

Апарат для дослідження газообміну у дрібних тварин

М. Д. ГАЦАНЮК

1. Вступ

Газообмінний апарат нашої конструкції належить до числа апаратів, в яких вивчається газовий обмін у тварин, тобто визначається кількість увібраного тваринами кисню і кількість виділеної ними вуглекислоти.

Відрізняється цей апарат від відомих аналогічних апаратів тим, що його структура побудована на поєднанні двох принципів:

- 1) об'ємного визначення кількості увібраного кисню і
- 2) титраційного способу визначення кількості виділеної вуглекислоти.

Я мав на меті створити апарат для дослідження газообміну у дрібних тварин, оскільки, за відомостями, які є в моєму розпорядженні, в Радянському Союзі такі апарати не випускаються. Конструюючи апарат, я поставив перед собою завдання спростити методику вивчення газообміну, забезпечити можливість динамічного вивчення газообміну й одержувати вточнені дані.

Апарат нашої конструкції має ряд економічних і технічних переваг. Насамперед слід відзначити, що він звільняє дослідника від необхідності користуватися аналітичними терезами з великим навантаженням (до 1 кг) і високою чутливістю, які потрібні для визначення вуглекислоти ваговим способом (при цьому способом зважують дві банки з натронним вапном, яке вбирає вуглекислоту). Запропонований нами апарат дає велику економію часу в порівнянні з ваговим способом.

Оскільки кисень визначається об'ємним способом, а об'єм газу залежить від температури, — вся установка для дослідження газообміну вміщена в акваріум з постійною температурою.

При ваговому способі в акваріум поміщають дві банки з натронним вапном. Перед тим банки зважують на аналітичних терезах. Натронне вапно вбирає вуглекислоту. Коли досліджувана тварина побула в апараті потрібний для проведення визначень час, апарат спиняють. Тоді банки з натронним вапном треба відокремити від усієї установки, закрити трубки, щоб через них не увійшла вода, вийняти банки з акваріума, старанно їх обсушити до такого стану, в якому вони були перед зануренням в акваріум, дати їм прохолоннути до температури в кімнаті, де знаходяться терези, і зважити на аналітичних терезах. На це потрібно стільки часу, скільки тварина не може залишатися без циркуляції повітря, бо вона не може задовольнитися тим запасом кисню, який є в банці; до того ж за цей час може нагромадитись надто багато вуглекислоти аж до утворення нефізіологічних її концентрацій. Інакше кажучи, якщо треба визначити вуглекислоту, то доводиться виймати тварину з

апарата. Щоб продовжити після такої перерви спостереження за виділенням вуглекислоти, треба занурити зважені банки в акваріум, з'єднати їх з відповідними частинами апарата і зачекати деякий час, поки температура прохолодих банок не зрівняється з температурою води в акваріумі. Отже, при ваговому способі визначення вуглекислоти витрачається дуже багато часу.

Для визначення вуглекислоти нашим титраційним способом потрібно мало часу, бо банок (вульфівих склянок) з розчинами їдкого барію, який вбирає вуглекислоту, не треба виймати з акваріума. Їх тільки піднімають настільки, щоб з води показалися закриті скляні трубки, які проходять через середній тубулус склянки і закінчуються під поверхнею розчину їдкого барію.

Через ці трубки провадиться набір їдкого барію для титрації. Підняття банок, змонтованих на підставці, потребує 1—2 сек. (автоматична заскочка). Набір з банок розчинів (з кожної банки дві проби по 1—2 мл) також потребує дуже мало часу (півхвилини).

Після набору скляні трубки закривають скляними паличками, банки опускають в акваріум, пускають в дію насос і продовжують дослідження. Титрація забирає менше часу, ніж зважування. Отже, об'ємний спосіб заощаджує багато часу.

Важливою перевагою нашої конструкції є можливість провадити часті визначення вуглекислоти через будь-які короткі інтервали часу, не виймаючи тварин з апарата і не виймаючи банок з розчином їдкого барію. Отже, конструкція дозволяє безперервно стежити за динамікою всього газообміну. Двох банок з 800 мл розчину їдкого барію вистачає для вбирання вуглекислоти при роботі з щурами приблизно на 3—4 год. залежно від ваги щура.

Визначення вуглекислоти провадиться з більшою точністю, ніж при ваговому способі, оскільки застосування вагового способу зв'язане з рядом моментів, які знижують його цінність. Вийняті з води банки важко обсушити точно до такого самого стану сухості, в якому вони були перед зануренням в акваріум при зважуванні. Далі, банки, вийняті з акваріума, повинні прохолонути до кімнатної температури. При зважуванні не зовсім охолодих банок виникає друга помилка. Якщо ж чекати, поки температура двох банок зрівняється з кімнатною, витрачається багато часу.

II. Опис приладу

Прилад складається з чотирьох основних частин:

а) акваріума; в ньому і на його бортах розміщена основна газообмінна установка;

б) нагрівача під акваріумом;

в) терморегулятора в акваріумі;

г) мішалки для перемішування води в акваріумі.

Креслення складаються з таких фігур:

1. Манометр, наповнений будь-якою підфарбованою рідиною, наприклад водою, підфарбованою метиленовою синькою.

2. Насос нагнітально-відсмоктувальний (типу насоса Лейтца).

3. Банка, в яку садовлять дрібну тварину, наприклад щура.

4. Мотор і мішалка.

5. Дві вульфіві склянки, кожна ємкістю 1 л.

В кожену склянку наливають 800 мл розчину їдкого барію. Середній тубулус закритий гумовою пробкою, через яку проходить скляна трубка, яка закінчується на 2 см під поверхнею розчину барію. Зверху на скляну трубку надягнена гумова трубка, закрита скляною паличкою.

6. Шків до мішалки.

7. Циліндр, який запобігає попаданню в банку № 5 сірчаної кислоти з банки № 8.

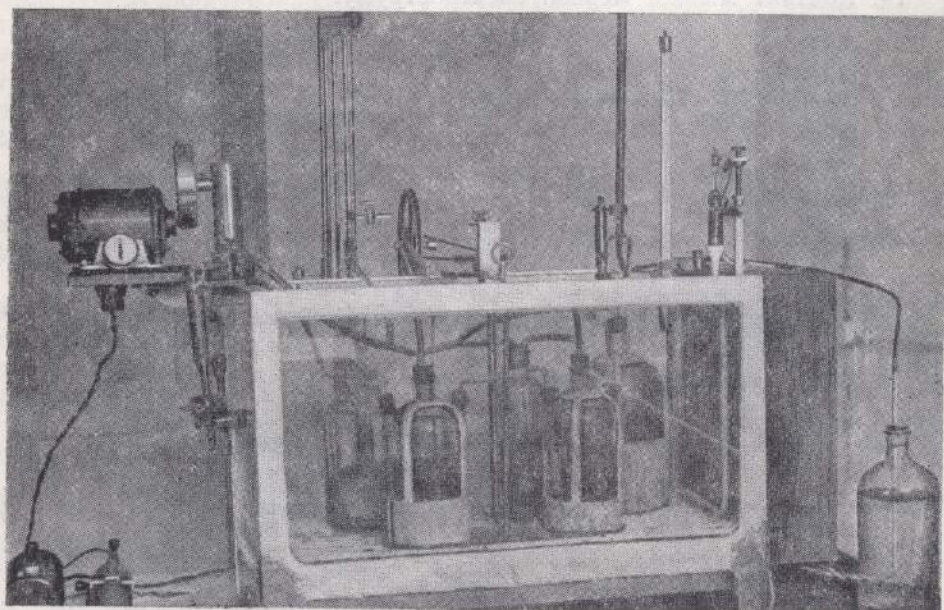


Рис. 1. Загальний вигляд газообмінного апарата для дрібних тварин.

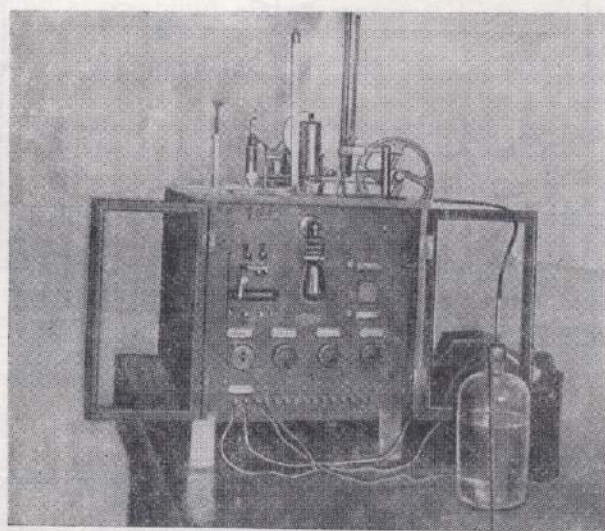


Рис. 2. Управління терморегуляційною частиною апарата.

8. Банка (приблизно на 800 мл) з концентрованою сірчаною кислотою (500 мл) для вбирання водяної пари.

9. Банка ємкістю приблизно 3 л, наповнена киснем.

10. Бюретка на 50 мл.

11. Змійовик для нагрівання води, яка надходить у банку № 9 з бюретки № 10.

12. Банка з водою приблизно на 2—3 л.
 13. Гумова груша для накачування води з банки № 12 в бюретку № 10.
 14. Контакт міської мережі електроструму.

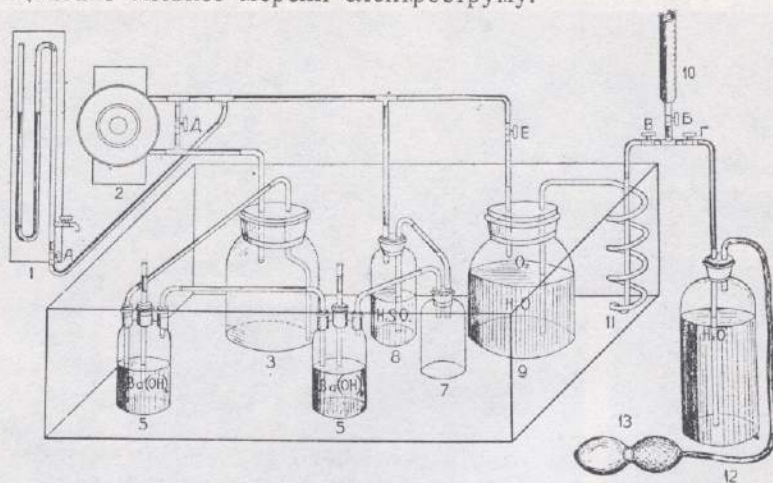


Рис. 3. Схема газообмінної установки.

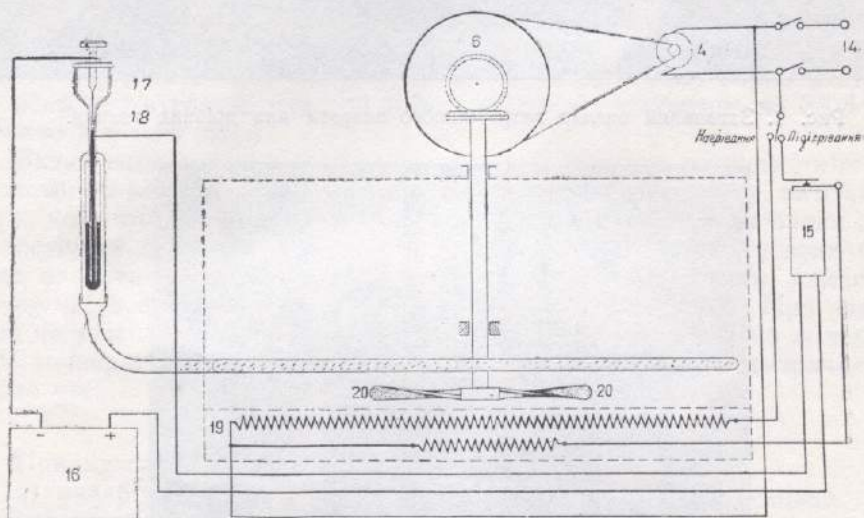


Рис. 4. Схема підігрівання і терморегуляції.

15. Котушка реле.
 16. Акумулятор на 4 в або відповідний випрямляч міського струму.
 17. Платиновий контакт терморегулятора.
 18. Толуол.
 19. Спиральний нагрівач під акваріумом.
 20. Крила мішалки.
 Термометр Бекмана на кресленні не показаний.
 № 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 складають власне газообмінну установку (рис. 3).
 № 4, 6, 20 — складають мішалку.
 № 14, 19 — забезпечують нагрівання.
 № 15, 16, 17, 18 — терморегулятор (рис. 4).

III. Обладнання і дія приладу

Газообмінна установка являє собою закриту систему, в якій циркулює нагнічуване насосом повітря. З нагнітально-відсмоктувального насоса (№ 2) повітря надходить у банку (№ 3), в яку посаджена дрібна тварина. Банка має широку шийку, закриту гумовою пробкою. Через пробку проходять дві скляні трубки. Повітря надходить через привідну трубку, яка закінчується під пробкою. Відвідна трубка злегка зігнута, щоб не заважати рухам тварини. Вона доходить майже до дна банки, бо вуглекислота важча, ніж повітря.

Прилад діє так. Спочатку приводиться в дію мішалка. Вмикають мотор (№ 4), вміщений ззаду за акваріумом. Він обертає шків (№ 6) мішалки. Крила мішалки (№ 20) розмішують воду, нагріту знизу, і забезпечують по всьому акваріуму однакову температуру води.

Одночасно вмикають нагрівач. При вмиканні нагрівача струм від міської сітки через контакт (№ 14) надходить в спіралі (№ 19), розташовані під акваріумом, і швидко нагрівають воду. Дальше нагрівання провадиться обережніше, шляхом вимкнення нагрівача і включення підігрівача і регулятора. На правій стінці акваріума змонтовано управління терморегуляційною частиною апарата у вигляді шафки, що закривається. Вона показана на рис. 2.

Терморегулятор складається з металевого змійовика, наповненого толуолом і розташованого на дні акваріума. При нагріванні води толуол розширюється і піднімає рівень ртуті терморегулятора. Встановлюється контакт між ртуттю і платиновим контактом (№ 17) і замикається струм від акумулятора (№ 16). Цей струм, поступаючи в котушку реле, викликає розрив контакту міської мережі (№ 14), і нагрівання припиняється.

Температуру в акваріумі відрегульовують і підтримують з точністю до $0,01^{\circ}\text{C}$. Для спостережень за коливаннями температури служить термометр Бекмана (на кресленні він не показаний, його видно на фото 1 і 2).

Коли температура в акваріумі підвищується до потрібного рівня (для щурів 29°C), пускають в дію газообмінну установку, спочатку без тварини, щоб установка якомога скоріше прийняла таку саму температуру. Водночас їдкий барій вбирає вуглекислоту повітря, яке є в усіх частинах газообмінної установки. Коли температура всіх банок газообмінної установки зрівняється з температурою акваріума (це видно з того, що в приєднаному до газообмінної установки манометрі рівень води більше не змінюється), тоді циркуляцію повітря в установці припиняють і титрують обидва розчини їдкого барію. Після цього садовлять тварину і починають провадити спостереження.

IV. Визначення кількості увібраного кисню

Визначення кількості увібраного кисню провадиться так. За допомогою груші (№ 13) накачують повітря в банку (№ 12) і наповнюють водою з цієї банки бюретку (№ 10). Відкривши кран В, наповнюють водою і змійовик (№ 11). Після цього відкривають кран А до манометра. Вода з бюретки і змійовика, переходячи в банку (№ 9), витискує з неї кисень, який надходить в банку з твариною, а надмір кисню понад барометричний тиск, якщо вийняти тепер кран Д, виходить через цей кран і, таким чином, в банці для тварини встановлюється барометричний тиск, а в манометрі обидва коліна з рідиною встановлюються на однаковому рівні. Тепер садовлять тварину в банку (№ 3), кран Д закривають і пускають в дію насос. Повітря в системі циркулює безперервно. Кіль-

кість кисню в системі поступово зменшується в зв'язку з тим, що його споживає тварина, і тиск знижується.

Вуглекислоту, яку виділяє тварина, повітряний потік заносить у дві банки (№ 5), а в них її вбирає їдкий барій. Якщо тепер через деякий час спинити насос і повернути кран *A* на з'єднання з манометром і кран *D* на з'єднання присмоктувальної частини з нагнітальною, то манометр покаже підняття рівня рідини в найближчому коліні (присмоктування) внаслідок увібрання твариною кисню. Тоді ми з бюретки, відкривши крани *B* і *B*, впускаємо у банку стільки води, скільки потрібно, щоб рівні рідини в манометрі зрівнялися. Цим ми впускаємо в систему стільки кубічних сантиметрів кисню, скільки спожила тварина.

Отже, відлік кількості кубічних сантиметрів увібраного за даний інтервал часу кисню провадиться шляхом визначення по бюретці кількості впущеної води, яка витиснує відповідну кількість кубічних сантиметрів кисню. Відлік, звичайно, можна робити коли завгодно, через будь-які проміжки часу.

Для маленьких щурів можна робити відлік через кожні 5 хв., а для середніх і великих щурів краще робити визначення двічі протягом п'ятихвилинного проміжку. Потім підраховують кількість кисню, витраченого твариною за годину на 1 кг ваги.

V. Визначення кількості виділеної вуглекислоти

Коли тварина (щур) просидить в апараті необхідний час, наприклад годину, мотор спиняють. Вуглекислота, виділена твариною за цей час, увібрана розчином їдкого барію, що є в двох банках (№ 5). Обидва ці розчини титрують, і по різниці між цим титром і титром перед посадкою тварини обчислюють кількість увібраної вуглекислоти. Титрація розчинів їдкого барію провадиться розчином N/100 шавлевої кислоти. Розчин їдкого барію беруть за допомогою двомілілітрової циліндричної мікропіпетки. З кожної банки набір роблять мінімум двічі.

Наведемо дані одного досліду.

11. VI. Щур № 4 вагою 204 г.

Інтервал			Вбирання кисню, см ³
1 год.	13,0	хв. (посадовлено щура)	
1 "	15,0	"	8,7
1 "	17,5	"	17,6
1 "	20,0	"	18,7
1 "	22,5	"	22,5
1 "	25,0	"	22,7
1 "	27,5	"	18,7
1 "	30,0	"	19,7
1 "	32,5	"	18,0
1 "	35,0	"	16,0
1 "	37,5	"	16,2
1 "	40,0	"	17,0
1 "	42,5	"	20,0
1 "	45,0	"	17,5
1 "	47,5	"	15,0
1 "	50,0	"	16,7
1 "	52,5	"	18,4
1 "	55,0	"	19,0
1 "	57,5	"	18,1
2 "	00,0	"	20,0
2 "	03,0	"	23,0
За 50 хв.			364,0
" 60 "			437,0

Визначення вуглекислоти

I банка

II банка

Об'єм їдкого барію
794 млпісля первинної титрації
794 мл.

На 2 мл їдкого барію до посадки тварини було застосовано N/100 щавлевої кислоти

31,97

31,67.

На 2 мл їдкого барію після посадки тварини було застосовано N/100 щавлевої кислоти

27,4

30,05

27,3

29,92

Середнє 27,35

Середнє 29,98.

Банки з їдким барієм втратили в міцності

$$\frac{794 \cdot 4,62}{2} = 1834,14 \text{ мл N/100 (COOH)}_2$$

$$\frac{794 \cdot 1,69}{2} = 670,93 \text{ мл N/100 (COOH)}_2.$$

Обидві банки втратили в міцності

$$\begin{array}{r} 1834,14 \text{ мл} \\ + 670,93 \text{ " } \\ \hline 2505,07 \text{ мл} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{N/100 (COOH)}_2 \\ " \\ " \end{array}$$

Зменшення міцності розчинів їдкого барію пояснюється тим, що їдкий барій увібрав вуглекислоту; 1 мл N/100 (COOH)₂ еквівалентний 1 мл N/100 CO₂.1 мл N/100 CO₂ містить 0,22 мг CO₂, а оскільки 1 см³ CO₂ при нормальному барометричному тиску і при нормальній температурі важить 0,508 мг, то 1 мл N/100 (COOH)₂ відповідає 0,11176 см³ CO₂ (0,22 × 0,508).Очевидно, обидві банки з їдким барієм увібрали за 50 хв. 2505 × 0,11176 = 280 см³ CO₂, а за 60 хв. — 336 см³ CO₂.Дихальний коефіцієнт — $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ становитиме $\frac{336}{437} = 0,768$.

На 1 кг ваги вбирання кисню за годину становить

$$\frac{437 \cdot 1000}{204} = 2142 \text{ см}^3, \text{ а виділення вуглекислоти} = 1647 \text{ см}^3.$$

Апарат нашої конструкції можна змонтувати в кожній лабораторії. Треба тільки мати акваріум або велику скляну відкриту банку. Можна обійтися без механічної мішалки і без електричного нагрівання, бо розмішувати воду можна вручну, дерев'яною лопаточкою, а температуру можна підтримувати, підливаючи холодну або гарячу воду.

Апарат, зображений на фото, змонтовано й електрифіковано в майстернях при Інституті експериментальної біології і патології ім. акад. О. О. Богомольця в Києві.

Інститут експериментальної біології і патології, Київ.

Аппарат для исследования газообмена у мелких животных

М. Д. Гацанюк

Резюме

Газообменный аппарат нашей конструкции относится к таким аппаратам, которыми определяется количество кислорода, поглощенного животными, и количество выделенной ими углекислоты. Отличается этот аппарат от известных аналогичных аппаратов тем, что он основан на объединении двух принципов:

- 1) объемного определения количества поглощенного кислорода и
- 2) титрационного способа определения количества выделенной углекислоты.

Газообменная установка представляет собою закрытую систему, в которой циркулирует прогоняемый насосом воздух. Из присасывающего нагнетающего насоса воздух поступает в банку, куда посажено мелкое животное. Воздух в системе циркулирует непрерывно. Углекислота, выделяемая животным, заносится током воздуха в две банки и в них поглощается раствором едкого бария. Количество поглощенной углекислоты за определенный промежуток времени устанавливается по разнице титров растворов едкого бария до посадки животного в аппарат и после окончания опыта.

Определение количества поглощенного за данный интервал времени кислорода производится путем отсчета по бюретке количества впущенной воды, которая вытесняет соответствующее количество имевшегося кислорода. Отсчет можно делать через любые желательные промежутки времени.

Так как кислород определяется объемным способом, а объем газа зависит от температуры, — вся установка для газообмена помещается в наполненный водой аквариум, в котором при помощи терморегуляционного приспособления поддерживается постоянная температура.

Аппарат нашей конструкции значительно упрощает методику изучения газообмена, дает более точные данные, возможность динамического изучения газообмена и значительную экономию времени сравнительно с весовым способом определения углекислоты.