

## 环境工程微生物学综合性实验教学体系的构建与实践

王国惠\*

(中山大学环境科学与工程学院 广东 广州 510275)

**摘要:** 环境工程微生物学实验是环境工程专业一门重要的专业基础必修课。该课程对专业课的学习具有重要影响。为了保证该课程的教学质量,我们构建了一个新的实验教学体系。该体系包括两部分内容:一是絮凝细菌的分离、筛选、条件优化、应用效果及特征分析;二是污染控制工程中放线菌、霉菌、酵母菌、原生动物及微型后生动物种类与数量分布调查。两部分实验均具有研究性和综合性。第一部分内容分为5个模块。这5个模块具有系统性和连续性,且有一定的挑战性。通过这部分实验,学生可掌握有关细菌的基本实验技术及研究方法。第二部分内容所涉及的是丝状微生物和真核微生物。这部分实验可使学生掌握此类微生物的基本实验技术及其应用方法。该体系内容丰富,与专业结合紧密,大大激发了学生的学习热情。通过该体系,可使学生全面获得环境工程微生物基本实验技能,并有助于提高学生的综合能力,教学效果显著。

**关键词:** 环境工程微生物学, 实验教学, 构建与实践

## Construction and practice of comprehensive experimental teaching system of Environmental Engineering Microbiology

WANG Guo-Hui\*

(School of Environmental Sciences and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510275, China)

**Abstract:** Environmental Engineering Microbiology experiment is an important professional foundation required course in environment engineering. This course has an important influence on the study of professional courses. In order to guarantee the teaching quality of the course, a new teaching innovation system is established. The system consists of two parts: (1) Separation, screening, optimization of conditions, application effect and characteristics analysis of flocculant; (2) Analysis on actinomycetes, mold, yeast and protozoan in pollution control engineering. The two part of the experiment is both research and comprehensive. The first part is divided into five modules. These five modules are systematic and continuous and given a certain challenge. Through this part of the experiment, students can grasp the basic experimental techniques and research methods of bacteria.

**Foundation item:** Higher Education Reform Project of Guangdong Province in 2015 (Undergraduate Category, No. 38000-18822505); Research Project of Sun Yat-sen University Undergraduate Teaching Reform (No. 38000-16300010)

\*Corresponding author: Tel: 86-20-39332690; E-mail: wgh126@126.com

**Received:** July 14, 2016; **Accepted:** November 25, 2016; **Published online** (www.cnki.net): December 09, 2016

**基金项目:** 2015 年度广东省高等教育教学改革项目(本科类, No. 38000-18822505); 2015 年中山大学校级本科教学改革研究课题项目(No. 38000-16300010)

\*通讯作者: Tel: 86-20-39332690; E-mail: wgh126@126.com

**收稿日期:** 2016-07-14; **接受日期:** 2016-11-25; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-12-09

The second part concerns the filamentous microorganisms and eukaryotic microbes. This part of the experiment can enable students to grasp the basic experimental technology and application methods of these microorganisms. The system is rich in content, closely combined with professional and has greatly stimulated the enthusiasm of students to learn. Through the system, the students can fully obtain the basic experimental skills of Environmental Engineering Microbiology and helps to improve students' comprehensive ability. The teaching effect is very remarkable.

**Keywords:** Environmental Engineering Microbiology, Experiment teaching, Construction and practice

环境工程微生物学实验是环境工程专业的一门重要专业基础必修课<sup>[1]</sup>。该课程的教学质量不仅有助于学生对环境工程微生物学理论内容的理解,而且对水污染生物控制工程、大气污染生物控制工程、固体废物生物处理等专业课程的教学也具有至关重要的作用<sup>[2-3]</sup>。

然而,由于种种原因,我校环境工程微生物实验大多是照搬普通微生物学实验。很多实验内容都仅相当于普通微生物学基础实验,如微生物观察(利用示范片及购买菌种)、器皿包装、培养基配制与灭菌、微生物的分离与接种等。此外,课程各部分实验内容从结构及安排上也彼此独立,无论在技术上还是专业的逻辑关系上都显得松散,缺乏内在联系。学生常对微生物实验与专业的关联感到茫然,不知道怎样将各实验技术进行连接与应用。在以往的教学过程中,学生普遍缺乏兴趣,学习热情不高,直接影响课程的教学效果。因此,更新观念,优化教学内容,改变教学模式,以求达到合格人才培养的要求已经成为提高我校环境微生物学实验课程的建设水平和教学质量的必然要求。

有关环境工程微生物实验教学的改革与研究已有相关报道。陈俊华等<sup>[4]</sup>从其教学模式与内容等方面进行了改革。他们将教学内容调整优化为培养基的配制与灭菌(验证实验)、土壤中微生物的筛选、分离、培养(验证实验)、细菌染色、革兰氏染色(综合型实验)、酵母菌培养、染色与大小测量、计数(综合型实验)及酸乳的制作(综合型实验)。刘洋等<sup>[5]</sup>通过选择精品教材、合理运用导语和课堂小结、融入逼真的图片和动画优化实验教学内容。李晶<sup>[6]</sup>认为,对环境治理专业学生而言,微生物实验操作训练应充分考虑学生对实验的求知探索欲。吕绿洲等<sup>[7]</sup>将

培养基的制备、器皿及培养基的灭菌、显微镜的操作、微生物的染色及观察、微生物的培养及分离等作为重点内容,同时考虑了藻类、原生动物和微型后生动物的观察。李晓楼<sup>[8]</sup>对如何提高环境工程微生物实验操作技能提出了良好的建议。

综上所述,有关环境工程微生物实验教学,相关学者已从不同角度开展研究。但关于其如何体现专业性,从内容上怎样才能更好地与专业关联却报道较少。

本文针对实验内容方面存在的问题,结合专业需要,对其进行专业性优化,以激发学生的专业兴趣与热情,以期进一步培养学生的科研能力与综合运用能力。

## 1 课程设置

环境工程微生物学实验是一门专业必需课。本课程独立开课。其前序课程是有机化学、分析化学及物理化学等。共 30 学时。上课学生总人数为 80 人左右,分为两个班(一班和二班),每两人一组。每周授课 5 学时。

## 2 改革思路

### 2.1 破旧立新, 构建专业性实验体系

打破原来陈旧单调的教学模式,将原有实验内容与新增实验内容重新整合,构建具有专业性、科学性和应用性的、新的综合性实验体系。通过该体系,既让学生全面系统地掌握微生物的基本操作,同时又可激发他们的专业热情。

### 2.2 激发学生兴趣, 提高教学效果

构建的新体系按专业内容设计,具有研究性、探索性与一定的挑战性,因此可激发学生的学习兴趣。让学生以科学、严谨的态度,富有兴致地完成

实验。让学生完成实验的过程变成一个享受的过程,一个难忘的过程。通过这个过程,既使学生掌握基本实验技能,又培养他们的科学思维。

### 3 新实验体系的构建

构建的新体系包括两部分内容。第一部分围绕细菌展开。以筛选絮凝剂产生菌(絮凝细菌)作为目的菌,按一个研究课题的形式,组织成一个研究性实验。其主要内容为絮凝细菌的分离、筛选、条件优化、应用效果及特征分析。通过这部分实验,学生可掌握有关细菌的基本操作,并提供基础思路。

目前,污水处理中所用絮凝剂大都为化学絮凝剂,极易造成二次污染。微生物絮凝剂因安全、可靠、不产生二次污染而倍受关注。因此,选择絮凝细菌相关内容作为本实验内容有重要现代专业意义。

第二部分围绕污染控制中放线菌、霉菌、酵母、原生动物及微型后生动物展开。上述微生物在废水、废气和废渣处理中都发挥着重要作用。此外,放线菌和霉菌属于丝状菌,在一定条件下,会引发污泥膨胀。为了避免污泥膨胀的发生,必需对放线菌和霉菌进行分析研究。因此,这部分实验具有一定的专业意义。通过这部分实验,可让学生掌握放线菌、霉菌、酵母、原生动物及微型后生动物的基本研究方法,认识其特征,确定种类、数量及其分布等。

通过以上两部分实验,可使学生全面掌握环境工程微生物基本实验方法,并可让学生了解如何开展相关研究。

## 4 实验内容

### 4.1 絮凝细菌的分离、筛选、条件优化、应用效果及特征分析

该实验分为5个模块。这5个模块按“技术路线”依次排序:第1个模块:目的菌的分离与纯化;第2个模块:目的菌的筛选;第3个模块:发酵条件优化;第4个模块:应用效果实验;第5个模块:絮凝细菌的特征与初步鉴定。

#### 第1个模块:目的菌的分离与纯化(5学时)

将器皿的清洗与包装、稀释水的制备、细菌培养琼脂培养基的制备及其灭菌、目的菌的分离与纯化等整合为一个模块。学生分别取不同样品(如污水、污泥),在无菌条件下,按稀释法进行分离,并经培养后对菌落进一步划线纯化,挑选单个菌落,保存斜面培养物,以备下一个模块使用。

通过该模块,可使学生建立无菌概念,了解目的菌分离前需要做的准备,学会怎样制备无菌水与培养基,如何使用高压灭菌器及如何利用固体平板进行目的菌的分离与纯化等。学生不仅能够系统掌握无菌操作、接种、稀释分离与划线纯化等相关操作,而且还可应用这些技术从污水、污泥等环境中分离目的菌或启动污染控制生物工程中有微生物的相关研究。

#### 第2个模块:絮凝细菌的筛选(5学时)

这一模块主要包括液体培养基的配制与灭菌、4%高岭土污水(简称“水样”)的准备、絮凝剂发酵培养及絮凝实验等。具体内容及实验步骤如下:

##### (1) 絮凝剂发酵

配制液体培养基并灭菌,待其冷却后,在无菌条件下,取第一个模块得到的两支斜面中的一支,用接种环挑取适量培养物转至液体培养基中,30℃、150 r/min 摇床发酵培养72 h,使其产絮凝剂。

##### (2) 絮凝实验

取100 mL量筒,加入93 mL高岭土水样、5 mL浓度为1%的氯化钙( $\text{Ca}^{2+}$ 只起辅助作用)溶液和2 mL发酵液。通过发酵液与水样的作用,观察有无絮凝现象,以判断受试菌是否具有产絮凝剂的能力。有絮凝现象的,记为“+”,即为阳性结果;无絮凝现象的,记为“-”,即为阴性结果。同时,对于阳性结果,根据絮体的大小及其沉降速度,确定其絮凝活性。絮凝最快的记“+++”,较快的记“++”,慢的记“+”。

通过该模块,不仅可让学生学会液体培养基的配制,并弄清液体培养基与固体培养基的区别。同时,可强化学生的无菌操作技术及“固”、“液”无菌

转接方法,还可掌握摇床的操作与使用。

通过观察有无絮凝现象,可使学生清晰地理解“筛选”的涵义及“分离”与“筛选”两个概念的区别。此外,通过该模块,可帮助学生很好地理解理论课中“功能菌”这一重要概念。

通过絮凝实验,学生将产絮凝剂的培养物(即絮凝细菌)作为菌种保存,用于下一模块。

#### 第3个模块:发酵条件优化模块(5学时)

为了提高絮凝剂的产生量,将第2个模块筛选得到的絮凝细菌进行发酵条件实验,以确定其最适发酵条件。实验条件包括pH、温度、摇速及发酵时间。各条件设不同梯度水平,如pH设为6.0、7.0和8.0;温度设为15、30和45℃;摇速设为90、150和210 r/min;发酵时间设为1、2和3 d。该模块因涉及条件及其水平较多,需要各小组分工协作。

发酵结束后进行絮凝实验。按第2个模块对絮凝情况的判断方法,比较分析并确定絮凝细菌产絮凝剂的最适发酵条件。通过该模块,可培养学生的科研意识与科研能力,并进一步激发其探索精神。

#### 第4个模块:应用效果实验(5学时)

根据第3个模块的实验结果,按确定的最适条件进行发酵。将发酵液直接用于生产废水(造纸废水、印染废水、喷墨打印废水、屠宰废水、养殖废水及食品废水等),进行絮凝,观察其应用效果。

通过该模块,学生可进一步提高操作水平,加深认识微生物在环境工程中的作用。

#### 第5个模块:絮凝细菌的特征与初步鉴定(5学时)

观察絮凝细菌的菌落特征,并通过染色,观察菌体形态、革兰氏特性及细胞特殊结构(荚膜、芽孢及鞭毛)等。为了确保实验效果,结合示范片和标准菌种进行。

通过该模块,使学生学习如何观察原核微生物-细菌的培养特征,掌握细菌的制片技术、染色技术、显微操作技术,并让学生认识、了解细菌的菌体特征及特殊结构。通过该模块,使学生掌握细

菌的初步鉴定方法与技术,同时进一步提高他们的动手能力。

#### 4.2 污染控制工程中放线菌、霉菌、酵母菌、原生动物及微型后生动物的种类与数量分布调查(5学时)

从污水处理厂不同构筑物中取污水及污泥样品,开展放线菌、霉菌、酵母菌、原生动物及微型后生动物的种类与数量的分布调查相关实验。

**4.2.1 放线菌、霉菌、酵母菌种类与数量分布调查(3学时):**放线菌、霉菌、酵母菌按稀释法进行平板分离,培养后观察菌落特征并计数,结合菌体形态观察,确定其种类与数量,并经过比较与统计,确定差异与分布。分离前的准备与细菌相同,只是所用培养基不同。

##### (1) 放线菌种类与数量分布调查

用高氏一号培养基对污泥样品中的放线菌进行分离,32℃培养24 h,观察菌落形态并计数。然后,继续培养24或48 h,观察菌落形态的变化。同时,进行菌体(菌丝、孢子)特征观察。结合菌落数量与菌体形态,确定放线菌的种类与数量,并经过比较与统计,确定差异与分布。

##### (2) 霉菌种类与数量分布调查

用虎红培养基对污泥样品中的霉菌进行分离,30℃培养24 h,取出后观察菌落形态并计数。然后,继续培养24或48 h,观察菌落形态的变化。同时,进行菌体(菌丝、孢子)特征观察。结合菌落数量与菌体形态,确定霉菌的种类与数量,并经过比较与统计,确定差异与分布。

##### (3) 酵母菌种类与数量分布调查

用PDA培养基对污泥样品中的酵母菌进行分离,30℃培养48 h,观察菌落形态并计数。同时,进行菌体形态的观察。结合菌落数量与菌体形态,确定酵母菌的种类与数量,并经过比较与统计,确定差异与分布。

**4.2.2 原生动物和微型后生动物种类与数量分布调查(2学时):**直接观察污泥原样中原生动物与微型后生动物的形态并计数,以确定其种类和数量,

并经过比较与统计,确定差异与分布。

通过本实验,让学生掌握研究、观察污染控制工程中放线菌、霉菌、酵母菌、原生动物及微型后生动物的基本研究方法,加深学生对理论课中相关抽象描述的理解,学会如何区分形态近似的放线菌与霉菌。结合絮凝实验,使学生学会了如何正确判断什么是细菌,什么是酵母菌。此外,通过本实验,使学生更加熟练地掌握显微镜的使用方法与操作技巧。

## 5 教学方式

实验课采用开放式教学。其形式多样,如通过“产学”结合的方式,与企业协作,针对实际污染控制工程需要解决的问题开展相关实验,结合大学生创新性科研实践活动、创新性挑战杯比赛、企业基金项目及自主设计等开展教学活动。开展的实验较多,如构筑物中活性污泥与生物膜微生物种类、数量、分布调查,沼气发酵脱硫,废气中硫化氢资源化为单质硫,造纸废水、印染废水及养殖废水等微生物絮凝剂的研发,VOCs的增溶与降解等。本文只涉及其中部分内容,其他有关内容将后续报道。

### 5.1 发挥学生的能动作用,培养学生的全面能力

学生参与实验的全过程。实验开始之前,在老师的引导下,学生学习如何查阅文献、制定实验方案、设计实验路线等。在老师的指导下,整个实验由学生自行完成,包括实验材料(如设备、器皿、药品等)的准备,实验样品采集等。在实验过程中,老师引导学生善于并及时发现问题,分析问题的原因,找到解决方法。

### 5.2 开展实验交流,丰富实验经验,强化操作水平,拓展专业认识

学生完成实验后,召开实验总结报告会。学生根据各自的实验经历,分享“成功”经验,总结“失败”教训;交流实验过程的感受与体会;分享通过查阅资料对实验课题相关研究动态与发展的了解等。通过总结交流,丰富学生的实验经验,强化操作水平,同时拓展他们对专业的认识。

## 6 考核方式

实验结果以研究论文的形式代替传统实验报告。考核重点为实验过程,包括实验方案、实验路线、实验操作、实验论文、对实验现象及实验结果的分析与讨论等。评价实验方案及实验路线的合理性,并量化打分。对实验操作通过录像、拍照,记录其操作过程,评价其操作是否规范、有无错误等。例如:(1)对实验过程中精心安排,操作规范,及时发现问题、分析问题并解决问题的,加分;(2)对于无菌操作,若操作时将实验样品移离无菌区至污染区,或接种时无菌器具触碰非无菌物品时,视为错误操作,减分;(3)利用三角瓶进行微生物的好氧培养时,瓶口需用硅胶塞或棉塞,若使用了橡胶塞或直接用几层报纸封口(这是极不认真的表现)的视为错误,减分。实验论文考察对实验现象与结果的分析、数据的真实性、查阅相关资料了解其研究动态情况、论文结构与格式是否规范、语言表达、实验总结与体会等。

## 7 取得的成效

自2008年开始,经过8年的改革与实践,取得了明显效果。下面结合学生在实验论文中谈到的体会进行总结。

### 7.1 激发了学生的学习热情

实验内容科学而巧妙的整合,大大地激发了学生的学习兴趣,学生对实验充满了热情与好奇。学生在实验论文中谈到:“毫不夸张地说,完成环境工程微生物实验的过程是一个新奇而有趣的过程。”“此次接触该实验,应该说是欣喜!”“环境工程微生物实验设计构思巧妙、内容丰富,通过此次实验,不仅加深了对理论内容的理解,更重要的是,通过研究性综合实验,让我们学会了研究课题的设计及怎样开展研究,受益良多。”“通过环境工程微生物实验,使我们进一步学会了如何独立思考,动手能力得到了提高,受益匪浅。”

改革后的实验内容虽大大增加,但因学生高涨的学习热情,基本可在规定的课时内完成,效率很高。即使有些实验需要课外进行(如中间观察等),

学生也乐此不疲。

## 7.2 培养了学生严谨求实的科学态度

由于综合实验模块设计上的严密性,使学生在实验过程中不敢马虎,所有细节都必须认真对待。因此,培养了学生严谨求实的科学态度。

有同学在实验论文中谈到:“环境工程微生物实验让我们有一个与其他实验课截然不同的体验。其他实验课各实验之间都毫无关联,而环境工程微生物实验则环环相扣、紧密关联。任何一个环节出了差错都会对后续实验产生重大影响,甚至直接导致整个实验的失败。这就要求我们必须非常认真细致地对待每一个实验甚至每个步骤。这也如同下棋一般,一子错满盘皆落索。通过此次实验,锻炼了我们的耐心与毅力,培养了我们严谨的科学精神,我们的综合能力得到了很大提高。”

## 7.3 培养了学生的科研协作精神

实验开始前,老师强调“全班就是一个研究团队”。在整个实验过程中,有“成功”,也有“失败”。要求大家把握好实验过程。失败时要面对,成功时要分享。

在整个实验过程中,学生都遵循着“独立操作、技术互通、结果共享”的原则,气氛活跃而有序。学生遇到问题除与老师讨论外,还进行相互探讨,相互帮助。特别是絮凝细菌的筛选环节,不少小组在该见证“奇迹”的时刻却没有出现“奇迹”,其结果为“-”。这时,取得阳性结果的小组便将絮凝细菌菌种贡献出来,与“-”小组同学分享。同学在小小的“失落”中又恢复了喜悦。实验过程中,全班同学以一个研究团队的态度,认真履行着各自的“职责”,为实现同一个“目标”共同努力。这有力地培养了学生的科研协作精神。

## 8 结语

通过本实验体系,学生全面掌握了环境工程微生物的实验方法,加深了对理论内容的理解、认识并理解了微生物与专业的关系。特别是,通过絮凝

细菌的分离、筛选、性能实验及应用实验,培养了学生的研究能力、科学态度、严谨作风,使学生的综合素质得到了提高。

通过对旧教学内容的改革与本教学体系的建立,我们在教学实践中深深体会到充分体现专业内涵的重要性、必要性与迫切性。总结不同时期学生做出的反映,更可强烈地感受到改革前后教学效果的巨大差异。实践表明,环境工程微生物学欲达到教学目标,取得理想教学效果,无论理论教学还是实验教学都必需与专业紧密关联。

## 参 考 文 献

- [1] Cai YJ, Zhao LR, Peng QA, et al. Discussion on the teaching of environmental engineering microbiology[J]. Education and Teaching Forum, 2014(20):104-105 (in Chinese)  
蔡亚君, 赵丽荣, 彭其安, 等. 环境工程微生物学课程教学的探讨[J]. 教育教学论坛, 2014(20): 104-105
- [2] Wang ZQ. Reflections on the optimization of environmental engineering microbiology[J]. China Science and Technology Information, 2013(18): 38 (in Chinese)  
王忠全. 关于《环境工程微生物学》优化的思考[J]. 中国科技信息, 2013(18): 38
- [3] Cheng X, Sun DZ. Several important problems in the teaching of environmental engineering microbiology[J]. Forestry Education in China, 2013, 31(1): 49-51 (in Chinese)  
程翔, 孙德智. 环境工程微生物学课程教学的几个重要问题[J]. 中国林业教育, 2013, 31(1): 49-51
- [4] Chen JH, Liu L, Wang Y, et al. Teaching reform of microbiology experiment for environmental engineering specialty[J]. Journal of Architectural Education in Institutions of Higher Learning, 2015, 24(6): 152-155 (in Chinese)  
陈俊华, 刘磊, 王艳, 等. 环境工程专业微生物学实验教学改革探索[J]. 高等建筑教育, 2015, 24(6): 152-155
- [5] Liu Y, Tu NY, Niu XC, et al. The explorations of the reform about experimental teaching in environmental microbiology[J]. Guangdong Chemical Engineering, 2015, 42(5): 158-160 (in Chinese)  
刘洋, 涂宁宇, 牛显春, 等. 环境微生物学实验教学改革初探[J]. 广东化工, 2015, 42(5): 158-160
- [6] Li J. Problems and measures in environmental engineering microbiology experiment[J]. Resource Conservation and Environmental Protection, 2014(1): 112 (in Chinese)  
李晶. 环境工程微生物实验中存在的问题及措施[J]. 资源节约与环保, 2014(1): 112
- [7] Lü LZ, Lin H, Chen XZ, et al. Reform and practice of environmental engineering microbiology experiment teaching[J]. Microbiology China, 2014, 41(10): 2149-2153 (in Chinese)  
吕绿洲, 林海, 陈秀枝, 等. 环境工程微生物学实验教学改革与实践[J]. 微生物学通报, 2014, 41(10): 2149-2153
- [8] Li XL. Measures of improving the operation skills of environmental engineering microbiology experiment[J]. Light industry science and technology, 2013(9): 166-167 (in Chinese)  
李晓楼. 提高环境工程微生物实验操作技能措施分析[J]. 轻工科技, 2013(9): 166-167