

生理学实验指导

(73级用)

湖南中医学院

毛主席语录

领导我们事业的核心力量是中国共产党。

指导我们思想的理论基础是马克思列宁主义。

一切真知都是从直接经验发源的。

分析的方法就是辨证的方法。

我们需要的是热烈而镇定的情绪，紧张而有秩序的工作。

要过细地做工作。要过细，粗枝大叶不行，粗枝大叶往往搞错。

团结起来，争取更大的胜利。

实验课的要求

一、遵循毛主席“理论和实践相结合”的教导，用理论指导实验，用实验结果论证理论。

二、用毛主席哲学思想指导实验全过程。善于发现矛盾，及时解决矛盾。

三、“不打无准备之仗”。要求同学们每次实验前必须预习实验指导，了解实验目的、原理、以及重要的方法和步骤。

四、实验时，反对单纯技术观点。每组同学必须明确分工，互相配合。做到人人发挥主动性，个个做过细的工作，始终保持“热烈而镇定的情绪，紧张而有秩序的工作”。

五、“要认真总结经验”。在做好实验记录基础上，认真分析，讨论实验结果。总结实验优缺点，不断提高实验质量。

六、“要节约闹革命”。实验时必须爱护实验器材，节约水电、试剂等。实验完毕后，将仪口整理清洗，将实验室打扫干净，并关好水、电、门窗。

目 录

实验一	光电比色计原理及其使用方法	1
实验二	反射弧的完整性(示教)	7
实验三	胃蛋白酶的消化作用(示教)	8
实验四	观察消化腺的分泌和消化道的运动	9
实验五	脂肪吸收的主要途径(示教)	13
实验六	胰岛素低血糖休克(示教)	13
实验七	血清总胆固醇测定	18
实验八	血清总蛋白及A/G的测定	20
实验九	血清谷-丙转氨酶(GPT)活性的测定	23
实验十	生物氧化实验	28
实验十一	全血、血浆、血清(示教)	33
实验十二	血液凝固(示教)	33
实验十三	ABO血型的测定及交叉合血	34

实验十四 离体蛙心灌注 ----- 34

实验十五 期前收缩 (示教) ----- 42

实验十六 动脉血压调节 ----- 44

实验十七 血脑屏障 (示教) ----- 48

实验十八 呼吸运动的调节与胸腔负压 ----- 48

实验十九 血浆 CO_2 结合力的测定 ----- 50

实验二十 有机磷农药中毒及其解救 ----- 53

实验廿一 脊髓反射 ----- 56

附录一 ----- 附 1

附录二 ----- 附 21

实验一 光电比色计原理及其使用方法

〔实验目的〕

- 一、了解光电比色计的基本原理及构造。
- 二、能独立使用光电比色计。

在分析化学中广泛使用比色法来测定物质的含量。比色法能够准确而迅速的测定极少量的物质存在，测定的相对误差一般不超过2%，这是一般的重量分析法所难以胜任的。生物体内许多物质都是微量存在的，所以比色法是生物化学实验中最常用的一种定量方法，此外，比色法操作过程亦简便。

〔基本原理〕

一、Lambert 定律。

一束单色光线通过一个有色溶液后，由于溶液吸收一部分光能，通过光的强度就要减弱。若溶液的浓度不变，溶液的厚度越大（或者说光线在溶液中所经过的路途愈长），光线的强度的减弱也愈显著。

若 C 为溶液浓度， I_0 为入射光的强度， I 为透过光的强度， L 为有色溶液的厚度，因此有如下关系：

$$\log \frac{I}{I_0} \propto L \text{ 即 } \log \frac{I}{I_0} = -k_1 L \cdots (1)$$

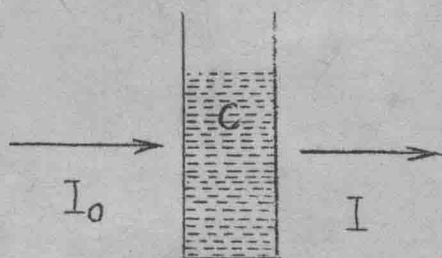


图1-1 L

K_1 为常数其数值随光线的波长和溶液的性质而改变, Lambert 氏定律适用于一切溶液。

二、Beer 氏定律:

一束单色光线通过一个有色溶液后, 光线强度就会减弱。若溶液的厚度不变, 溶液的浓度愈大, 透过光的强度的减弱也愈显著, 有如下的关系:

$$\log \frac{I}{I_0} \propto -C \quad \text{即} \quad \log \frac{I}{I_0} = -K_2 C \quad \text{-----}(2)$$

K_2 为常数, 其数值随光线的波长和溶液的性质而改变。Beer 定律并非适用于一切溶液, 因为在有些溶液中若浓度改变, 溶质的分离、解离或聚合的程度也随之改变, 所以在实际应用中, 对不同有色物质溶液, 在测定时, 还规定了一定条件, 如一定波长的照射, 一定的浓度范围, 一定的温度, 酸碱度等, 这些都是通过实践得出来的, 不同的物质只有在不同的规定下比色, 才能得到最大的灵敏度和准确性。

三、合并上述定律得下式:

$$\log \frac{I}{I_0} = -KCL \quad \text{-----}(3)$$

式中 $\frac{I}{I_0}$ 可用 T 表示、 T 称为透光度。则

$$\log \frac{I}{I_0} = \log T = -KCL$$

$$\text{或} \quad -\log T = KCL$$

$$\text{令} \quad -\log T = D$$

$$\text{则} \quad D = KCL \quad \text{-----}(4)$$

上式中的 D 称为光密度。因此光密度与物质的浓度是一个正比的关系。浓度愈大, 光密度也就愈大。

按(4)式, 对同一有色物质的两种不同浓度的溶液, 可得到下面两式:

$$D_1 = K_1 C_1 L_1 \text{ 或 } L_1 = \frac{D_1}{K_1 C_1} \text{ ----- (5)}$$

$$D_2 = K_2 C_2 L_2 \text{ 或 } L_2 = \frac{D_2}{K_2 C_2} \text{ ----- (6)}$$

在使用光电比色计比色时, 溶液厚度(1)是固定的, 即在相同厚度的比色杯内比色, 因此 $L_1 = L_2$

合并(5)与(6)式得

$$\frac{D_1}{K_1 C_1} = \frac{D_2}{K_2 C_2}$$

因为是同一种溶液, K值应该是相同的, 即 $K_1 = K_2$

$$\text{则 } \frac{D_1}{C_1} = \frac{D_2}{C_2}$$

$$\therefore C_2 = \frac{D_2}{D_1} \times C_1 = \frac{\text{被测液的光密度}}{\text{标准液的光密度}} \times \text{标准液的浓度} \text{ ----- (7)}$$

〔光电计的比色原理〕

光电比色计是使透过溶液的光照射到光度计内的光电池上, 光电池能将光能变为电能, 产生电流。电流的大小与透过光的强度有关, 而透过光的强度又与待测物质的浓度有关。因此, 测定所产生的电流, 即能求出待测物质的浓度, 当电流通过电流计时, 由电流计的位置, 即可在刻度盘上读出光密度或百分透光度。

最普通的光电比色计为电光电池式, 如图1~2所示。

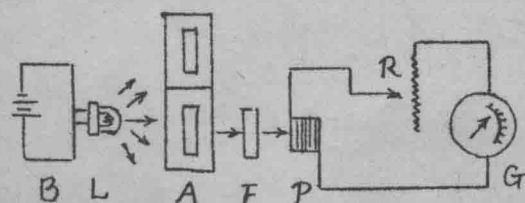


图1~2

- | | |
|---------|-----------|
| B — 电池 | L — 光源 |
| F — 滤光片 | A — 滑动比色槽 |
| P — 光电池 | R — 可变电阻 |
| G — 电流计 | |

[光电比色计的基本结构]

一、光源

最常用的光源是 6 ~ 8 伏特的汽车灯泡 (581-G, 6.3 伏 400 毫安钨丝灯泡) 由蓄电池或变压器供给电流, 要想得到准确的结果, 光源的强度一定要保持不变, 因此必须保持电源的电压稳定。

二、滤光片:

只有单色光的光源 Lambert 及 Beer 两氏定律才能成立, 因此在光电比色计中, 一定要用滤光片来获得单色光, 滤光片是一种有色玻璃, 它能将混合光中其余的光吸收掉, 而仅滤出一定波长的光线。

选择合适滤光片, 可以增加比色分析的准确度, 滤光片的颜色, 应该是溶液最易吸收的光的颜色。也就是说, 最易透过滤光片的光波应该是溶液最易吸收的光或透光度最小的, 滤光板的颜色应该是溶液颜色的补色。所谓补色就是指两种能合并为白色光的颜色的相互称呼。

我国 581-G 型光电比色计常备有三片滤光片, 亦列表于下:

波 长 (m μ)	滤光片的颜色	溶液的颜色
420	紫 色	红、粉红、黄、金黄
500	绿兰色	红, 紫, 兰紫
650	深红色	绿, 兰, 紫, 青紫

三、比色杯:

比色杯用光学玻璃熔融制成, 在光电比色法中, 溶液的厚度是固定的, 因此, 如果使用两个比色杯, 它的厚度必须是相同的,

比色杯内外，必须非常清洁；比色时只允许拿两边的毛玻璃面。

四、光电池：

最常用的光电池为硒光电池，它的作用是将光能变为电能，光电池有较大的温度系数，即在光长期照射下，灵敏度逐渐降低，受潮后，灵敏度不仅降低，直至完全失效；因此，没有将上盖光片，不要开亮灯泡，（为什么？）还要随时严防比色杯中的溶液溅入比色计中（为什么？）

〔试剂〕

- 一、10% CuSO_4 溶液
- 二、未知 CuSO_4 溶液

〔器材〕

- 一、10毫升刻度吸量管。
- 二、50毫升容量瓶。
- 三、光电比色计。

〔操作〕

一、光电比色计的使用方法：

各种光电比色计的用法各有不同，具体操作方法，须参阅该仪口所附说明书，现在计称介绍国产材料伟光电比色计581-G型使用方法如下：

1. 用所附的电流线按正确方向，将插头插入插座接上电源。
2. 将开关拨到“1”上后，此时检流计上指示灯明亮表示电流已通，用仪口箱顶上的零点调整口，将检流计上光电调节到标尺的零度位置上。标尺左边的透光率零点。

3. 选择适当的滤光片插入仪口的滤光座内。

4. 取比色杯二只（小心使用，手持毛面，切勿损坏）分别加入空白液（本实验用蒸馏水）；标准液（或未知液）约6毫升，

(液体勿洒在杯外)如比色杯外面粘有液体,应立即用软纸或干燥柔软的布揩净。

5. 将两只比色杯插入仪口上活动的比色杯座内,并将比色杯盖盖上,以滤去杂光。

6. 将开关拨到(2)上,予热一分钟使光电流达到稳定,将加入空白溶液的比色杯推入光路,用粗调节口和细调整口,调节,使检流计的光点指在透光率100%以上。

7. 将加入标准溶液的比色杯推入光路,即可读出光密度(D_1)再将空白管推回原来位置,此时指针应恰回到光密度为“0”处,如不在“0”调整之,重读取 D_1 ,两次读取 D 的数值应接近。

8. 将开关扭转回“1”处(因为开关扭不应再在“2”处,否则光电池被长期照射而灵敏度降低)。

9. 取出标准管,换上待测溶液,调节空白管光密度为“0”,按上述操作,读取其光密度 D_2 。

10. 比色完后,应将粗细光源调节口以反时针方向转到零点,将开关转到“0”上,拔去电源插头。

11. 用蒸馏水洗净比色杯3~4次,并将比色口及滤光片放回盒内。

二、标准曲线的制作。

1. 用10% CuSO_4 溶液以50毫升容量瓶分别稀释至0.5%、1.0%、1.5%及2.0%的各浓度,逐一测定它们的光密度,然后以浓度为横座标,以光密度为纵座标,若反应符合 Lambert 及 Beer 两氏定律,必须得到一通过原点的直线,称为标准曲线。

2. 再测定未知 CuSO_4 的光密度,求出其百分浓度(除从标准曲线查出 CuSO_4 的百分浓度外,再从公式(7)中计算 CuSO_4 的百分浓度,比较其结果)。

〔思考题〕

- 一、什么叫做透光度及光密度？它们之间的数学关系如何？
- 二、利用光电比色计测定物质浓度的原理如何？
- 三、硒光电池有什么作用？如何保获他？
- 四、滤光片的作用是怎样的，如何选择滤光片？
- 五、什么叫标准曲线，它有什么用途？

实验二 反射弧的完整性

完成反射活动的基本结构是反射弧。反射弧包括感受器、传入神经、神经中枢和效应器五个组成部分。反射弧任何部分被破坏，这一反射活动便发生障碍。

〔实验目的〕

验证反射弧的完整性是完成反射活动的必要条件之一。

〔实验动物〕

蛙或蟾蜍。

〔实验用品〕

蛙板(一) 粗剪(一)
钳子(一) 玻璃分针(一)
小有齿镊子(一) 小烧杯
(二) 平头夹(一) 铁支
柱(一) 双凹夹(一) 大



图2-1 脊蛙制备的手法

头针勾(一) 线线, 纱布, 0.5% H_2SO_4 。

〔经验步骤〕

1. 用布包裹蛙(或蟾蜍)身, 左手握住蛙身, 右手持剪伸入蛙口, 迅速在鼓膜之后剪断蛙头, 制成脊蛙(如图2~1)。

2. 高位分离左坐骨神经, 并穿入一根线线备用。

3. 将脊蛙悬挂铁支柱上, (如图2~2)。

4. 用一烧杯盛 0.5% H_2SO_4 约 10 毫升, 分别浸泡左右蛙趾, 观察蛙的反应。注意: 待出现反射活动后, 马上用清水冲洗蛙趾, 从纱布抹干, 避免硫酸烧伤蛙趾。

5. 剪断左侧坐骨神经后, 重复步骤 4, 观察蛙的反应。

6. 钻毁脊髓, 再重复步骤 4, 观察蛙的反应。

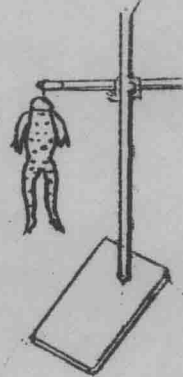


图2~2 脊蛙装置模型图

实验二 胃蛋白酶的消化作用(示教)

〔实验目的〕

胃蛋白酶在有酸(HCl)存在时, 能使蛋白质初步水解。本实验的目的在于观察胃蛋白酶在有 HCl 及没有 HCl 存在的情况下, 对纤维蛋白水解的情况。

〔实验步骤〕

取两支试管, 按下表加试剂, 实验后记录并讨论结果。

	0.5% HCl	胃蛋白酶	纤维蛋白	在37°C恒温 水浴保温1~ 2小时,经常 摇动。	结果及解释
试管 I					
试管 II					

实验四 观察消化腺的分泌和消化道的运动

食物在消化道内的消化过程包括机械消化和化学消化两方面。机械消化作用是通过口腔咀嚼、胃肠道的运动对食物进行机械加工处理的过程。化学消化作用是指消化腺分泌消化液,促进食物的化学分解的过程。

肝细胞不断地分泌胆汁,胆汁的分泌受神经及体液的调节。迷走神经兴奋时使胆汁增加,而交感神经却抑制胆汁的分泌。HCl、蛋白质分解产物,脂酸钠等进入十二指肠后,可刺激十二指肠粘膜,产生促胰液素和促胰酶素,除促进胰液的分泌外,前者还能引起胆汁的分泌。此外胆酸本身有强烈的利胆汁作用。

一、观察胆汁的分泌及其调节

〔实验目的〕

1. 观察正常情况下胆汁分泌的情况。
2. 观察迷走神经对胆汁分泌的作用。
3. 观察胆汁的利胆作用,以及胆酸对胆汁分泌的作用。

〔实验动物〕 狗

〔实验用品〕

(一) 器材。大动物手术器械一套。

电刺激用具一套。

胆总管插管(塑料管)一根。

狗夹板 一对 酒精灯 一个

注射器 2ml 一付 三角架 一个

10ml 一付 石棉板 一块

20ml 一付 烧杯 400ml 一只

培养皿 一个 丝线、纱布

(二) 药物: 3%戊巴比妥钠, 稀盐酸, 生理盐水, 阿托品。

〔实验前准备〕(参阅附件一, 第一, 二、三、四节)

1. 由静脉注射3%戊巴比妥钠, 将狗麻醉。

2. 将狗固定在手术台上, 用粗剪刀去其颈部及腹部的毛。

3. 在颈部找出左侧迷走神经, 并于其下穿过一细备用。

4. 在一侧腹三角内分离出股静脉, 在静脉下穿过一细备用。

5. 在剑突下沿正中线剖

开腹壁约8~10厘米, 沿十二指肠球部找出胆总管, (将肠管用
手向下拉时, 可清楚地分辨出自
外上方斜着走向十二指肠的带状
物就是胆总管, (参看图4~1)。

分离后插入一塑料套管, 用线扎
紧固定, 导管的另一端悬于腹腔
外, 以一培养皿盛接胆汁, 同时
用注射器抽出胆管内胆汁约3ml备用。

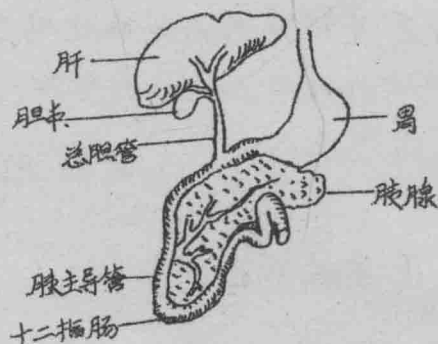


图4~1 狗胆总管解剖位置示意图

〔实验步骤〕

1. 记录正常情况下，每分钟胆汁分泌的滴数。
2. 高位结扎迷走神经，在结扎的上端剪断，用电连续刺激迷走神经离中端2~5分钟（在刺激前，先静脉注射1毫克阿托品，以消除迷走神经对心脏的作用），观察胆汁分泌的情况，并记录每分钟分泌的滴数。
3. 将由胆管内取出的胆汁用生理盐水稀释3倍，由股静脉注入，注射时宜慢并注意动物的情况，然后观察胆汁的分泌是否增加。记录每分钟的滴数。
4. 分出十二指肠段，用丝线于距离幽门约15~20cm处结扎小肠，取温热稀盐酸20~30ml注入十二指肠内，观察胆汁分泌是否增加。记录每分钟滴数。并记录其潜伏期。

〔注意事项〕

1. 将套管前先用沸水将套管充满。
2. 结扎套管时，不要过紧以致将套管阻塞。
3. 注意不要让胆总管发生扭曲，妨碍胆汁的引流。
4. 在整个实验过程中，要经常用温热的生理盐水纱布敷在小肠上，注意腹腔内的保温。
5. 用表格方式记录实验结果并解释之。
6. 分析胆汁分泌的神经及神经体液性调节。

二、观察消化道的运动（示教）

〔实验目的〕

观察乙酰胆碱对消化道运动的影响。

〔实验动物〕 大白鼠

〔实验用品〕 小锤子一把。

〔实验药品〕 1:1000 乙酰胆碱 (新鲜配制)

〔实验步骤〕

1. 用锤子敲击大白鼠头部使其昏迷, 随即用粗剪将大白鼠腹部剪开。

2. 观察正常情况下小肠运动情况 (蠕动)。

3. 将乙酰胆碱滴于小肠表面, 观察小肠运动有何变化。

〔思考题〕

乙酰胆碱是哪一种植物性神经的节后纤维的神经介质? 对小肠运动有何作用?

三、观察离体小肠平滑肌的运动 (示教)

〔实验目的〕

离体小肠在适当的理化环境中仍能作节律性的舒缩活动, 在体内这种节律性活动受神经调节和体液因素的调节。本实验的目的在于通过本示教对小肠运动的调节有一初步的认识。

〔实验步骤〕

1. 实验系取兔的离体十二指肠一段 (2~4厘米) 浸浴在酸硷度、渗透压和离子浓度均与与血浆相似的溶液中 (台氏液) 温度维持在 36°C 左右, 并供应充分的氧气, 这时肠肌表现出节律的舒缩活动。用记纹鼓描记。

2. 在浴液中加入肾上腺素 (1:10000) 2滴搅匀, 观察曲线幅度和频率的变化。

3. 换回新鲜的温热台氏液, 待小肠运动恢复后, 再加乙酰胆碱 (1:100,000) 2滴, 搅匀, 观察小肠运动曲线的变化。

〔思考题〕