

● 面向 21 世纪课程教材配套实验教程 ●

兽医药理学

实验教程

▶ 孙志良 罗永煌 主编



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

图书在版编目(CIP)数据

兽医药理学实验教程/孙志良,罗永煌主编. —北京:中国农业大学出版社,2006.2
ISBN 7-81066-984-2

I. 兽… II. ①孙…②罗… III. 兽医学:药理学-实验-高等学校-教材 IV. S859.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 141918 号

书 名 兽医药理学实验教程
作 者 孙志良 罗永煌 主编

策划编辑 潘晓丽

责任编辑 韩元凤

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤 陈 莹

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100094

电 话 发行部 010-62731190,2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

E-mail caup@public.bta.net.cn

经 销 新华书店

印 刷 北京时代华都印刷有限公司

版 次 2006 年 2 月第 1 版 2006 年 2 月第 1 次印刷

规 格 787×1 092 16 开本 6 印张 151 千字

印 数 1~3 050

定 价 9.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

主 编 孙志良 罗永煌

副主编 李英伦 宁康健

编写人员 (以姓氏笔画为序)

宁康健(安徽科技学院)

孙志良(湖南农业大学)

李英伦(四川农业大学)

李 琳(安徽农业大学)

罗永煌(西南大学)

陈小军(湖南农业大学)

易金娥(湖南农业大学)

赵红梅(长江大学)

前 言

到目前为止,尚没有一本全国统编的药理学实验教程,为了填补该空白,中国农业大学出版社组织编写了本书。本书是首次统编的全国高等农业院校《兽医药理学实验教程》,在内容和编排上,力求紧密结合相应的理论部分,使学生在掌握基本技能的同时,加深对理论知识的理解,并获得严谨的科学实验素养和扎实的实验技能,不仅培养学生综合运用药理学及相关科学知识的能力,而且使学生能够掌握应用现代实验手段研究药理学的科学方法。许多院校自编的实验教程时间较早,而近年来,药理学实验的方法和仪器都有了很大的发展,所以本教程在结合了各兄弟院校的实验内容后,增加了一些常用的新仪器的使用原理和应用知识。本书分三章,内容包括兽医药理学实验的目的、要求、基本知识和技术;兽医药理学总论实验;兽医药理学各论实验。其实验内容分为三个层次,即验证性实验、综合性实验、设计及创新性实验,力争做到实验内容的循序渐进及有机结合。

本实验教程内容比教学大纲规定的稍多一些,其中一部分内容可作为参考而不列入课堂实验范围之内。本书共编写了 39 个实验,各兄弟院校可根据自己的情况加以选择。

本实验教程除用作高等农业院校的动物药学、动物医学、畜牧兽医专业本科的实验教材外,也可供药理研究生、进修生、畜牧研究人员、医学教学、科研人员以及兽医临床工作者使用。

本书编写组成员及所编写内容如下(以姓氏笔画为序):宁康健(安徽科技学院,第三章第二节),孙志良、易金娥(湖南农业大学,第三章第八节、第九节),李英伦(四川农业大学,第一章、第三章第一节),李琳(安徽农业大学,第三章第三节、第七节),罗永煌(西南大学,第二章),陈小军(湖南农业大学,第三章第五节、第六节),赵红梅(长江大学,第三章第四节)。

由于编者水平有限,加上时间仓促,本书缺点错误一定还有不少,恳请读者批评、指正。

编写组

2005 年 8 月

目 录

第一章 兽医药理学实验的目的、要求、基本知识和技术	(1)
第一节 兽医药理学实验的目的与要求	(1)
第二节 实验动物的种类、捉拿、给药途径与方法	(1)
第三节 实验动物的采血与处死方法	(6)
第四节 兽医药理学常用仪器介绍	(7)
第五节 实验设计、实验报告及实验论文的撰写	(17)
第二章 兽医药理学总论实验	(21)
实验一 常用药物制剂的调制与兽用处方的书写	(21)
实验二 药物的配伍禁忌	(26)
实验三 药物的局部作用与吸收作用	(28)
实验四 不同剂量与剂型对药物作用的影响	(29)
实验五 不同给药途径对药物作用的影响	(30)
实验六 肝与肾损伤对药物作用的影响(选做)	(32)
实验七 苯巴比妥对大鼠肝脏微粒体细胞色素 P-450 含量的影响(选做)	(34)
实验八 药动学参数的测定	(36)
实验九 药物的 LD_{50} 的测定(选做)	(38)
第三章 兽医药理学各论实验	(42)
第一节 神经系统药物实验	(42)
实验十 毛果芸香碱与阿托品的作用	(42)
实验十一 局部麻醉药表面麻醉作用的比较(选做)	(43)
实验十二 局部麻醉药的传导麻醉作用	(44)
实验十三 巴比妥类药物的催眠作用/抗惊厥作用(选做)	(46)
实验十四 肾上腺素对普鲁卡因局部麻醉作用的影响(选做)	(47)
实验十五 镇痛药的镇痛作用观察	(48)
实验十六 氯丙嗪的降温作用和解热镇痛药对发热家兔体温的影响	(50)
实验十七 钙、镁离子拮抗作用观察(选做)	(51)
实验十八 尼可刹米的呼吸兴奋作用	(52)

第二节 血液循环系统药物实验	(54)
实验十九 离体蛙心灌流及药物的影响(斯氏法)	(54)
实验二十 利多卡因的抗心律失常作用	(55)
实验二十一 止血药及抗凝血药的作用观察(选做)	(57)
第三节 消化系统药物实验	(62)
实验二十二 药物对在体胃肠道蠕动的影晌(必做)	(62)
实验二十三 药物对离体肠运动的影响(选做)	(63)
实验二十四 硫酸镁的导泻作用	(65)
第四节 呼吸系统药物实验	(66)
实验二十五 药物的祛痰作用	(66)
实验二十六 可待因的镇咳作用	(68)
实验二十七 氨茶碱对豚鼠组胺引喘的平喘作用	(69)
第五节 泌尿系统药物实验	(70)
实验二十八 药物对家兔的利尿作用的影响	(70)
第六节 生殖系统药物实验	(72)
实验二十九 子宫收缩药对离体子宫的影响	(72)
第七节 皮质激素类药物实验	(73)
实验三十 氢化可的松或地塞米松对急性炎症的影响	(73)
实验三十一 糖皮质激素稳定红细胞膜的作用(选做)	(74)
实验三十二 糖皮质激素对白细胞吞噬功能的影响(选做)	(76)
第八节 抗微生物药物实验	(77)
实验三十三 纸片法、杯碟法对抗菌药物的抗菌作用比较	(77)
实验三十四 硫酸链霉素的急性中毒及解救	(79)
实验三十五 氧氟沙星对小鼠体内感染的保护性实验	(80)
实验三十六 抗菌药物最小抑菌浓度(MIC)的测定(试管二倍稀释法)	(83)
第九节 特效解毒药实验	(84)
实验三十七 有机磷酸酯类的中毒与解救	(84)
实验三十八 亚硝酸盐的中毒与解救	(86)
实验三十九 氟乙酰胺的急性中毒与解救	(87)
参考文献	(89)

第一章 兽医药理学实验的目的、要求、基本知识和技术

第一节 兽医药理学实验的目的与要求

一、兽医药理学实验的目的

兽医药理学(veterinary pharmacology)是一门为兽医临床合理用药、防治动物疾病提供基本理论的兽医基础学科,是一门理论性和实验性很强的科学。最早的药理学知识是来源于药物对生命现象的客观观察和科学试验。兽医药理学实验课的目的,在于培养学生具有科学的思维方法和严谨的工作态度。在实验过程中使学生初步掌握兽医药理学实验的基本操作技术,获得兽医药理学知识的科学方法,验证和巩固兽医药理学的基本理论。通过实验逐步培养学生具有客观地对生命现象进行观察、比较和综合分析的能力,以及创新思维和创新能力。

二、兽医药理学实验的要求

兽医药理学实验对象均为活体,既有整体动物也有离体器官或组织,实验结果的影响因素多。为了达到兽医药理学的实验目的,学生必须遵从本门课的六字要求,即“预习”、“规范”和“整理”。

1. 预习 实验前,仔细阅读实验教程和相关参考书,熟悉实验目的、要求、步骤和操作流程,充分理解实验设计原理,结合实验内容复习有关理论知识。

2. 规范 实验过程中,应养成科学的实验态度、严谨的工作作风。实验当中,均应严格按照操作规程进行,一切做到规范;不仅做到操作有条不紊进行,而且要保持实验室安静,避免影响别人做实验。

3. 整理 实验结束以后,还应该做到三整理:一是实验用具整理,将所用的器械冲洗干净并擦干后,交还实验准备室;二是仔细整理实验室,将所用的动物尸体、标本、纸片和废弃物等放到指定地点,剩余药品交还实验准备室;三是认真整理实验结果,对实验过程、实验结果进行仔细分析并撰写实验报告。

第二节 实验动物的种类、捉拿、给药途径与方法

一、兽医药理学实验中实验动物的选择

实验目的不同,实验动物的选择亦不相同。实验动物的种属、品系和个体适合与否,往

往是实验研究成败的关键。一般说来,用于实验研究的动物应具备个体间的均匀性、某些遗传性能的稳定性和来源较为充足这三个基本要求。

(一)常用的实验动物及其特点

1. 青蛙和蟾蜍 为两栖动物,耐受性好。如离体心脏能较持久地规律性跳动,可用于观察药物对心脏的影响。所制备的坐骨神经和/或腓肠肌标本用于观察药物对神经干动作电位、兴奋-收缩耦联及骨骼肌的收缩作用的影响。

2. 小鼠 温顺、繁殖率高,适用于动物需要量大的实验,是药理实验中应用较广的动物。常用于药物筛选性实验、药物的急性或亚急性毒作用研究等。

3. 大鼠 具有繁殖快、心血管反应敏感等特点。用于多种实验模型,如水肿、休克、炎症、心功能不全;经肺灌洗或腹腔灌洗得到的组织细胞可进行多种实验:如观察药物的急性或亚急性作用研究等。但对有关呕吐的实验研究及心电学实验则不适用。

4. 豚鼠 易被组织胺等物质致敏,常用于哮喘模型以及抗过敏药物的研究。豚鼠对结核菌敏感,也用于抗结核菌药的研究。此外,离体豚鼠乳头肌、子宫及肠管亦常用于实验。

5. 家兔 是药理实验中应用最多的动物,常用于循环、呼吸、泌尿和消化实验,并可复制水肿、炎症、休克等多种疾病模型。因家兔对温度变化敏感,也可用于致热源的研究。

(二)实验动物的品系

1. 按动物的遗传学特征分类

(1)近交系:俗称纯种,是指采用 20 代以上的全同胞兄弟姐妹或近亲(子女与年轻的父母)进行交配后,培养出的遗传基因纯化品系。如近交系的小鼠已有 200 多个品系。

(2)突变品系:由育种过程中单个基因的变异或将某个基因人为导入或通过多次回交“留种”而建立的品系。已培育成的自然具有某一疾病的突变品系有贫血鼠、肿瘤鼠等。

(3)杂交一代:也称为系统杂交性动物,是指将两个近交系杂交产生的子一代。特点是具有近交系动物的性状和杂交优势。

(4)封闭群:在同一血缘品系内不以近交方式而是随机交配繁衍的动物,如新西兰兔。

(5)非纯系:指一般任意交配繁衍的杂种动物,因饲养成本较低,常用于教学实验。

2. 按微生物学特征分类

(1)无菌动物:指动物体内、外均无任何寄生虫和微生物的动物。这类动物是在无菌条件下剖腹取出后在包括空气、食物、饮水等完全无菌的环境中生活。

(2)指定菌(已知菌)动物:即人为给予无菌动物一种或数种细菌,从而使动物带有特定的细菌。

(3)无特殊病原体动物(SPA):指不带某已知病原微生物的动物。

(4)带菌动物:一般自然环境下饲养的普通动物,体内、外带有多种微生物,甚至是病原微生物。但其价格便宜,常用于普通药理学实验。

(三)动物的选择与准备

1. 健康状况 正确地选用动物,是获得理想实验结果的条件之一。根据实验要求,除应考虑到获得动物的难易、是否经济外,首先动物必须健康。动物健康的判断标准是:动物喜食好动,四肢强壮有力,双目明亮有神,反应灵敏,皮毛柔软有光泽,无脱毛、蓬乱现象。眼无分泌物或痂样积垢,肛门干净,体温正常。

2. 年龄 动物年龄对实验结果有影响,急性实验一般选用成年动物,因其机能活动和生理反应已达到正常水平,手术耐受性好;若进行慢性实验,还有术后恢复快的优点。而幼龄及老年动物则只用于某些特殊实验。

3. 种属选择 具体根据实验内容而定,原则是动物的解剖、生理特点应尽量符合实验要求。例如家兔颈部的迷走神经、交感神经和主动脉神经(又名减压神经)各自成束,适宜于观察动脉血压的神经、体液调节和减压神经放电;而豚鼠中耳和内耳的解剖结构特殊,有利于观察微音器效应和迷路机能实验。

4. 性别 根据阴囊内有睾丸下垂(环境温度高时更明显),尿道与肛门距离较远,按压生殖器官部位有阴茎露出以及腹部无乳头为雄性;反之,则为雌性。

5. 动物实验前准备 一般在进行动物实验前 12 h 停止喂食,但仍需喂水。若进行慢性实验,还需对动物进行适当的训练,以了解该动物是否适合本实验并使其熟悉环境与实验者。手术前一天要给动物做清洁处理,必要时洗澡,以利消毒,术后要加强喂养与护理。

二、动物实验的一般操作方法

(一)动物的编号、捉拿和固定

1. 动物的编号 犬、兔等动物可用特制的号码牌固定于耳。白色家兔和小动物可用 3%~5% 的黄色苦味酸溶液涂于毛上标号。如编号 1~10 号时,将小白鼠背部分前肢、腰部、后肢的左、中、右部共 9 个区域,从右到左 1~9 号,第 10 号不涂黄色(图 1-1)。如加上其他颜色的染料还可进行 1~100 号和 1~1 000 号等更多编号。

2. 动物的捉拿和固定

(1)小鼠:右手抓住其尾,放在实验台上或鼠笼铁纱网上,在其向前爬时,左手拇指及食指沿其背抓住两耳及头颈部皮肤,并以左手的小指和掌部夹住鼠尾固定。另一抓法是只用一只手,用食指和拇指抓住鼠尾后再用小指和掌部夹住鼠尾,以拇指及食指捏住其颈部皮肤。前一种方法易学,后一种方法便于快速捉拿(图 1-2 和图 1-3)。

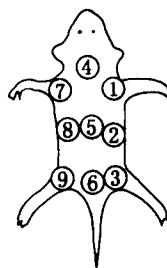


图 1-1 小白鼠背部编号

(引自:医学机能学实验教程,白波,2004)

(2)大鼠:以右手或持夹子夹住尾巴,左手戴上防护手套固定头部(防止被咬),应避免用力过大造成大鼠窒息死亡。根据实验需要麻醉或固定大鼠于鼠笼内或用绳绑其四肢固定于大鼠手术板上。

(3)豚鼠:以右手抓住豚鼠头颈部,以拇指和中指从豚鼠背部绕到腋下抓住豚鼠,轻轻扣住颈胸部,左手抓住两后肢(对体重较大的豚鼠则可托起其臀部),使腹部向上。

(4)兔:用手抓起兔脊背近后颈部皮肤,手抓面积应尽量大些,以另一手托起兔的臀部。将兔仰卧固定时,一手抓住颈部皮肤,另一只手顺着腹部抚摸至膝关节处压住关节。另一人将绳子用活结捆绑兔的四肢,使兔腹部向上固定在兔手术台上。头部则用兔头固定夹固定,也可用棉线将兔的门牙固定于兔手术台上的柱子上,后者更常用(图 1-4)。

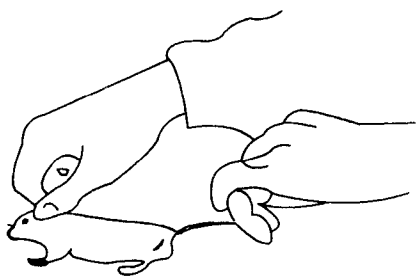


图 1-2 小白鼠双手捉持法

(引自:医学机能学实验教程·白波,2004)

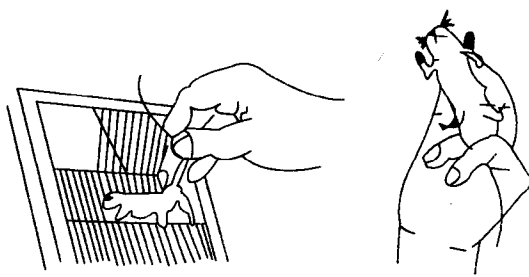


图 1-3 小白鼠单手捉持法

(引自:医学机能学实验教程·白波,2004)

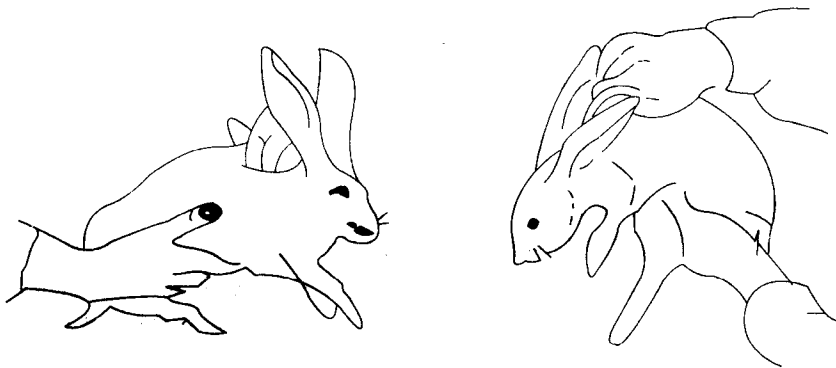


图 1-4 家兔捉持法

(引自:医学机能学实验教程·白波,2004)

(二) 实验动物的去毛

动物去毛是手术野的皮肤准备之一。原则是去毛范围应大于手术野,不破坏皮肤的完整性。具体方法有以下几种。

1. 剪毛法 常用于兔和犬去毛。操作时用剪刀紧贴皮肤依次剪毛,切忌提起皮肤,否则将剪破皮肤。剪下的毛应放入盛有少量水的杯中,并可用湿纱布擦去已剪断的毛。

2. 拔毛法 一般用于兔和犬的静脉输液部位。拔毛除使视野清晰外,还能刺激局部血管扩张。

3. 剃毛法 进行动物的慢性实验时用。

4. 脱毛法 用于动物的无菌手术,一般先将手术野的毛剪短,用脱毛液在局部涂一层(注意手不要直接接触脱毛液),待 2~3 min 后用清水洗去脱落的毛,再用纱布擦干后涂一层凡士林。在此介绍两种脱毛液配方。配方 1: 硫化钠 3 份,肥皂粉 1 份,淀粉 7 份,加水调成糊状。配方 2: 8% 的硫化钠水溶液。

(三) 给药途径和方法

1. 经口给药 适用于大鼠、小鼠、犬和兔等动物。包括强制灌胃给药和自动口服给药两种。自动口服给药是指将药物拌入饲料或饮水中由动物自动摄入,缺点是剂量难以掌握。而强制灌胃给药因能做到剂量准确被更多采用。

(1) 小鼠灌胃法:左手用力适中仰持小鼠,使其头颈部充分伸直,右手将连有小鼠灌胃管

的注射器小心自口角插入口腔,用灌胃管压住上腭,使口腔与食道成一条直线,从舌面部紧沿上腭进入食道,注入药物,插管深度约 3 cm。操作时应避免将灌胃管插入气管。灌注量: 0.1~0.3 mL/10g 体重。

(2)大鼠灌胃法:左手戴防护手套抓住大鼠头颈部,或同时按压在实验台上固定,右手将连有注射器的塑料导管或经磨平过的针头从鼠的口角处插入口腔,然后再进入食道,插管深度约 5 cm,应避免将导管或针头插入气管,灌药量为 1~2 mL/100 g 体重。

(3)兔灌胃法:利用兔固定箱一手将含嘴(张口器)固定于兔口中,另一手插灌胃管(常用导尿管代替)。如无固定箱,则一人左手固定兔头及身体,右手将含嘴插入兔口中。另一人将导尿管从含嘴中央小孔插入约 15 cm。将导尿管置于盛有少量清水的小烧杯中,如无气泡表示插管正确,此时可将药液慢慢注入。最后注少量空气或干净水使导管中的残余药液全部灌入胃中。灌毕先将导尿管慢慢抽出,最后取出含嘴。兔在灌胃前一般应禁食。灌药量一般为 10 mL/kg 体重。

2. 注射给药

(1)皮下注射:对动物而言,常用的注射部位有颈、背、腋下、侧腹或臀部等,最常选用的是背部。注射时左手提起皮肤,右手持针刺入皮下。若针易于左右摆动,表明已刺入皮下即可注药。注意在拔针时应轻按进针部位,避免药液外漏。

(2)皮内注射:是指将药液注入皮肤的表皮与真皮之间。注射时先除去注射部位的毛并消毒,用左手食指和拇指固定并绷紧该处皮肤,右手持针与皮肤呈 30°沿皮肤表层刺入。如注药时有较大阻力,注药部位皮肤鼓起白色小丘表示为皮内注射。

(3)肌肉注射:选择血管和神经主干的肌肉发达部位,如家兔和犬的臀部、股部,大鼠、小鼠或豚鼠的大腿外侧缘。固定动物后持针头与皮肤呈 60°快速刺入,回抽无血即可注射。注药结束后用手轻揉注射部位以促进药物吸收。

(4)腹腔注射:固定动物后选择下腹部左或右(注意避开膀胱)朝头部方向刺入,有突破感或落空感、回抽无血即可注射。

(5)静脉注射:①兔耳静脉注射:拨去耳背面的毛,用手指轻弹皮肤,使血管扩张。用食指和中指夹住静脉近心端皮肤使静脉充盈,同时用拇指和无名指固定兔耳的远心端;另一手持注射器,注射器针头和刻度朝上,在血管的远心端与血管呈 20°刺入静脉(可以无回血)。然后改用拇指和食指、中指将注射器针头固定在兔耳上,另一手持针慢慢注药。若阻力小且血管内药液充盈,说明注药正确。注药前应先排净注射器内的空气,注药速度尽量慢而均匀,从远心端开始进针(图 3-4)。②尾静脉注射:主要用于小鼠和大鼠。鼠尾的三条静脉中,左右两根易于固定,常用于注射。先将鼠固定于鼠笼或倒扣在烧杯中,将鼠尾拉出后用电灯温烤或浸入 40~50 °C 的温水中 1 min,使鼠尾血管充分扩张。选择尾静脉后 1/3 扩张明显的血管从尾端进针,若无阻力,则可将药液缓慢推入。

(6)蛙(蟾蜍)淋巴囊注射法:位于蛙皮下的淋巴囊易吸收药物,常选用腹淋巴囊(或头背部淋巴囊)给药。注射时一手仰卧固定蛙,另一手持注射器自蛙大腿上端刺入,经大腿肌层入腹壁肌层进入腹淋巴囊后注药。

(四)麻醉

在进行动物实验时为了减少痛苦、避免动物挣扎,使实验操作能顺利进行,需对动物进

行麻醉。应根据实验动物与实验要求的不同来选择麻醉方式。

1. 麻醉方式

(1) 局部麻醉: 常用 2% 普鲁卡因做皮下浸润麻醉, 适用于兔等中型以上的动物做表层手术。

(2) 全身麻醉: ① 吸入麻醉, 常用 3% 乙醚水溶液对大鼠、小鼠和豚鼠进行麻醉。先将动物放在玻璃罩内, 内置乙醚棉球, 动物吸入后很快拿下即已麻醉。但应注意乙醚麻醉初期常有兴奋现象, 刺激性强, 易造成分泌物过多堵塞呼吸道。② 注射麻醉, 可根据具体情况选择静脉、肌肉或腹腔麻醉。详见表 1-1。

表 1-1 常用麻醉药的用法和剂量

麻醉药名	动物	给药途径	常用浓度(%)	剂量(mL/kg)	持续时间(h)
氨基甲酸乙酯(乌拉坦)	兔	静脉	20	4~5	2~4
	大鼠、豚鼠	腹腔	20	4~5	2~4
巴比妥钠	犬、兔	静脉	3	1	4~6
	大鼠、小鼠	腹腔	1	3~4	2~4
戊巴比妥钠	犬、兔	静脉	3	1	2~4
	大鼠、小鼠	腹腔	3	1~2	2~4
氟胺酮	犬、兔	静脉或肌注	1	0.3~0.5	0.5
	大鼠、豚鼠	腹腔	1	8	0.5

2. 麻醉效果与注意事项

(1) 麻醉效果: 动物呼吸平稳深慢, 角膜反射迟钝或消失, 肢体肌肉松弛, 皮肤夹捏反射消失, 说明麻醉适当。即在呼吸、心跳存在时痛觉消失。

(2) 注意事项: ① 不同动物对麻醉药的耐受性存在个体差异, 应缓慢注药并密切观察; ② 手术中动物出现挣扎、尖叫等兴奋现象, 观察一段时间后仍然存在说明麻醉剂量不足、麻醉过浅, 可补充麻醉药。但一次补药量一般不超过总量的 1/3, 并应密切观察; ③ 若动物呼吸、心跳骤停或全身皮肤青紫, 呼吸浅慢, 表明麻醉过量, 应立即停止注射麻醉药, 可给予人工呼吸和苏醒剂。

第三节 实验动物的采血与处死方法

一、实验动物的采血

(一) 小鼠和大鼠

1. 尾尖取血 适用于采取少量血样, 如血常规检测。取血前应先使鼠尾血管充血。

2. 球后静脉丛取血 用左手拇指及中指抓住鼠头颈部皮肤, 食指按压眼睛后使眼球轻度突出, 静脉回流受阻, 眼底球后静脉丛淤血, 左手持特制玻璃吸管或连接注射器的粗钝针头, 沿着内眦眼眶后壁刺入。刺穿时吸管应由眼内角向喉头方向前进 4~5 cm, 轻轻旋转再缩回, 血液自然进入管内。在得到所需要的血量后, 抽出吸管或注射针头。

3. 心脏取血 左手抓住鼠背部及颈部皮肤, 右手持注射器, 在心尖搏动最明显处刺入心

脏,抽出血液。也可从上腹部刺入,穿过膈肌刺入心脏取血。

4. 断头取血 如在实验结束后取血,可剪去头或两侧颈总动脉,收集自颈部流出的血液。

(二)兔和豚鼠

1. 兔耳缘静脉取血 局部去毛,用电灯照射加热或酒精或二甲苯棉球涂擦,使静脉扩张,再以石蜡油涂于耳缘,防止流出的血液凝固,用粗针头将静脉刺破或刀切小口后让血自然滴入已放入抗凝剂的试管中。

2. 心脏取血 将动物仰卧,在第三肋间胸骨左缘 3 cm 心尖搏动最明显处将针与胸壁垂直刺入胸腔。当持针手感到心脏搏动时,再稍刺即进入心脏。然后抽出血液。取针时,针头宜直入直出,勿在胸腔内左右摆动,动作应迅速。

二、实验后动物处理

实验结束后需将动物及时处死。大鼠和小鼠可用颈椎脱臼法、断头法等处死;犬、兔和豚鼠可通过静脉注入空气或急性放血等方法致死。处死后的动物或实验完毕后的标本应有专人处理。

第四节 兽医药理学常用仪器介绍

一、分光光度计

(一)工作原理

分光光度计是根据物质对光的选择性吸收来测量微量物质浓度的仪器。其基本原理是溶液中的物质在光的照射激发下,产生对光吸收的效应。物质对光的吸收具有选择性,不同的物质具有不同的吸收光谱,因此一束单色光通过溶液时,其能量就会被吸收而减弱,其吸光度与该物质浓度的关系符合朗伯-比尔定律,用公式表示为:

$$T = I/I_0$$

$$A = -\lg T = kbc$$

式中: T 为透光率, I_0 为入射光强度, I 为透射光强度, A 为吸收度, k 为吸收系数, b 为层液厚度, c 为溶液中物质的浓度。由上可知,当入射波长、吸收系数和液层厚度不变时,吸光度与溶液中物质的浓度成正比。

分光光度计采用单色器来控制波长,单色器可将连续波长的光分解,从中得到任一所需波长的单色光。常用的波长范围为:①200~400 nm 的紫外光区;②400~760 nm 的可见光区;③2.5~25 μm 的红外光区。所用仪器为紫外分光光度计、可见光分光光度计(或比色计)、红外分光光度计或原子吸收分光光度计。常用的有 721 型、722 型和 751 型。

分光光度计可用于常规的吸收光度测定、吸收光谱的扫描、蛋白质含量的测定、核酸的测定等。

(二)常见的几种分光光度计介绍

1. 721 型分光光度计 721 型分光光度计见图 1-5。

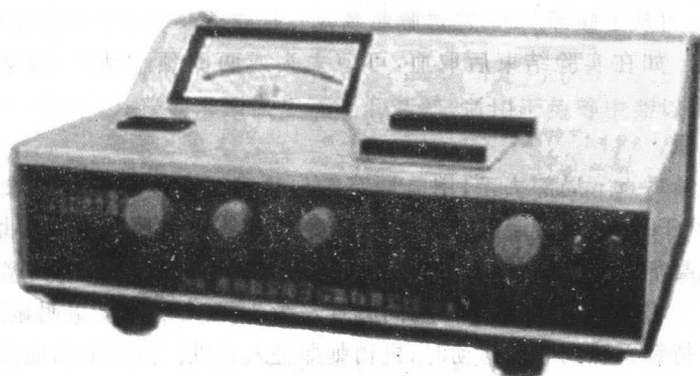


图 1-5 721 型分光光度计

(引自:生理学实验教程,王庭槐,2004)

[使用方法]

(1)在仪器接通电源之前,先检查电表的指针,必须位于“0”刻线上,否则需要用电表上的校正螺丝进行校正。

(2)接通电源,旋转“ λ ”旋钮,以选择所需用的单色波长。仪器预热 20 min。

(3)打开比色皿暗箱盖,将装有溶液(参比溶液、被测溶液)的比色皿置于比色架中。

(4)选择适当的灵敏度,使参比溶液(一般为蒸馏水)比色皿置于光路位置,调节“0”透光率旋钮,使电表指针在“0”。然后将比色皿暗箱盖合上,调节“100%”透光率旋钮,使电表指针到 100%。重复调节“0”、“100%”几次,待稳定后即可进行被测溶液吸光度的测定。

(5)拉动比色皿架拉杆,使被测溶液处于光路位置,记录电表读数盘中被测溶液的吸光度值。

(6)放大器灵敏度有 5 档,其灵敏度逐档增加,“1”为最低。尽可能采用灵敏度较低档,保证能使参比溶液透光率调到“100%”,这样仪器将有更高的稳定性。所以使用时一般选用灵敏度“1”,灵敏度不够时再逐渐升高。但改变灵敏度后必须按上述步骤重新校正“0”和“100%”。

(7)如果大幅度改变测试波长时,在调整“0”和“100%”后稍等片刻(因钨灯在急剧改变亮度后,需要一段热平衡时间),当指针稳定后重新调整“0”和“100%”即可工作。

(8)测定完毕,切断电源,用蒸馏水冲洗比色皿,并用擦镜纸吸干表面的水。

[注意事项]

(1)各比色皿的规格尽可能相同,否则将产生测定误差。玻璃比色皿只可用于可见光区,紫外区测定时要用石英比色皿。不能用手拿比色皿的光学面,用后需用蒸馏水或稀盐酸等溶液洗涤,表面只能用柔软的绒布或拭镜纸擦净。

(2)仪器应放在干燥的房间,使用时放在坚固平稳的工作台上,室内照明不宜太强。不要用电扇直接向仪器吹风,防止灯泡发光不稳定。

(3)仪器在使用前先检查放大器及单色器的两个硅胶干燥筒,如受潮变色应更换。

(4)仪器接地应当良好。

(5)仪器停止使用时,在比色皿暗箱内放入两包硅胶。

(6)仪器停止使用时,用塑料套子套住整个仪器,在套子内应放数袋防潮硅胶。

(7)仪器工作较长时间或搬动后,要检查波长精确性,以确保仪器测定的精确性。

2.722 型光栅分光光度计

[使用方法]

(1)将灵敏度调节旋钮调置“1”,此时放大倍率最小。

(2)接通电源,仪器预热 20 min,选择开关置于“T”档(即透光率)。

(3)开启试样室盖(光门自动关闭),调节“0”旋钮,使数字显示为“00.0”。

(4)将装有溶液的比色皿放置于比色架中。旋动波长旋钮,把测试所需的波长调节至所需波长刻度线处。

(5)盖上样品盖,拉动试样架拉手,使标准溶液比色皿置于光路位置中,调节“100”旋钮,使数字显示为“100.0”(若显示不到“100”,可适当增加灵敏度的档位,同时应重复调整仪器的“00.0”)。

(6)拉动试样架拉手,使被测溶液比色皿置于光路位置中,数字表读数即被测溶液的透光率(T)值。

(7)吸光度 A 的测量:参照(3)和(5),调整仪器的“00.0”和“100”。将选择开关置于“A”(即吸光度),旋动吸光度调零旋钮,使得数字显示为(.000),然后移入被测溶液,显示值即为试样的吸收光度值。

(8)浓度 c 的测量:选择开关旋至“c”,将已标定浓度的溶液移入光路位置,调节浓度旋钮,使得数字显示为标定值。将被测溶液移入光路,即可由数字显示器读出相应的浓度值。

二、高效液相色谱仪

高效液相色谱法是继气相色谱之后,20 世纪 70 年代初期发展起来的一种以液体做流动相的新色谱技术。

高效液相色谱是在气相色谱和经典色谱的基础上发展起来的。现代液相色谱和经典液相色谱没有本质的区别。不同点仅仅是现代液相色谱比经典液相色谱有较高的效率和实现了自动化操作。经典的液相色谱法,流动相在常压下输送,所用的固定相柱效低,分析周期长。而现代液相色谱法引用了气相色谱的理论,流动相改为高压输送(最高输送压力可达 4.9×10^7 Pa);色谱柱是以特殊的方法用小粒径的填料填充而成,从而使柱效大大高于经典液相色谱(每米塔板数可达几万或几十万);同时柱后连有高灵敏度的检测器,可对流出物进行连续检测。因此,高效液相色谱具有分析速度快、分离效能高、自动化等特点。所以人们称它为高压、高速、高效或现代液相色谱法。

(一)液相色谱分离原理及分类

和气相色谱一样,液相色谱分离系统也由两相——固定相和流动相组成。液相色谱的固定相可以是吸附剂、化学键合固定相(或在惰性载体表面涂上一层液膜)、离子交换树脂或多孔性凝胶;流动相是各种溶剂。被分离混合物由流动相液体推动进入色谱柱。根据各组分在固定相及流动相中的吸附能力、分配系数、离子交换作用或分子尺寸大小的差异进行分离。色谱分离的实质是样品分子(以下称溶质)与溶剂(即流动相或洗脱液)以及固定相分子间的作用,作用力的大小,决定色谱过程的保留行为。

根据分离机制不同,液相色谱可分为液固吸附色谱、液液分配色谱、化合键合色谱、离子

交换色谱以及分子排阻色谱等类型。

(二) 高效液相色谱仪的组成

高效液相色谱仪由高压输液系统、进样系统、分离系统、检测系统、记录系统等五大部分组成。

分析前,选择适当的色谱柱和流动相,开泵,冲洗柱子,待柱子达到平衡而且基线平直后,用微量注射器把样品注入进样口,流动相把试样带入色谱柱进行分离,分离后的组分依次流入检测器的流通池,最后和洗脱液一起排入流出物收集器。当有样品组分流过流通池时,检测器把组分浓度转变成电信号,经过放大,用记录器记录下来就得到色谱图。色谱图是定性、定量和评价柱效高低的依据。

1. 高压输液系统 高压输液系统由溶剂贮存器、高压泵、梯度洗脱装置和压力表等组成。

(1)溶剂贮存器一般由玻璃、不锈钢或氟塑料制成,容量为 1~2 L,用来贮存足够数量、符合要求的流动相。

(2)高压输液泵是高效液相色谱仪中关键部件之一,其功能是将溶剂贮存器中的流动相以高压形式连续不断地送入液路系统,使样品在色谱柱中完成分离过程。由于液相色谱仪所用色谱柱径较细,所填固定相粒度很小,因此,对流动相的阻力较大,为了使流动相能较快地流过色谱柱,就需要高压泵注入流动相。

对泵的要求:输出压力高,流量范围大,流量恒定,无脉动,流量精度和重复性为 0.5% 左右。此外,还应耐腐蚀,密封性好。

高压输液泵按其性质可分为恒流泵和恒压泵两大类。

恒流泵是能给出恒定流量的泵,其流量与流动相黏度和柱渗透无关。

恒压泵是保持输出压力恒定,而流量随外界阻力变化而变化,如果系统阻力不发生变化,恒压泵就能提供恒定的流量。

(3)梯度洗脱装置。梯度洗脱就是在分离过程中使两种或两种以上不同极性的溶剂按一定程序连续改变它们之间的比例,从而使流动相的强度、极性、pH 值或离子强度相应地变化,达到提高分离效果,缩短分析时间的目的。

梯度洗脱装置分为两类:一类是外梯度装置(又称低压梯度),流动相在常温常压下混合,用高压泵压至柱系统,仅需一台泵即可;另一类是内梯度装置(又称高压梯度),将两种溶剂分别用泵增压后,按电器部件设置的程序,注入梯度混合室混合,再输至柱系统。

梯度洗脱的实质是通过不断地变化流动相的强度,来调整混合样品中各组分的 k 值,使所有谱带都以最佳平均 k 值通过色谱柱。它在液相色谱中所起的作用相当于气相色谱中的程序升温,所不同的是,在梯度洗脱中溶质 k 值的变化是通过溶质的极性、pH 值和离子强度来实现的,而不是借改变温度(温度程序)来达到。

2. 进样系统 进样系统包括进样口、注射器和进样阀等,它的作用是把分析试样有效地送入色谱柱上进行分离。

3. 分离系统 分离系统包括色谱柱、恒温器和连接管等部件。色谱柱一般用内部抛光的不锈钢制成。其内径为 2~6 mm,柱长为 10~50 cm,柱形多为直形,内部充满微粒固定相。柱温一般为室温或接近室温。

4. 检测器 检测器是液相色谱仪的关键部件之一。对检测器的要求是:灵敏度高、重复性好、线性范围宽、死体积小以及对温度和流量的变化不敏感等。

在液相色谱中,有两种类型的检测器,一类是溶质性检测器,它仅对被分离组分的物理或化学特性有响应,属于此类检测器的有紫外、荧光、电化学检测器等;另一类是总体检测器,它对试样和洗脱液总的物理和化学性质有响应,属于此类检测器有示差折光检测器等。

5. 高效液相色谱的固定相和流动相

(1)固定相:高效液相色谱固定相以承受高压能力来分类,可分为刚性固体和硬胶两大类。

刚性固体以二氧化硅为基质,可承受 $7.0 \times 10^8 \sim 1.0 \times 10^9$ Pa 的高压,可制成直径、形状、孔隙度不同的颗粒。如果在二氧化硅表面键合各种官能团,可扩大应用范围,它是目前最广泛使用的一种固定相。

硬胶主要用于离子交换和尺寸排阻色谱中,它由聚苯乙烯与二乙烯苯基交联而成。可承受压力上限为 $3.5 \sim 108$ Pa。固定相按孔隙深度分类,可分为表面多孔型和全多孔型固定相两类。

①表面多孔型固定相:它的基体是实心玻璃球,在玻璃球外面覆盖一层多孔活性材料,如硅胶、氧化硅、离子交换剂、分子筛、聚酰胺等。这类固定相的多孔层厚度小、孔浅,相对死体积小,出峰迅速、柱效亦高;颗粒较大,渗透性好,装柱容易,梯度淋洗时能迅速达到平衡,较适合做常规分析。由于多孔层厚度薄,最大允许量受到限制。

②全多孔型固定相:由直径为 10 nm 的硅胶微粒凝聚而成。这类固定相由于颗粒很细(5~10 nm),孔仍然较浅,传质速率快,易实现高效、高速。特别适合复杂混合物分离及痕量分析。

(2)流动相:由于高效液相色谱中流动相是液体,它对组分有亲和力,并参与固定相对组分的竞争,因此,正确选择流动相直接影响组分的分离度。对流动相溶剂的要求如下。

①溶剂对于待测样品,必须具有合适的极性和良好的选择性。

②溶剂与检测器匹配。对于紫外吸收检测器,应注意选用检测器波长比溶剂的紫外截止波长要长。所谓溶剂的紫外截止波长指当小于截止波长的辐射通过溶剂时,溶剂对此辐射产生强烈吸收,此时溶剂被看作是光学不透明的,它严重干扰组分的吸收测量。对于折光率检测器,要求选择与组分折光率有较大差别的溶剂作流动相,以达到最高灵敏度。

③高纯度。由于高效液相色谱灵敏度高,对流动相溶剂的纯度要求也高。不纯的溶剂会引起基线不稳,或产生“伪峰”。

④化学稳定性好。

⑤低黏度(黏度适中)。若使用高黏度溶剂,势必增高压力,不利于分离。常用的低黏度溶剂有丙酮、甲醇和乙腈等;但黏度过低的溶剂也不宜采用,例如戊烷和乙醚等,它们容易在色谱柱或检测器内形成气泡,影响分离。

三、RM-6000 型四导生理记录仪

(一)仪器的功能

RM-6000 型四导生理系统(polygraph system)是一种比较先进的记录仪。属于贵重仪