

# “翻转课堂”在微生物学实验“细菌鉴定中常用的生理生化反应”教学中的应用与体会

靳永新\*, 魏东盛, 陈容容, 徐欣欣, 李明春, 喻其林, 吴卫辉

南开大学生命科学学院微生物学系, 天津 300071

靳永新, 魏东盛, 陈容容, 徐欣欣, 李明春, 喻其林, 吴卫辉. “翻转课堂”在微生物学实验“细菌鉴定中常用的生理生化反应”教学中的应用与体会[J]. 微生物学通报, 2024, 51(4): 1314-1320.

JIN Yongxin, WEI Dongsheng, CHEN Rongrong, XU Xinxin, LI Mingchun, YU Qilin, WU Weihui. Application of flipped classroom in Microbiology Experiment teaching: a case study of bacterial identification based on physiological and biochemical tests[J]. Microbiology China, 2024, 51(4): 1314-1320.

**摘要:** 微生物学实验是高等学校微生物学课程的重要组成部分。开展微生物学实验的目的不仅是对微生物学基本技能的传授、理论的验证与拓展, 也是对高年级本科生走向毕业设计及其进一步开展研究生科研工作的训练。为了训练学生的科研思维, 在已掌握微生物基本操作与实验技术的基础上, 将最后一个实验“细菌鉴定中常用的生理生化反应”设计为“翻转课堂”形式。学生通过课前查阅资料, 课上讲解实验原理、预期实验结果、观察与修正实验结果、分析与讨论实验结果完成该实验。“翻转课堂”的教学形式活跃了课堂气氛, 使学生们能够更好地查阅资料进行预习, 结果分析及实验结论的修订训练了学生细致观察、深入分析和严谨结论的科学素养。

**关键词:** 微生物学实验; 翻转课堂; 细菌生理生化实验; 科研思维

资助项目: 天津市普通高等学校本科教学改革与质量建设研究计划(B231005521); 南开大学本科教育教学改革项目(NKJG2023108)

This work was supported by the Tianjin Ordinary Higher Education Institutions Undergraduate Teaching Reform and Quality Construction Research Program (B231005521) and the Nankai University Undergraduate Education and Teaching Reform Project (NKJG2023108).

\*Corresponding author. E-mail: yxjin@nankai.edu.cn

Received: 2023-11-09; Accepted: 2024-01-18; Published online: 2024-02-05

## Application of flipped classroom in Microbiology Experiment teaching: a case study of bacterial identification based on physiological and biochemical tests

JIN Yongxin\*, WEI Dongsheng, CHEN Rongrong, XU Xinxin, LI Mingchun, YU Qilin, WU Weihui

Department of Microbiology, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

**Abstract:** Microbiology Experiment is an important course of microbiology in institutions of higher education. This course aims to not only impart basic skills, verify and expand theories in microbiology, but also train senior undergraduates for graduation projects and further research work in their graduate education. To train the scientific research thinking of students who had mastered the basic experimental techniques of microbiology, we designed the class of bacterial identification based on physiological and biochemical tests in the form of a flipped classroom. The students were guided to review textbooks and papers before class and explain the experimental principles, expect experimental results, observe and correct the results, and analyze and discuss experimental results during class. The teaching form of flipped classroom enlivens the classroom atmosphere, enabling students to better access textbooks for preview before class. The analysis of experimental results and the revision of experimental conclusions have trained the scientific literacy of meticulous observation, scientific analysis, and rigorous conclusion drawing for the students.

**Keywords:** Microbiology Experiment; flipped classroom; bacterial physiological and biochemical tests; scientific research thinking

生命科学是一门实验性科学。个体微小、结构简单的微生物不仅与人类生活密切相关,也是生命科学研究的重要模式材料。因此,“微生物学”及“微生物学实验”是高等学校生命科学相关专业学生的必修基础课或重要选修课,地位非常重要<sup>[1-2]</sup>。开展微生物学实验的目的不仅是使生命科学专业人才培养掌握微生物相关基本实验技术,对微生物学理论知识进行实践与拓展,也是对高年级本科生走向毕业设计及进一步开展研究生科研工作的训练。这些就要求教师必须在实验教学中注重培养学生基本实验技能的同时,着重训练学生发现问题、分析问题、解决问题的科研思维,以提升本科生在未来职场和科研工作中的工作能力。

为了适应这一要求,我们前期设计了“项目式”的微生物学实验教学内容,通过设计不同的富有趣味性和应用性的科研课题,如用于工业污水深度处理的微生物筛选和鉴定等,将培养基的制备与灭菌、微生物的纯种分离与培养、细菌的染色与观察、细菌特殊结构染色与观察、微生物测微与计数、放线菌与霉菌小室培养与观察及细菌鉴定中常用的生理生化反应这 7 个实验有机串联在一起<sup>[3]</sup>。这种富有趣味性和应用性的“项目式”教学内容的改革取得了良好的效果,更好地激发了学生的学习兴趣,使其更好地掌握了微生物学基本实验技能<sup>[3]</sup>。然而,在教学过程中仍存在课堂气氛沉闷,师生或生生间互动交流少的现象。主动回答问题的只是

固定的几位学生,有的学生甚至一学期都不主动回答问题。另外,教师在学生做毕业设计过程中发现,有些学生发现实验现象中的细节问题、分析问题、解释和解决科学问题的科研能力不足。

出现这些现象,分析认为可能有2个原因:(1) 实验教学过程中以教师讲解实验内容为主。教师讲解实验原理、实验内容、实验步骤、预期结果。学生不用课前查阅资料,课上只需要认真听讲、不用相互交流即可顺利完成实验内容,因此课堂气氛沉闷。(2) 微生物学实验课程主要培训学生微生物学相关的基本实验技能,尽管教学过程中将这些基本技能有机融入到“项目式”教学内容中,学生对于实验过程中实验现象的细微差异捕捉的灵敏度不够,对于实验结果分析的深度不够。学生不主动思考、深入分析实验背后的原因,转而“先发制人”地向教师提问“为什么我的实验结果是这样的”。为了活跃课堂气氛、训练学生的科研思维,在已掌握微生物基本操作与实验技术的基础上,课程将最后一个实验“细菌鉴定中常用的生理生化反应”设计为“翻转课堂”形式,以深化学生对实验原理的理解、对实验结果的分析与讨论。本文将着重介绍课程在“细菌鉴定中常用的生理生化反应”实验内容的安排与翻转课堂的呈现形式,以此与国内从事微生物学实验相关教学的同行们相互商榷,共同提高与进步,进一步促进我国微生物学实验课程建设水平与教学质量的全面提升。

## 1 “细菌鉴定中常用的生理生化反应”实验组成

微生物学实验“细菌鉴定中常用的生理生化反应”包括6个反应<sup>[4]</sup>: (1) 葡萄糖发酵。(2)

乳糖发酵,主要检测细菌是否能够利用葡萄糖或乳糖,产生酸性产物和气体。如果能够产酸,则培养基中的溴甲酚紫指示剂变为黄色(pH 5.2–6.8);如果能够产生气体,倒置在试管底部的杜氏小管顶部能够充入气泡。(3) MR 试验(甲基红试验)。(4) VP 试验(乙酰甲基甲醇试验),这两个实验主要检测细菌利用葡萄糖生成丙酮酸后丙酮酸进一步的代谢走向。当丙酮酸进一步被分解为甲酸、乳酸或乙酸等,则加入的甲基红指示剂可由原来的橘黄色变为红色(pH 4.2–6.3),此为MR 阳性反应;而当丙酮酸经缩合、脱羧后产生中性的乙酰甲基甲醇,该物质在碱性条件下被空气中的氧气氧化为二乙酰(加入 $\alpha$ -萘酚,可催化该反应),后者与蛋白胨中精氨酸的胍基起反应,生成红色化合物,此为VP 阳性反应。(5) 吲哚产生实验,细菌能够产生色氨酸酶分解蛋白胨中的色氨酸产生吲哚。后者与对二甲基氨基苯甲醛结合,生成红色的玫瑰吲哚。(6)  $H_2S$  产生实验,细菌能够分解培养基中的含硫氨基酸生成 $H_2S$ ,  $H_2S$  遇到滤纸条上的醋酸铅则生成黑色的硫化铅,根据滤纸条黑色程度来反映细菌产生 $H_2S$  的量。

## 2 “细菌鉴定中常用的生理生化反应”课前准备

在前一次课上配制生理生化反应培养基,学生自愿报名或者被随机指定一个生理生化反应,准备下次课在讲台上讲解培养基配方、实验原理、预期实验结果等。在生理生化实验课的前一天中午,两个学生一组进行细菌接种。每组6个反应,每个反应5支试管。如表1所示,实验组每个菌种每种培养基接种2支试管,对照组1支试管不接菌。其中 $H_2S$  反应每支试管

表 1 细菌鉴定中常用的生理生化反应接种菌株

Table 1 Strains used in bacterial physiological and biochemical experiments

序号 Serial number	实验名称 <sup>a</sup> Experimental names <sup>a</sup>	菌株 1 (接种管数) Strain 1 (number of tubes)	菌株 2 (接种管数) Strain 2 (number of tubes)	对照(管数) Control (number of tubes)
1	葡萄糖发酵 Glucose fermentation assay	大肠杆菌(2) <i>Escherichia coli</i> (2)	枯草芽胞杆菌(2) <i>Bacillus subtilis</i> (2)	不接种(1) No inoculation (1)
2	乳糖发酵 Lactose fermentation assay	大肠杆菌(2) <i>E. coli</i> (2)	枯草芽胞杆菌(2) <i>B. subtilis</i> (2)	不接种(1) No inoculation (1)
3	MR 试验 MR assay	大肠杆菌(2) <i>E. coli</i> (2)	枯草芽胞杆菌(2) <i>B. subtilis</i> (2)	不接种(1) No inoculation (1)
4	VP 试验 VP assay	大肠杆菌(2) <i>E. coli</i> (2)	枯草芽胞杆菌(2) <i>B. subtilis</i> (2)	不接种(1) No inoculation (1)
5	吲哚产生实验 Indole production assay	大肠杆菌(2) <i>E. coli</i> (2)	金黄色葡萄球菌(2) <i>Staphylococcus aureus</i> (2)	不接种(1) No inoculation (1)
6	H <sub>2</sub> S 产生实验 <sup>b</sup> H <sub>2</sub> S production assay <sup>b</sup>	变形杆菌(2) <i>Proteus vulgaris</i> (2)	枯草芽胞杆菌(2) <i>B. subtilis</i> (2)	不接种(1) No inoculation (1)

<sup>a</sup>: 接种培养物, H<sub>2</sub>S 产生实验每支试管加 100 μL 菌液, 其他反应每支试管加 200 μL 菌液, 37 °C 振荡培养 24 h; <sup>b</sup>: H<sub>2</sub>S 产生实验需加滤纸条, 纸条高于液面 2–3 cm, 注意每支试管滤纸条距液面高度相同

<sup>a</sup>: Inoculation, 100 μL bacterial culture was inoculated into each tube for H<sub>2</sub>S production assay, and 200 μL bacterial culture for the other assays, and then grown for 24 h at 37 °C with agitation. <sup>b</sup>: Filter paper strip was placed in each tube of H<sub>2</sub>S production assay with the same 2–3 cm height above the medium surface.

接种 100 μL 菌液, 其他反应每支试管接种 200 μL 菌液。H<sub>2</sub>S 反应中 5 支试管的滤纸条距培养基液面的高度保持一致。试管置于 37 °C 振荡培养 24 h。

### 3 “细菌鉴定中常用的生理生化反应”课上翻转课堂运用

上课时, 认领实验的学生会按表 1 中实验顺序依次到讲台上讲解各自负责实验的实验原理、实验预期结果等。因为有一周时间准备, 有的学生制作了精美的 PPT 进行讲解, 有的学生查阅了多种资料进行讲解。因此, 实验原理的讲解通常都非常清晰准确。预期结果时, 学生们对多数实验的意见相同, 对 H<sub>2</sub>S 产生实验提出不同意见。预期结果如表 2: (1) 大肠杆菌

能够利用葡萄糖, 产酸产气体; 枯草芽胞杆菌能够利用葡萄糖产酸, 但不产气; (2) 大肠杆菌能够利用乳糖, 产酸产气体; 枯草芽胞杆菌不能够利用乳糖; (3) 大肠杆菌利用葡萄糖产生的丙酮酸能够进一步代谢产酸, 而枯草芽胞杆菌利用丙酮酸产生了乙酰甲基甲醇。因此 MR 试验中大肠杆菌为阳性, 枯草芽胞杆菌为阴性; VP 试验中大肠杆菌为阴性, 枯草芽胞杆菌为阳性; (4) 大肠杆菌能够分解色氨酸产生吲哚, 而金黄色葡萄球菌不能产生吲哚, 因此吲哚产生实验中大肠杆菌为阳性, 枯草芽胞杆菌为阴性; (5) 变形杆菌和枯草芽胞杆菌均能够利用含硫氨基酸, 生成 H<sub>2</sub>S, 而变形杆菌产生更多的 H<sub>2</sub>S, 滤纸条黑的程度更大; 或其他预期: 变形杆菌能够利用含硫氨基酸, 生成 H<sub>2</sub>S, 而枯草芽胞杆菌不能够产生 H<sub>2</sub>S (表 2)。

表 2 生理生化反应预期实验结果

Table 2 Expected results in bacterial physiological and biochemical experiments

序号 Serial number	实验名称 Experimental names	菌种 1 Strain 1	菌种 2 Strain 2	对照 Control
1	葡萄糖发酵 Glucose fermentation assay	大肠杆菌 ⊕ <i>E. coli</i> ⊕	枯草芽胞杆菌+ <i>B. subtilis</i> +	不接种 No inoculation
2	乳糖发酵 Lactose fermentation assay	大肠杆菌 ⊕ <i>E. coli</i> ⊕	枯草芽胞杆菌- <i>B. subtilis</i> -	不接种 No inoculation
3	MR 试验 MR assay	大肠杆菌+ <i>E. coli</i> +	枯草芽胞杆菌- <i>B. subtilis</i> -	不接种 No inoculation
4	VP 试验 VP assay	大肠杆菌- <i>E. coli</i> -	枯草芽胞杆菌+ <i>B. subtilis</i> +	不接种 No inoculation
5	吡哌产生实验 Indole production assay	大肠杆菌+ <i>E. coli</i> +	金黄色葡萄球菌- <i>S. aureus</i> -	不接种 No inoculation
6	H <sub>2</sub> S 产生实验 H <sub>2</sub> S production assay	变形杆菌++/+ <i>P. vulgaris</i> ++/+	枯草芽胞杆菌+/- <i>B. subtilis</i> +/-	不接种 No inoculation

⊕: 产酸产气; +: 阳性结果; -: 阴性结果; ++/+: 强阳性结果/阳性结果; +/-: 阳性结果/阴性结果

⊕: Produce acid and gas; +: Positive result; -: Negative result; ++/+: Strong positive/positive result; +/-: Positive/negative result.

#### 4 “细菌鉴定中常用的生理生化反应”结果观察与讨论

反应结果鉴定: (1) 葡萄糖/乳糖发酵实验, H<sub>2</sub>S 产生实验直接观察; (2) VP 试验: 拔出试管塞, 加入 0.5 mL 40% 氢氧化钾溶液, 振荡, 再加等量 α-萘酚, 振荡, 37 °C 振荡保温数分钟, 观察; (3) MR 试验: 向试管中加入甲基红试剂 2-3 滴, 观察; (4) 吡哌产生实验: 加 1 mL 乙醚, 振荡, 静止片刻使分层, 沿管壁慢慢加入吡哌试剂(对二甲基氨基苯甲醛) 10 滴, 观察。

根据结果对实验预期结果进行修订与讨论。其中 H<sub>2</sub>S 产生实验中, 变形杆菌与枯草芽胞杆菌都能够产生 H<sub>2</sub>S, 而变形杆菌产生得更多一些, 因此变形杆菌 H<sub>2</sub>S 产生实验用++表示, 而枯草芽胞杆菌用+表示, 学生们可以根据实验结果进行修订。H<sub>2</sub>S 产生实验中, 即使强调了 5 支试管滤纸条距培养基液面的高度要一致, 仍有个别学生未注意到这一点, 对这样的实验结果, 教师会把 5 支试管拿到讲台上, 排成一

排比齐让大家进行实验结果观察与反思, 总结实验过程中不同实验组及对照组实验条件严格一致的重要性。关于葡萄糖/乳糖发酵实验, 大部分学生都能够得到与实验预期相同的结果, 但有些学生在葡萄糖发酵实验中, 会有枯草芽胞杆菌利用葡萄糖也能够产酸产气的现象; 或乳糖发酵中, 出现枯草杆菌能够利用乳糖产酸产气的现象。通常大家经过实验结果反推, 同时回顾前一天的接菌情况, 能够分析出大肠杆菌在接菌的哪一步污染了枯草芽胞杆菌的情况。关于 VP 试验, 有学生会提出疑问, 枯草芽胞杆菌是深红色, 为什么大肠杆菌是淡粉色的? 是否也应该像 H<sub>2</sub>S 产生实验那样, 用 2 个“+”和 1 个“+”来分别标注。这时, 教师会引导大家, 在观察时, 学生们向试管中加入了什么物质。经过引导, 学生们能够分析出此现象是因为酚类物质被氧化, 所以表现出淡粉色。有些学生还能够细致观察进一步提出问题: “那不接菌的对照组也加入了酚, 为什么就不是淡粉色?” 教师会进一步引导学生“大肠杆菌组与对照组

试管里还有什么区别?”经过引导,学生们能够分析出大肠杆菌组里有菌生长,菌在代谢过程中可能产生了一些氧化性物质,因此它的颜色较空白培养基组会显现得更粉一些。

经过对实验结果的观察与讨论后,学生们能够解释自己的实验结果中非预期的现象。如果学生没有问题,教师通常还会进一步提出问题“同样是以葡萄糖为底物,枯草芽胞杆菌在葡萄糖发酵中,我们认为它产酸(+),而在MR试验中,认为它不产酸(-)?”引导学生们进一步思考并分析原因。经过思考,学生们能够分析出,因为所用指示剂不同而导致pH变色范围不同。教师的提问目的传达给学生的关注点在于:同样的实验得出不同的结论与其实验条件有关系。将来的科研工作中,要强调在所用的实验条件下得到了相应的实验结论才更严谨。同时也提醒学生在阅读文献或重复文献中的实验时要注意实验细节。自己的实验结论与前人不一致,或重复不出来前人的实验结果,可能是实验条件中的细节不一致。

## 5 教学效果

在微生物学实验“细菌鉴定中常用的生理生化反应”教学中引入“翻转课堂”的教学形式,是在前期“项目式”教学内容改革基础之上的又一次探索与改革。目的是活跃课堂气氛、训练学生的科研思维,使学生在学习基本实验技术的验证性实验操作中训练发现实验现象的细节问题、分析问题、解释和解决科学问题的科研能力。

我们在实施“翻转课堂”教学形式后发现,该方法能极大地活跃课堂气氛,增加学生间的互动,学生从被动接收知识转变为主动查阅资料获取知识,加深了他们对于实验原理的理解。同时,学生的科研思维得到了有效训练,实验

前对实验结果的预期,实验处理时对现象的观察,实验现象与预期结果不同的原因分析,以及实验现象细节的捕捉与现象背后可能的原因的推测,都得到了初步训练,为以后的创新性科研奠定了良好的科研基础。在课后28名学生对教学的评价中,有26人非常同意、2人同意“该教师教学富于启发性,能促进学生主动参与和思考,课堂互动效果好”。因此,今后的教学过程中可以尝试在其他合适的实验内容中进一步引入“翻转课堂”的教学形式。

## 6 结语

在前期实验课程中已经掌握微生物的基本实验技术的基础上,微生物学实验课程将最后一个实验“细菌鉴定中常用的生理生化实验”设计成翻转课堂形式,使学生成为“传递”知识的主体,极大地提高了学生预习实验及查阅资料的主动性。课堂上学生对预期实验结果及理论依据的不同意见的表达,增强了学生们对科学知识的讨论,活跃了课堂气氛。同时,对实验结果的细致观察与实验现象的深入分析,训练了学生们注重实验细节、严谨实验结论的科研思维。

课程是人才培养的核心要素,课程建设过程中要遵循“两性一度”的标准<sup>[5]</sup>。“两性一度”即高阶性、创新性、挑战度,而“高阶性”就是知识、能力、素质的有机融合,是要培养学生解决复杂问题的综合能力和高级思维,“创新性”则包括教学形式呈现的互动性。微生物学实验中引入“翻转课堂”的呈现形式,有效地提高了课堂上师生之间、生生之间的互动;学生主导整个实验过程,在教师的引导下训练了发现实验现象中细微问题、合理分析现象背后的原因、有效解决问题的综合能力和科研思维。因此,“翻转课堂”的引入有效提高了微生物实验教学中的“两性一度”。

## REFERENCES

- [1] 严冰, 牛淑敏, 魏东盛, 李国强, 李明春, 刘方. “微生物学”国家精品课程基础实验教学体系的构建与实践[J]. 微生物学通报, 2009, 36(12): 1909-1911.  
YAN B, NIU SM, WEI DS, LI GQ, LI MC, LIU F. Construction and practice of basic experimental teaching system of national excellent course Microbiology[J]. Microbiology China, 2009, 36(12): 1909-1911 (in Chinese).
- [2] 陈向东. 新型冠状病毒肺炎疫情对高校微生物学教学带来的挑战与发展机遇[J]. 微生物学通报, 2020, 47(4): 1001-1003.  
CHEN XD. The challenge and development opportunity brought by coronavirus (COVID-19) outbreak to Microbiology teaching in universities: the Special Issue for Education[J]. Microbiology China, 2020, 47(4): 1001-1003 (in Chinese).
- [3] 魏东盛, 牛淑敏, 陈容容, 靳永新, 潘皎, 李明春, 刘方. 基于应用的基础微生物学实验教学模式的设计与探索[J]. 微生物学通报, 2016, 43(4): 873-876.  
WEI DS, NIU SM, CHEN RR, JIN YX, PAN J, LI MC, LIU F. Design and exploration of experimental teaching mode of basic Microbiology based on application[J]. Microbiology China, 2016, 43(4): 873-876 (in Chinese).
- [4] 杨文博. 微生物学实验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.  
YANG WB. Microbiological Experiment[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004 (in Chinese).
- [5] 中华人民共和国教育部. 教育部关于一流本科课程建设的实施意见[Z]. 教高[2019] 8号.  
Ministry of Education of the People's Republic of China. Implementation opinions of the Ministry of Education on the construction of first class undergraduate courses[Z]. [2019]8 (in Chinese).