2) “目的菌”生长所需的氮源和碳源是来自培养基中的_____，实验需要振荡培养，由此推测“目的菌”的代谢类型是_____。

(3) 培养若干天后，应选择培养瓶中化合物 A 含量_____的培养液，接入新的

培养液中连续培养，使“目的菌”的数量_____。

(4) 转为固体培养时，常采用_____的方法接种，获得单菌落后继续筛选。

(5) 若研究“目的菌”的生长规律，将单个菌落进行液体培养，可采用_____的方法进行计数，以时间为横坐标，以_____为纵坐标，绘制生长曲线。

(6) 实验结束后，使用过的培养基应该进行_____处理后，才能倒掉。

7. 利用纤维素解决能源问题的关键是高性能纤维素酶的获取。请完善实验方案，并回答相关问题。

【实验目的】比较三种微生物所产生的纤维素酶的活性。

【实验原理】纤维素酶催化纤维素分解为葡萄糖，用葡萄糖的产生速率表示酶活性大小；用呈色反应表示葡萄糖的生成量。

【实验材料】三种微生物（A~C）培养物的纤维素酶提取液，提取液中酶蛋白浓度相同。

【实验步骤】

(1) 取四支试管，分别编号。

(2) 在下表所列的几个适当位置中，填写相应试剂的体积量，并按表内要求完成相关操作。

管号		1	2	3	4
试剂 体积 /mL	蒸馏水	1.4	1.4	1.4	_____
	pH 为 7.5 的缓冲液	_____	0.2	0.2	0.2
	纤维素悬浮液	0.3	0.3	_____	0.3
	微生物 A 提取液	0.1	_____	_____	_____
	微生物 B 提取液	_____	_____	_____	_____
	微生物 C 提取液	_____	_____	0.1	_____
总体积		2.0	2.0	2.0	2.0

(3) 将上述四支试管放入 37 ℃ 的水浴，

保温 1 h。

(4) 在上述四支试管中分别加入 _____ 试剂，摇匀后，进行 _____ 处理。

(5) 观察比较实验组的三支试管与对照组试管的颜色及其深浅。

【实验结果】

	微生物 A 提取液	微生物 B 提取液	微生物 C 提取液
颜色深 浅程度	+	+++	++

【分析讨论】

(1) 该实验中的对照组是 _____ 号试管。

(2) 实验组试管均呈现的颜色是 _____，但深浅不同。

(3) 上述结果表明：不同来源的纤维素酶，虽然酶蛋白浓度相同，但活性不同。若不考虑酶的最适 pH 和最适温度的差异，其可能原因是 _____。

(4) 你认为上述三种微生物中，最具有应用开发价值的是 _____。

(5) 从解决能源问题的角度考虑，开发这种纤维素酶的意义在于 _____。

8. 空气中的微生物在重力等作用下，可以一定程度地沉降。某研究小组欲用平板收集教室空气中的微生物，以了解教室内不同高度空气中微生物的分布情况。实验步骤如下：

- ①配制培养基（成分：牛肉膏、蛋白胨、NaCl、X、H₂O）；
 - ②制作无菌平板；
 - ③设置空白对照组和若干实验组，进行相关操作；
 - ④将各组平板置于 37 ℃ 恒温箱中培养一段时间，统计各组平板上菌落的平均数。
- 回答下列问题：

(1) 该培养基中微生物所需的氮来源于

_____，若要完成步骤②，该培养基中的成分 X 通常是_____。

(2) 步骤③中，实验组的操作是_____。

(3) 若在某次调查中，某一实验组平板上菌落平均数为 36 个/平板，而空白对照组的一个平板上出现了 6 个菌落，这种结果说明在此次调查中出现了_____现象。若将 30（即 36－6）个/平板作为本组菌落数的平均值，该做法_____（填“正确”或“不正确”）。

9. 植物秸秆中的纤维素可被某些微生物分解。回答下列问题：

(1) 分解秸秆中纤维素的微生物能分泌纤维素酶，该酶是由 3 种组分组成的复合酶。其中的葡萄糖苷酶可将_____分解成_____。

(2) 在含纤维素的培养基中加入刚果红（CR）时，CR 可与纤维素形成_____色复合物。用含有 CR 的该种培养基培养纤维素分解菌时，培养基上会出现以该菌的菌落为中心的_____。

(3) 为从富含纤维素的土壤中分离获得纤维素分解菌的单菌落，某同学设计了甲、乙两种培养基（成分见下表）：

	酵母膏	无机盐	淀粉	纤维素粉	琼脂	CR 溶液	水
培养基甲	+	+	+	+	—	+	+
培养基乙	+	+	+	—	+	+	+

注：“+”表示有，“—”表示无

据表判断，培养基甲_____（填“能”或“不能”）用于分离和鉴别纤维素分解菌，原因是_____；培养基乙_____（填“能”或“不能”）用于分离和鉴别纤维素分解菌，原因是_____。



拓展创新

重现过程与方法

(2019·福建) 秸秆还田的过程中，配施适量的高效纤维素分解菌，能有效促进秸秆分解，提高秸秆还田效率，且不会造成环境污染。回答下列问题：

(1) 筛选纤维素分解菌时，可到腐烂稻草等环境中采集土样，原因是_____。

(2) 有很多类群微生物都能有效降解纤维素，为了避免不同微生物之间的生长互相影响，应该用_____培养基进行培养，获得纯化菌株。

(3) 用刚果红染色法初步鉴定纤维素分解菌后，进一步用液体滤纸培养基分组复筛，其中滤纸的作用是_____。培养一段时间后，将残留的滤纸烘干称重，残留的滤纸越少，则说明_____。

(4) 采用_____技术，

将筛选到的高效纤维素分解菌固定，能够阻隔其受到外界不利因素的毒害作用，增加使用寿命。

(5) 为了长期保存高效纤维素分解菌菌种，可以采用_____的方法。

(6) 现有高效分解纤维素的细菌，为探究其最适 pH，某同学设计如下实验：取锥形瓶若干分为 4 组，加入等量秸秆及其他必需营养物质，分别设置 pH 为 1、3、6、7，接种等量纤维素分解细菌，培养一段时间后，测定各组锥形瓶中秸秆减少量的平均值。该 pH 设置的不足之处有_____和_____。



再生新疑

回头看看很有必要

通过本课题的学习，你已经了解了微生物的培养和应用，植物组织培养的流程是什么呢？你将在专题 3 中学习。



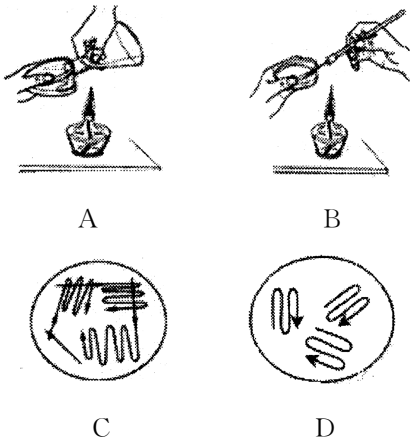
本专题学习报告

你已经学完专题 2 “微生物的培养与应用”，请你以“微生物的培养与应用”为主线，在下面的矩形方框内，从知识、方法、能力等方面回顾并总结你的收获。

本专题测试题

一、选择题（每小题 2 分，共 50 分）

1. 关于牛肉膏蛋白胨培养基的配制需要在火焰旁操作的是 ()
- A. 称量 B. 灭菌
- C. 溶化 D. 倒平板
2. 平板划线法和稀释涂布平板法是纯化微生物的两种常用方法，下列描述正确的是 ()
- A. 都要将菌落进行一系列的梯度稀释
- B. 平板划线法是将不同稀释度的菌液通过接种环在固体培养基表面连续划线的操作
- C. 稀释涂布平板法是将不同稀释度的菌液倒入溶液培养基进行培养
- D. 都会在培养基表面形成单个的菌落
3. 下列依次表示倒平板、接种的位置以及划线法接种的路径示意图，其中错误的是 ()



4. 金黄色葡萄球菌有很强的致病力，常引起骨髓炎等，还可能引起食物中毒，下述实验结束后的做法不正确的是 ()
- A. 对接种环进行灼烧处理
- B. 带菌培养基须经加热后才能倒掉
- C. 带菌培养器具均需灭菌处理

- D. 接种后双手经肥皂洗净，再用 75% 的酒精棉球擦拭
5. 某种菌株要从环境中提取现成的亮氨酸（20 种氨基酸中的一种）才能生长，此菌株对链霉素敏感。实验者用诱变剂处理此菌株，想筛选出表中细菌菌株类型。根据实验目的，选用的培养基类型是 ()
- 注：L 表示亮氨酸；S 表示链霉素；“+”表示加入；“-”表示不加入，如“L-”表示不加亮氨酸；“S+”表示加入链霉素

选项	筛选出不需要亮氨酸的菌株	筛选出抗链霉素的菌株	筛选出不需要亮氨酸的抗链霉素的菌株
A	L+ S+	L- S-	L+ S-
B	L- S-	L+ S+	L- S+
C	L- S+	L+ S+	L- S-
D	L+ S-	L- S-	L+ S+

6. 高压蒸汽灭菌的原理是 ()
- A. 高压使细菌 DNA 变性
- B. 高压使细菌蛋白质变性
- C. 高温烫死了细菌
- D. 高温使细菌 DNA 和蛋白质变性
7. 做“微生物的分离与培养”实验时，下列叙述正确的是 ()
- A. 高压灭菌加热结束时，打开放气阀使压力表指针回到零后，开启锅盖
- B. 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
- C. 为了防止污染，接种环经火焰灭菌后应趁热快速挑取菌落
- D. 用记号笔标记培养皿中菌落时，应标记在皿底上

8. 不同的微生物对营养物质的需要各不相同。下列有关一种以 CO_2 为唯一碳源的自养微生物营养的描述中, 不正确的是 ()

- A. 氮源物质为该微生物提供必要的氮素
- B. 碳源物质也是该微生物的能源物质
- C. 无机盐是该微生物不可缺少的营养物质
- D. 水是该微生物的营养要素之一

9. 某同学对 10^1 、 10^2 、 10^3 倍稀释液中的细菌进行计数, 平均菌落数分别为 2 760、295 和 16, 则样品中菌落总数为 (所用稀释液体积为 0.1 mL) ()

- A. 2.76×10^4 个/mL
- B. 2.95×10^5 个/mL
- C. 4.6×10^4 个/mL
- D. 3.775×10^4 个/mL

10. 测定土壤中细菌数量一般选 10^4 、 10^5 和 10^6 倍的稀释液进行平板培养, 而真菌的数量, 一般选用 10^2 、 10^3 和 10^4 倍稀释, 其原因是 ()

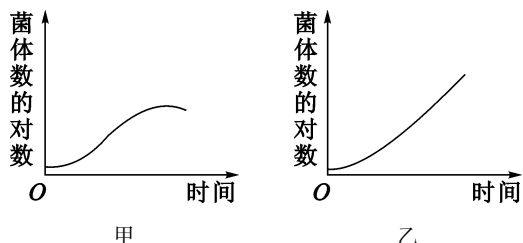
- A. 细菌个体小, 真菌个体大
- B. 细菌易稀释, 真菌不易稀释
- C. 细菌在土壤含量比真菌高
- D. 随机的, 没有原因

11. 某同学在①、②两种条件下培养大肠杆菌, 这两种条件是:

①以葡萄糖为碳源的培养基, 不断补充培养基, 及时去除代谢产物

②以葡萄糖为碳源的培养基, 不补充培养基, 不去除代谢产物

根据培养结果绘制的一段时间内菌体数的对数随时间变化的趋势图如下:



假设两种培养基中初始总糖量相等, 则

①、②两种条件依次对应的趋势图是 ()

- A. 甲、乙
- B. 乙、甲
- C. 甲、甲
- D. 乙、乙

12. 菌落特征常用来鉴定微生物的种类。下列关于菌落的叙述中正确的是 ()

- A. 一个菌落就是单个微生物在固体培养基上迅速生长繁殖, 并以此母细胞为中心形成的子细胞集团
- B. 不同种类的微生物其菌落特征完全不一样
- C. 同一种类的微生物其菌落特征完全一样
- D. 不同种类的微生物所表现出来的菌落差异是个体细胞形态差异的反映

13. 下列是关于检测土壤中细菌总数实验操作的叙述, 其中错误的是 ()

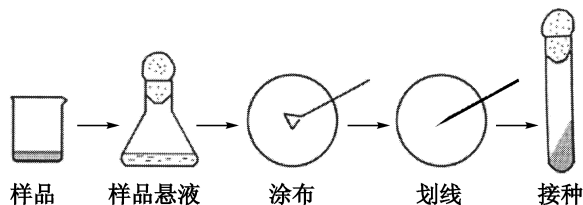
- A. 用蒸馏水配制牛肉膏蛋白胨培养基, 经高温、高压灭菌后倒平板
- B. 取 10^4 、 10^5 、 10^6 倍的土壤稀释液和无菌水各 0.1 mL, 分别涂布于各组平板上
- C. 将实验组和对照组平板倒置, 37°C 恒温培养 24~48 h
- D. 确定对照组无菌后, 选择菌落在 300 以上的实验组平板进行计数

14. 某研究小组从有机废水中分离微生物用于废水处理。下列叙述正确的是 ()

- A. 培养基分装到培养皿后进行灭菌
- B. 转换划线角度后需灼烧接种环再进行划线
- C. 接种后的培养皿须放在光照培养箱中培养
- D. 培养过程中每隔一周观察一次

15. (2016·江苏·25) 漆酶属于木质降解酶类, 在环境修复、农业生产等领域有着广泛用途。下图是分离、纯化和保存漆酶

菌株的过程，相关叙述不正确的是 ()

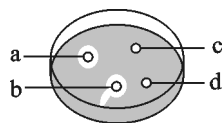


- A. 生活污水中含有大量微生物，是分离产漆酶菌株的首选样品
- B. 筛选培养基中需要加入漆酶的底物，通过菌落特征挑出产漆酶的菌落
- C. 在涂布平板上长出的菌落，再通过划线进一步纯化
- D. 固体斜面培养基可用来临时保藏分离到的该菌株

16. 在培养基配制过程中，具有如下步骤，其正确顺序为 ()

- ①溶化 ②调 pH ③加棉塞 ④包扎
- ⑤培养基的分装 ⑥称量
- A. ①②⑥⑤③④ B. ⑥①②⑤③④
- C. ⑥①②⑤④③ D. ①②⑤④⑥③

17. 在涂布有大肠杆菌的培养基上进行抑菌实验，在 a、b、c 处分别贴浸有不同抗生素（浓度相同）的无菌滤纸片，d 处滤纸片浸有无菌水。培养后的结果如图。以下判断错误的是 ()



- A. b 处的滤纸片没有沥干
- B. a 处抑菌效果小于 b 处
- C. c 处抗生素无效
- D. d 处为对照

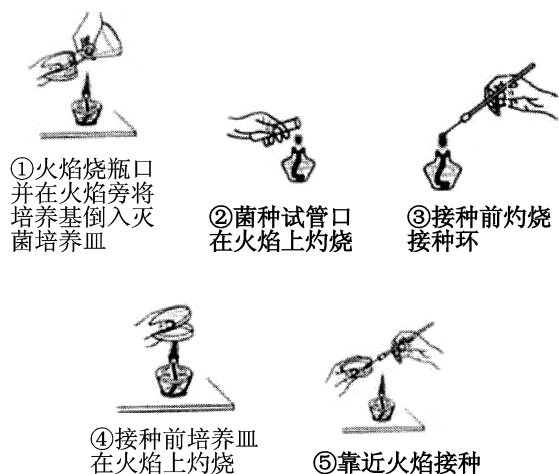
18. 在对纤维素分解菌进行选择培养时，用液体培养基的目的是 ()

- A. 用液体培养基可获得大量菌体
- B. 纤维素分解菌适宜在液体培养基上生长

C. 用液体培养基可以充分利用培养基中的营养物质

D. 用液体培养基可获得高纯度的纤维素分解菌

19. (2017·上海·19) 在培养基配制和微生物接种的过程中，确保无杂菌污染被称为无菌操作。图中，符合无菌操作要求的有 ()



- A. ①②③④ B. ①②③⑤
- C. ①③④⑤ D. ②③④⑤

20. 尿素分解菌能以尿素为氮源，所以在配制培养基时 ()

- A. 尿素在培养基中越多越好
- B. 葡萄糖在培养基中越少越好
- C. 尿素分解菌有固氮能力，在培养基中可以不添加氮源
- D. 尿素分解菌无固氮能力，故培养基中的尿素为化合态氮

21. 甲、乙、丙是三种微生物，下表 I、II、III 是用来培养微生物的三种培养基。甲、乙、丙都能在 III 中正常生长繁殖；甲能在 I 中正常生长繁殖，而乙和丙都不能；乙能在 II 中正常生长繁殖，甲、丙都不能。下列说法正确的是 ()

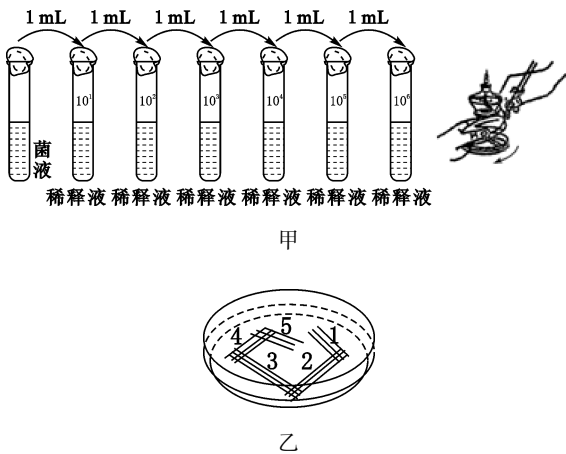
	粉状硫 10 g	K_2HPO_4 4 g	$FeSO_4$ 0.5 g	蔗糖 10 g	$(NH_4)_2SO_4$ 0.4 g	H_2O 100 mL	$MgSO_4$ 9.25 g	$CaCl_2$ 0.5 g
I	+	+	+	+		+	+	+
II	+	+	+		+	+	+	+
III	+	+	+	+	+	+	+	+

- A. 甲、乙、丙都是异养微生物
 B. 甲、乙都是自养微生物，丙是异养微生物
 C. 甲是异养微生物，乙是固氮微生物，丙是自养微生物
 D. 甲是固氮微生物，乙是自养微生物，丙是异养微生物

22. 下表是关于四种生物的能源、碳源、氮源、新陈代谢类型的描述，正确的是 ()

	硝化细菌	乳酸菌	根瘤菌	衣藻
能源	氧化 NH_3	分解乳酸	固定 N_2	利用光能
碳源	CO_2	糖类	糖类	CO_2
氮源	NH_3	N_2	N_2	NO_3^-
代谢类型	自养需氧型	异养厌氧型	异养需氧型	异养需氧型

- A. 硝化细菌 B. 乳酸菌
 C. 根瘤菌 D. 衣藻
23. 下图中甲是稀释涂布平板法中的部分操作，乙是平板划线法操作结果。

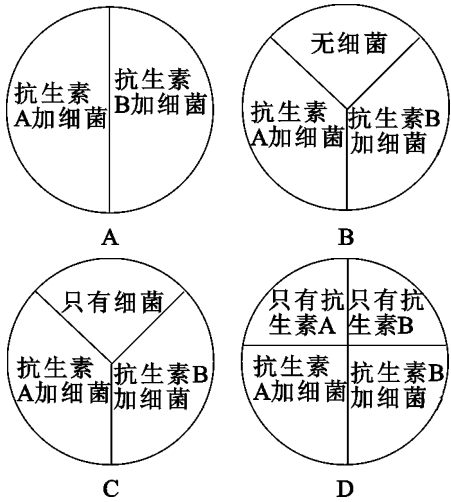


- 下列叙述中，错误的是 ()
 A. 甲中涂布前要将涂布器灼烧，冷却

后才能取菌液

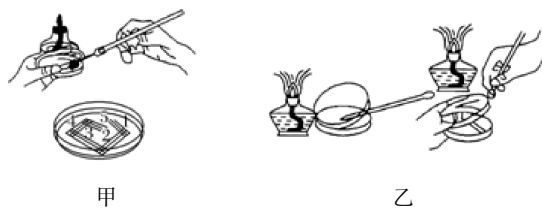
- B. 对于浓度较高的菌液，如果甲中的稀释倍数仅为 10^2 ，则所得的菌落不是由单一的细胞或孢子繁殖而成
 C. 乙中培养皿中所得的菌落都符合要求
 D. 乙中的连续划线的起点是上一次划线的末端
24. 用稀释涂布平板法来统计样品中尿素分解菌的数目，为了提高实验结果的可信度，往往要设置对照，对于对照组的要求不包括 ()

- A. 对照组培养基也要严格灭菌，且不接触任何生物
 B. 对照组和实验组培养基放在相同的条件下培养
 C. 所用培养基成分及 pH 大小完全与实验组一致
 D. 培养基接种物与实验组必须绝对相同
25. 若将某种细菌置于有营养的物体上，它会繁殖并形成细胞群。下列实验可以用来检验两种抗生素的杀菌效用的是 ()



二、非选择题 (共 50 分)

26. (8 分) 下页图甲、乙是微生物接种常用的两种方法，请回答相关问题：

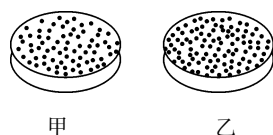


(1) 图甲是利用_____法进行微生物接种,图乙是利用_____法进行微生物接种。这两种方法所用的接种工具分别是_____和_____;对这两种接种工具进行灭菌和消毒的方法依次是_____和酒精消毒。

(2) 接种操作为什么一定要在火焰附近进行?_____。

(3) 接种后,在固体培养基上培养细菌时为什么进行倒置培养?_____。

(4) 下图是采用上述接种方法接种后培养的效果图解,其接种方法是_____ (填“图甲”或“图乙”)。



27. (2018 • 全国 I 卷) (10 分) 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)。氮源进入细菌后,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生淀粉酶的微生物,加入的显色剂是_____,该方法能筛选出产生淀粉酶微生物的原理是_____。

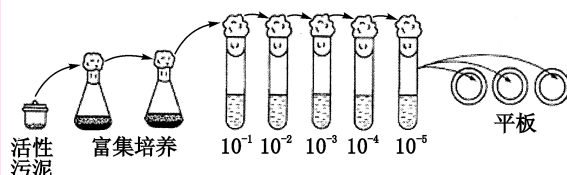
(4) 甲、乙两位同学用稀释涂布平板法测定某一土壤样品中微生物的数量,在同一稀释倍数下得到以下结果:

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_____。

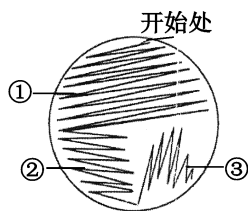
28. (2017 • 江苏) (12 分) 苯酚及其衍生物广泛存在于工业废水中,对环境有严重危害。小明同学准备依据下图操作步骤,从处理废水的活性污泥中分离筛选酚降解高效菌株。请回答下列问题:



(1) 酚降解菌富集培养基含有蛋白胨、 K_2HPO_4 、 $MgSO_4$ 、苯酚和水,其中可作为碳源的有_____。

(2) 将采集到的样品接种培养,苯酚用量应随转接次数增加而逐渐_____,以达到富集酚降解菌的目的。若上图平板中菌落过于密集,应进一步_____,以便于菌落计数与分离。制备平板培养基时除了需要水、营养物质外,还必须添加_____。

(3) 下图为连续划线法示意图,在图中_____ (填图中序号) 区域更易获得单菌落。



(4) 采用比色测定法（使用苯酚显色剂）检测降解后的废水中苯酚残留量。先制作系列浓度梯度并进行显色反应，下表中 1~5 号比色管的苯酚浓度应分别为_____。

管号	1	2	3	4	5	6
苯酚浓度 (mg/L)						1

如果废水为 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_____（填序号：①5 ②10 ③20）倍后，再进行比色。

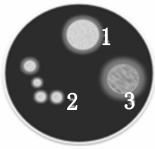
29. (12 分) 纤维素为白色、无气味的纤维状结构物质，不溶于水，也不溶于一般有机溶剂，而纤维素分解菌能够产生纤维素酶分解纤维素。下表为培养纤维素分解菌的培养基配方，如图为培养菌落的染色结果。据此回答相关问题：

CMC-Na	酵母膏	KH ₂ PO ₄	琼脂	土豆汁
5~10 g	1 g	0.25 g	15 g	100 mL

- (1) 从土壤中分离纤维素分解菌，最好选择在富含_____的环境中采集土样。
- (2) 将土壤样品液接种到选择培养基上进行扩大培养，目的是_____。

(3) 参考题图，在筛选纤维素分解菌的过程中，通常用_____染色法，这种方法可通过是否产生_____来对纤维素分解菌进行初步筛选，原理是_____。

(4) 图示的结果是采用_____法接种得到的。若已知菌落 2 中为淀粉分解菌，而菌落 1 和 3 为纤维素分解菌或色素分解菌。请你设计一个简便的方法来鉴别 1 和 3。



30. (2018·全国Ⅱ卷) (8 分) 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经过_____（填“氯气”“乙醇”或“高锰酸钾”）消毒。
- (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_____。