



全国中医药行业高等教育“十三五”创新教材

高等学校中药学类专业 实验操作指南

— 供中药学、药学及相关专业用 —

教育部高等学校中药学类专业教学指导委员会

主 编 李永吉 彭代银

全国百佳图书出版单位
中国中医药出版社

全国中医药行业高等教育“十三五”创新教材

高等学校中药学类专业 实验操作指南

(供中药学、药学及相关专业用)

教育部高等学校中药学类专业教学指导委员会

主 编 李永吉(黑龙江中医药大学)

彭代银(安徽中医药大学)

副 主 编 (按姓氏笔画排序)

马长华(北京中医药大学)

吴啟南(南京中医药大学)

张大方(长春中医药大学)

张师愚(天津中医药大学)

杨炳友(黑龙江中医药大学)

贾天柱(辽宁中医药大学)

陶建生(上海中医药大学)

主 审 匡海学(黑龙江中医药大学)

刘红宁(江西中医药大学)

中国中医药出版社

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

高等学校中药学类专业实验操作指南/李永吉, 彭代银主编. —北京: 中国中医药出版社, 2017. 5

全国中医药行业高等教育“十三五”创新教材

ISBN 978 - 7 - 5132 - 4166 - 3

I. ①高… II. ①李… ②彭… III. ①中药学 - 实验 - 中医学院 - 教学参考资料
IV. ①R28 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 071733 号

中国中医药出版社出版

北京市朝阳区北三环东路 28 号易亨大厦 16 层

邮政编码 100013

传真 010 64405750

廊坊市三友印务装订有限公司

各地新华书店经销

开本 787 × 1092 1/16 印张 14 字数 315 千字

2017 年 5 月第 1 版 2017 年 5 月第 1 次印刷

书号 ISBN 978 - 7 - 5132 - 4166 - 3

定价 38.00 元

网址 www.cptcm.com

如有印装质量问题请与本社出版部调换

版权专有 侵权必究

社长热线 010 64405720

购书热线 010 64065415 010 64065413

微信服务号 zgzyycbs

书店网址 csln.net/qksd/

官方微博 <http://e.weibo.com/cptcm>

淘宝天猫网址 <http://zgzyycbs.tmall.com>

全国中医药行业高等教育“十三五”创新教材

《高等学校中药学类专业实验操作指南》编委会

主 编 李永吉 (黑龙江中医药大学)

彭代银 (安徽中医药大学)

副 主 编 (按姓氏笔画排序)

马长华 (北京中医药大学)

吴啟南 (南京中医药大学)

张大方 (长春中医药大学)

张师愚 (天津中医药大学)

杨炳友 (黑龙江中医药大学)

贾天柱 (辽宁中医药大学)

陶建生 (上海中医药大学)

编 委 (按姓氏笔画排序)

丁安伟 (南京中医药大学)

王有为 (武汉大学)

王彦志 (河南中医药大学)

王艳宏 (黑龙江中医药大学)

王淑美 (广东药科大学)

吕光华 (成都中医药大学)

刘圣金 (南京中医药大学)

刘训红 (南京中医药大学)

刘艳菊 (湖北中医药大学)

许惠琴 (南京中医药大学)

贡济宇 (长春中医药大学)

李 飞 (北京中医药大学)

李丽静 (长春中医药大学)

李范珠 (浙江中医药大学)

杨 琳 (黑龙江中医药大学)

杨怀霞 (河南中医药大学)
余林中 (南方医科大学)
狄留庆 (南京中医药大学)
张 慧 (辽宁中医药大学)
张学兰 (山东中医药大学)
张硕峰 (北京中医药大学)
周 婧 (南京中医药大学)
周媛媛 (黑龙江中医药大学)
赵 晖 (首都医科大学)
赵 骏 (天津中医药大学)
修彦凤 (上海中医药大学)
钟凌云 (江西中医药大学)
桂双英 (安徽中医药大学)
袁友泉 (江西中医药大学)
黄建梅 (北京中医药大学)
龚千锋 (江西中医药大学)
窦志英 (天津中医药大学)
窦德强 (辽宁中医药大学)
裴妙荣 (山西中医学院)
鞠成国 (辽宁中医药大学)
主 审 匡海学 (黑龙江中医药大学)
刘红宁 (江西中医药大学)

前 言

学会正确的实验操作技术,养成良好的实验室工作习惯,具备熟练的动手能力,是本科中药学类专业学生在校期间的重要学习过程,是教师进行实验教学的主要环节与任务。这对学生毕业后的岗位适应力和胜任力都具有重要的意义。

2015年5月,教育部高等学校中药学类专业教学指导委员会与中医药高等教育学会联合举办了第一届“‘中医药社杯’中药学类专业学生知识技能大赛”。在赛事的筹备和比赛过程中,参赛学校的指导教师和选手纷纷提出,目前在实验教学中,缺少规范实验操作的教材。因此,中药学类专业教学指导委员会在全国中医药院校挑选了45位具有丰富实验教学和科研经验的专家、学者组成编委会,编写了《高等学校中药学类专业实验操作指南》一书。

本教材依据全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材和教学大纲、《本科中药学类专业教学质量国家标准》《中国药典》(2015版)的有关要求和内容编写而成。本教材从学习、教学、实践工作需求的角度,分六篇二十一章详述中药学类专业学生必须掌握的实验室要求和化学类、中药药理、中药鉴定、中药炮制、中药药剂等实验操作的技术和要求,可作为中药学类专业学生实验课的教材,亦可作为药学实验工作者进行实验操作的参考书。

在编写过程中,各位编委做了大量的工作,但由于时间仓促,难免有遗漏和不妥之处,恳请同道学者和广大学生在使用中及时提出宝贵意见,以便再版时修改提高。

《高等学校中药学类专业实验操作指南》编委会

2017年3月

目 录

第一篇 实验室基本要求

第一章 基本要求	1
第一节 实验室规则	1
第二节 实验室安全要求	1
第三节 实验室意外事故的防范与处理	2
第二章 实验材料	4
第三章 环境要求	7
第一节 动物饲养环境要求	7
第二节 常见的灭菌方法	7
第四章 原始记录要求	11
第五章 实验报告撰写要求	13

第二篇 化学类实验操作

第六章 化学基本实验操作	15
第一节 分析天平	15
第二节 滴定管	17
第三节 容量瓶	19
第四节 移液管	21
第五节 滤过	22
第六节 蒸馏	26
第七节 萃取	32

第八节 熔点测定	34
第九节 沸点测定	39
第十节 pH 计的使用	40
第十一节 旋光度测定	41
第十二节 黏度测定	43
第十三节 折射率测定	44
第十四节 升华	45
第十五节 重结晶	47
第七章 中药提取分离实验操作	50
第一节 煎煮法	50
第二节 浸渍法	51
第三节 渗漉法	51
第四节 回流提取法	53
第五节 连续回流提取法	54
第六节 薄层色谱	55
第七节 大孔吸附树脂柱色谱	57
第八节 纸色谱	59
第九节 离子交换柱色谱	61
第十节 凝胶柱色谱	62
第十一节 硅胶柱色谱	63
第十二节 沉淀法	65
第十三节 透析法	67
第十四节 挥发油提取	68
第八章 中药分析常用实验操作	70
第一节 单光束分光光度计	70
第二节 双光束分光光度计	70
第三节 高效液相色谱仪	71
第四节 气相色谱仪	73

- 第五节 气相色谱-质谱联用 75
第六节 液相色谱-质谱联用 76

第三篇 中药药理实验操作

第九章 实验动物的捉持、标记

与固定 79

- 第一节 实验动物的捉持 79
第二节 实验动物的标记 81
第三节 实验动物的固定 83

第十章 中药药理实验基本要求

及基本操作 85

- 第一节 实验动物的给药方法及常用
给药容积 85
第二节 给药量的设计、计算及实验
数据处理要求 85
第三节 实验动物给药基本操作 ... 89

第十一章 动物实验常用麻醉操

作 95

- 第一节 常用麻醉剂 95
第二节 各种实验动物常用麻醉方法
及剂量 97

第十二章 动物实验常用手术基

本操作 101

- 第一节 备皮、消毒、开皮手术基
本操作 101
第二节 气管剥离、血管剥离手术
基本操作 103
第三节 切口的缝合方法基本操作
..... 105

第十三章 实验标本、样本的采

集 109

- 第一节 血液的采集 109
第二节 血液的分离操作（血清、
血浆、白细胞等） 111

- 第三节 尿液的采集 114
第四节 实验动物的处死 114
第五节 脏器的取样及处理 116

第四篇 中药鉴定实验操作

第十四章 传统鉴定操作 119

- 第一节 腊叶标本制作 119
第二节 来源鉴别 121
第三节 性状鉴别 122
第四节 水试 123
第五节 火试 124

第十五章 显微鉴定操作 125

- 第一节 显微镜的使用 125
第二节 粉末制片 126
第三节 表面制片 127
第四节 解离组织制片 128
第五节 徒手制片 129
第六节 显微测量 130
第七节 显微描绘 132

第十六章 理化鉴定基本实验操

作 135

- 第一节 微量升华 135
第二节 水分测定 136
第三节 灰分测定 138
第四节 杂质检查 138
第五节 干燥失重测定 139
第六节 膨胀度测定 140
第七节 酸败度测定 141
第八节 浸出物测定 142

第五篇 中药炮制实验操作

第十七章 净制技术 145

第十八章	切制技术	147
第十九章	炮制技术	150
第一节	单炒	150
第二节	固体辅料炒	152
第三节	炙法	158
第四节	蒸制	164
第五节	煮制	165
第六节	焯制	166
第七节	煨制	167
第八节	复制	168
第九节	发芽发酵	169
第十节	制霜	171
第十一节	提净水飞	173

第六篇 中药制剂实验操作

第二十章	制剂制备实验操作	175
第一节	糖浆剂制备	175
第二节	溶液剂制备	177
第三节	混悬剂制备	178
第四节	滴眼剂制备	179
第五节	煎膏剂制备	180

第六节	软膏剂制备	181
第七节	散剂制备	184
第八节	颗粒剂制备	185
第九节	丸剂制备	186
第十节	片剂制备	188
第十一节	栓剂制备	190
第十二节	微囊制备	191
第十三节	β -环糊精包合物制备	192
第十四节	膜剂制备	193
第二十一章	中药制剂质量评价	
	实验操作	194
第一节	相对密度测定	194
第二节	酒剂的总固体测定	196
第三节	煎膏剂的不溶物测定	197
第四节	颗粒剂的溶化性检查	198
第五节	片剂脆碎度的检查	199
第六节	崩解时限检查	200
第七节	融变时限检查	203
第八节	溶出度测定	205
第九节	溶散时限检查	211
第十节	含量均匀度检查	212

第一篇

实验室基本要求

第一章 基本要求

第一节 实验室规则

1. 学生进入实验室要按要求统一着装。
2. 进入实验室后必须严格遵守实验室规则，保持实验室内安静，不要大声喧哗。
3. 实验时应遵守操作规程，注意安全，爱护仪器，节约用水用电；注意保持工作区的整洁；纸张等固体废物应放入废物收集器内。
4. 实验课前应认真预习，明确实验目的和要求，了解实验内容、方法和基本原理。
5. 实验开始前检查仪器设备是否完整无损，安装是否正确，运行是否正常。
6. 实验中严格按照各项实验的基本操作规程认真操作，仔细观察实验现象，如实记录实验中观察到的现象和实验数据，不准随便离岗。实验中遇到疑难问题难以处理时，应及时请教实验指导教师。
7. 实验中所使用的仪器应严格按操作规程使用，使用完后应切断或关闭电源，并将仪器各旋钮恢复至原位，在仪器使用记录本上签名并记录其状态。如发现仪器有故障，应立即停止使用并报告指导教师处理。
8. 实验完毕后，应做好清洁卫生工作。仪器设备放回指定位置，保持仪器、台面、水槽等洁净，并打扫地面，最后检查门、窗、水、电、气是否关好，经指导教师签字或同意后，方可离开实验室。
9. 实验室内一切物品（仪器、试剂、药品、产品等）不得私自带离实验室。
10. 每次实验结束后，应把手充分清洗干净，方可离开实验室。

第二节 实验室安全要求

实验室开展实验教学工作，要树立“安全第一”的观念，遵守实验室的各项规章制度和要求，营造安全的工作环境。

1. 进入实验室必须穿好实验用服装,不得穿高跟鞋、拖鞋等妨碍逃生的鞋子。可能有危险的实验要带保护镜。女生长发要理好头发或戴帽,以免长发沾染化学试剂带来危险。

2. 实验室内严禁饮食、吸烟。切勿用实验容器代替水杯、餐具使用。绝不允许用舌头舔尝药品的味道。

3. 进入实验室应先熟悉实验室及其周围环境,熟知水闸、电闸、灭火器和洗眼器的位置。实验室的物品不得堵塞逃生通道。

4. 使用 As_2O_3 、 HgCl_2 等剧毒品时要特别小心,用过的废物、废液不可乱倒,应回收或加以特殊处理。手上有伤口的要戴手套,尤其是接触 NH_4F 等腐蚀性试剂时必须戴手套。

5. 使用浓酸、浓碱或其他具有强烈腐蚀性的试剂时,要戴手套、防护镜,小心操作,不要俯视容器,以防溅到脸上或皮肤上。如果溅到身上应立即用自来水冲洗,洒在试验台面上应立即用自来水冲洗而后擦掉。

6. 对易挥发的有毒或有强烈腐蚀性的液体和有恶臭的气体,应在通风橱中操作。

7. 打碎玻璃仪器要立即回收放在废玻璃箱内,以免受伤。

8. 使用电器时,要谨防触电,不要用湿的手、物去接触电源插座。电器使用完毕及时拔下电源插头,切断电源。

9. 严禁将各种化学试剂任意混合,以免引起意外事故,自行设计的实验必须经指导教师审核同意后方可进行。

10. 易燃物、易爆物使用时必须要远离火源,敞口操作。试剂用后要随手盖紧瓶塞,置阴凉处存放。

11. 有机溶剂不得在明火或电炉上直接加热,应在水浴、油浴或电热套中加热,用完应及时加盖并存放在阴凉通风处。

12. 要特别注意煤气和天然气的正确使用,严防泄露。在用煤气、天然气加热过程中操作者不得离开现场。煤气、天然气使用完毕后要关好燃气管道的阀门。

13. 使用高压气体钢瓶时,要严格按照操作规程操作。

14. 进行药理实验操作,须穿白大衣,戴帽子、口罩、手套,在实验过程中掌握正确的动物捉持及给药方法,防止动物咬伤、抓伤、注射器扎伤及药物沾染皮肤、眼睛,一旦出现上述情况立即报告指导教师进行相应处理。

第三节 实验室意外事故的防范与处理

一、实验室事故防范

1. 防火

(1) 操作时注意勿将易燃溶剂放在广口容器直火加热;加热必须在水浴中进行,切忌当附近有暴露的易燃溶剂时点火。

(2) 进行易燃物质实验时,应当养成现将酒精等易燃物质搬开的习惯。

(3) 蒸馏易燃的有机物时, 装置不能漏气, 如发生漏气时, 应立即停止加热, 检查原因。

(4) 使用大量易燃液体时, 应在通风橱内或指定的地方进行, 室内应无火源。

(5) 不得把燃着或带有火星的火柴杆或纸条等乱抛乱扔。

(6) 直火加热时, 实验者不得擅自离开实验室。

2. 防爆

(1) 易燃易爆溶剂(如乙醚、汽油等)切勿接近火源。

(2) 不能重压或撞击易爆炸固体(如重金属、乙炔化物、苦味酸金属盐、三硝基甲苯等)。

3. 防触电

(1) 使用电器前, 先了解电器对电源的要求及匹配, 选择好相应的插座或导线。

(2) 使用时必须检查好线路再插上电源, 实验结束时必须先切断电源再拆线路。

(3) 人体不得直接接触导电部分, 切勿用湿手直接接触。

二、实验室事故处理

在实验中如不慎发生意外事故, 不要慌张, 应沉着、冷静, 迅速处理。

1. 烫伤 轻微烫伤可先用清水冲洗, 再搽上烫伤油膏。如果烫伤较重, 应立即到医务室医治。

2. 酸腐蚀 溅在皮肤上, 用大量水冲洗, 用5%碳酸氢钠溶液洗涤, 再涂油膏; 溅在眼睛上, 抹去溅在眼睛外面的酸, 立即用水冲洗, 用洗眼器对准眼睛冲洗, 再用稀碳酸氢钠洗涤, 最后滴少量麻油; 溅在衣服上, 先用水冲洗, 再用稀碱水洗, 最后用水冲洗。

3. 碱腐蚀 溅在皮肤上, 用饱和硼酸溶液或1%醋酸溶液洗涤, 再涂上油膏; 溅在眼睛上, 擦去眼睛外的碱, 用水洗, 再用稀酸中和多余的碱, 再用水冲洗。

4. 割伤 小伤口可以用清水或生理盐水冲洗, 然后再用碘伏消毒, 贴上创可贴。如果伤口较大, 应立即到医务室医治。

5. 火灾 首先切断电源, 关闭煤气, 搬开易燃物品。电话报警。对可溶于水的液体着火时, 可用湿布或水灭火; 对密度小于水的非水溶性的有机试剂着火时, 用砂土灭火(不可用水); 如火势较大, 可使用 CCl_4 灭火器或 CO_2 泡沫灭火器, 但不可用水扑救, 因水能和某些化学药品(如金属钠)发生剧烈的反应而引起更大的火灾。如遇电器设备着火, 必须使用 CCl_4 灭火器, 绝对不能用水或 CO_2 泡沫灭火器。

6. 触电 遇有触电事故, 首先应切断电源, 然后在必要时, 进行人工呼吸。

7. 动物致伤 被动物咬伤、抓伤时, 应及时挤出伤口血液, 用20%的肥皂水(或其他弱碱性清洁剂)和一定压力的流动清水交替彻底清洗、冲洗所有咬伤和抓伤处, 然后用碘伏或者75%酒精涂擦伤口。尽快去卫生疾控部门进一步处理, 必要时注射出血热疫苗、狂犬病疫苗等。

第二章 实验材料

一、化学实验室材料要求

1. 化学实验室的化学药品众多，使用时应注意下列几点：

- (1) 药品应按规定量取用，如果实验教材中未规定用量，应注意节约，尽量少用。
- (2) 取用固体药品时，注意勿使其撒落在实验台上。
- (3) 药品自瓶中取出后，不应倒回原瓶中，以免带入杂质而引起瓶中药品变质。
- (4) 试剂瓶用过后，应立即盖上塞子，并放回原处，以免和其他瓶上的塞子混淆，掺入杂质。

(5) 同一滴管在未洗净时，不应在不同的试剂瓶中吸取溶液。

2. 化学实验室要有试剂库，并设置易燃易爆试剂存储柜和腐蚀品柜。试剂应放入相应的储存柜。

3. 实验室存放的试剂应标明名称、配制日期；剧毒试剂须用明显的标识表明毒性；危险化学品按照“五双”管理，即双人收发、双人记账、双人双锁、双人运输、双人使用。

二、中药实验室材料要求

1. 取样前 应注意品名、产地、规格等级及包件式样是否一致，检查包装的完整性、清洁程度以及有无水迹、霉变或其他物质污染等情况，详细记录。凡有异常情况的包件，应单独检验并拍照。

2. 取样 每一包件至少在2~3个不同部位各取样品1份，包件大的应从10cm以下的深处在不同部位分别抽取；对破碎的、粉末状的或大小在1cm以下的药材和饮片，可用采样器（探子）抽取样品；对包件较大或个体较大的药材，可根据实际情况抽取有代表性的样品。每一包件的取样量：一般药材和饮片100~500g；粉末状药材和饮片25~50g；贵重药材和饮片5~10g。

3. 平均样品 将所取供试品混匀，即为抽取样品总量。若抽取样品总量超过检验用量数倍时，可按四分法再取样，即将所有样品摊成正方形，依对角线划“×”字，使分为四等份，取用对角两份；再如上操作，反复数次至最后剩余量能满足供检验用样品量。

4. 注意事项

(1) 从同批药材和饮片包件中抽取供检验用样品原则：总包件不足5件的，逐件取

样; 5~99 件, 随机抽 5 件取样; 100~1000 件, 按 5% 取样; 超过 1000 件的, 超过部分按 1% 比例取样; 贵重药材和饮片, 不论包件多少均逐件取样。

(2) 最终抽取的供检验用样品量, 一般不得少于检验所用量的 3 倍, 即 1/3 供实验室分析用, 另 1/3 供复核用, 其余 1/3 留样保存。

(3) 实验用的药材和饮片均必须经过专家鉴定确定其正确的学名, 鉴定数据和结果作为原始资料保存。

三、实验动物及生物样本等实验材料要求

1. 实验用动物须来源清楚, 实验动物饲养条件和设施应符合相应的标准要求, 并应取得实验动物管理部门的合格证。

2. 实验结束后, 将实验动物处死, 动物尸体放置于指定位置, 等待法定专业单位处理。动物笼具消毒处理后清洗干净。

3. 动物血液和体液及其他含有感染性材料, 须经 121℃, 30min 高压消毒处理。动物器官组织与动物尸体一起放于专用冰箱, 按医疗垃圾请法定专业单位处理。

四、生物样本的种类及前处理方法

样品的采集与制备是后期各项研究的初始步骤, 也是最重要的步骤之一。实验设计中样品收集的时间、部位、种类、样本群体等应给予充分考虑。在研究人类样本时, 还需考虑饮食、性别、年龄、昼夜和地域等诸多因素的影响。此外, 代谢产物的变化对分析结果有较大的影响, 在处理生物样本时要特别注意避免由于残留酶活性或氧化还原过程降解代谢产物、产生新的代谢产物。通常需对所收集样品进行快速淬灭, 如液氮冷冻、酸处理等。

1. 生物样本的分类 生物样本包括: 血液(血清、血浆)、尿液、脑脊液、淋巴液、胆汁、粪便、唾液、细胞以及组织等, 以血液和尿液应用最为广泛。血液根据后期的处理方法不同分为血清和血浆, 血清是血液经一定时间后自然凝结成块, 去除血凝块所得的上清液; 血浆是将血液与抗凝剂混合后经离心以去除血液中的有形成分(白细胞、红细胞、血小板)所得的上清液。

2. 生物样本的制备

(1) 血浆样本的制备: 制备血浆首先需要考虑采用何种抗凝剂。抗凝剂主要有 EDTA、柠檬酸盐、肝素等。有学者认为柠檬酸盐与 EDTA 均可干扰代谢谱, 产生干扰峰, 影响内源性物质的分析, 因此, 建议选用肝素做抗凝剂。建议根据所要分析的目标代谢产物来选择适宜的抗凝剂, 亦可进行初步的筛选。

(2) 血清样本的制备: 血清的获取需要全血在室温下静置一定时间, 低于 30min 凝血不充分, 超过 60min 可能导致细胞溶解。血液在静置的过程中, 活化的血小板释放一系列代谢产物、脂类、酶类。血清中溶血磷脂酰胆碱信号较高, 含有较高的蛋白质、多肽以及次黄嘌呤和黄嘌呤、血栓素 B₂、精氨酸等。在代谢组学研究中, 为获得较为稳定的代谢产物信息, 建议采用 4℃ 下静置 30min, 采用低温离心分离制备血清样本。

(3) 尿液样本的制备: 尿液收集简单且无侵害性, 可以多次收集, 因此代谢组学

研究中尿液样本有广泛的应用。尿液中的一些细菌等微生物是改变代谢谱的主要因素，因此，通常需要加入防腐剂，应用较为广泛的是质量浓度为 0.1% 叠氮钠。一般要求在冰水的环境中进行采集。

3. 生物样本的存储 离心分离出血浆或血清后保存在 -80°C 相对稳定；保存在 -20°C ，胆红素、尿酸、胆固醇、肌酸酐、甘油三酯类 3 个月内相对稳定，但白蛋白变化显著；血清氨基酸长期保存在 -25°C 下稳定性产生变化，VitB 长期存储不稳定，甜菜碱、肌氨酸、肌酸酐相对稳定，二十碳五烯酸（EPA）、二十二碳六烯酸（DHA）保存在 -75°C 180 天是稳定的，但在 -20°C 检测到两种多不饱和脂肪酸。因此，离心后的血清、血浆应尽快分析，如需长期保存，建议保存在 -80°C 冰箱。尿液的存储环境要求在 -20°C 以下，一般存储在 -80°C 。

第三章 环境要求

第一节 动物饲养环境要求

严格控制实验动物饲养环境可保证实验动物的健康,保障实验研究获得正确的结果。因此所有购置的动物均应在动物室饲养。

一、动物室饲养环境要求

动物饲养室的室温应保持 21~26℃;相对湿度在 40%~70%之间,50%±5 最好;每小时换气 10~20 次;动物室应用明暗各 12h 或明 13h、暗 11h 的照明制度,工作照度为 150~300 勒克斯;动物室的噪音应在 60 分贝以下,SPF 级实验动物及隔离器饲养的动物饮水要求高温、高压灭菌水;饲料、垫料应在使用前消毒、灭菌处理。

二、实验动物饲养条件和设施相应标准要求

1. **普通环境(开放系统)** 只用于饲养普通级动物。
2. **屏障环境(屏障系统)** 隔离的系统内,空气须经三级过滤净化。用于饲养 SPF 级动物或清洁级动物。
3. **隔离环境** 空气需经高效过滤,洁净度达 100 级,饮水、垫料、饲料、笼具必须高压高温灭菌。用于饲养无菌动物和已知菌动物。

第二节 常见的灭菌方法

一、火焰灭菌

火焰灭菌是利用火焰直接烧灼杀灭微生物的方法。灼烧是最彻底、最简便、最迅速、最可靠的灭菌方法,适宜于对耐火焰材料的物品(金属、玻璃及瓷器等)进行灭菌。灭菌时,只需将物品在火焰中加热 20s,或将灭菌的物品迅速通过火焰 3~4 次即可。实验室中常用的火焰灼烧灭菌装置是酒精灯。

1. **操作原理** 火焰灭菌是通过火焰直接灼烧被灭菌物品,达到彻底破坏微生物而获得灭菌效果。酒精灯是以酒精为燃料的加热工具,由灯体、灯芯管和灯帽组成。酒精灯的加热温度 400~500℃,可以通过对器械的灼烧达到灭菌的目的。

2. 酒精灯灭菌操作

- (1) 准备好已装入酒精的酒精灯和火柴。
- (2) 摘下酒精灯座帽。
- (3) 用火柴点燃酒精灯。
- (4) 将物品在火焰中加热 20s, 或将灭菌的物品迅速通过火焰 3~4 次即可。
- (5) 灯帽盖到火焰上, 熄灭酒精灯。

3. 注意事项

- (1) 使用酒精灯时, 先要检查灯芯, 如果灯芯顶端不平或已烧焦, 则需要剪去少许, 使其平整。
- (2) 检查灯里有无酒精, 灯里酒精的量应大于酒精灯容积的 1/4, 少于其容积的 2/3。
- (3) 点燃酒精灯时, 左手扶灯壶, 右手提起灯帽放在灯的右边, 划火柴点燃酒精灯芯, 绝对禁止用酒精灯引燃另一盏酒精灯。
- (4) 用完酒精灯, 必须用灯帽盖灭, 不可用嘴去吹, 盖灭后再重复一次, 以避免以后使用时灯帽打不开。
- (5) 不可用嘴去吹灭酒精灯, 否则可能将火焰沿灯颈压入灯内, 引起着火或爆炸。
- (6) 使用酒精灯时应注意安全, 防止火灾。不要碰倒酒精灯, 万一洒出的酒精在桌上燃烧起来, 应立即用湿抹布或沙子扑盖。

二、干热空气灭菌

干热空气灭菌是指用高温干热空气灭菌的方法。干热空气灭菌法适用于耐高温的玻璃和金属制品以及不允许湿热气体穿透的油脂(如油性软膏基质、注射用油等)和耐高温的粉末化学药品的灭菌, 但不适合橡胶、塑料及大部分药品的灭菌。干热空气灭菌通常在干热灭菌器中或高温烘箱中进行。

1. 操作原理 细菌的繁殖体在干燥状态下, 80~100℃ 1h 可被杀死; 芽孢需要加热至 160~170℃ 2h 才杀灭。干热空气灭菌采用干热灭菌器或高温烘箱, 加热至 160~170℃ 维持 2h, 利用高温破坏菌体蛋白质与核酸中的氢键, 使蛋白质变性或凝固、核酸破坏、酶失去活性, 杀灭包括芽孢在内的所有微生物, 达到灭菌的效果。

2. 操作步骤

- (1) 清洁干热灭菌器或高温烘箱内部。将准备灭菌的物料与器械, 放入干热灭菌器或高温烘箱中, 关好箱门。
- (2) 接通电源。
- (3) 打开灭菌器电源开关。
- (4) 加热升温到一定设置的温度, 计时, 并保持相应的时间。
- (5) 到达灭菌时间后, 关闭电源开关, 停止加热, 自然冷却。
- (6) 自然冷却降温至室温, 打开干热灭菌器或高温烘箱, 取出被灭菌的物料与器械, 备用。
- (7) 切断电源, 清洁干热灭菌器或高温烘箱。