

基于线上线下混合式教学模式在高效液相色谱实验教学中的探索与实践

谢一凡^{1,2}, 姚莉韵^{1,2,*}, 杨若林², 蔡玉兴¹, 金玉杰¹, 李宁¹

¹上海交通大学医学院, 基础医学实验教学中心, 上海 200025

²上海交通大学医学院, 药物化学与生物信息学中心, 上海 200025

摘要: 高效液相色谱(HPLC)被广泛应用于生命科学研究、临床医学检验、药物研发、司法鉴定等领域。提升 HPLC 仪器操作的教学效果, 对培养高素质、高技能的医学技术人才尤为重要。由于学生人数多、仪器少、不能重复操作等局限, 导致学习效果受到影响。因此利用超星学习通、虚拟仿真实验等教学平台, 将线上线下混合式教学融入其中, 优化课前、课中、课后教学内容。通过任务驱动、线上自主学习、线下小组实操练习、课后总结和拓展知识, 全面激发学生的积极性和主动性。实践结果表明, 该教学模式能提升教学效果, 受到学生欢迎。

关键词: 高效液相色谱; 线上线下混合式教学; 超星学习通; 虚拟仿真实验; 任务驱动

中图分类号: G64; O6

Exploration and Practice of Online and Offline Hybrid Teaching Mode in High-Performance Liquid Chromatography Experiment

Yifan Xie^{1,2}, Liyun Yao^{1,2,*}, Ruolin Yang², Yuxing Cai¹, Yujie Jin¹, Ning Li¹

¹ Basic Medical Experimental Teaching Center, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China.

² Medical Chemistry and Bioinformatics Center, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China.

Abstract: High-performance liquid chromatography (HPLC) is extensively utilized across various domains including life science research, clinical medical testing, drug development, and forensic identification. Improving the instructional effectiveness of HPLC instrument operation is crucial for nurturing highly competent and skilled medical technology professionals. However, challenges such as a high student-to-instrument ratio, limited availability of equipment, and the inability to conduct repeated operations have adversely impacted learning outcomes. To address these issues, this study integrates a blended online and offline teaching approach into the HPLC experimental curriculum by leveraging platforms such as Chaoxing Learning and virtual simulation experiments. This method optimizes teaching content across pre-class, in-class, and post-class phases. By employing task-driven strategies, facilitating online self-learning, conducting offline group practical exercises, and encouraging post-class summaries and knowledge expansion, the approach aims to comprehensively enhance student engagement and initiative. Empirical results demonstrate that this teaching model significantly improves instructional effectiveness and is favorably received by students.

Key Words: High-performance liquid chromatography; Online and offline hybrid teaching; Chaoxing learning platform; Virtual simulation experiment; Task-driven approach

色谱分析包括高效液相色谱、气相色谱、超临界色谱、毛细管电泳等, 尤其是高效液相色谱(high

收稿: 2024-12-30; 录用: 2025-02-14; 网络发表: 2025-06-03

*通讯作者, Email: yaoliyun517@163.com

基金资助: 上海交通大学医学院课程建设基金项目(BJ13000180095)

performance liquid chromatography, HPLC)被广泛应用于生命科学、医学检验、药物研究等领域,因此临床检验和预防医学专业开设的高效液相色谱实验,对于帮助学生提升未来的职业技能显得尤为重要^[1,2]。但由于HPLC作为大型贵重仪器,存在数量稀少、仪器操作与保养要求高、专业技术人员缺乏等局限性,直接影响实验教学的课堂效果。随着互联网、计算机技术在教育领域的广泛渗透,结合现代信息技术,开展线上线下混合式教学,一定程度上就能突破和解决此难题^[3-5]。利用线上平台的微视频和虚拟仿真实验,满足不同基础、不同层次学生的学习要求;再通过线下课堂教学进行实践训练,虚拟课堂和实体课堂有机融合,能有效提高学生学习主动性和学习效率^[6,7]。“分析化学和仪器分析”理论课在讲解“高效液相色谱”章节时,应用型的内容涉及较少,通过实验课程的教学,可进一步强化学生仪器操作技术的理论知识,进而提升大型仪器的操作技能。

1 线上教学——任务驱动、自主学习

高效液相色谱实验线上教学内容由PPT课件、高效液相原理及应用操作微视频、虚拟实验操作及液相-质谱联用拓展性微视频四部分组成(图1)。学生可通过学号登录“上海交通大学医学院网络教学平台”或超星“学习通”课程网站学习。

课程介绍	教学安排	教学资源
课程简介 师资队伍 教学大纲	教学任务 教学值班 教学日历	实验指导 实验教案 实验课件 实验习题
网上课堂	学习资源	全英语、全法语教学
虚拟实验 课程录像 操作视频 微课、微精品课程	网络资源 参考书目 英语词汇 拓展阅读	英语教学 法语教学
课程建设	习题考试	互动栏目
教学课题 教学论文 教材建设 教学获奖	在线考试 模拟试题 预习思考题	网络答疑

图1 课程网站的部分截图

1.1 PPT课件

PPT课件针对理论课上不涉及的实用型知识进行图文并茂的补充展示。峰形不对称原因(峰形前伸和峰形拖尾),涉及色谱柱固定相结构及样品分子结构。以C18反相色谱柱为例,由于体积较大C18烷基与较小硅羟基键合时存在立体阻碍,部分未键合硅羟基在中性流动相中发生电离与离子化的样品发生静电,引起峰形不对称。峰形不对称对峰面积和分离度均有很大影响,从而影响分析结果的准确性。可采用体积较小的三甲基硅烷(TMS)与残留硅羟基作用进行封端(图2)。

当用强极性溶剂(甲醇)溶解样品,洗脱时少量样品会提前进入填料随溶剂流出,导致色谱图中样品出峰位置的偏移,产生前伸峰(样品浓度和进样体积大时更易发生)。因此,设置实验条件尽量用流动相溶解样品及合适的样品浓度。峰形拖尾主要与样品性质有关,通常药物样品含有极性基团

($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ 等), 而硅羟基有弱酸性($\text{p}K_{\text{a}}$ 4.5–4.7), 降低流动相 pH 值可抑制酸性样品离子化, 从而削弱静电作用减少拖尾; 色谱柱封端和降低流动相 pH 值可阻止未键合硅羟基与样品分子接触, 减少碱性样品拖尾。因此, 选用合适 pH 值的缓冲体系可控制样品及流动相的分子状态, 是色谱条件建立的一个重要部分。这些仪器操作实用知识的介绍, 有利于学生理解文献中色谱条件设定的含义, 并应用于未知样品的色谱条件建立, 提高在未来科研工作中的实战能力和综合素质。



图2 C18反相柱的封端原理

1.2 高效液相色谱(HPLC)原理及应用微视频

微视频包括HPLC的发展过程、仪器组成、各部件运行原理及维护, 医学检验和生命科学研究中的应用等(图3)。微视频由教师进行配音解说, 对于不易理解的内容, 学生可以反复观看直到完全掌握, 相比课堂教学可不受时间和空间限制。



图3 微视频的部分截图

视频重点解说工作原理中过于抽象的某些部件, 如色谱泵、进样系统(六通阀)。

介绍色谱泵时会特别讲解泵入口的单向阀, 它是保证流动相能够单向从低压进入高压区域(不会从高压往低压返流)的部件。通过打开或关闭单向阀, 实现液相流路的开启和闭合。如果流动相的微小杂质堵塞了阀门的密封件, 导致无法关闭而出现流动相返流, 只要将阀芯取下, 在甲醇中超声几分钟即可。如出现压力波动、流速不准、保留时间漂移等问题, 可更换阀芯解决。这些简单实用技术的介绍, 能提高学生解决问题的能力, 节省不必要的等待时间和维修开支。

采用动画方式展示被测样品如何通过六通阀在旁路和主路间切换后被送入高压封闭的液相系统，来解释进样系统(六通阀)的工作原理(图4)。取样时六通阀自动切换至旁路位置，六通阀的1和6二点连通，流动相直接从“点1进点6出”进入色谱柱，此时样品针可抽取样品。取样后样品针回到针座，六通阀自动切换至主流路位置，六通阀的1和2二点、5和6二点连通，流动相通过样品管将样品带入色谱柱进行分析。生动直观的表现形式，能帮助学生更好的理解和掌握原理。

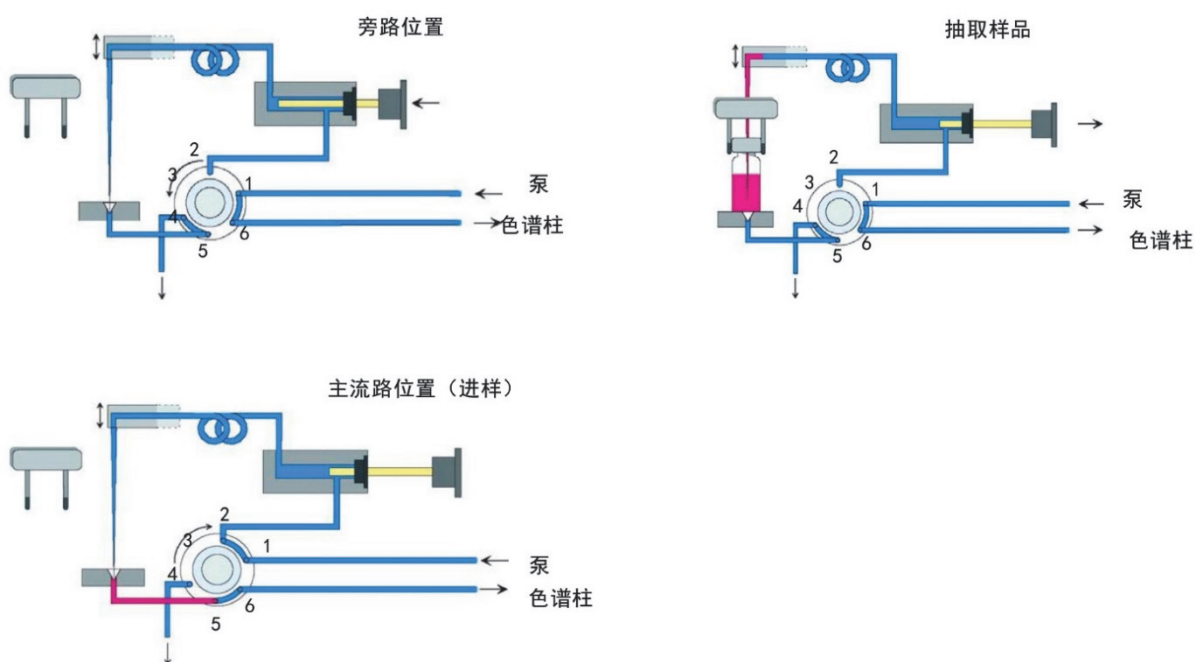


图4 六通阀进样原理图

1.3 液相-质谱联用(HPLC-MS)拓展性微视频

通过直观动画及配音解说，重点介绍HPLC-MS(单级串联)和HPLC-MS-MS(多级串联)的基本原理和应用(图5)。

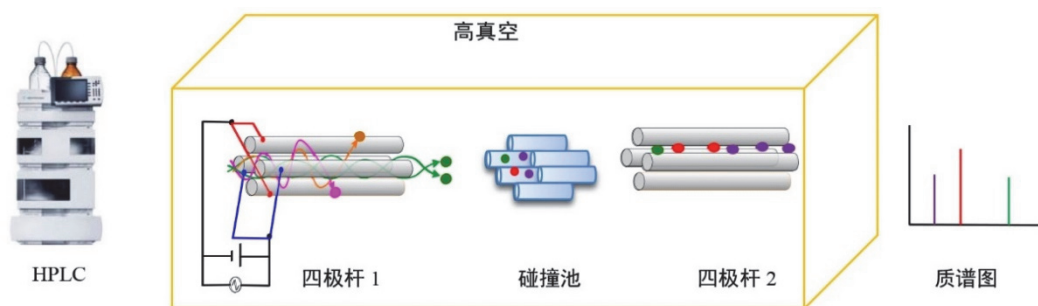


图5 串联四极杆(LC-MS-MS)流程图

HPLC-MS质谱部分由离子源(电喷雾电离ESI, 将被测物离子化为气态离子)、四极杆质量分析器(离子质量分析)、检测器及高真空系统等组成(图6)。利用HPLC的分离功能, 将各组分分离后在流动相中离子化(正或负离子), 经电喷雾气化成为气态离子进入质量分析器, 经工作站(软件)处理, 将信号转变为离子流色谱图(定量)及质谱图(定性)。四极杆质量分析器有全扫描(SCAN)和选择离子监测(SIM)两种模式。SCAN采集一定质量范围内每个离子, 可判别化合物分子量和纯度。SIM只选择某

个定量离子通过四极杆质量分析器，采集离子的灵敏度和选择性大大高于SCAN，可用于定量分析。

HPLC-MS-MS可选择特定质量的离子通过一级质量分析器(SIM模式)，该离子进入碰撞池与高纯氮气碰撞产生碎片离子，进入二级质谱分析器进行全扫描(SCAN)，碎片峰进行多级分析可获得更加详细的结构信息，灵敏度高、适合生物样品分析(生物样品处于复杂的混合状态)，因此HPLC-MS-MS对于生命科学、基础医学、医学检验、药学研究等有极大的技术支撑作用。通过线上拓展学习，让学生感受到分析化学这门基础学科对于生命科学前沿研究的重要性。拓展性知识的介绍对于有兴趣、有特长的同学意义重大，可进一步提升其专业技能。

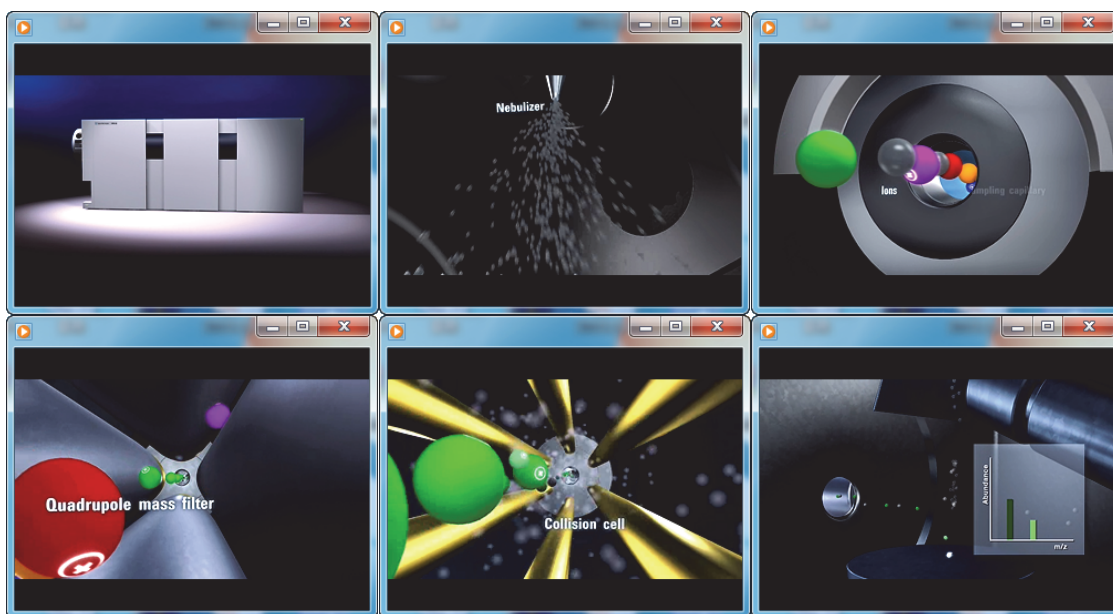


图6 HPLC-MS-MS部分视频截图

1.4 虚拟仿真实验

虚拟仿真实验包括：样品制备、开机、管路气泡排除、测试方法建立(仪器参数设置)、样品测试、数据报告处理、色谱柱及仪器清洗、关机(图7)。学生可通过语音提示进行操作，每步操作都有提问，回答正确会跳出一个卡通头像并继续下一步；回答错误，则可选择提示或忽略，但统计得分上有差异。同学可反复操作直到掌握相应知识，并以最高得分记录成绩。

课前1周教师在超星学习通平台发布本次实验的教学要求和目标，要求学生先查阅文献完成实验预习报告(实验目的，原理、步骤、注意事项，讨论等)。布置相应预习思考题，包括基础性问题：高效液相色谱有哪几部分组成，各起何作用？提高性问题：紫外检测器、荧光检测器、二极管阵列检测器及电化学检测器的基本原理，各自的特异性，应用范围及特点？拓展性问题：为何质谱技术能作为精准医疗的手段之一？学生带着问题去观看线上教学的内容，完成预习任务并给出答案。教师可通过学生答案的正确率来判断学生的预习情况。

实验教学的目标不仅在于训练学生能熟练操作仪器，更重要的是培养具有独立思考、解决问题能力的高素质人才。通过设置系列问题，如“拖尾峰的形成和如何解决”？涉及样品结构的判定，色谱柱的选择(封端和不封端色谱柱)，流动相的pH值等多个因素，将有机化合物的酸性和碱性、无机化学中缓冲溶液的配制与液相色谱柱的填料技术关联起来，这些知识点的关联学习有利于学生综合能力的提高。



图7 虚拟仿真实验的部分截图

2 线下教学——巧妙设计、环环相扣

课堂实验教学包含三个内容，实验1“高效液相串联紫外和荧光检测器测定药片中维生素B₂含量”；实验2“高效液相色谱法同时测定复方阿司匹林中乙酰水杨酸和咖啡因含量”；实验3“超高效合相色谱法测定饮料中咖啡因含量”，学生分三组各完成一个实验，实验过程中学生能接触不同公司、不同版本的操作软件。由于课前学生已完成线上内容学习，对于仪器部件的原理和操作成竹在胸，因此均能完成相关仪器操作，达到了实验课程的培养目标。

实验1中可从串联检测器色谱图上看到荧光检测器(FLD)的灵敏度高于紫外检测器(UVD)，进而理解FLD基本原理、激发波长和发射波长设置、荧光化合物结构特征等；实验2中使用二极管阵列检测器(DAD)让学生理解紫外光谱图的提取可用于定性分析、色谱峰纯度计算及3D图分析等；实验3中同学能了解此色谱法中超临界流体的特性、超临界CO₂为流动相所具有的绿色、环保优势。整个教学过程中，教师与学生保持良好互动，及时答疑解惑。课堂上增加老师对报废仪器中内部部件的拆解和展示环节，如光源、各类检测池等(图8)，使学生能够更加直观地理解仪器的原理和构造，提高学生的积极性及实践能力。

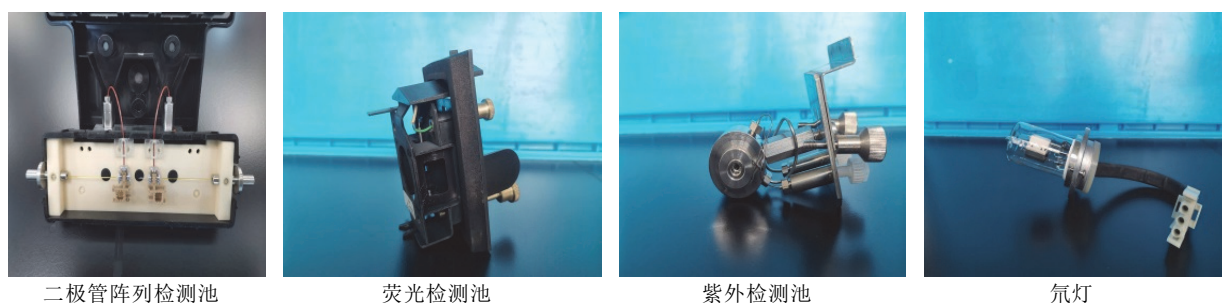


图8 部分仪器部件

3 课后总结——延伸课堂，拓展知识

实验完成后，要求每组同学讨论后汇总所用色谱法测定的优缺点、3种检测器UVD、FLD及DAD的特性等，通过组间交流，可提高学生的团队协作能力和语言表达能力。尽管三个实验中使用了不同公司的色谱仪，配备三种版本操作软件，小组交流后学生可发现不同液相色谱仪操作流程是一致的：① 流动相配比、样品注射量、色谱柱温度及检测波长设置的优化；② 运行获得数据；③ 处理数据得到分析结果。课堂教学中采用比较学习法，有助于帮助学生理解和掌握不同色谱仪的性能，进而培养学生的专业技能，并提高同学分析问题和综合性思维的能力。

为拓展学生仪器分析化学知识，夯实理论基础和实验操作技能，在线上平台建立实验题库，内容涉及液相色谱基本原理、仪器应用、技能操作、数据处理等，设有单选题、多选题、判断题、是非题、填空题、问答题等形式。考虑到学生课业繁重，允许学生自行选择是否参与答题(题目与答案同时发布)，这样既不占用学生过多时间，又提高了学生的学习兴趣，帮助学生对所学知识进行总结和回顾。

4 教学效果评价

教学反馈是教学中不可或缺的要素，也是提高教学质量、保证教学良性循环必不可少的措施^[8]。课后以问卷形式调查了学生学习效果、学习收获和对线上线下混合教学模式的态度等，调查对象为参与实验的2022级、2023级学生(检验专业和预防专业)共180人。问卷内容包括：① 线上内容是否有利于理解仪器工作原理和构造？② 线下内容是否有利于提高动手能力？③ 课堂互动是否有利于增加学习兴趣？④ 课后延伸内容是否有利于提高综合实践能力？调查结果显示，学生参与率为100%，对各项内容赞同和非常赞同在92%–98%之间，不赞同为零(图9)。并提出了一些建议，例如，增加更多的色谱技术在生命科学和医学中应用的案例，色谱技术的最新发展状况等。

通过线上线下结合的教学模式，多数学生的学习热情得到提高。课前预习问题让学生学习更有针对性，提升了学习效果；线上微视频和虚拟操作的学习，有助于学生掌握HPLC原理及理论课中知识难点；课堂实验中，对仪器操作也更自信、更大胆、更熟练；课后小组讨论和汇报，不仅可以锻炼学生口才和逻辑思维能力，更能提高学生思考问题、解决问题的能力^[9]。以下为部分学生的实验感想：“通过本实验，增加了面对大型仪器的自信感，拓展了知识视野。通过接触大型精密贵重仪器，感受到胆大、细心、兴趣、认真的态度及充分的预习是实验教学的关键。”

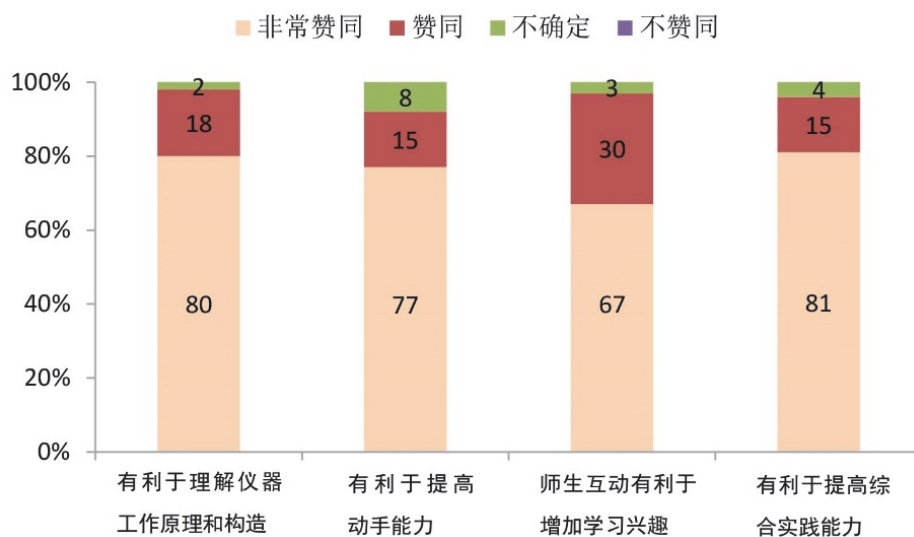


图9 问卷调查结果

5 结语

大型精密仪器由于受空间、时间和经费影响, 很难实现大规模的教学实践, 而熟练掌握仪器操作又需要反复训练, 因此利用信息技术提供丰富的教学资源 and 互动平台, 引入线上视频微实验和虚拟仿真实验的学习, 学生可不受时间、空间限制反复操作练习, 有助于学生更好地掌握仪器操作原理及提升操作技能^[10]。将线上线下混合教学模式应用于HPLC实验中, 可以达到理想的教学效果。

线上线下混合教学的应用, 教师需要收集大量课程素材、制作微视频及配音, 开发和设计相关实验, 进行预做实验并录屏编辑, 制作虚拟实验和微视频实验操作, 这也是教师自我成长提高的过程^[11]。随着信息技术的渗透, 线上线下混合式教学应用于仪器实验教学中必将成为趋势, 也是顺应时代发展的产物^[12]。

参 考 文 献

- [1] 谢一凡, 刘慧中, 杨若林, 蔡玉兴, 金玉杰, 李宁. 化学教育, **2017**, 38 (2), 52.
- [2] 张秀真, 沈玉华, 谢安建. 实验室研究与探索, **2012**, 31 (11), 108.
- [3] 王莹, 丁越, 兰金帅, 李婷, 王强利. 药学教育, **2023**, 39 (1), 59.
- [4] 汤海峰, 刘艳, 闫国栋, 藤利荣. 实验技术与管理, **2020**, 37 (11), 174.
- [5] 张晓凤, 陈燕, 林舟. 化学教育, **2015**, 36 (18), 26.
- [6] 耿萍, 张帆. 大学化学, **2020**, 35 (1), 12.
- [7] 马荔, 张卫, 韩莉, 陈虹锦. 大学化学, **2018**, 33 (3), 78.
- [8] 杨孝军, 朱华, 胡燕, 郑飞云. 中国高等医学教育, **2012**, No 10, 2.
- [9] 谈春霞, 张义福, 戴红霞, 施晓宁, 许丽丽. 大学化学, **2023**, 38 (3), 197.
- [10] 叶红, 何苏萍, 陈云, 俞松林. 化学教育(中英文), **2018**, 39 (22), 37.
- [11] 邵伟, 张万群, 胡万群, 李维维, 盛翔, 柯玉萍, 杨凯平, 孙晴, 朱平平. 大学化学, **2021**, 36 (7), 2012012.
- [12] 喻芳, 姚家灿, 魏钰卜, 章小丽. 云南化工, **2023**, 50 (2), 214.