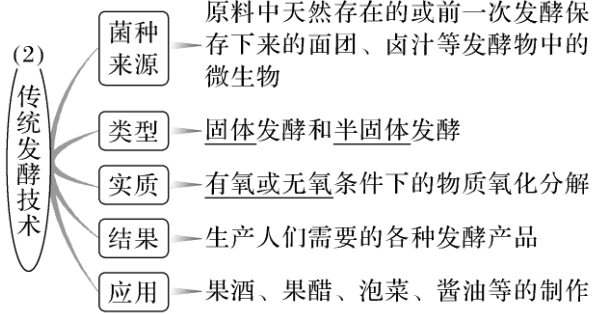
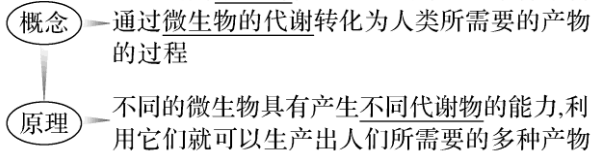


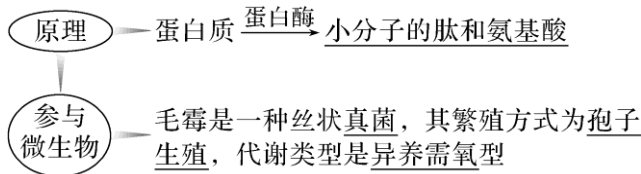
考点一 传统发酵技术的应用

1. 发酵与传统发酵技术

(1) 发酵

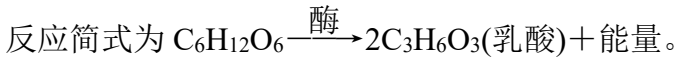


2. 腐乳制作

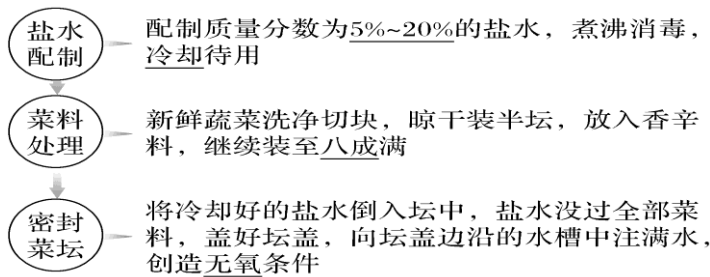


3. 制作泡菜

- (1) 作用菌种 → 植物体表面天然的乳酸菌。
- (2) 原理 → 在无氧条件下，乳酸菌将葡萄糖分解成乳酸。



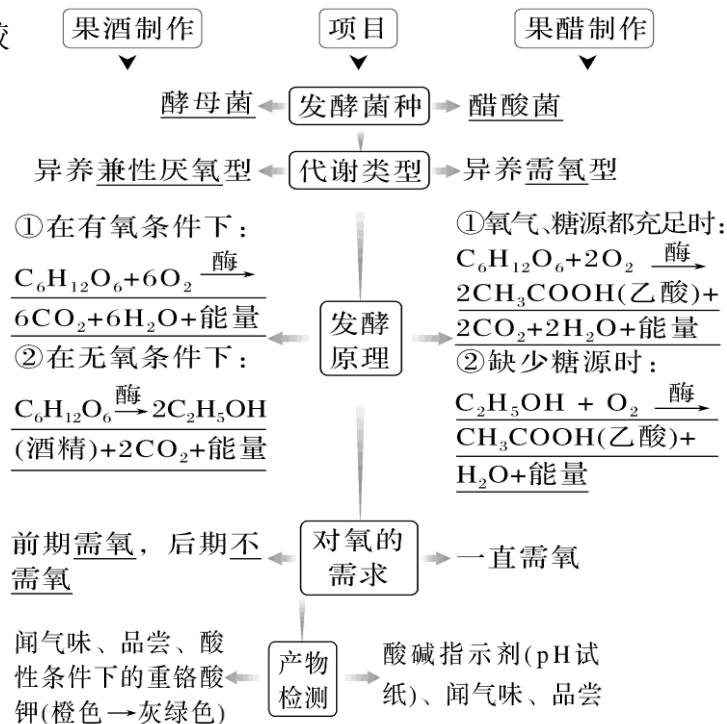
(3) 方法步骤



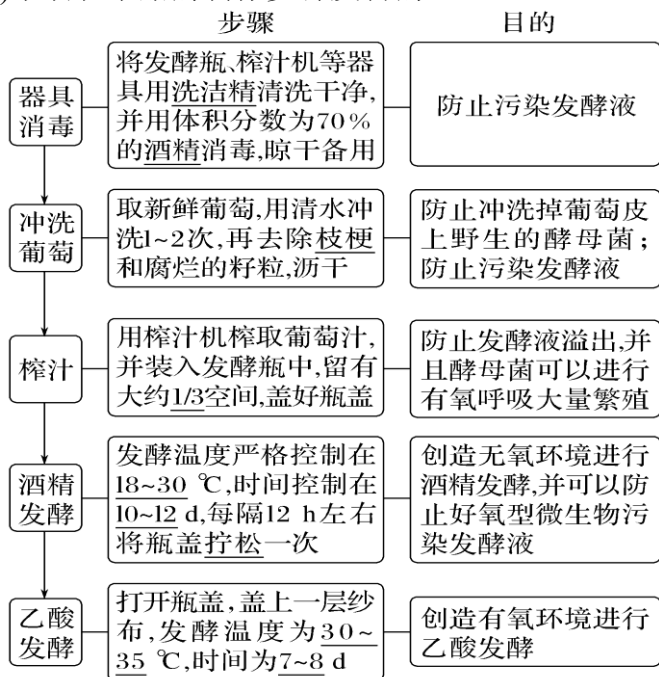
提醒 营造“无氧环境”的3项措施：选择的泡菜坛密封性要好；加入蔬菜后要注入煮沸冷却的盐水，使盐水没过全部菜料；盖上坛盖后要在坛盖边沿的水槽中注满水。

4. 制作果酒和果醋

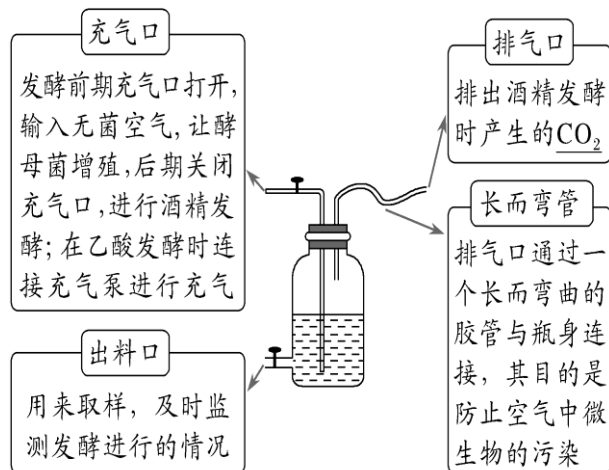
(1) 果酒制作与果醋制作的比较



(2)果酒和果醋的制作步骤及目的



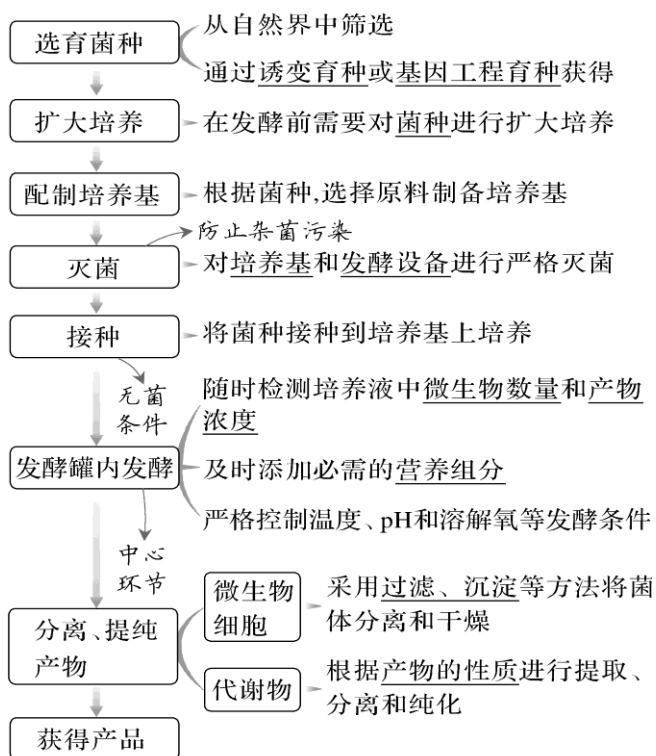
果酒和果醋改进装置及其分析



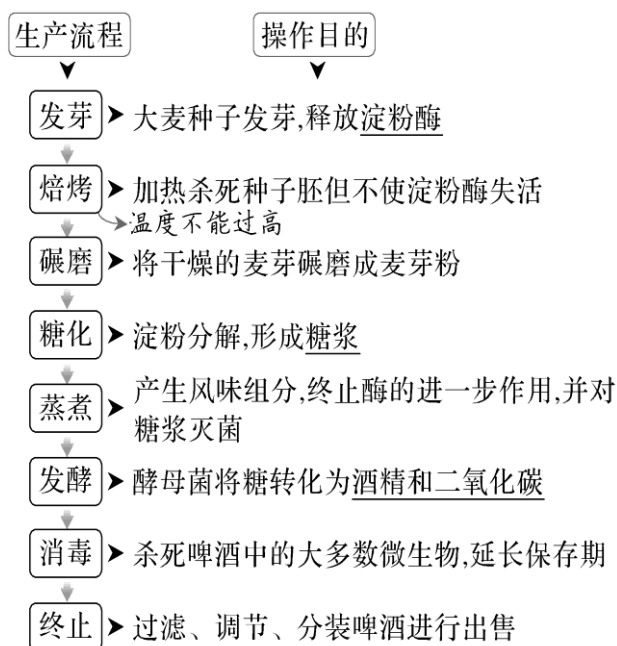
装置的使用: 使用该装置制作果酒时, 应该关闭充气口; 制作果醋时, 应将充气口连接充气泵, 输入空气。

考点二 发酵工程及其应用

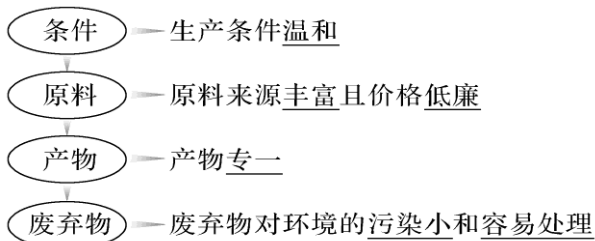
1. 发酵工程基本环节



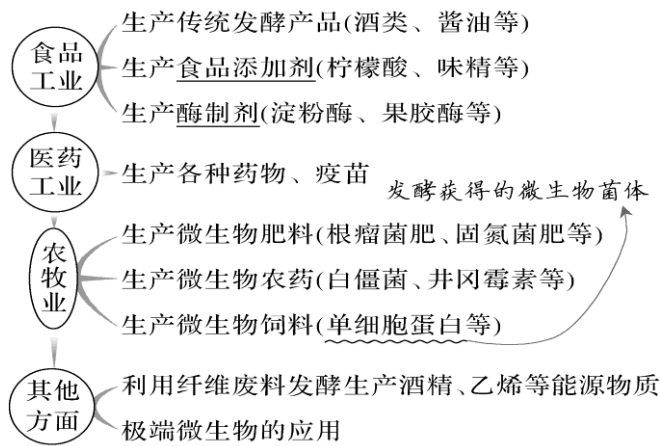
2. 啤酒发酵的工业化生产流程及操作目的



3. 发酵工程的特点



4. 发酵工程的应用



考点三 微生物的基本培养技术

1. 培养基的种类(按物理性质分)

培养基种类	培养基特点	作用
固体培养基	加凝固剂, 如琼脂	微生物的分离与鉴定, 活菌计数, 保藏菌种
半固体培养基	容器放倒不致流出, 剧烈震动则破散	观察微生物的运动、分类鉴定
液体培养基	不加凝固剂	常用于工业生产、微生物的扩大培养

(2) 培养基的配方

①主要营养物质: 水、碳源、氮源、无机盐。

②其他条件: pH、特殊营养物质和氧气。如表:

微生物	乳酸杆菌	霉菌	细菌	厌氧微生物
特殊需求	添加维生素	一般 pH 调至酸性	一般 pH 调至中性或弱碱性	无氧

2. 无菌技术

(1)目的: 获得纯净的微生物培养物。(2)关键: 防止杂菌污染。(3)常用方法: 灭菌和消毒。

3. 消毒和灭菌

项目	消毒	灭菌
概念	使用较为温和的物理、化学或生物等方法杀死物体表面或内部一部分微生物	使用强烈的理化方法杀死物体内外所有的微生物, 包括芽孢和孢子
常用方法	煮沸消毒法、巴氏消毒法、酒精消毒法、紫外线消毒法	湿热灭菌(如高压蒸汽灭菌法)、干热灭菌、灼烧灭菌
区别	最大区别在于是否杀死芽孢和孢子	

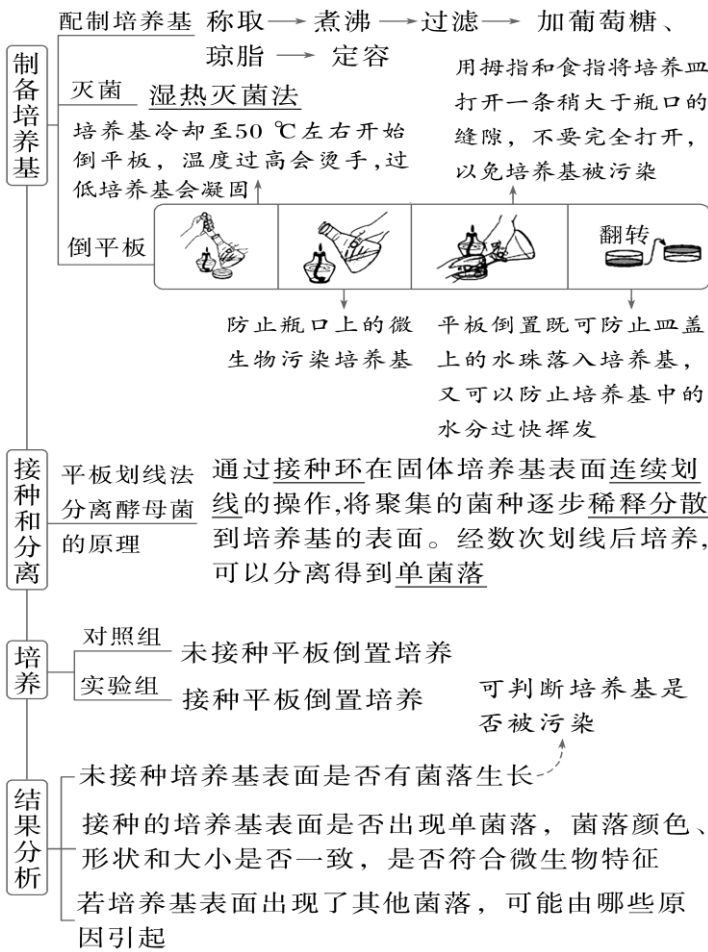
三种灭菌方法的比较

类型	湿热灭菌	干热灭菌	灼烧灭菌
媒介	沸水、流通蒸汽或高压蒸汽	热空气	火焰的充分燃烧层
方法	高压蒸汽灭菌: 100 kPa、121 °C, 维持 15~30 min	160~170 °C、1~2 h	直接在酒精灯火焰的充分燃烧层灼烧
对象	培养基等	耐高温的和需要保持干燥的物品, 如玻璃器皿、金属用具等	接种工具、试管口、瓶口等
原理	高温或高温、高压使蛋白质变性失活, 导致微生物活体以及芽孢和孢子全部死亡		

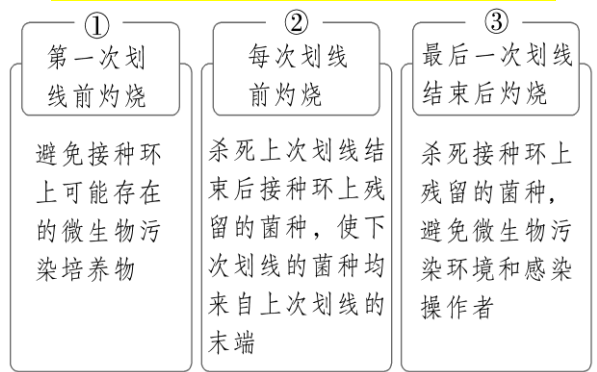
(4)注意事项

- ①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接触。
- ②为避免周围环境中微生物的污染，实验操作应在超净工作台上并在酒精灯火焰附近进行。

4. 纯培养的过程(以酵母菌为例)



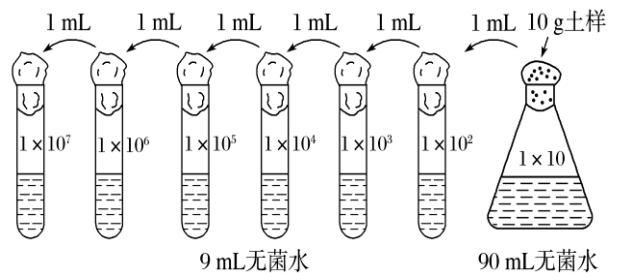
5. 平板划线法操作中几次灼烧接种环的目的



6. 稀释涂布平板法步骤

①系列稀释操作：该操作常用在将细胞接种到培养基之前，通过液体稀释的方法分散细胞，随着稀释程度的增大，单位体积中的微生物细胞数量减少，细胞得以分散。

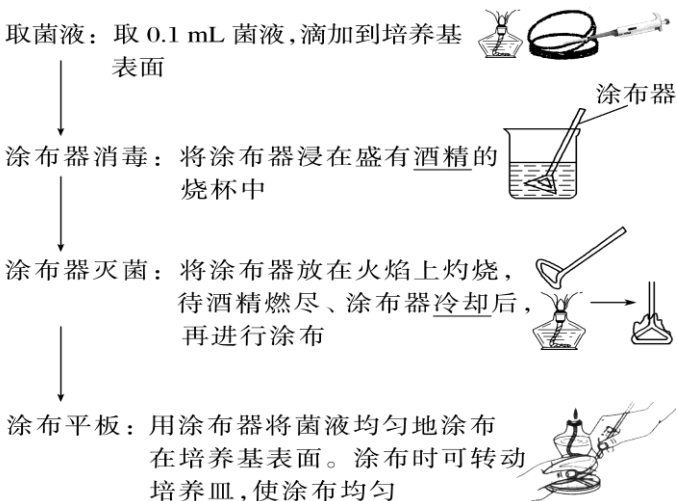
操作步骤：



注意：(1)稀释操作时：每支试管及其中的9 mL水、移液管等均需灭菌；操作时，试管口和移液管应在离火焰1~2 cm处。

(2)涂布平板时：①涂布器用体积分数为70%的酒精消毒，取出时，让多余酒精在烧杯中滴尽，然后将沾有少量酒精的涂布器在酒精灯火焰上灼烧；②不要将过热的涂布器放入盛放酒精的烧杯中，以免引燃其中的酒精；③酒精灯与培养皿距离要合适，移液管枪头不要接触任何物体；④培养皿盖不能完全打开，应只掀开一条缝。

②涂布平板操作步骤



考点二 微生物的选择培养和计数

1. 选择性培养基

(1) 缺少氮源的培养基可以筛选能利用大气中 N_2 的微生物。

(2) 含青霉素的培养基可淘汰细菌，筛选出真菌。

(3) 无有机碳源的培养基可筛选出自养微生物。

(4) 以纤维素为唯一碳源可筛选出纤维素分解菌

(5) 以尿素为唯一氮源可筛选出尿素分解菌（尿素分解菌之所以能分解尿素，是因为它们能合成脲酶）

2. 鉴别培养基

① 以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂；

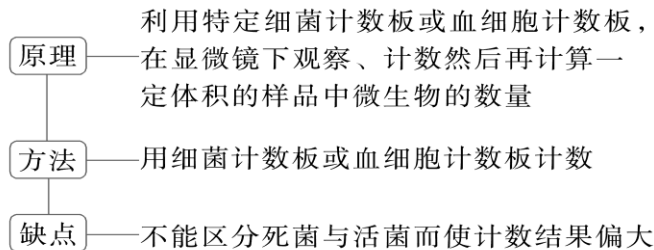
② 利用刚果红染色法筛选分解纤维素的微生物(出现以纤维素分解菌为中心的透明圈)；

③ 用伊红—亚甲蓝琼脂培养基鉴别大肠杆菌(菌落呈深紫色，并有金属光泽)

注：鉴定微生物除了利用表中的鉴别培养基进行如指示剂鉴别、染色鉴别等方法，还可以根据菌落特征鉴别，即根据微生物在固体平板培养基表面形成的菌落的形状、大小、隆起程度和颜色等特征进行鉴别。

2. 微生物的数量测定方法

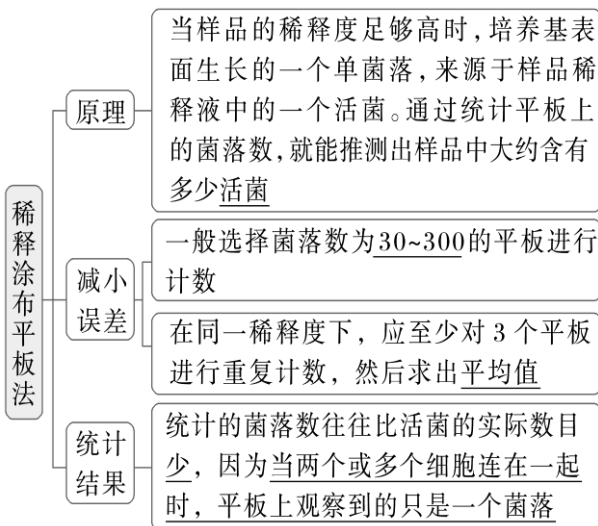
① 显微镜直接计数法



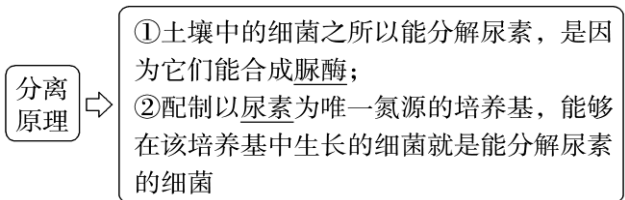
[提醒] 显微镜直接计数法本身不能区分细菌的死活，但是通过一定的辅助处理，可以实现活菌计数，如在计数前用台盼蓝染液进行染色，可以通过统计无色细胞的个数来对活菌进行计数。

② 活菌计数法

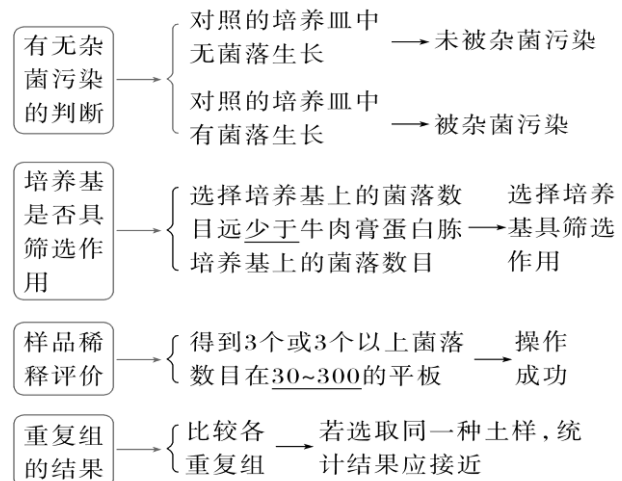
(1) 实验原理




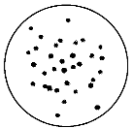
3. 土壤中分解尿素的细菌的分离与计数的实验操作



(2) 实验结果分析与评价



4.两种纯化方法的比较

项目	平板划线法	稀释涂布平板法
分离结果		
关键操作	接种环在固体培养基表面连续划线	①一系列的梯度稀释; ②涂布平板操作
接种用具	接种环	涂布器
优点	可以观察菌落特征, 对混合菌进行分离	可以计数, 可以观察菌落特征
缺点	不能计数	操作复杂, 需要涂布多个平板
共同点	都要用到固体培养基; 都需进行无菌操作; 都会在培养基表面形成单个的菌落, 都可用于观察菌落特征	

微生物计数方法:

(1)微生物的计数方法非常多样, 应根据实际情况选择合适的方法。涉及一些新的微生物计数方法, 应根据具体情境, 弄清其背后的原理。列举两个其他计数方法:

①比浊法: 随着微生物的繁殖, 液体培养基的浑浊程度会增加, 因此可根据液体培养物的浑浊程度来估计微生物的数量, 通常使用分光光度计测定光的透过率。

②实时荧光定量 PCR (qPCR): 通过定量 PCR 技术检测特定微生物的 DNA, 可以精确测定微生物的数量。

(2)稀释涂布平板法用于微生物分离时不需要平板上菌落数在 30~300; 稀释涂布平板法用于筛选基因工程转化的细胞时, 不一定需要再次平板划线处理, 可以直接 PCR 扩增以获得阳性克隆的细胞; 如果是稀释涂布平板法用于纯化微生物时, 才需要多次平板划线操作, 以减少一个菌落是由 2 个或多个连在一起的微生物细胞繁殖而来的概率。

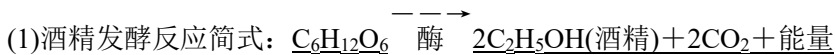
高压蒸汽灭菌锅利用的是湿热灭菌原理。关于手动式高压蒸汽灭菌锅的使用如下:

操作步骤		操作要领
①	加水	向外层锅内加水(蒸馏水或纯化水), 水面达到水位标记线即可(水量过少会烧干)
②	装锅	将待灭菌物品放在灭菌桶中(不要装得太满, 至少留 1/3 空间), 加盖, 对称旋紧固定螺栓
③	加热 排气	加热灭菌锅, 打开排气阀, 等冷空气充分排出后, 关闭排气阀(否则压强达标时, 温度上不去, 蒸汽的穿透力低, 影响灭菌效果)
④	保温、 保压	100 kPa、121 °C 下, 15~30 min
⑤	出锅	压力表指针降至“0”点, 温度下降后再打开排气阀

比较果酒、果醋和泡菜的制作

项目	果酒的制作	果醋的制作	泡菜的制作
菌种	酵母菌(真核生物, 异养兼性厌氧型)	醋酸菌(原核生物, 异养需氧型)	乳酸菌(原核生物, 异养厌氧型)
原理	在有氧时, 酵母菌大量繁殖; 在无氧时, 酵母菌进行酒精发酵	当氧气、糖源都充足时, 醋酸菌将糖分解成乙酸; 在缺少糖源和有氧条件下, 醋酸菌可将乙醇转化乙醛, 再将乙醛变为乙酸	在无氧条件下, 乳酸菌将葡萄糖分解成乳酸
原料选择	新鲜葡萄(或苹果)等		萝卜、黄瓜、豇豆等新鲜蔬菜
发酵温度	18~30 °C	30~35 °C	室温
对氧需求	前期需氧, 后期不需氧	需充足氧	不需氧
检测指标	嗅味、品尝、通过酸性重铬酸钾检测酒精	是否形成菌膜、嗅味、品尝、pH 检测	色泽、口味、亚硝酸盐含量等

2.原理



(2)果醋发酵反应简式

