

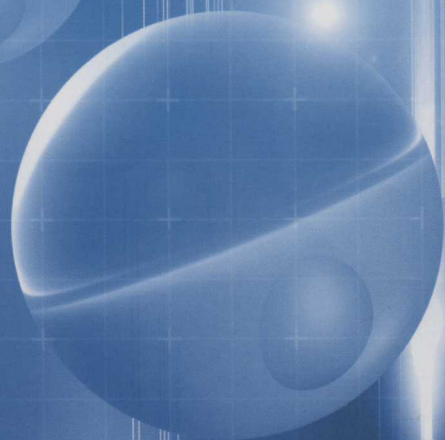
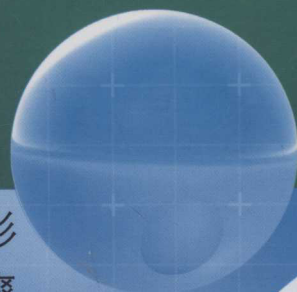
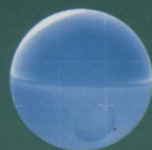
环境毒理学研究技术与方法

HUANJINGDULIXUEYANJIUJISHUYUFANGFA

高等学校“十二五”规划教材



市政与环境工程系列研究生教材丛书



主 编 李永峰 王 兵 应 杉
副主编 李 超 张植平 郜 爽



哈尔滨工业大学出版社
HARBIN INSTITUTE OF TECHNOLOGY PRESS

市政与环境工程系列研究生教材丛书
高等学校“十二五”规划教材

环境毒理学研究技术与方法

主 编	李永峰	王 兵	应 杉
副主编	李 超	张植平	邵 爽
主 审	周雪飞		

哈尔滨工业大学出版社

内 容 简 介

本书主要介绍环境毒理学的实验基础理论和方法以及新兴现代毒理学技术。各位编者在长期实践所用讲义的基础上,参考了近几年来国内外出版的有关环境毒理学教材与实验技术的教材和专著,结合近年来环境毒理学的发展和环境保护工作者对于实验指导书的强烈要求编写而成。本书分为三篇:环境毒理学常用研究方法,基础毒理学实验,综合性毒理学实验。

本书可作高年级本科生、研究生的教学用书,亦可作为科研人员的研究实验用书和相关专业人士的培训教材。

图书在版编目(CIP)数据

环境毒理学研究技术与方法/李永峰,王兵,应杉
主编. —哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2011.10
ISBN 978 - 7 - 5603 - 3402 - 8

I . ①环… II . ①李…②王…③应… III . ①环境毒
理学-研究方法 IV . ①R994.6 - 3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 212168 号

策划编辑 贾学斌 王桂芝
责任编辑 李广鑫
出版发行 哈尔滨工业大学出版社
社 址 哈尔滨市南岗区复华四道街 10 号 邮编 150006
传 真 0451 - 86414749
网 址 <http://hitpress.hit.edu.cn>
印 刷 黑龙江省委党校印刷厂
开 本 787mm×1092mm 1/16 印张 23 字数 554 千字
版 次 2011 年 10 月第 1 版 2011 年 10 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978 - 7 - 5603 - 3402 - 8
定 价 45.00 元

(如因印装质量问题影响阅读,我社负责调换)

《市政与环境工程系列研究生教材丛书》编审委员会

名誉主任委员 任南琪

主任委员 周琪

执行主任委员 李永峰

委员 (按姓氏笔画顺序排列)

马放	冯玉杰	王鹏	王爱杰	王晓昌
刘广民	刘鸣达	刘勇弟	孙德志	李玉文
李盛贤	吴晓芙	张国财	张颖	汪群惠
郑天凌	季宇彬	周雪飞	赵丹	赵庆良
赵晓祥	姜霞	徐春霞	徐菁利	黄民生
曾光明	楼国庭	蔡伟民	蔡体久	颜涌捷

《环境毒理学研究技术与方法》编写人员与分工

主编 李永峰 王兵 应杉

副主编 李超 张植平 郜爽

主审 周雪飞

委员 李永峰:第1~3章

王兵:4~6章

应杉:7~10章

郭东璞:11~12章

张植平:实验1~10

张敏:实验11~20

李超:实验21~27

魏高亮:实验28~35

郜爽:实验36~45

王兵:实验46~55

王德鑫:实验56~65

刘方婧、王东阳:实验66~70

郭东璞、王德鑫、王兵:

图表制作与资料整理

前 言

环境毒理学是运用物理学、化学、医学和生命科学等多种学科的理论和方法,研究各种环境因素,特别是化学污染物对生物有机体的损害作用及其规律的一门新兴边缘学科。它是研究和理解环境与健康、环境与生态平衡、环境与生物多样性等重要问题的工具和手段,是环境科学和毒理学的一个分支。其主要任务是研究环境污染物质对机体可能发生的生物效应、作用机理及早期损害的检测指标,为制定环境卫生标准做好环境保护工作提供了科学依据。因此,学习和掌握环境毒理学的基本理论和方法,对于认识环境问题的实质并寻求解决环境问题的途径是必不可少的。

本书主要介绍环境毒理学的实验基础方法以及研究技术。作者在长期实践所用讲义的基础上,参考了近几年来国内外出版的有关环境毒理学教材与实验技术的教材和专著,结合近年来环境毒理学的发展和环境保护工作者对于实验指导书的要求而编写的。本书分为三大部分,从环境毒理学常用研究方法、基础毒理学实验、综合性毒理学实验三部分来阐述环境毒理学的主要内容。李永峰、王兵和应杉任主编,李超、张植平和郜爽任副主编,周雪飞任主审。

本书的出版得到东北林业大学研究生精品课程建设项目(2010)、上海工程技术大学主持的“上海市科委重点科技攻关项目(No. 071605122)”和东北林业大学主持的“溪水林场生态公园的生态规划与建设项目(No. 43209029)”的技术成果和资金的支持,特此感谢!由于编者业务水平和编写经验有限,书中难免存在不足之处,希望有关专家、老师及同学们随时提出宝贵意见,使之更臻完善。具体事宜可与李永峰教授联系(mr_lyf@163.com)。

编 者

2011 年 8 月

目 录

第一篇 环境毒理学常用研究方法

第1章 毒理学实验的一些基本操作.....	3
1.1 动物的准备	3
1.2 动物分组	6
1.3 毒物的准备	7
1.4 生物材料的采集和制备	8
1.5 实验动物的解剖检查.....	12
1.6 实验动物的处死法.....	13
1.7 预备实验.....	13
第2章 常用染毒技术	15
2.1 染毒途径的选择.....	15
2.2 经口染毒法.....	15
2.3 注射染毒法.....	16
2.4 吸入染毒法.....	17
2.5 气管注入法.....	19
2.6 经皮(黏膜)染毒法	19
第3章 毒理学研究的实验设计与统计分析	20
3.1 毒理学实验研究设计的原理和方法.....	20
3.2 毒理学研究资料的统计分析方法.....	30
3.3 毒理学实验的统计学要点.....	43
3.4 毒理学研究的统计分析软件.....	45
3.5 统计学意义、生物学意义和毒理学意义	47
3.6 毒性实验的常用参数.....	49
3.7 实验结果的判断.....	50
3.8 毒理学实验的影响因素.....	53

第4章 急性毒性实验	56
4.1 急性毒性实验概述	56
4.2 哺乳动物的急性毒性实验	57
4.3 水生动物毒性实验	62
第5章 毒物蓄积的研究方法	64
5.1 物质蓄积的研究方法	64
5.2 功能蓄积的研究方法	65
5.3 蓄积率的测定方法	66
第6章 亚慢性和慢性毒性实验	67
6.1 亚慢性毒性实验	67
6.2 慢性毒性实验	69
第7章 致癌性实验	72
7.1 长期动物实验	72
7.2 短期筛检方法	74
第8章 致突变性实验	77
8.1 理论概念	77
8.2 致突变作用后果	78
8.3 致突变实验环境样品的采集和前处理	79
8.4 常用的致突变实验法	80
第9章 致畸性实验	87
9.1 基本概念	87
9.2 致畸实验	88
第10章 转基因动物模型	95
10.1 非靶向整合	95
10.2 基因打靶	96
10.3 转基因动物的鉴定和保种	96
第11章 化学物质的毒理学安全性评价程序	100
11.1 毒理学安全性评价程序的内容	100
11.2 现有的化学物安全性毒理学评价程序	103
第12章 毒理学替代法	109
12.1 替代法的概念	109

12.2 替代方法的验证	110
--------------------	-----

第二篇 基础毒理学实验

实验 1 动物实验的一般操作技术	115
实验 2 鱼类的急性毒性实验	121
实验 3 经呼吸道急性染毒实验	124
实验 4 经口急性毒性实验	126
实验 5 单细胞凝胶电泳技术	129
实验 6 枝角类急性毒性实验	133
实验 7 重金属对鱼肝过氧化氢酶的影响	136
实验 8 环境内分泌干扰物的筛选——人体乳腺癌细胞(MCF7)的增殖实验	139
实验 9 蚕豆(<i>vicia faba</i>)根尖微核测试技术	142
实验 10 水生生态系统藻类毒性实验	145
实验 11 生物标志物实验——水生动物谷胱甘肽转移酶活性测定	149
实验 12 发光菌的生物毒性测试方法	153
实验 13 原生生物刺泡突变实验	157
实验 14 蚯蚓急性毒性实验	159
实验 15 斑马鱼胚胎发育实验	163
实验 16 血清乳酸脱氢酶活性的测定	166
实验 17 肝微粒体制备及苯胺羟化酶活力的测定	169
实验 18 水生蚤类繁殖实验	172
实验 19 藻类生长抑制实验	174
实验 20 微宇宙生态系统毒性实验	178
实验 21 中宇宙生态系统毒性实验	180
实验 22 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬实验	182
实验 23 血清谷丙转氨酶的测定	185
实验 24 动物骨髓细胞染色体畸变分析	188
实验 25 鼠伤寒沙门菌营养缺陷型回复突变实验	191
实验 26 哺乳动物长期致癌实验	195
实验 27 以杆状病毒为载体的真核基因表达	197
实验 28 致敏实验	200
实验 29 哺乳动物致畸实验	203
实验 30 大鼠体外全胚胎培养实验	207

实验 31	变态反应检测实验——皮肤变态反应测定	211
实验 32	生殖毒性实验	214
实验 33	神经毒性评价实验——迟发性神经毒性实验	217
实验 34	心血管毒理学体外研究实验	222
实验 35	皮肤变态反应和皮肤光毒性实验	224
实验 36	皮肤接触性荨麻疹实验	228
实验 37	宿主抵抗力实验	231
实验 38	淡水螺的毒理学实验	236
实验 39	农药对蜜蜂的毒性安全评价	238
实验 40	杀虫剂抑制昆虫乙酰胆碱酯酶活性的测定	241

第三篇 综合性毒理学实验

实验 41	根据消化细菌的相对代谢率检测环境污染物的综合生物毒性	245
实验 42	气相色谱法测定牛乳中有机磷类农药残留量	249
实验 43	体外哺乳动物细胞染色体畸变实验	251
实验 44	鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物肝微粒体致突变性实验	255
实验 45	杀虫剂对昆虫表皮的穿透作用测定	262
实验 46	杀菌剂对菌体物质合成的测定	264
实验 47	除草剂对植株体内乙酰乳酸合成酶活性的影响	266
实验 48	农药对鸟类的毒性安全评价	268
实验 49	农药对蚯蚓的毒性安全评价	271
实验 50	植物酶类对污染物的响应	275
实验 51	农药对土壤微生物呼吸作用的毒性安全评价	279
实验 52	哺乳动物经口毒性实验	281
实验 53	梨形四膜虫的毒性实验	284
实验 54	有机磷农药对乙酰胆碱酯酶活性的体外抑制实验	287
实验 55	紫露草微核实验	290
实验 56	有机磷农药对鱼 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的影响	293
实验 57	紫露草雄蕊毛突变生物测试	296
实验 58	人体外周血淋巴细胞姐妹染色单体互换实验	298
实验 59	大肠杆菌感受态细胞的制备与转化	302
实验 60	双向电泳法评估海洋环境中过氧化物酶体增殖污染物	306
实验 61	FRAP-PCR 检测环境污染物引起的基因表达的改变	310

实验 62	果蝇伴性隐性致死实验	314
实验 63	整体原位杂交检测环境干扰下组织特异性基因的表达	317
实验 64	浮萍的生态毒理学实验	321
实验 65	T 淋巴细胞功能检测实验	329
实验 66	哺乳动物细胞体外恶性转化实验	336
实验 67	普鲁卡因小鼠腹腔注射 LD_{50} 的测定	339
实验 68	RLGS 检测基因突变	342
实验 69	单细胞凝胶电泳	347
实验 70	环境微生物菌群指纹图谱的建立	351

第一篇

环境毒理学常用研究方法

第1章 毒理学实验的一些基本操作

为了保证毒理实验顺利有效地进行,在实验前需要做好充分的准备。这一章就实验动物的准备、毒物的准备和动物生物材料准备等相关事宜作详细的介绍。

1.1 动物的准备

实验动物的准备是毒理学研究工作中的重要基础,它是获得正确实验研究结果的先决条件之一。实验中常选用温血动物,如兔、豚鼠、大鼠、小鼠,有时也用猴、狗、猫等稍微大一些的动物。实验动物的准备工作按程序包括选择实验动物、编号与标记、固定和麻醉等主要步骤。

1.1.1 选择实验动物

1. 种属的选择

所选择的实验动物首先一定要在机体反应上尽量近似于人体,满足实验的要求;其次要尽量选择易获得、易饲养、易管理的动物作为毒理学实验的材料。可根据受检物质的化学结构、理化性质,查阅同系物或类似毒物的毒理资料,选择最敏感、最合适的动物作为实验对象。

由于种属的差异,不同实验动物对同一毒物的毒性反应并不一致。例如,苯对兔作用可引起白细胞减少及造血器官发育不全,这一现象改变和对人体的作用相似,但是在狗身上却出现完全不同的反应,即白细胞增多及脾脏和淋巴结增殖;苯胺及其衍生物能在狗、猫、豚鼠身上引起与人体相似的病理变化,产生变性血红蛋白,但在兔身上却不易产生变性血红蛋白,而在小鼠身上则完全不产生。不同种属的动物对同一毒物在反应上的差异,要求人们一定要选择在机体反应上尽量近似于人体的实验动物,这无疑需要一个大量资料积累的过程才能做到。但是,不同动物对同一毒物的不同反应,有时可在一定程度上能更好地阐明毒物的作用机理。为此,当对毒物作用尚不清楚的化学物质进行实验研究时,最好选用几种不同种属的动物进行实验,必要时可先用小动物进行实验,并在此实验结果基础之上再在大动物(如狗、猴等)身上进行复验。

借助已有的大量毒理学研究资料,可以根据实验要求直接选择适宜的实验动物。

(1) 研究气体、蒸气对黏膜的刺激作用时,猫是最好的选择。

(2) 研究毒物对皮肤的局部作用,最好选用豚鼠或兔,因为它们的皮肤对刺激物的反应近似于人。

(3) 研究过敏性反应时,最好选用豚鼠,因为豚鼠易于致敏。动物接受致敏的程度顺序为:豚鼠>家兔>狗>小鼠>猫。

(4) 狗、猫适用于观察致呕吐作用的实验研究,草食动物如兔、豚鼠不易产生呕吐。

(5) 研究外界环境因素引起机体体温过高及体温过低的反应,常使用兔或猫。对于体

温调节不稳定的动物如大鼠、小鼠则不适用这样的实验。

(6) 狗、兔、大鼠易出现血压变化,是研究高血压病理的良好实验动物。

(7) 在研究物质的致癌作用时,常用的实验动物是小鼠和大鼠。应注意,由于不同种系自发性肿瘤的发病率不同,因此可影响诱发肿瘤的实验结果。

(8) 研究慢性中毒损害实质性脏器的毒物时,最好选用小鼠,因为其实质性脏器特别容易罹患病变。

2. 个体选择

动物对毒物的反应存在个体差异。为了减少实验误差,在动物的选择上,除了注意种属选择外,还应注意个体选择。个体选择包括动物年龄、体重、性别、生理状态和健康状况 5 个方面。

(1) 年龄。幼年动物由于组织和生理功能方面未发育成熟,其中枢神经系统、肾功能、血脑屏障作用、血浆蛋白的结合能力以及某些酶系统的活性等都较成年动物差,因而对毒物一般比成年动物敏感。在实验研究中应根据研究目的来选择适龄的动物。在急性实验中,为了观察毒性或中毒症状,最好选用成年动物。

(2) 体重。在同一批实验中,选用动物体重尽可能一致,若体重相差悬殊,则易增加动物反应的个体差异,从而影响实验结果的正确性。

(3) 性别。同一群体中,不同性别的个体对实验毒物的感受性有所不同,应在实验中根据目的加以考虑。实验若对动物性别没有特殊要求的话,一般选用雌雄各半。

下面介绍几种实验室常用的实验动物的性别鉴定方法:

① 大鼠和小鼠的性别鉴定,见表 1.1。

表 1.1 雌鼠和雄鼠的鉴别

雄 性	雌 性	备 注
生殖器离肛门较远,阴部有毛,生殖器呈圆尖形突出,会阴处有睾丸,有时升入腹腔	生殖器离肛门较近,生殖器和肛门间无毛,生殖器呈圆形且有凹槽和阴道开口,胸腹部有明显的乳头(大鼠 6 对,小鼠 5 对)	仔鼠性别主要以生殖器距肛门远近来鉴别,雄性距离远,雌性距离近

② 豚鼠的性别鉴定。一只手捉拿动物,另一只手扒开其靠生殖器孔的皮肤,雄性动物则在圆孔中露出性器官的突起,雌性动物则显出三角形间隙,成年的雌性豚鼠还可见到两个乳头。

③ 家兔的性别鉴定。实验者可轻轻地将兔头夹在左侧腋窝下,左手按住动物腰背部并固定一个后肢,右手则向后拉开动物的尾巴并夹在无名指与中指之间,而后用拇指与食指轻轻把生殖器附近的皮肤扒开。雄兔则可见一圆形孔中露出圆锥形稍向下弯曲的阴茎(幼年动物则不明显,但可看到凸起物)。气温高时雄性的家兔睾丸可离开腹腔进入阴囊。雌兔有一条朝向尾巴的长缝,呈椭圆形的间隙,且间隙越向下越窄,此即为阴道开口处,此外雌兔有较大的 8~12 个乳头。

(4) 生理状态。动物的生理状态,如怀孕、哺乳等对实验结果造成很大的影响,因此通常实验均不宜采用处于特殊生理状态的动物进行。但为了某种特定的实验目的,如阐明毒物对生殖功能和后代的毒作用,则大鼠、小鼠是最适用的实验动物,因为它们全年都有发情周期的循环,并且生殖周期短,便于进行实验观察。

(5) 健康状况。动物的健康状况对实验结果正确与否有直接的影响。健康的动物体型丰满,发育正常,被毛浓密有光泽且紧贴身体,眼睛明亮活泼,行动迅速,反应灵敏,食欲良好。对于慢性实验用的动物,尤其是大动物,除了上述一般观察外,应对每只动物作全身仔细的健康检查,主要检查项目包括眼睛、耳、鼻、皮肤、头部、胃肠道和神经系统等。一时的健康检查,还不能完全确定动物是否健康,因为有些疾病在潜伏期,常无明显症状。一般在实验前,选好的动物需有7~10天的预检,并可使动物适应新的饲养条件。

1.1.2 实验动物的标记编号

实验动物选好后必须标记编号,良好的标记方法应满足标号清晰、耐久、简便、适用的要求。标记的方法很多,下面介绍几种常用的简单的实验动物标记方法。

1. 皮毛涂色法

常用于大鼠、小鼠、豚鼠等实验动物。即以苦味酸饱和酒精溶液(黄色)代表个位数;中性红(或品红)溶液(红色)代表十位数,涂在动物体表特定部位的皮毛上,并且不同部位代表不同数目,如图1.1所示。

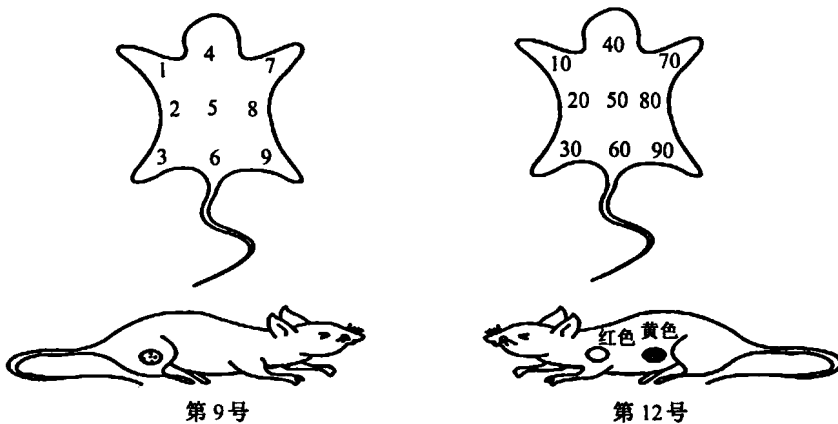


图1.1 大白鼠和小白鼠的标记图示

2. 剪耳标记法

在动物耳朵边缘不同部位剪口或耳朵不同部位剪一小孔,以代表一定的数序。此种标记方法清楚,保存时间长,因此比较适用于较长期进行实验观察时采用。

3. 烙印法

用刺激钳在动物耳上刺上号码,然后用棉签蘸着溶在酒精中的墨黑在刺号上加以涂抹,烙印前最好对烙印部位预先用酒精消毒。

4. 金属号牌标记法

用金属制的号牌固定于实验动物的耳上,大动物可系于颈上,对于猴、狗、猫等大动物有时可不作特别标记,只记录它们的外表和毛色即可区分不同个体。

1.1.3 实验动物的捕捉及固定

实验动物的正确捉拿和固定,不但可以避免由于过强的刺激和动物的损伤而影响实验结果的正确性,而且还可防止实验人员被动物咬伤,保证实验人员的安全,从而保证实验的

顺利进行。常用的小鼠、大鼠及家兔的捉拿固定方法如下。

1. 小鼠

用右手抓住鼠尾,提出后立即放在铁丝笼或粗糙的板面上,而后右手将小鼠缓缓后拉,拉到恰好与鼠要向前爬行的力相反而使其固定,此时可用左手的拇指和食指捏住小鼠耳后枕颈部皮肤即可提起,掌心向上而将鼠体置于掌心中,用无名指和小指将鼠尾压住。此时小鼠即被固定,可以进行灌胃、注射等各种实验操作。操作熟练后,可采用左手一手抓取法,更为方便快捷,右手可不必放下注射器等器具。

2. 大鼠

提取大鼠时,不宜突然袭击式地去抓它,这样手指容易被咬伤,取用时,应轻轻抓住其尾巴后提起,置于实验台上,将其放入大鼠固定盒中固定,这样可进行尾静脉取血或注射。如要作腹腔注射或灌胃操作时,实验者应戴上帆布手套,右手轻轻抓住大鼠的尾巴向后拉,左手抓紧鼠二耳和头颈部的皮肤,并将鼠固定在左手中,右手即可进行操作。

3. 家兔

家兔性情一般较温顺而胆小,捉拿动作要轻。家兔二耳较长,但并不能承担全身重量,因此捕捉家兔不能抓其两耳,使它疼痛而挣扎甚至受伤。从笼内捉兔时,先轻轻打开笼门,勿使其受惊,随之将手伸入笼内,从头前阻拦它跑动,兔便匍匐不动,此时用右手把二耳轻轻地压于手心内,抓住颈部的被毛与皮,提起兔,然后用左手托住它的臂部,这样兔身的重量大部分落于左手上。家兔的固定按实验要求而定,如在耳血管采血、注射、观察瞳孔及呼吸变化时,可将家兔装入能使头部露出的特制木箱中。做心脏抽血时,可将其仰卧固定在简易木质手术台上,头部用特制兔头夹固定,四肢用活结粗棉扁带绑在台边。

1.1.4 实验动物的麻醉

当实验需要给动物实行外科手术时,则必须先施麻醉,有些实验为了避免动物的剧烈挣扎而影响实验结果,也需预先将动物麻醉,但是在没有必要时应尽量避免对实验动物使用麻醉药物。

麻醉药物有挥发性的和非挥发性的。挥发性的麻醉药中最常用的是乙醚,麻醉方法分为开放法和封闭法两种。开放法是用脱脂棉浸湿乙醚后,放在小烧杯中,置于动物口鼻部,或将乙醚滴在口罩上,使其吸入;封闭法是将实验小动物置于一密闭容器中,该容器中预先放置浸泡过乙醚的棉团,乙醚挥发后使动物吸入而致麻醉。对猫、狗、兔、大鼠及小鼠均适用本法。但在麻醉过程中应有专人密切观察动物的呼吸是否过快或过慢、太深或太浅甚至不规则,以免动物因麻醉过度而死亡。

常用的非挥发性麻醉药有乌拉坦、巴比妥钠、戊巴比妥钠、苯巴比妥钠、硫贲妥钠等。这些动物麻醉药物的剂量及用法,需要根据动物的具体情况而定。

1.2 动物分组

为了求得剂量和反应的关系,动物分组就必须采取随机化的原则,即用实验设计所规定的方法,使每只动物都有同等机会被分配到各个处理组中去,而不附加其他选择的条件。因为分组过程纯粹是一个人为的现象,如果不用随机化原则,就会在有意或无意中夸大各组之

间的差别,给实验结果带来一定的偏差,甚至导致得出错误的结论。另外,数理统计上所有的公式或用表,尤其是显著性测验的公式等,都是依据随机化的原则制订的,如果违背了随机化的原则,就不能正确地应用它来帮助人们分析实验现象的本质。

随机分组的方法很多。完全随机分组法是比较常用的一种分组方法。最简单的是采用抽签或摸有色小球等方式进行分组,而比较理想的方式是利用随机数字表(表 1.2)方法进行分组。

有时根据实验要求,需要把实验动物事先区分为几个区组,就是把同类型、同性质或同条件(如同窝、同年龄、同性别等)的实验动物作为一个区组,再把区组内各个个体随机分配到各个实验组中去,这就是随机区组。由于同一区组内动物个体差异较小,因此就能突出地反映出实验组间的差别,而各区组间的差异可从实验误差中分离出来,这样可以大大减少实验误差,从而提高实验结果的可靠性。

表 1.2 完全随机设计举例(分 3 组)

动物编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
随机数字	14	23	49	46	21	62	45	34	22	19	22	64	61	73	20	63	83	76
以 3 除后余数	2	2	1	1	3	2	3	1	1	1	1	1	1	1	2	3	1	2
组 别	乙	乙	甲	甲	丙	乙	丙	甲	甲	甲	甲	甲	甲	甲	乙	丙	甲	乙

1.3 毒物的准备

1. 毒物物理常数

在评价毒理实验结果和采用估算方法去推算最高允许浓度时,常需用到毒物的某些物理常数,如相对密度、溶解度、蒸气压、挥发度、沸点、熔点、凝固点、旋光度、折射率、油/水分配系数、水/气分配系数等。它们与毒物的作用均有一定关系。此外,在配制染毒用的毒物时,同样需要了解该毒物的物理常数。

在多数情况下,毒物的物理常数都是可以在相关资料上查到的,但有些混合毒物和新化学物质的物理常数,往往需要毒理工作者自己做些粗略测定或依据经验公式进行估算。

2. 剂型及溶剂

为使毒物能够通过一定途径染毒,常需要制成不同的剂型。比如:①对于毒性较高的液态毒物,染毒剂量仅几微升,可稀释成一定容量的液体,用 0.25 mL 或 1 mL 注射器给药;②刺激性或腐蚀性较大的毒物,原液对局部作用比较严重,适当稀释后,可减少对局部的损伤,以利于观察全身的作用;③有些固态毒物不便给药,可根据实验要求,配制成溶液、乳剂或混悬剂等。动物染毒常用剂型参见表 1.3。皮肤染毒用的剂型,除水溶液、混悬液、油剂、乳化剂外,还可应用软膏、糊剂等,需要根据实验目的和受检毒物的性质而选择。

作为溶剂或助剂的物质需要满足一些基本条件:①其本身毒性要小, LD_{50} 一般应大于 15 000 mg/kg;②不与受检毒物产生增毒或减毒作用;③不影响毒物的吸收;④无特殊的刺激性或气味。此外,有些实验还有某些特殊要求,如观察毒物对脂代谢影响的实验,不宜用油剂作为稀释剂,注射液的 pH 值应调节为 4~9 等。