

## 第十三章 食品安全性毒理学评价

确保食品安全和人体健康,需要对食品进行安全性评价。食品安全性评价主要是阐明某种食品是否可以安全食用,食品中有关危害成分或物质的毒性及其风险大小,利用足够的毒理学资料确认物质的安全剂量,通过风险评估进行风险控制。食品安全性评价在食品安全性研究、监控和管理上具有重要的意义。

### 第一节 毒理学安全性评价的概念和发展进程

#### 一、基本概念

1. 安全与安全性 在毒理学学科,安全(safe)是指一种化学物质在规定的使用方式和用量条件下,对人体健康不产生任何损害,即不引起急性、慢性中毒,亦不至于对接触者(包括老、弱、病、幼和孕妇)及后代产生潜在的危害。安全性(safety)则是一种相对的、实用意义上的安全概念,是指在一定接触水平下,伴随的危险度很低,或其危险度水平在社会所能接受的范围之内的相对安全概念。安全性和危险度实际上是从不同的角度反映同一个问题。

2. 可接受危险度水平 在实际生活和工作中,任何活动都伴随一定程度的危险性,绝对的安全即零危险度是不存在的。当接触某种化学毒物人群发生某种损害的频率接近或略高于非接触人群,那么这一频率可作为该化学毒物对人体健康产生危害的可接受危险度水平(acceptable risk level)。

3. 实际安全剂量 与可接受危险度相对应的接触剂量是实际安全剂量(virtual safe dose, VSD)。例如在终生致癌试验中,引起肿瘤发生率接近或相当于可接受危险度水平的化学毒物剂量即可作为这种化学毒物致癌作用的实际安全剂量。

4. 毒理学安全性评价 通过动物实验和对人群的观察,阐明某种物质的毒性及潜在的危害,对该物质能否投放市场作出取舍的决定,或提出人类安全的接触条件,即对人类使用这种物质的安全性作出评价的研究过程称为毒理学安全性评价(toxicological safety evaluation)。它实际上是在了解某种物质的毒性及危害性的基础上,全面权衡其利弊和实际应用的可能性,从确保该物质的最大效益、对生态环境和人类健康最小危害性的角度,对该物质能否生产和使用作出判断或寻求人类的安全接触条件的过程。

#### 二、安全性评价程序的发展进程及意义

为了保证人类的健康、生态系统的平衡和良好的环境质量,人类早在几千年前就懂得运用法律手段来维护公共卫生以及人类的健康和安全,如公元前 18 世纪,古巴比伦王国第六代国王汉谟拉比颁布了著名的《汉谟拉比法典》,其中有涉及关于水源、空气污染、食品清洁等方面的条文。自 20 世纪初叶以来,美国、法国、德国等一些国家开始了医疗卫生方面专门的立法,陆续制订和颁布了关于有毒化学品的管理法规。第二次世界大战后,随着社会经济的发展和科学技术的进步,卫生立法得到了世界各国的重视,许多国家和组织先后制订了有毒化学品的管理法,管理毒理学(regulatory toxicology)进入了实质发展的阶段。管理毒理学将毒理学的知识技术,潜在化学毒物的测试及研究结果应用于毒物管理,以防治人类的中毒性健康危害及保护环境。它涉及毒理学及管理相关部门制订立法、执法两个方面的内容。

例如, 美国食品与药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)1979年颁布联邦食品、药物和化妆品法案(the Federal Food, Drug and Cosmetic Act, FD&CA), 对各种化学物质安全性进行管理; 国际经济与发展合作组织(Organization Of Economic Cooperation and Development, OECD)于1982年颁布了化学物品管理法, 提出了一整套毒理实验指南、良好实验室规范(good laboratory practice, GLP)和化学物投放市场前申报毒性资料的最低限度, 对新化学物实行统一的管理办法。

卫生行政执法和处罚以法律法规为准绳, 而毒理学安全性评价则是裁决的基础。1999年欧洲四国发生了二口恶英(dioxin)食物污染事件, 包括我国在内的许多国家作出拒绝进口可疑污染食品的决定, 即是以毒理学安全性评价资料为依据作出的裁决。尽管世界各国由于政治、经济、历史、文化传统的差异, 所寻求的安全性和对毒理学安全性评价的要求会有所不同, 各国根据各自不同时期的任务和存在的问题来制订相应的卫生法律法规进行管理, 但对化学毒物进行安全性评价却是各国相应的卫生法律法规中的基本要求。

世界各国对化学物质进行毒理学安全性评价均以人类使用相对安全为前提。要知道, 绝对的安全是不可能存在的, 评价的依据是人类或社会能够接受的安全性。我国对不同物质进行毒理学安全性评价中, 对安全性的要求是指中华人民共和国法律法规允许下的安全, 指我国社会发展到现今阶段所能接受的危险度水平。

我国对化学物质的毒性鉴定及毒理学实验开始于50年代, 在五六十年代对食品、药品等曾作过初步的法律规定, 但此后一段时间进展缓慢甚至停滞不前, 直到80年代以后才有了迅速的发展。虽然我国卫生立法起步较晚, 但随着改革开放、国民经济和社会的发展, 制订化学物质安全性评价体系和立法管理取得了突破性的进展。80年代以来, 我国有关部门陆续发布了一些化学物质的毒性鉴定程序和方法, 这些文件具有法规性质和效力。国家也陆续颁布了有关的法律, 以加强对外来化学物的管理。目前我国这方面的法律法规体系已逐步形成并不断完善, 各级卫生行政部门依法执法, 管理具有强制性和实效性, 成效显著, 对保护环境和保障人民身体健康发挥着重要的作用。目前我国实施的主要有关法律法规有:

(1) 卫生部在1983年公布《食品安全性毒理学评价程序(试行)》, 1985年经过修订, 正式公布为[(85)卫防字第78号文件]在全国范围内实施。1995年10月30日公布了《中华人民共和国食品卫生法》, 此法第五章为“食品卫生标准和管理办法的制订”。与此法配套, 卫生部于1994年8月10日批准通过中华人民共和国国家标准《食品安全性毒理学评价程序》(procedures for toxicological assessment on food safety)GB15193.1-94并予以实施。

(2) 卫生部和农业部于1991年12月颁发了《农药安全性毒理学评价程序》(toxicological procedures of safety evaluation for pesticides)。此评价程序规定了农药安全性毒理学评价的原则、项目及要 求, 适合于在我国申请登记及需要进行安全性评价的各类农药。为配合做好农药登记, 国家技术监督局于1995年8月17日发布了中华人民共和国国家标准《农药登记毒理学试验方法》(toxicological test methods of pesticides for registration)GB 15670-1995, 该标准规定了农药登记毒理学的方法、条件的基本要求, 并从1996年1月1日起实施。

(3) 1984年9月20日在第六届全国人民代表大会常务委员会第七次会议上通过了《中华人民共和国药品管理法》, 于1985年7月1日起施行。与此相对应的是, 卫生部于1985年7月1日颁布并实施的《新药审批办法》中, 对药物的毒理学评价作出了具体规定。随后

在 1988 年卫生部颁布《新药(西药)毒理学研究指导原则》，对毒理研究的技术提出了明确的要求。

(4) 1987 年 5 月 28 日卫生部发布了国家标准《化妆品安全性评价程序和方法》(procedures and methods of safety evaluation for cosmetics)GB7919-87, 于 1987 年 10 月 1 日起实施。该标准适用于在我国生产和销售的一切化妆品原料和化妆品产品, 具体规定了对化妆品原料和产品的安全性评价程序和有关毒性实验方法。

(5) 1993 年 5 月卫生部食品卫生监督检验所发布了《食品功能毒理学评价程序和检验方法(试行)》，该标准规定了评价食品保健作用的统一程序和检验方法, 为保健食品的管理提供科学依据。

(6) 1987 年国务院发布《化学危险品安全管理条例》，对各种易爆、易燃物质, 有毒、有腐蚀的化学品加强管理, 其中有规定化学危险物品生产企业应向审批部门提交包括化学物的毒性资料在内的一批文件。

为了进一步加强对各类化学品的管理, 卫生部于 1999 年 3 月制定了关于健康相关产品的审批工作程序, 把《中华人民共和国食品卫生法》、《化妆品卫生监督条例》、《保健食品管理办法》、《生活饮用水卫生监督管理办法》、《消毒管理办法》及其它法律、法规、规章规定由卫生部审批的食品、化妆品、涉及饮用水卫生安全产品、消毒药剂和消毒器械等各类与人体健康相关的产品列为健康相关产品。

如何进行毒理学测试和研究, 必须有严格规范的规定与评价准绳。关于毒理学试验中使用的动物, 国家颁布了规范化管理的标准, 规定必须使用经权威部门认证合格的实验动物。同时, 为了保证毒性鉴定的质量符合科学实验的要求, 试验结果在国内和国际上具有可比性, 世界上一些组织和国家发展制定了良好实验室规范(GLP)准则, 如美国、英国、日本、OECD 对药品安全性试验的质量均以 GLP 进行监督。当今世界各国的实验室主要参照美国食品和药品管理局(FDA)或环境保护局(EPA)的 GLP 准则。我国已规定对新开发的药物、食品的生产实施 GMP(Good manufacturing practice)管理, 对安全性试验也开始逐步要求对试验操作及资料记录实施 GLP 准则。

从各类国家标准、规定或管理法中可见, 我国和世界各国一样, 对药品、食品(食品添加剂、食品污染物等)、农药、工业化学品、化妆品等人们在日常生活和生产中广泛接触的化学物质要求必须经过安全性评价, 才能被允许投产、进入市场或进出口贸易。随着高科技时代的到来, 可以预料在不久的将来, 列入毒理学安全性评价的物质范围并不只限于化学毒物, 它将大大拓宽, 涉及各种与人类生活、生产有关的新物质, 如基因工程产品、新的生物物质。还需注意, 各类法律法规随着社会的发展将不断得到修订, 因此进行毒理学安全性评价必须严格遵照最新的法律法规来进行评价和管理。

食品安全性评价是在人体试验和判断识别的基础上发展起来的。早期的科学家们缺少有关食品中物质对人体是否有害的确定的方法手段。随着观察流行病学和毒理学的发展, 人们进行了大量的工作, 如在罗马 Hippocrates 和他的学生对空气、水、食品和与公众有关的环境进行了描述, 认为纯水和纯食品是良好健康的保证。Hippocrates 把所有健康和疾病的关系与自然结合起来, 认识到有用的技术可减轻自然产生的毒物和一些掺假物质对人体的危害。在那时食品安全性评价基本仍保留了观察的特点, 但观察过程限制了急性毒性试验的评价, 因为要对事物进行几年的直接的观察是困难的, 只有完善观察法以及发展专门的技术方

法，才能使食品安全性评价得到进步。

食品安全性评价技术发展经历了从观察到科学分析的转变，包括：①剂量反应；②分析化学及其在食品上的应用；③靶物质预测试验（动物研究）；④微生物学的应用。另外还要进行危险评价和应用统计学。应用毒理学试验进行从现象到作用机理的具体阐述；应用统计学进行剂量效应的人体危险评估。

人们在对食品安全性化学和生物影响的进一步了解认识中，发现单从观察得出正确的结论存在一定的困难、表 13-1 是传统的毒理试验，研究者试图通过毒理试验评价食品安全性的结论，但它只能从急性试验到慢性（暴露）试验，从定性到定量解决化学物质的安全性评价，这也是早期的食品中化学污染物的定量评价，同时又是一个费时费力的投入，却解决不了食品安全性评价所要求的全部问题。随着现代基因工程技术应用于食品上以及新动植物食品物种的发展，人们开始认识到非定量现象对评价的应用，如行为、情感等。因此，建立一种有别于添加剂等化学物质评价的评价食品安全性的方法显得更为重要。一种可能区别于化学物质评价的途径随之提出（见表 13-2）。与表 13-1 毒理学试验相比较，其主要的区别和特点是：①增加了对化学分析的应用；②物质进入市场前需作人体研究；③强调了代谢和毒性预测知识。

表 13-1 毒理学试验类型

1. 急性试验（一次暴露或剂量）
  - (a) 测定半数致死量（LD<sub>50</sub>）
  - (b) 急性生理学变化（血压、瞳孔扩大等）
2. 亚急性试验（连续暴露或每日剂量）
  - (a) 3 个月持续时间
  - (b) 2 个或 2 个以上的试验动物（一种非啮齿动物类）
  - (c) 3 个剂量水平（至少）
  - (d) 按预期或类似途径处理（受试物）
  - (e) 健康评价，包括体重、全面身体检查、血液化学、血液学、尿分析和功能试验
3. 慢性试验（连续暴露或每日剂量）
  - (a) 2 年持续时间（至少）
  - (b) 从预试验筛选两种敏感试验动物
  - (c) 2 个剂量水平（至少）
  - (d) 类似接触（暴露）途径处理（受试物）
  - (e) 健康评价，包括体重、全面检查、血液化学、血液学、尿分析和功能试验
  - (f) 所有动物全面的尸检和组织病理学检查
4. 特殊试验
  - (a) 致癌性
  - (b) 致突变性
  - (c) 致畸胎性
  - (d) 繁殖试验
  - (e) 潜在毒性
  - (f) 皮肤和眼睛刺激试验
  - (g) 行为反应

(Sanford A. Miller, 1992)

表 13-2 食品安全性试验策略 (Strategies)

1. 化学分析
  - (a) 识别化合物
  - (b) 类型确认
2. 体外模型
  - (a) 非哺乳动物系统 (即致突变试验)
  - (b) 哺乳动物组织模型, 包括标准物质的代谢改变
3. 计算机模拟
  - (a) 活性-结构关系 (SAR)
  - (b) 动力学模型
4. 传统的安全性试验
  - (a) 对标准试验物质的影响
  - (b) 对应激 (stressed) 系统的影响
5. 人体研究
  - (a) 比较分子学、药物动力学和药物动态学模型
  - (b) 对标准试验物质的影响
  - (c) 对应激系统 (stressed systems) 的影响

(Sanford A. Miller, 1992)

现代食品安全性评价除了进行传统的毒理学评价研究外, 还需有人体研究、残留量研究、暴露量研究、消费水平 (膳食结构) 和摄入风险评价等。食品法典委员会 (CAC) 将风险分析引入食品安全性评价中, 并把风险分析为风险评价、风险控制和风险信息交流三个必要部分, 其中风险评价在食品安全性评价中占有中心位置 (见图 13-1)。可见, 食品中危害成分的风险控制是一个复杂的过程, 需要以风险评价为依据, 并以风险信息交流为保证才能完成。在进行整体的食品安全性评价过程中, 要进行食品中某危害成分的单项评价、某食品综合评价、膳食结构的综合评价以及最终的风险评价, 同时要把化学物质评价、毒理学评价、微生物学评价和营养学评价统一起来得出结论, 这也是目前食品安全性评价的发展趋势。

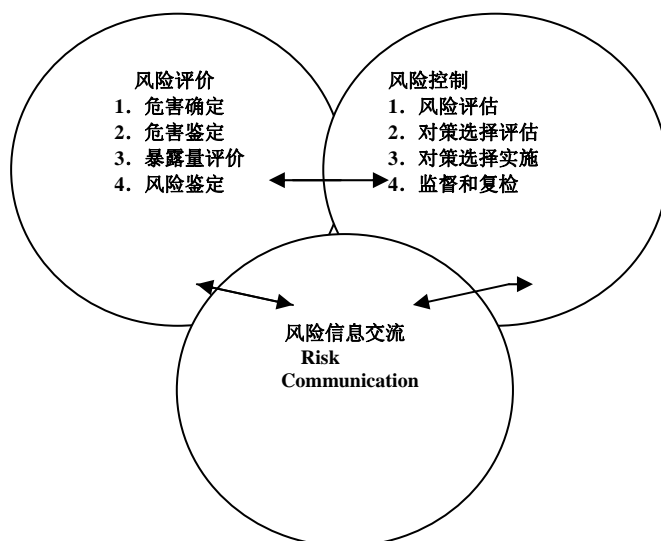


图 13-1 危险分析三部分关系的结构图

必须强调的是，食品安全性评价工作是一个新兴的领域，因此，有许多观点彼此不同，甚至相差较大，在所难免。

## 第二节 食品中危害成分的毒理学评价

各类危害人体健康的化学物质，其暴露作用的定性定量分析是一个复杂的过程，涉及到毒理学、流行病学、临床医学、化学（分析化学、有机化学、生物化学）和生物统计学等，其中毒理学和流行病学是较为重要的部分。从毒理试验获得的数据有限时，就要运用流行病学进行分析。

食品污染物和食品添加剂（人工和天然）的毒理学数据主要从动物毒理学研究中获得，和流行病学相比毒理学研究具有实验设计优点，所有条件保持连续性。进行确定物质的暴露分析，暴露过程和暴露条件（如饮食、气候等）能被仔细监测和控制，并用组织病理学和生物化学方法提供可能的高敏感性的副作用反应研究。但是毒理学研究并不意味着就能直接应用于人，因为如果用实验动物小鼠的试验结果应用于 70kg 体重的人体是不合理的。从实验动物获得的数据外推到人群进行定量的危险评价时需要三个重要的假设：①实验动物和人群的反应要相似；②（高）实验暴露的反应与人的健康有关，并可外推到环境暴露（包括食品摄入）水平；③动物试验表明物质的所有反应，这个物质对人有潜在的毒副作用。通常在进行定量风险评价时可能有很程度的不确定性。

目前，毒理学家对物质间相互作用的影响极为关注。因为在大部分的实验中，实验动物只是用于对某一种毒性物质同一时间暴露的反应，而人则一般暴露在不同的化学物质中，由于成分的相互作用，混合或合并的不同物质的暴露可能没有预期（和不可能预期）的健康影响。虽然它已成为科学家关注的问题，但是一直还没有满意的答案如何解决健康危险评价中物质的相互作用。

和毒理学相比，流行病学是一门观察科学，这是它的强项也是它的弱点。它存在暴露和反应的时间差问题，也许当人们已暴露于某一危害物时流行病学还未能观察出结果，这样一来对于新化学物质，流行病学观察是无用的工作，人们还要依靠毒理学研究。

### 一、毒理学安全性评价程序的选用原则

在毒理学安全性评价时，需根据受试物质的种类来选择相应的程序，不同的化学物质所选择的程序不同，一般根据化学物质的种类和用途来选择国家标准、部委和各级政府发布的法规、规定和行业规范中相应的程序。

毒理学评价采用分阶段进行的原则，即各种毒性试验按一定顺序进行，明确先进行哪项试验，再进行哪项试验。目的是以最短的时间，用最经济的办法，取得最可靠的结果。实际工作中常常是先安排试验周期短、费用低、预测价值高的试验。

不同的评价程序对毒性试验划分的阶段性有不同的要求，有些程序要求进行人体或人群试验。如《食品安全性毒理学评价程序》GB15193.I—94 明确指出毒性试验分四个阶段；《农药安全性毒理学评价程序》根据一般毒性试验和特殊毒性试验划分为四个阶段；《化妆品安全性评价程序和方法》GB7919-87 对毒理学试验要求分五个阶段进行，第五阶段为人体激发斑贴试验和试用试验。

一般来说，投产之前或登记、销售之前，必须进行第一、二阶段的试验。凡属我国首创

的化学物质一般要求选择第三阶段甚至第四阶段的某些有关项目进行测试,特别是对其中产量较大、使用面广、接触机会较多或化学结构提示有慢性毒性、遗传毒性或致癌性可能者,必须进行全部四个阶段的试验。对于有一定毒性资料的仿制品,若生产单位能证明其产品的理化性质、纯度、杂质成分及含量均与国外原产品相似,并经一项急性毒性试验和致突变试验进行核对,如实验结果与国外产品或文献资料一致,一般不再继续进行实验,可参考国外有关资料或规定进行评价。如产品质量或毒理学实验结果与国外资料或产品不相同,必须完成第一、二阶段的实验。

## 二、试验前的准备工作

人们经常接触的化学物质有环境污染物、工业污染物、食品(包括食品添加剂、食品化学污染物)、化妆品、药物和农药等,无论对哪类化学物质进行毒理学毒性鉴定,都必须做好充分的准备工作。试验前应了解化学物质的基本数据,如化学物质名称、化学结构式、分子量;理化性质如熔点或沸点、蒸气压、溶解度、pH 值、纯度、杂质等理化数据和有关的参数;也应了解受检样品的成分、规格、用途、使用范围、使用方式,以了解人类可能接触的途径和剂量、过度接触以及滥用或误用的可能性等,以便预测毒性和进行合理的试验设计。

### (一) 收集化学物质有关的基本资料

1. 化学结构 根据结构式有时可以预测一些化学物质的毒性大小和致癌活性。如西方和我国学者运用量子力学原理,提出几种致癌活性与化学结构关系的理论,有助于推算多环芳烃的致癌活性。

2. 组成成分和杂质 化学物中存在杂质,有时可能导致错误的评价,特别是对于低毒化学物,在动物试验中可因其中所含的杂质而增加毒性。有时还需了解在配制、储存时组成成分及性质有无变化,或在环境中可形成哪些转化产物等。

3. 理化性质 主要了解其外观、比重、沸点、熔点、水溶性或脂溶性、蒸气压、在常见溶剂中的溶解度、乳化性或混悬性、储存稳定性等。

4. 化学物的定量分析方法 这些资料可通过向有关部门了解,或查阅有关文献资料获得,必要时需由实验室测定而获得。

5. 原料和中间体 了解化学物质生产流程、生产过程所用的原料和中间体,可以帮助估测化学物质的毒性。

### (二) 了解化学物质的使用情况

包括使用方式及人体接触途径、用途及使用范围、使用量,化学物质所产生的社会效益、经济效益和人群健康效益等,这些将为毒性试验的设计和对试验结果进行综合评价等提供参考。例如,对食品添加剂应掌握其加入食品中的数量;农药应掌握施用剂量和在食物中的可能残留量;如为环境污染物,应了解其在水、空气或土壤中的含量;工业毒物则应考虑其在空气中的最大浓度。因此在进行毒理学评价时,应对该种物质通过各种途径进入人体的实际接触最大剂量作出估计。

### (三) 选用人类实际接触和应用的的产品形式进行试验

一般来说,用于毒理学安全性评价的受试物应采用工业品或市售商品,而不是纯化学品,以反映人体实际接触的情况。应当注意的是,在整个实验过程中所使用的受试物必须是规格、纯度完全一致的产品。当需要确定该化学品的毒性来源于化学物质还是所含杂质时,通常采用纯品和应用品分别试验,将其结果进行比较。如我国农药登记条例规定,急性毒性试验(包

括经口、经皮和经呼吸道)的受试农药应包括原药和制剂。

#### (四) 选择实验动物的要求

动物种类对受试化学物的代谢方式应尽可能与人类相近。进行毒理学评价时, 优先考虑哺乳类的杂食动物。如大鼠是杂食动物, 食性和代谢过程与人类较为接近, 对许多化学物质的毒作用比较敏感, 加上具有体形小, 自然寿命不太长, 价格便宜, 易于饲养等特点, 故在毒理学试验中, 除特殊情况外, 一般多采用大鼠。此外, 小鼠、仓鼠(地鼠)、豚鼠、家兔、狗或猴也可供使用。对种属相同但品系不同的动物, 同一种化学物质有时可以引发程度不同甚至性质完全不同的反应。因此, 为了减少同种动物不同品系造成的差异, 最好采用纯系动物(指来自同一祖先, 经同窝近亲交配繁殖至少 20 代以上的动物)或内部杂交动物(指来源于同一部门同一品系经多代繁殖所得的动物)和第一代杂交动物(指两种纯品系动物杂交后所得的第一代杂交动物)进行实验。这些动物具有稳定的遗传特性, 动物生理常数、营养需要和应激反应都比较稳定, 所以对外来化合物的反应较为一致, 个体差异小, 重复性好。

### 三、不同阶段安全性评价的毒理学项目

安全性评价首先是对化学物质进行毒性鉴定, 通过一系列的毒理学试验测试该化学物质对实验动物的毒作用和其他特殊毒性作用, 从而评价和预测对人体可能造成的危害。我国对农药、食品、化妆品、消毒产品等健康相关产品的毒理学安全性评价一般要求分阶段进行, 各类物质依照的法规不同, 因而各阶段的试验名称有所不同(见表 13-3)。

表 13-3 健康相关产品毒理学评价阶段与试验项目

	农 药	食 品	化 妆 品	消 毒 产 品
法规名称	《农药安全性毒理学评价程序》, 《农药登记毒理学试验方法》 GB15670—1995	《食品安全性毒理学评价程序和方法》 GB15193. 1—1994	《化妆品安全性评价程序和方法》 GB7919-87	《消毒技术规范》 第 8 章: 消毒剂毒理试验的程序和方法
第一阶段	急性毒性试验, 皮肤与眼粘膜试验(皮肤刺激、致敏试验, 眼刺激试验)	急性毒性试验	急性毒性试验, 皮肤、粘膜试验(皮肤刺激、致敏、光毒、眼刺激)	急性毒性试验, 皮肤、粘膜试验
第二阶段	蓄积毒性试验, 致突变试验	遗传毒性试验, 致畸试验, 30 天喂养试验	亚慢性毒性试验, 致畸试验	遗传毒性试验, 蓄积试验
第三阶段	亚慢性毒性试验, 繁殖试验, 代谢试验	亚慢性毒性试验, 繁殖试验, 代谢试验	致突变、致癌短期生物筛选试验	亚慢性毒性试验, 致畸试验
第四阶段	慢性代谢试验, 致癌试验	慢性毒性试验, 致癌试验	慢性毒性试验, 致癌试验	慢性毒性试验, 致癌试验
第五阶段			人体试验(激发斑贴、试用试验)	

注: 食品包括添加剂、新资源食品、保健食品、食品包装材料、消毒剂

归纳起来, 完整的毒理学评价通常可划分为以下四个阶段的实验研究, 并结合人群资料进行。



#### 四、食品安全性毒理学评价具体规定

我国从1980年开始,提出了食品安全性评价的程序问题。1983年我国卫生部颁布《食品安全性毒理学评价程序(试行)》,直到1994年由卫生部颁发了《食品安全性毒理学评价程序和方法》标准(GB15193.1~15193.19-94)。目前我国现行的对食品安全性评价的方法和程序也还是按照传统的毒理学评价程序:即初步工作→急性毒性试验→遗传毒理学试验→亚慢性毒性试验(90d 喂养试验、繁殖试验、代谢试验)→慢性毒性试验(包括致癌试验)(GB15193. L-94)。

我国食品安全性毒理学评价程序中对不同受试物进行几个阶段试验原则规定为:①凡属我国创新的物质,特别是其化学结构提示有慢性毒性、遗传毒性或致癌性可能的,或产量大、使用面广、摄入机会多的,必须进行全部四个阶段的毒性试验,即急性毒性试验、遗传毒理学试验、传统致畸试验、短期喂养试验,亚慢性(包括90d 喂养、繁殖和致畸试验)毒性试验以及慢性毒性(包括致癌)试验;②凡属与已知物质(指经过安全性评价并允许使用者)的化学结构基本相同的衍生物或类似物,则可进行前三阶段试验,并按试验结果判断是否需要进一步第四阶段试验;③凡属已知的化学物质,世界卫生组织对其已公布每人每日允许摄入量(ADI)的,同时申请单位又有资料证明我国产品的质量规格与国外产品一致,则可先进行第一、第二阶段试验。如果产品质量或试验结果与国外资料一致,一般不要求进行进一步的毒性试验,否则尚应该进行第三阶段试验。对农药、添加剂、高分子聚合物、新物质资源、辐照食品等有更详细的要求。下面是我国食品安全性评价的毒理学评价程序四阶段工作内容。

##### (一) 初步工作

初步工作包括两方面:

(1) 了解受试物(必要时包括杂质)的物理、化学性质(包括化学结构、纯度、稳定性等),与受试物类似的或有关物质的毒性等资料,以及所获得样品的代表性如何,要求受试物能代表人体进食的样品。

(2) 估计人体可能的摄入量。例如每人每日平均摄入量或某些特殊人群的最高摄入量。获得这些资料后,根据动物试验结果推测平均受试物对人体的可能危害。如果动物实验的无作用水平(NOEL)比较高,而最高摄入量很小,也就是摄入量远小于无作用水平,那么,这类受试物就可能被允许使用。反之,如最高摄入量甚至平均摄入量接近无作用水平,则这类受试物就难以被接受了。

##### (二) 第一阶段:急性毒性试验

急性毒性试验是指一次给予受试物或在短期内多次给予受试物所产生的毒性反应。通过急性试验可以确定试验动物对受试物的毒性反应、中毒剂量或致死剂量。致死剂量通常用半数致死量(LD<sub>50</sub>)来表示。

试验目的:

(1) 测定LD<sub>50</sub>,了解受试物的毒性强度、性质和靶器官。

(2) 为以后的蓄积毒性试验和亚慢性毒性试验的剂量和毒性判定指标的选择提供依据。

试验要求:分别用两种性别的小鼠和/或大鼠进行。

试验项目:用霍恩氏机率单位法或寇氏法测定LD<sub>50</sub>和7d喂养试验。

LD<sub>50</sub>(median lethal dose)即半数致死量或称致死中量,它是指受试动物经口一次或在

24h内多次染毒后,能使受试动物中有半数(50%)死亡的剂量,单位为mg/kg体重。 $LD_{50}$ 是衡量化学物质急性毒性大小的基本数据,可以用它的倒数对试验条件类似的许多化学物质的毒性强弱进行比较。我国卫生部1983年提出将各物质按其对大鼠经口半数致死量的大小分为极毒、剧毒、中等毒、低毒、实际无毒、无毒六大类(见表13-4)。一般而言,对动物毒性很低的物质,对人的毒性往往也很低。食品毒理研究中测定 $LD_{50}$ 不必像药物研究那样要求十分精确。

表13-4 急性毒性( $LD_{50}$ )剂量分级

级 别	大鼠口服 $LD_{50}$	相当于人的致死剂量	
	/mg/kg	mg/kg	g/人
极 毒	<1	稍 尝	0.05
剧 毒	1~50	500~4000	0.5
中等毒	51~500	4000~30000	5
低 毒	501~5000	30000~250000	50
实际无毒	5001~15000	250000~500000	500
无 毒	>15000	>500000	2500

(黄伯俊, 1993)

急性毒性试验有其局限性,对人类潜在的危害的评价是不能以此为依据的,因为很多长期慢性危害通常很严重,而急性毒性试验却不能反映出来。特别是对那些急性毒性很小的致癌物质,长期少量摄入能诱发癌肿的产生。

经90d毒性试验和7d毒性试验比较,7d毒性试验结果可用来推测90d的毒性。通过7d喂养试验可以对慢性以及亚慢性试验中的剂量作出更为精确的估计,并可对受到受试物质损害的组织器官进行更为充分的全面的观察。

7d喂养试验是以7d向几组动物每日分别重复给予一定剂量。一般可设3~4个剂量组,每组有初断乳大鼠或小鼠雌雄各5只,需要将受试物掺入饲料中,设计剂量组时可将 $LD_{50}$ 中有中毒表现的一个组经折算后掺入饲料中作为可能有中毒表现组,然后再于此剂量组上下各设1~2组进行喂养试验。在此试验中可以获得一最小有作用剂量( $MiE_{7d}$ ),通过公式即可估计90d以至二年喂养试验的最小有作用剂量(即 $MiE_{90d}$ 和 $MiE_{2年}$ ),再在此剂量上下各设几个剂量组,就可以进行90d或二年的毒性试验了。通过动物试验,经统计数据处理, $MiE_{2年}$ 、 $MiE_{90d}$ 与 $EiE_{7d}$ 比值(包括95%试验数值)为: $MiE_{7d} / MiE_{90d} = 6.2$ ,  $MiE_{90d} / MiE_{2年} = 5.7$ ,从而得出下面公式

$$MiE_{90d} = MiE_{7d} / 6.2 \cong MiE_{7d} / 6, MiE_{2年} = MiE_{7d} / 35.3 \cong MiE_{7d} / 35$$

试验结果判定如下:

- (1) 如 $LD_{50}$ 剂量或7d喂养试验后最小有作用剂量(mg/kg·体重)小于人的可能摄入量(mg/kg·体重)的10倍者,则放弃该受试物用于食品,不再继续其他毒性试验。
- (2) 如大于10倍者,可进行下一阶段的毒理学试验。
- (3) 凡是 $LD_{50}$ 在10倍左右时,应进行重复试验,或用另一种方法进行验证。

由于急性毒性试验不能作为安全评价的依据,在进行下面的遗传毒理学试验和代谢试验后,一定条件下就可对受试物作出一定评价。

### (三) 第二阶段：遗传毒性试验（蓄积毒性试验、致突变试验）

遗传毒性试验主要是指对致突变作用进行测试的试验。以致突变试验来定性表明受试物是否有突变作用或潜在的致癌作用，进行筛选，可为代谢研究提供方法。遗传毒性试验的组合必须考虑原核细胞和真核细胞、生殖细胞与体细胞、体内和体外试验相结合的原则。

试验项目包括：①细菌致突变试验。首选鼠伤寒沙门氏菌 / 哺乳动物微粒体酶试验 (Ames)，必要时可另选和加选其他试验；②小鼠骨髓微核率测定和骨髓细胞染色体畸变分析；③小鼠精子畸形分析和睾丸染色体畸变分析；④其他备选遗传毒性试验。包括 V79 / HGPRT 基因突变试验、显性致死试验、果蝇伴性隐性致死试验、程序外 DNA 修复合成试验；⑤传统致畸试验；⑥短期喂养试验，即 30d 喂养试验，如受试物需要进行第三、四阶段毒性试验者，可不进行这项试验。

在介绍几个致突变试验之前，先介绍蓄积毒性试验。

#### (一) 蓄积毒性试验

蓄积毒性试验目的是了解受试物在体内的蓄积情况。

如果一种外来化学物质经常多次进入机体，其前次进入剂量尚未完全消除，后一次剂量又已经进入，则这一化学物质在体内的总量将不断增加，此种现象称为蓄积性。当有毒化学物质每次在体内蓄积一定数量后，蓄积总量超过中毒阈剂量，即超过能使机体开始出现毒性反应的最低剂量时，机体就可呈现毒性作用。蓄积性的大小主要取决于化学物质进入机体的速度和体内消除速度大小。化学物质进入机体的速度主要由物质每次给予机体的间隔时间决定，化学物质体内消除速度主要由机体状态和化学物质本身性质所决定。

蓄积分为物质蓄积和功能蓄积。物质蓄积是量的变化，化学物质进入机体后，化学物质在体内贮留的量随消除量不及进入量而逐渐增加。化学物质进入机体引起一定的功能或结构形态的变化，并逐渐积累，造成功能蓄积。

蓄积试验通常采用蓄积系数法或 20d 试验法。蓄积系数法是将某种化学物质按一定时间间隔，分次给予动物，经过一定时间反复多次给予后，如果该物质全部在体内蓄积，则多次给予的总剂量与一次给予同等剂量的毒性相当；反之，如果该化学物质在体内仅有一部分蓄积，则分次给予总量的毒性作用与一次给予同等剂量的毒性作用将有一定程度的差别，而且蓄积性越小，相差程度越大。因此，用蓄积系数  $K$  来表示一种化学物质蓄积性大小， $K$  等于一次给予所需的剂量  $LD_{50}$  与分次给予所需的总剂量  $LD_{50}(n)$  之比，即  $K = LD_{50}(N) / LD_{50}(1)$ 。 $K$  值越大，表示蓄积性越弱， $K$  值越小，表示蓄积性越强。一般  $K$  值估计蓄积性方法为： $1 \leq K < 3$  表示强蓄积， $3 \leq K < 5$  表示中等蓄积， $K \geq 5$  表示轻度蓄积。

20d 试验法是 20d 给予药物进行试验。以成年大鼠(体重 200g 左右)每组 10 只，雌雄分别同时进行，设剂量分别为  $LD_{50}$  的  $1/20$ 、 $1/10$ 、 $1/5$ 、 $1/2$  的五个处理试验，另设对照，连续 20d 每天灌胃一次。各组累积总剂量可达 1、2、4、10  $LD_{50}$ ，停药后观察 7d。如  $1/20 LD_{50}$  组动物有死亡，且有剂量反应关系，则为强蓄积性；如 1、20  $LD_{50}$  组动物死亡，则为弱蓄积性。

#### (二) 致突变试验

致突变试验目的是对受试动物是否具有致癌作用的可能性进行筛选。

突变是细胞的遗传物质发生改变所引起的一种生物学现象，可观察。发生变化的遗传物质在细胞分裂繁殖过程中可被传递到后代细胞，使后代细胞及生物具有新的特性。能引起生

物细胞发生突变的物质称为致突变物。致突变性也可认为是致突然变异性,是指细胞或个体诱发突然变异,发生细胞遗传因子变化的现象。在毒性试验中,如果食物中某种物质能引起某些动物或人体细胞发生突变,不论其性质如何,均认为是一种毒性表现,应在食品中严格限制。

致突变试验的基本原理是将受试物与一种生物系统相接触,观察该生物系统是否发生突变。凡是使生物系统发生突变者,即为致突变物。致突变试验所用生物系统包括细菌、真菌、昆虫、细胞株和哺乳动物等。

### 1. 细菌致突变试验——Ames 试验

Ames试验亦称鼠伤寒沙门氏菌 / 哺乳动物微粒体酶试验法。Ames法基本原理是以一种突变型微生物与受试化学物质接触,并以哺乳动物肝微粒体进行受试化学物质的代谢活化,因为外来化学物质生物转化主要由哺乳动物体内肝微粒体多功能氧化酶来进行。如受试物经多功能氧化酶代谢活化后具有致突变性,则可使突变型微生物发生回复突变而重新成为野生型微生物。一般主要是采用沙门氏菌的组氨酸缺陷型(His<sup>-</sup>)的菌株,在被检物质存在下,就又回到组氨酸非缺陷型(His<sup>+</sup>)的野生型,测定致突然变异性物质所引起的复归突然变异频度,作为检出突变性。

本项试验所用指示微生物为组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌的几个菌株,即 TA1535、TA1536、TA1537、TA1538、TA97、TA98、TA100 和 TA102。这一组突变菌株几乎可以检出所有已知的基因突变类型。

### 2. 微核试验或骨髓细胞染色体畸变分析试验

微核(micronucleus)试验是根据间期细胞内残留染色体断片或整个染色体组成的一种圆形或椭圆形的小体,来判断化学物质引起染色体异常作用的一种简便的哺乳动物体内试验。典型的微核呈圆形,直径相当于红细胞直径的 1 / 20~1 / 5,染色与核质相同。微核出现是一种染色体异常现象,微核检出率增高,可反映染色体畸变情况。由于其测定方法较简便、快速可靠,所以已作为化学致突变试验中常用的一种筛检方法。

细胞染色体畸变分析试验是在体细胞或生殖细胞内,直接观察在化学致突变物作用下,生物细胞染色体所发生的结构或数目的改变。一般多以骨髓细胞或外周细胞代表体细胞,以睾丸精原细胞代表生殖细胞。染色体的数目和形态在有丝分裂中期最易观察,所以染色体畸变分析多在有丝分裂中期细胞进行。

体内试验动物常用出生后 8~15 周左右的健康大鼠或小鼠。给予受试化学物质(一般采取灌胃方式)的次数急性试验为一次,亚急性试验为每天一次,共 5~7d;慢性试验每日一次,可达 3 个月。给予最大无作用剂量或人体实际摄入量的 100 倍作高剂量组,以人体实际摄入量为低剂量组,可设若干中间剂量组。除阴性对照组外,还可以用一已知的致突变物为阳性对照组。从已处死动物体取出骨髓前 2~5h 注射秋水仙碱,使细胞有丝分裂停留在中期,以便观察。取出骨髓后用低渗氯化钾溶液进行低渗处理,然后固定、制片、感光,最后观察畸变情况。

### 3. 睾丸生殖细胞染色体畸变分析试验和精子畸形试验

睾丸生殖细胞染色体畸变分析其基本原理与方法同骨髓细胞染色体畸变分析。实验结束后取出动物睾丸,用低渗氯化钾溶液进行处理后,固定、制片、染色,最后观察精原细胞染色体畸变情况。

精子畸形试验根据受试化学物如能影响实验动物的精子成熟过程,则可观察到精子头部或尾部的形态变化。

#### 4. 显性致死试验和 DNA 修复合成试验(备选遗传毒性试验)

显性致死试验是通过外来物质对哺乳动物生殖细胞染色体畸变作用进行的致突变试验。所谓显性致死或显性致死突变是由于双亲中某一方面的配子(精子或卵子)的染色体畸变,从而使受精卵在发育中途中断,不能与异性生殖细胞结合,或出现受精卵在着床前死亡和胚胎早期死亡。以早期胚胎死亡数来反映化学物质的致突变作用的强弱,现多采用以孕雌鼠为基数来计算每一受孕雌鼠的早期死亡胚胎数表示致突变作用的强弱。

平均早期胚胎死亡数 = 早期胚胎死亡数 / 受孕雌鼠数

显性致突变试验的特点是哺乳动物以早期胚胎死亡数为观察指标,观察动物的成活情况,方法简单明确,且不需要复杂的仪器设备,但不如 Ames 法灵敏,只能反映雄性动物的生殖细胞染色体畸变,不能检出基因突变。

DNA 修复合成试验是 DNA 受化学致癌物损伤(主要有碱基损伤、链断裂、交联和嵌入等)后,在各种修复酶的参与下,通过切除修复或复制后的修复两种方法进行修复。修复机制使生物体保持了相对稳定的遗传学特征。已经证明多数化学致癌物(有的需经代谢活化)可与修复大分子物质(DNA、RNA 及蛋白质)的亲核基因发生相互作用,并可诱发各类型的 DNA 损伤,后者可能是致癌过程的一个起动步骤。因此可把 DNA 损伤及其修复作为化学物质致癌性筛选。

总之,遗传毒性试验(致突变试验)可根据受试物的化学结构、理化性质以及对遗传物质作用终点的不同,并兼顾体外和体内试验以及体细胞和生殖细胞的原则,在以上内容中选择四项试验进行判定。

结果判断:①如果其中三项试验均为阳性,则无论蓄积毒性如何,均表示受试物很可能具有致癌作用,除非受试物具有十分重要的价值,一般应予以放弃,不需进行其他项目的毒理学试验;②如果其中两项为阳性,而又有强蓄积性,则应予以放弃,如为弱蓄积性,则由有关专家进行评议,根据受试物的重要性和可能摄入量等,综合权衡利弊再作出决定;③如果其中一项试验为阳性,则再选择备选遗传毒性试验中的两项其他致突变试验(包括 V79 / HGPRT 基因突变试验、显性致死试验、果蝇伴性隐性致死试验、程序外 DNA 修复合成试验),如再选的两项试验均为阳性,则无论蓄积毒性如何,该受试物均应放弃使用;如有一项为阳性,而且为强蓄积性,则予以放弃;如有一项为阳性,且为弱蓄积性,则可进入第三阶段试验。④如果四项试验均为阴性,则无论蓄积性如何,均可进入第三阶段亚慢性毒性试验。

#### (四) 第三阶段:亚慢性毒性试验

亚慢性试验是了解试验动物在多次给以受试物时所引起的毒性作用。

试验目的:①观察受试物以不同剂量水平较长期喂养,确定动物的毒性作用性质和靶器官,并初步确定最大无作用剂量;②了解受试物对动物繁殖及对仔代的致畸作用;③为慢性毒性和致癌试验的剂量选择提供根据;④为评价受试物能否应用于食品提供依据。

试验项目:包括 90d 喂养试验、繁殖试验、代谢试验。根据这三项试验中所采用的最敏感指标所得的最大无作用剂量进行评价。

代谢试验是一种阐明外来化学物质进入机体后在体内吸收、分布与排泄等生物转运过程

和转变为代谢物的生物转化过程的试验。其目的是了解受试物在体内的吸收、分布和排泄速度以及蓄积性,寻找可能的靶器官,为选择慢性毒性试验的合适动物种系提供依据,并了解有无毒性代谢产物的形成。我国提出的“食品安全毒理学评价程序”中要求,对于我国创制的化学物质,在进行最终评价时,至少应进行以下几项代谢方面的试验:①胃肠道吸收;②测定血浓度,计算生物半衰期(进入机体的外来化学物质由体内消除一半所需的时间)和其他动力学指标;③主要器官和组织中的分布;④排泄(尿、粪、胆汁)。有条件时,可进一步进行代谢产物的分离、鉴定。对于国际上许多国家已批准使用和毒性评价资料比较齐全的化学物质,可暂不要求进行代谢试验。对于属于人体正常成分的物质可不进行代谢研究。

结果判断:①试验项目中任何一项的最敏感指标的最大无作用剂量(MNL,以 mg/kg 体重计)小于或等于人体可能摄入量的 100 倍者,表示毒性较强,应放弃受试物用于食品;②最大无作用剂量大于 100 倍而小 300 倍者,应进行慢性毒性试验;③最大无作用剂量大于或等于 300 倍者,则不必进行慢性毒性试验,可进行安全性评价。

#### (五) 第四阶段:慢性毒性试验(包括致癌试验)

慢性试验是观察试验动物长期摄入受试物所产生的毒性反应,尤其是进行性和不可逆的毒性作用以及致癌作用,最后确定最大无作用剂量,为受试物能否用于食品的最终评价提供依据。所谓长期是指试验动物整个生命期的大部分或终生,有时可包括几代的试验。致癌试验是检验受试物或其代谢产物是否具有致癌或诱发肿瘤作用的慢性毒性试验方法。

试验项目:用两种性别的大鼠和 / 或小鼠进行两年生命期慢性毒性试验和致癌试验,并结合在一个动物试验中。

结果判断:根据慢性试验所得的最大无作用剂量进行评价。如果慢性毒性试验所得的最大无作用剂量(MNL,以 mg/kg 体重计)小于或等于人的可能摄入量的 50 倍者,表示毒性较强,应予以放弃;最大无作用剂量大于 50 倍而小于 100 倍者,需由有关专家共同评议,经安全评价后,决定该受试物是否可用于食品;最大无作用剂量大于或等于 100 倍者,则可考虑允许使用于食品中,并制定日允许量,如在任何一个剂量发现有致癌作用,且有剂量与效应关系,则需由有关专家共同评议,以作出评价。

### 四、安全性评价中需注意的问题

影响毒性鉴定和安全性评价的因素很多,进行安全性评价时需要考虑和消除多方面因素的干扰,尽可能做到科学、公正地作出评价结论。

#### (一) 实验设计的科学性

化学物质安全性评价将毒理学知识应用于卫生科学,是科学性很强的工作,也是一项创造性的劳动,因此不能以模式化对待,必须根据受试化学物的具体情况,充分利用国内外现有的相关资料,讲求实效地进行科学的实验设计。

#### (二) 试验方法的标准化

毒理学试验方法和操作技术的标准化是实现国际规范和实验室间数据比较的基础。化学物质安全性评价结果是否可靠,取决于毒理学实验的科学性,它决定了对实验数据的科学分析和判断。如何进行毒理学科学的测试与研究,要求有严格规范的规定与评价标准。这些规范与基准必须既符合毒理科学的原理,又是良好的毒理与卫生科学研究实践的总结。因此毒理学评价中各项试验方法力求标准化、规范化,并应有质量控制。现行有代表性的实验设计与操作规程是良好实验室规范(GLP)和标准操作程序(standard operation procedure, SOP)。

### (三) 熟悉毒理学试验方法的特点

对毒理学实验不仅要了解每项试验所能说明的问题,还应该了解试验的局限性或难以说明的问题,以便为安全性评价作出一个比较恰当的结论。

### (四) 评价结论的高度综合性

在考虑安全性评价结论时,对受试化学物的取舍或是否同意使用,不仅要根据毒理学试验的数据和结果,还应同时进行社会效益和经济效益的分析,并考虑其对环境质量和自然资源的影响,充分权衡利弊,作出合理的评价,提出禁用、限用或安全接触和使用的条件以及预防对策的建议,为政府管理部门的最后决策提供科学依据。

## 第三节 食品安全性的风险评价

食品中危害成分的毒理学评价为风险评价提供了基础。风险评价包括危害确定、危害鉴定、暴露量评估和风险鉴定(图 13-1)。风险评价的进行首先要确定食品中可能有哪些危害成分,即危害确定,然后根据毒理学评价、残留水平和暴露量或摄入量评价,得出供试食品某特定危害物导致风险的性质、大小及其某些不确定性的说明。危害鉴定是指对可能存在于食品中的生物、化学和物理性因素所造成的健康危害进行定性和定量评估,一般和毒理学评价、残留水平和膳食消费结构相联系。过量的食品营养物、食品添加剂、化学污染物、微生物等与食品安全性有关的危害成分均要进行风险评价。下面以农药的风险评价为例来加以说明。

### 1. 安全摄入量的确定

通过毒理学试验获得的数据,外推到人,算出人体的每日允许摄入量 ADI 值(对于食品),即以无作用水平(NOEL)除以安全系数,通常安全系数为 100。值得一提的是对于污染物如铅,其安全摄入量值的确定是以暂时性每周允许摄入量(Provisional tolerable weekly intake, PTWI)表示,而对于环境污染物则使用每日可忍受摄入量(Tolerable daily intake,TDI)表示。

### 2. 膳食暴露评价

暴露量评估是指对于通过食品或其他有关途径的暴露而可能进入的生物、化学和物理性因素进行定性和定量评估。膳食农药残留暴露评价应以农药残留水平和膳食消费结构为基础进行。农药残留水平主要通过监测分析得出食品中的具体残留量,膳食消费主要可通过全膳食研究获得数据。膳食暴露评价以 mg/kg 体重或  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重表示,它等于每种食品残留暴露之和。下面是三种农药残留摄入量的计算方法。

#### ①理论每日最大摄入量(Theoretical maximum daily intake,TMDI)

$$\text{TMDI} = \sum (F_i \times \text{MRL}_i) / \text{bw}$$

$F_i$ : 代表膳食中每种食品消费量,  $\text{kg}/(\text{人} \cdot \text{d})$

$\text{MRL}_i$ : 食品中某种农药的最大残留限量,  $\text{mg}/\text{kg}$

$\text{bw}$ : 体重 (body weight)

#### ②每日最大摄入评估量 (Estimated maximum daily intake, EMDI)

$$\text{EMDI} = \sum F_i \times R_i \times P_i \times C_i$$

$F_i$ : 代表膳食中每种食品消费量,  $\text{kg}/(\text{人} \cdot \text{d})$

$R_i$ : 膳食成分的实际农药残留水平,  $\text{mg}/\text{kg}$

$P_i$ : 工业加工中农药残留量增减的校正因子

Ci: 食品处理(热漂、油作等)中农药残留量增减的校正因子

③每日摄入评估量(Estimated daily intake, EDI)

EDI是EMDI的改进,它根据足够多实际数据计算得出。

目前,进行暴露计算使用的全膳食研究(菜篮子残留数据)所得到的结果常低于TMDI方法计算的结果。一旦农药残留膳食暴露评价决定了,就要和ADI值进行比较以评价暴露的危害所在。如果暴露水平小于ADI值,就认为农药残留的暴露危险性不显著。

### 3. 风险鉴定

风险鉴定是指根据危害确定、危害鉴定和暴露量评估的有关资料,对某一特殊人群已知的或潜在的健康危害发生的可能性进行定性和定量的评价。食品农药残留的风险鉴定根据农药暴露评估与通过毒理学评价(试验动物的毒性研究)作出。风险鉴定一般来说包括两部分,即引起癌症(致癌物)或不引起癌症(非致癌物),其中致癌物的影响认为更为重要。

相对于致癌物的风险评价过程,非致癌物风险评价相当直接,通过动物毒理学试验,即按照毒理学评价程序进行的急性毒性试验到慢性毒性试验后,确定不产生毒性影响的最高剂量,即无作用水平(no observable effect level, NOEL),将其作为阈值。NOEL值可用于计算化学物的急性和慢性暴露,典型的慢性暴露NOELs值比相应的急性暴露的NOELs值要低。非致癌物评价可按照阈值直接进行评价,低于阈值就不会引起毒性作用。致癌物评价是假设无阈值存在。癌症研究通常以动物试验用危害成分的不同剂量水平确定,如果试验动物比对照组出现更多的肿瘤,则认为该物质致癌性显著。Ames和Gold等人提出了使用最大忍受剂量(Maximum tolerated dose, MTD),来表示给予试验动物的最大剂量,此剂量可足够引起一般试验动物毒性的形成。并讨论了MTD下引起的癌症与细胞死亡有关的问题,通常低暴露水平下不会引起细胞死亡。目前,MTD下的受试动物一直用于常规的癌症研究中。

由于毒理试验、膳食农药残留和食品消费评估存在不确定性因素,因此在进行风险评价时显著的不确定因素也要考虑进去。不确定因素来源于两个假设:①试验动物的化学物暴露影响可能用于预测对人的影响;②高剂量水平影响能准确地与低剂量水平相关。在缺乏人体数据情况下,这些假设对特殊化学物是没有效的。不确定因素的存在将严重影响到整个风险评价的结果。

## 第四节 联合国机构对食品中农药和兽药的安全性评价概述

FAO/WHO农药残留联席会议(JMPR)对食品中农药残留物安全性评价的目的,是确定在人的一生任何阶段不会引起有害作用的农药的每日最大摄入量。评价的总目的是以总的毒理学数据为基础确定无作用水平,并以适合的安全系数用于确定ADI。农药残留联席会议(JMPR)包括两个独立的农药残留专家小组,即FAO农药残留小组和WHO农药残留小组。FAO农药残留专家小组负责审查农药使用方式、农药的成分和化学资料、分析农药残留物的方法,评估农药残留的去向以及在良好农业生产操作(GAP)下粮食作物中农药残留水平,建议可能出现的农药的最大残留限量(MRL)值,仅从学术方面评价各国政府、政府企业等提交的农药残留试验数据、市场监测数据等。为了评估所提出的最大残留限量(MRL)推荐值,



需要把通过 MRL 计算的农药残留的粮食摄入量和 ADI 值进行比较, 农药残留膳食摄入量是以膳食消费量乘以每个农药的 MRL 值计算得到, 通过 MRL 计算的总摄入量会比实际摄入量值要偏高。WHO 农药残留专家小组负责审查毒理学及其相关作用, 根据毒理和生化等数据评估农药残留, 并评估(在两年的情况下)农药的每日允许摄入量(ADI)。

进行农药残留物的毒性评价时, 要进行快速研究、短期饲养、长期饲养、生化研究(包括吸收、组织分布、排泄、代谢、生物半衰期和对酶的作用), 以及致癌性、致畸性等特殊毒性作用的研究, 以获得资料。如有可能, 还要考虑到人体研究的资料和其他方面的信息, 如结构活性关系(SAR)。在大多数情况下, 由于人体研究的资料不足, 难以提供足够数据来制定 ADI 值。所以必须进行其他动物研究, 从其他动物试验中观察到的结果外推到人, 以制定人体的 ADI 值。

把实验动物研究的结果外推到人所采用的基本方法有三种: 安全系数法、药物动力学推论法(在药品的安全评价中广泛使用)或线性低剂量推论模型法。FAO / WHO 农药残留联席会议一般采用第一种方法, 即安全系数法, 即从由实验动物获得的资料或从人体研究获得的资料所确定的无作用水平来确定 ADI 值。由于受到种属差异、个体变异、资料不全等多方面因素的影响, 不可能制定出一个稳定的和固定的安全系数值。通常使用的 100 倍安全系数, 它是在考虑了种属间、种属内变异、品系间的变异后而制订的一个量值。100 倍安全系数可以看作是两个 10 倍系数, 一个是为种属间的变异性, 一个是为种属内的变异性。

FAO / WHO 农药残留联席会议关于食品中农药残留物毒理学评估中安全系数的确定原则中规定: 在确定每日允许摄入量(ADI)时, 100 倍系数被用作从动物资料推论到人的起点, 并可根据获得的资料和在考虑这些资料时发生的各种情况加以修改。

FAO / WHO 的食品添加剂专家委员会负责食品添加剂、食品污染物和兽药残留的评价。对于兽药残留, WHO 小组的联合专家委员会通过评价毒性以确立 ADI 值或推荐 ADI 值, FAO 小组则根据 WHO 的 ADIs 值和靶动物组织的药残留量提出动物产品中兽药最大残留限量(MRLs)值或推荐 MRLs 值。除毒理学数据外, 食物摄入量是制订动物性食品中 MRL 的另一个重要因素。在 MRLs 值时, 最大理论摄入量不应超过 ADI 值。为保证人群健康, 食物摄入量要选取各种动物性食品摄入量的上限数据, 通常 FAO 所获得的最大理论摄入量是通过夸大了的动物产品的消费量进行估算的(表 13-5)。

表 13-5 动物产品平均每日消费量

	牛、猪	禽	鱼
肌肉	300	300	300
肝	100	100	100
肾	50	40	
其他	50(脂肪)	60(皮)	
	1.5L(奶)	100(蛋)	

(Jkhn De Vries, 1997)

(联合国)食品法典委员会(CAC)关于药残留量的规定, 是根据食品添加剂联合专家委员会(JECFA)的评价而制订的。食品添加剂联合专家委员会第 36 次会议(1990 年罗马)提出了评价食品中兽药残留物安全性的建议。

### 1. 制定推荐的最大残留限量的过程

食品添加剂专家联合委员会推荐一种特定化合物的最大残留限量(MRL)时,要考虑以下几个因素:残留物毒理学和放射性同位素示踪的研究;结合性残留物的生物效应;确定靶器官;测定残留物安全限量的残留物标准;按照良好的兽药使用规范使用兽药后的残留量数据、兽药充分排泄的休药期以及合适的兽药残留物分析方法。

首先根据所得到的毒理学数据确定 ADI 值。在按照良好的兽药使用规范操作下使用兽药,如果残留量低于每日允许摄入量(ADI)值,可相应降低制定的最大残留限量(MRL)值,如果用分析方法测不出兽药残留物时,就应该将最大残留限量(MRL)值提高到分析方法所能检出的水平,而推荐的 MRL 值不能明显大于根据毒理学试验得到的 MRL 数据。

### 2. 兽药结合性残留物的评价

兽药残留包括母体和其代谢产物残留。兽药或其代谢物与内源大分子共价结合产物称为结合性残留物。如果总的残留物中结合性残留物所占的比例不大,通常可选择一种可提取的合适残留物作为代表,来制订最大残留限量(MRL),而当以结合性残留物为主时,就必须对这些结合性残留物的每日允许摄入量(ADI)值作出评价,来制定最大残留限量。

食品添加剂联合专家委员会认为评价结合性残留物时,方法必须要有明确的根据,并且需要有其安全性残留量数据和毒理学数据,但它们随不同的兽药种类和结合性残留物性质而不同。生物效应程度、无生物效应残留物含量、毒理学评价数据(用以确定 ADI)和结合性残留物的性质等对结合性残留物的安全性评价起决定作用。

### 3. 食品中兽药残留的微生物学危害评价

食品中残留的抗菌药物会给人体带来潜在的危害,表现在对人体肠道菌产生微生物学危害。因为人类体内的肠道菌群具有“屏障作用”,能阻止外来细菌的侵入,当人体摄入含有抗菌药物的动物性食品时,它能选择性地抑制肠道菌群,从而有利于某些天然的或获得的具有抗药性微生物的生长,破坏肠道菌群的作用。

抗菌药物对人体肠道菌群的危害评价,需要鉴定构成人体肠道菌群的细菌资料、整个菌群中代表性的细菌资料和屏蔽作用的体内试验资料。目前人体流行病学调查还不能提供这些方面的充分详细的资料,当然通过志愿者是一个较好的研究方法,然而这是有限的。当人体资料不能得到这些数据时,可考虑用其他动物试验来获得数据。

另外评价残留抗菌药物的安全性时,还要考虑与其抗菌活性有关的特殊危害,如果毒理学资料已确认被评价的药物在食品中可允许有较高残留量,则该药物的抗菌活性就成为安全性评价的决定性因素。

食品加工业中所使用的细菌方面的因素也是评价微生物学危害所要考虑的。如抗菌药物残留对奶酪生产中乳酸细菌具有明显的抑制作用,应通过监测发现危害并确定最低无抑制作用的残留量的浓度。

食品中兽药残留的致过敏性, JECFA 认为对一般人群的健康不会产生很大的影响,但对高度敏感人群所发生的过敏反应,要引起重视。因此有必要对已知的或可疑的有过敏原作用的药物残留量保持尽可能低的水平,如青霉素和头孢菌素。

## 第五节 转基因食品的毒理学安全性评价

运用基因重组技术把植物细胞中的基因(或基因片断)取出来,经非生殖方法插入到另外植物细胞的 DNA 中,使它获得某种良好的特性,这种新作物称为转基因作物(genetically modified plant, GMP)。用转基因食品作物制成的食品称为转基因食品(genetically modified foods,以下简称 GM 食品),所插入的基因称为标记基因(marker gene)。利用转基因技术已经生产出有更高营养价值(如棉籽粉蛋白质和脂肪含量显著增加)和较少不良成分的食品作物(如油菜籽芥酸减少),这将大大丰富未来的食品市场,有可能引发食品产业的一次革命。

转基因食品对人类健康和生态影响问题还存在争论是因为目前还没有足够科学证据表明 GM 作物对生态环境无害和 GM 食品对人类健康完全无害。由于有些转基因食品作物与亲本作物化学组成不完全相同,现行的食品毒理学性评价标准和方法并不完全适用于转基因食品。此外,转基因食品还可能引发宗教和伦理问题。

### 一、GM 食品的安全性问题

1. 抗生素抗性标志基因传递(gene transfer) GM 食品中抗生素抗性标志基因(antibiotic resistance marker genes)插入人畜肠道微生物内,并在其中表达,使之转变为抗药菌株,这就有可能影响口服抗生素的药效,对健康造成危害。GM 微生物食品中的标记基因也有可能向人畜肠道微生物或肠粘膜上皮细胞传递。但是,基因传递是需要一定条件的,不是很容易发生的。

与临床上重要的抗生素的编码相同的标志基因,不可用于 GM 食品微生物。本身是活菌或含有活菌的 GM 食品,需保证菌株纯净,未发生突变。另一个重要问题是标志基因的稳定性。

2. 潜在致敏性 GM 食品中引入的新基因蛋白质有可能是食品致敏原。对 GM 食品的潜在致敏性要进行严格的上市前人体试验和上市后对食用人群的监测。食品生产工人通过吸入和皮肤接触也有可能发生过敏,甚至较严重的过敏。

3. 影响人肠道微生态环境 GM 食品中的标记基因有可能传递给人肠道正常微生物群,引起菌群谱和数量变化,通过菌群失调影响人的正常消化功能。

4. 影响人群膳食的营养 GM 食品营养组成和抗营养因子变化幅度大可能对人群醇、酪胺、组胺等在食品中含量可发生变化。

5. 天然毒素 如芥酸、黄豆毒素、蕃茄毒素、棉酚、龙葵素、cyclopropenoids、甾醇、酪胺、组胺等在食品中含量可发生变化。

6. 非意愿效应(unintended effects)例如由新基因产物可能产生的代谢干扰等。GM 食品中重金属含量也需考虑。

### 二、GM 食品安全性评价原则、方法和内容

评价 GM 食品安全性的基本原则是评价食品或其成分的客观特性而非所使用的转基因技术本身。它的安全性至少不低于相应的传统食品或不会增加来自食品的风险。

由于评价指标还不统一,检测方法有待规范,经验不足,FAO / WHO 建议采用综合的、分布骤的以及个案评审方式。美国 FDA 采用咨询形式,政策比较宽松。

安全性评价方法的理论依据:主要是“相互比较”和“等同性”两个概念。“比较法”

是把 GM 食品作物与相应的亲本作物比较来评价 GM 食品的相对安全性。评价应包括安全性和营养价值两方面。

“比较法”和“实际等同性”(substantial equivalence)两个新概念是评价的核心,是与现有的食品安全性评价不同之处。实际等同性是为了确定 GM 食品与相应的传统食品的相对安全性。

何谓实际等同性?对单一的,生化上明确的食物或原料,它的生化属性在相似的传统食物的自然变动范围之内;对复合的食物或原料,在成分、营养价值、代谢、用途以及不良物质含量都在相似的传统食物或原料的已知和可检测的自然变动范围内,就是实际等同(欧洲 ILSI, 1996)。确定 GM 生物的实际等同性时必须考虑它的分子特征、表型特征、主要营养素和天然毒素(FAO / WHO, 1996),

等同性与实际等同性有一定区别。等同性是指 GM 食品或原料固有的分析特征,实际等同性是用来评定 GM 食品的安全性和营养价值与它的相似传统食物的相似程度。如果某一 GM 食品(除 DNA 改变外)与它的相应传统食物完全一致,那么两者就是实际等同。等同性在欧盟法规中是一法律用词,它涉及是否需要贴上 GM 食品标识和说明它的来源与组成。

从前述内容可见要划分 GM 食品的等同性类别和评价它的安全性与营养价值,首先要对 GM 食品与它的相似食物(analogous food product)同步进行一系列相同项目的化学分析(包括安全性有关物质和营养成分),然后将两者的结果比较。具体分析那些项目/指标取决于标志基因的特性、食物作物的种类、在膳食中的作用等。例如油菜籽要分析脂肪酸和芥酸与硫葡萄糖苷(gluoosinolate),含蛋白质的要分析各种氨基酸,蕃茄要分析蕃茄素和龙葵素含量。标志基因及其代谢物含量是最重项目之一。

欧盟采用“等同性与相似性定标法(Safety Assessment of Food by Equivalence and Similarity Targeting, SAFEST)”,将 GM 食品或原料根据其相似传统食物的等同性和相似性比较而划分为 3 类。1 类是与对照的传统食物等同的 GM 食品;2 类是与对照的食物十分相似的 GM 食品;3 类是与对照的传统食物既不同也不相似的 GM 食品。

对新食物归类时,首先要恰当地选择用来比较的传统食物,不仅要能反映出它的化学组成、它的每日摄入量(EDI)、在膳食中的作用以及加工对它的影响。GM 生物要与它的亲本生物比较,找出其差别、表型水平(外表、生物学特性)和成分水平(包括主要成分、营养素和毒素等)。

1. 1 类 GM 食品 它们是与对照传统食物或原料实际等同的 GM 食品或原料。这类 GM 食品生物体的每个代谢物必须是清楚的;人摄入量与相似传统食物相差不大;全部 DNA 来自亲本生物,基因产物水平与亲本相同。1 类新食物不需更深入的资料即可作出安全性评价。例如 Zeneca 公司转基因蕃茄制成的蕃茄酱,与对照蕃茄酱 36 个化学分析指标结果比较,其相关水平高达 98.9%,而且不含基因产物,故可评为与传统蕃茄酱实际等同,属 1 类 GM 食品。

2. 2 类 GM 食品 它们是与对照传统食物或原料十分相似的 GM 食品或原料。它们与相似传统食物实际等同,但某些可识别性质有差别。它具有或没有某种新的成分或性质(如微生物的致病性)。这些不同的性质是使用分析手段或实验方法等进一步研究的焦点。对新食物中的新成分需要重点进行安全性评价,查阅文献以及做毒理学试验。例如,由 GM 蕃

茄制成的蕃茄酱，如含有新基因产物，评为与传统蕃茄酱十分相似，属 2 类 GM 食品。

3.3 类 GM 食品 它们与相似传统食品即不等同也不类似。这类 GM 食品和 GM 食品原料需作较深入的安全性评价。例如用超高压处理过的草莓果酱与传统方法生产的不十分相似，属于 3 类新食品。

对 GM 食品进行安全性评价主要内容：①来自食品作物的特征毒素；②致敏原；③重要营养素含量和生物利用度；④插入基因蛋白质和安全性和营养价值；⑤碳水化合物、脂肪和油脂的特性、组成和营养价值。

### （三）GM 食品标识和名称问题

GM 食品 FDA 没有要求厂商用特别标识。我国规定必须标识，使消费者知情。如果营养成分含量明显少于相应的传统产品，也应标明。

GM 食品来源的 GM 作物与相应的传统作物相差显著时，加工成的 GM 食品不宜使用相同的名称。此外还有 GM 食品标准问题，这些都有不同意见。

总之，GM 食品还处于研究、开发以及商品化的早期，目前还没有足够科学证据表明 GM 作物对生态环境无害和 GM 食品对人类健康完全无害。考虑到我国加入 WTO 后，食品的跨国贸易必定大增，迫切需要出台管理办法，以上介绍国外的原则与方法基本上可以参考。

## 第六节 食品安全性毒理学评价举例

### 一、稀土元素农用安全性毒理学研究

稀土元素包括镧、铈、镨、钕、钐、铕、钆、铈、钇、铉、铊、铀、钽、铌、钨、铋、铊、铋、铋和钿共 17 种元素。我国稀土元素矿藏丰富，储量居世界首位。由于稀土元素具有独特的电子结构和多种理化性能，所以用途极为广泛。尤其七十年代以来，我国施用稀土元素肥料已使多种农作物增产，如小麦、大豆，花生，水稻等，增产幅度达 8% 以上。烤烟，西瓜和甜菜等不仅增产，还能改善品种质量。这为稀土的应用开辟了广阔的前景。同时，也出现了稀土元素的毒性问题。经文献调查，美国与日本虽然报道了一些关于稀土元素及其化合物经呼吸道侵入、静脉注射对温血动物的毒性研究结果，但稀土硝酸盐长期经消化道侵入的毒性及远期生物效应均未见详细报道。为此，在国家科委，经委及全国稀土推广应用领导小组的支持下，组成了多学科的稀土元素农用协作网，其中卫生毒理组对稀土元素农用进行了系统的毒理学研究，目的是为稀土元素农用的安全性评价提供科学依据。

目前从世界范围来看，稀土元素农用为我国首创，其产量大，使用面广，因而人体摄入机会也增多，根据卫生部颁发的“食品安全性毒理学评价程序”，对这类化学物质一般要求进行四个阶段的试验，同时在进行急性毒性，90 天喂养试验和慢性毒性试验时，要求使用两种试验动物。因此，对稀土元素进行了如下的毒理学试验研究。

#### （一）急性毒性试验

1. 样品 采用纯度为 99% 的硝酸稀土，其组分为  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  38.75%、 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  33.24%、 $\text{Pr}(\text{NO}_3)_3$  5.30%、 $\text{Nd}(\text{NO}_3)_3$  15.50% 和  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  1.18%。

2. 试验动物和方法 健康雌性小鼠，体重 20~25g。大鼠雌、雄兼有，健康，体重 180~240g。将试验动物按体重随机分组，小鼠每组 10 只，大鼠每组 12 只(雌、雄各半)，隔夜停

食 6 小时后, 试验组用规定浓度的硝酸稀土溶液, 对照组用 0.00002mol 的硝酸溶液经口灌胃染毒。灌胃体积均为 0.1ml / 10g 体重, 观察给药后二周的中毒表现及动物死亡情况, 按寇氏法计算 LD<sub>50</sub> 值。

3. 结果 大、小鼠染毒后均表现有暂时兴奋、躁动不安, 但很快出现萎靡, 无力, 俯卧等。小鼠死亡均发生在给药二天之内, 大鼠死亡约在十三天之内。动物尸解发现肠腔及胃壁明显扩张, 有的动物胃粘膜变厚, 变硬, 硝酸稀土对雌性小鼠 LD<sub>50</sub> 为 1875mg / 45Zkg, 95% 可信区间为 1692~2097mg / kg。大白鼠 LD<sub>50</sub> 为 1832mg / kg, 95% 可信区间为 1578~2126mg / kg, 均属于低毒类化学物质。

从大, 小鼠的急性毒性试验结果看, LD<sub>50</sub> 均不小于实际可能摄入稀土元素量的 10 倍, 因此可不作 7 天喂养试验, 而按毒理学评价程序的要求, 进行下一阶段的试验。

## (二) 蓄积毒性、致突变性和代谢试验

### 1. 蓄积毒性试验

1-1. 动物: Wistar 种大白鼠、体重 180~240g。

1-2. 方法: 试验前观察一周, 选择健康动物 40 只, 雌、雄各半。按剂量递增法实验设计每日经口灌胃给予稀土硝酸盐溶液。每 4 日为一期, 染毒剂量开始为 0.1LD<sub>50</sub>, (LD<sub>50</sub> 以 1832mg / kg 计), 继之按 1.5 倍等比级数逐期递增染毒剂量, 累积自试验开始到出现 50% 的动物死亡时总剂量(∑LD<sub>50</sub>(n)), 根据公式  $K = \frac{\sum LD_{50}(n)}{LD_{50}(1)}$  计算蓄积系数 K。

LD<sub>50</sub> (1) 为一次给药的 50% 致死剂量。

1-3. 结果: 染毒总剂量达 5.3 倍 LD<sub>50</sub> 时, 动物死亡 9 只, 得蓄积系数 >5.0, 可认为硝酸稀土元素在大鼠体内无明显蓄积, 为弱蓄积性物质。

### 2. Ames 试验

#### 2-1. 实验材料

2-1-1. 稀土材料: 氧化镧、氧化铈、氧化钆试验浓度为 0.05~250mg / ml, 氧化钪浓度为 0.025~50mg / mL, 混合硝酸稀土浓度为 0.05~50mg / ml。

2-1-2. 实验菌种: 鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型(his-)TA1535, TA1537, TA1538、TA98、TA100 共 5 株, 按常规方法进行组氨酸缺陷型的鉴定, 脂多糖屏障缺失的鉴定, R 因子丢失的鉴定, uvrB 修复缺陷型的鉴定和自发回变率的鉴定。

2-1-3. 培养基及微粒体酶系统: 按 Ames 试验原法制备蛋白胨肉汤培养基(增菌培养基)、顶层培养基、底层培养基, 用多氯联苯玉米油溶液诱导大鼠肝微粒体酶并按常规方法配制 S-9 混合液。

2-1-4. 阳性对照物和阴性对照物: 在非代谢活化试验中对 TA1535, TA1537; TA1538、TA98 和 TA100 5 个菌株分别采用 6-MP, 疟疾平、3, 3 一二氯联苯, 正定霉素和 6-MP 为阳性对照, 在代谢活化试验中分别采用环磷酰胺、咯萘啶、2-AAF、2-AAF 和环磷酰胺为阳性对照; 在整个试验中均采用 DMSO 为阴性对照。

#### 2-2. 试验方法

2-2-1. 点试法: 向在水浴中保温的顶层培养基中依次加入经 37℃ 振荡培养 16 小时的测试菌株增菌液 0.1ml, 加(或不加)S-9 混合液 0.5ml, 混匀, 迅速倾入底层培养基上, 混匀平放固化后放一直径 6mm 的灭菌滤纸片于表面中心, 用血色素吸管取适量受试样品点在滤纸

片上, 37℃孵箱培养 48 小时后观察结果。

2-2-2. 掺入法; 向在水浴中保温的顶层培养基中依次加入测试菌株增菌液 0.1ml, 加受试样品, 加(或不加)S-9 混合液 0.5ml, 混匀迅速倾入底层培养基上, 转动平皿使顶层培养基均匀分布, 平放固化, 送 37℃孵箱培养 48 小时观察结果。

2-2-3. 结果判定标准: 点试法以检测样品纸片周围出现密集菌落围绕者为阳性结果; 掺入法以试验平皿内出现的诱变菌落达到自发回变数两倍以上, 并且有剂量一效应关系者判定为阳性结果。

2-3. 结果: 镧、铈、钇、钆四种系稀土和混合硝酸稀土的点试法试验中, 五个菌株均为阴性结果。掺入法试验中对五个菌株的诱变菌落数均小于自发回变数的 2 倍, 亦无剂量一效应关系。在整个试验过程中, 阳性对照结果及自发回变菌落数均符合实验要求。

### 3. 小鼠骨髓细胞染色体畸变分析

3-1. 材料和方法: 实验样品为稀土硝酸盐。动物为昆明种雄性小鼠, 体重 25~30g。试验组分别给以稀土硝酸盐 400mg / kg, 200mg / kg, 40mg / kg, 20mg / kg) 相当于稀土硝酸盐 LD<sub>50</sub>剂量的 1 / 5、1 / 10、1 / 50 和 1 / 100。以蒸馏水为阴性对照, 以 50mg / kg 环磷酰胺为阳性对照, 以硝酸钠作稀土硝酸盐中硝酸根的对照。每组用 5 只小鼠, 连续灌胃 5 天, 处死前 6 小时腹腔注射秋水仙素(4mg / kg), 颈椎脱臼处死后取股骨骨髓, 0.075MKCl 溶液低渗, 1000 转 / 分离心, 甲醇和冰醋酸(3 : 1)固定三次, 空气干燥, Giemsa 染色, 油镜下分析染色体畸变。

3-2. 结果: 骨髓细胞染色体畸变类型主要有断裂, 断片, 缺失, 环状染色体、单体互换、裂隙等。稀土硝酸盐 4 个剂量组致小鼠骨髓细胞染色体畸变率, 除 200mg / kg 剂量组外, 其余各组与阴性对照组相比无显著性差异(P>0.05), 4 个稀土硝酸盐剂量组与环磷酰胺阳性对照组相比, 有非常显著差异(P<0.001)。虽然剂量为 200mg / kg 时, 骨髓细胞染色体畸变率略偏高(2%), 但其它三个剂量组(20mg / kg, 40mg / kg, 400mg / kg)畸变率均为 1.4%, 不见有剂量一效应的线性关系, 因而可认为受试的稀土硝酸盐未引起小鼠骨髓细胞染色体畸变率增高。

### 4. 小鼠精子畸变试验

4-1. 材料和方法: 实验样品为稀土硝酸盐。实验动物为昆明种雄性小白鼠, 体重 25~28g, 将动物分成四组即阳性对照组(环磷酰胺 20mg / kg); 阴性对照组(蒸馏水); 330, 89mg / kg 与 55.13mg / kg 稀土硝酸盐染毒组, 除环磷酰胺为腹腔注射染毒外, 其它各组均系经口灌胃给药, 连续给药五天。给药后四周, 颈椎脱臼处死动物, 取出一侧副睾, 放入盛有 2ml 生理盐水的容器中剪碎, 以三层滤纸过滤, 滤液以 1000 转 / 分, 离心 5~10 分钟, 弃去上清液, 再加入 2ml 生理盐水, 以其混悬液涂片, 干后甲醇固定。将玻璃片完全干燥后, 用 2% 伊红染色 1~1.5 小时, 在高倍显微镜下观察精子形态, 每只动物检查 1000 个精子来计算精子畸形率。

4-2. 结果, 染毒高剂量组, 低剂量组、阴性对照组和阳性对照组的精子畸形率分别为 1.50%、1.45%、1.39% 和 3.38%。精子形态畸形主要为头部, 表现为无钩、香蕉形, 无定型、双头等。尾部畸形少见, 极少见为双体及混合型。本实验结果表现稀土硝酸盐对雄性小鼠精子无致畸作用, 即在 330.89mg / kg 剂量作用下, 不干扰小鼠精子正常发育过程。

### 5. 大鼠体内分布和贮留试验

5-1. 材料和方法：试验样品为混合稀土硝酸盐。试验分为两组，一组为一次灌胃组，动物为体重  $200 \pm 20\text{g}$  的雌性大鼠。以每  $100\text{g}$  体重  $0.5\text{ml}$  的稀土硝酸盐溶液一次灌胃，浓度为  $200\text{mg} / \text{ml}$ ，对照组大鼠同时灌以蒸馏水，24 小时后解剖。另一组为长期饲喂组，以每日  $1800\text{mg} / \text{kg}$  剂量的稀土硝酸盐混于基础饲料中，从幼年大鼠开始自由进食八个月对照大鼠给基础饲料，同时解剖。从上述两组动物中各取 3 只，取肝、肾、心、脾、肺、脑及长骨，将样品按不同组分别混合处理，软组织打成匀浆后经真空冷冻干燥，骨经高温灰化，均制成粉状样品，用中子活化分析法测定其中稀土元素含量。

### 5-2. 结果

5-2-1. 未饲喂稀土硝酸盐的大鼠脏器组织中也含有痕量的稀土元素，以骨中含量最高。

5-2-2. 一次灌胃结果可见大鼠的肝、肾、心、肺、脑、骨中稀土元素总含量为  $660\text{ppm}$ ，与对照组比较，肝中稀土含量增加最多，为对照动物的  $29 \sim 156$  倍，其次是肾和心脏、骨中稀土含量增加最少，仅为对照动物的  $2 \sim 3$  倍。

5-2-3. 连续饲喂八个月后，大鼠肝、肾、肺、脾、骨中稀土总量仅为摄入量的  $0.607\text{ppm}$ ，以骨中和脾中含量最高，其次为肝和肾，肺中稀土含量很低。

5-2-4. 从测定的几种脏器组织来看，稀土经胃肠道吸收后，主要分布在骨，脾和肝脏，以骨中最高，肺和脑中极少。稀土虽在骨中的分布较多，但蓄积并不严重，长期饲喂稀土元素的大鼠骨中的稀土含量仅比对照高 10 倍。总的来看，稀土经胃肠道吸收的很少，蓄积能力也很弱。

### (三) 亚慢性毒性试验

#### 1. 大鼠亚慢性毒性试验

1-1. 材料和方法：试验样品为混合稀土硝酸盐，纯度  $99.74 \sim 99.93\%$ 。

动物为 Wistar 种幼年大鼠、体重  $60 \sim 80\text{g}$

将动物随机分成五组、每组 16 只，雌，雄各半，一组为基础饲料组，二至五组分别为  $2\text{mg} / \text{kg}$  体重， $20\text{mg} / \text{kg}$  体重， $200\text{mg} / \text{kg}$  体重， $2000\text{mg} / \text{kg}$  体重混合硝酸稀土饲料组。将稀土均匀拌入基础饲料中，按每只动物  $100\text{g}$  体重的进食量推算(ppm)浓度。第一次进食量按每  $100\text{g}$  体重  $10\text{g}$  计算，以后随体重增长及进食量的变化，改变稀土在饲料中的含量，动物自由进食和饮水，单笼喂养六个月。

观察指标包括，一般状态，生长发育、血液检验，生化检验，脏器系数和病理组织学检查。

#### 1-2. 结果

1-2-1. 一般状态：整个试验期间动物活动正常，毛有光泽，个别动物偶见卡他症状。试验结束时第 2 组和第 5 组动物各死亡一只。

1-2-2. 生长和发育：试验期间动物体重一直处于增长状态，但第 5 组动物从 14 周开始，体重处于平稳状态，到第 24 周时明显低于对照组，统计分析有非常显著性差异。第 5 组平均食物利用率最低，但统计分析与其它各组相比无显著性差异。

1-2-3. 血液学检查：在试验的第 2，4，6 个月测定血红蛋白和凝血第 VII 因子含量，结果均正常。

1-2-4. 生化检查：于试验的第 2，4，6 个月测定了血清中甘油三酯、胆固醇，转氨酶、总巯基及尿素氮，测定结果均属正常范围。试验第六个月测定了血清中钙及无机磷，第五组



的雄性动物血磷显著地高于其它各组。

1-2-5. 脏器系数: 第占组动物肝脏体重比明显低于各组, 经统计分析有显著性差异。心, 脾, 肺, 肾, 肾上腺和脑的脏器体重, 与各组间无明显差异。

1-2-6. 病理组织学检查: 解剖各组动物各十只, 经光镜、透射电镜和扫描: 电镜检查, 各组动物肝、肾、胃、睾丸、骨骼及甲状腺等组织均未见特异性病理改变。

根据动物体重变化, 食物利用率、脏器系数及血磷等指标均正常, 可认为最大无作用剂量为 200mg / kg。

2. 对兔的亚慢性试验 试验用体重 1~1.25kg 的家兔 16 只, 雌、雄各半分成两组。试验组动物每日以 500mg / kg 剂量的稀土硝酸盐掺入饲料中喂养, 每周五日, 共喂六个月。对照组喂正常饲料。试验期间每周称动物体重, 分别于 1、2、3、4、6、8、24、26 周采耳血测血红蛋白、血糖、血清甘油三酯, 血清胆固醇、谷丙转氨酶, 谷草转氨酶以及血钙。试验结果兔饲喂稀土元素后食欲旺盛、生长正常, 血液各项检查指标与对照组相比均无显著性差异。由此, 可以认为在 6 个月喂养试验中, 500mg / kg 剂量的稀土元素对家兔机体不产生有害作用。

### 3. 传统致畸试验

3-1. 材料和方法: 试验样品为稀土硝酸盐。将体重 200~290g 断乳后四月 Wistar 大鼠以雌 2、雄 1 的比例合笼交配。于次日清晨镜检阴道涂片发现精子者为受孕零天, 受孕日期自检出精子的第二天算起。将已受孕雌鼠分成三个染毒剂量组, 即 330.89mg / kg 165040mg / kg 及 55.13mg / kg 组, 稀土硝酸盐配成 1mg / ml、于妊娠 6~16 天每天经口灌胃一次, 另设阳性对照组, 按 0.7mg / kg 给敌枯双, 阴性对照组给蒸馏水, 妊娠 20 天后处死动物, 剖腹取出胎鼠, 查有无外观畸形, 如露脑、脑膨出、脊柱裂、脐疝、四肢畸形等, 并量身长和尾长, 然后将每窝胎鼠的 1/3 用 Bouin 液固定, 待内脏检查用。2/3 经茜素染色检查骨骼畸形, 重点检查囟门大小, 枕骨、胸骨。脊柱等骨化情况。

3-2. 结果: 妊娠期间母鼠体重增长值, 染毒组均低于对照组, 高剂量组最明显。统计学检验与对照组比较  $P < 0.01$ , 中剂量组  $P < 0.05$ , 提示出母鼠受到毒物的影响。

高剂量组吸收胎高于阴性对照组( $P < 0.05$ ), 染毒组胎仔体重、身长、尾长均低于对照组, 但以高剂量组最明显( $P < 0.05$ ), 在胎鼠的骨骼检查中, 发现有枕骨骨化不全, 胸骨缺失及骨化不全, 以第 2、5 胸骨最为明显, 还伴有其它骨骨化不全, 与对照组比较, 高、中剂量组  $P < 0.01$  低剂量组  $P < 0.05$ 。

胎鼠外观及内脏检查, 染毒组均未见异常。

阳性对照组中, 有吸收胎的母鼠占全部妊娠鼠的 64.71%, 胎鼠有外观畸形的母鼠占 83.75%, 活胎中外观有畸形的占总活胎仔的 31.5%, 未见内脏畸形, 骨骼畸形的占 16.16%。

从上述结果可见稀土硝酸盐对大鼠无致畸作用, 但在较高剂量作用下, 对母鼠及胚胎产生一定的毒性作用。

### (四) 慢性毒性试验

该试验用两种性别的大鼠, 将稀土硝酸盐按不同剂量混入饲料饲喂二年, 观察对动物的慢性毒性和致癌作用。

### (五) 总结

稀土元素在农业上的广泛应用, 增加了人们接触稀土元素的途径及剂量, 我国对稀土的

开发、利用虽处于世界领先地位,但关于稀土的毒性资料报道尚少。为了对稀土农用的安全性做出确切评价,我国对稀土硝酸盐进行了四个阶段的毒理学试验,即第一阶段,大,小鼠的 LD<sub>50</sub> 测定;第二阶段:蓄积毒性试验,Ames 试验(基因突变分析),小鼠骨髓细胞染色体畸变试验(体细胞染色体畸变分析),小鼠精子畸变试验(生殖细胞染色体畸变分析)及稀土元素在大鼠体内分布和贮留试验(代谢情况分析);第三阶段,大鼠和家兔的亚慢性毒性试验和大鼠的传统致畸试验;第四阶段:大鼠二年慢性毒性试验(包括致癌试验)。通过上述四个阶段的毒理学试验可以确定稀土硝酸盐是低毒类物质;弱蓄积性:无致突变性(包括基因突变和染色体畸变);经消化道吸收极微,吸收后主要在骨内有轻度蓄积;无致畸作用,但有一定的胚胎毒性;亚慢性毒性试验中大鼠的最大无作用剂量为 200mg / kg,可暂定 ADI 2mg / kg。若按每人 60kg 体重计算,每人每日的容许摄入量可达 120mg,这个限量范围远远超过人从日常食物中可能的摄入量(根据植物食品中稀土含量调查所推算出的每人每日摄入量为 1.75~2.25mg)。因此,现有的资料表明,稀土元素的农用可以认为是安全的。

## 二、DSA 消泡剂的毒性试验研究

DSA 消泡剂是我国某化工研究所研制的一种新型高效消泡剂,它能降低泡沫的表面张力和泡沫的弹性;从而起到抑制和破坏泡沫的作用。经多次试验证明,DSA 可用于制糖、味精、柠檬酸等发酵工业生产,代替以往使用的豆油和白油,消泡效果良好。一方面节约了大量的豆油和白油,同时也降低了糖和味精的成本。但我国目前对该产品尚未做系统的安全性评价,在我国食品添加剂标准中也无规定,查阅有关文献,国外目前尚无此种消泡剂,但有与其成分类似的高碳醇和脂肪酸酯消泡剂。国外已广泛用于食品工业如制糖、发酵等工业,并有关于其毒性安全性和主要卫生质量指标的报道。为了保证我国 DSA 消泡剂的安全使用和为国家对消泡剂制定使用标准提供依据,受该化工研究所的委托,对 DSA 消泡剂进行了系统的毒性试验。按照我国《食品安全性毒理学评价程序》要求,对这种国外有结构类似产品毒性和使用标准报导的化学物质,我们进行了三个阶段的毒理学试验。

### (一) 样品简介

DSA 消泡剂的基本生产工艺是①将十八碳醇和硬脂酸在 120℃~150℃加热生成脂肪酸酯;②正构烷烃与硬脂酸铝互混;③硬脂酸加三乙醇胺反应生成硬脂酸三乙醇胺;④取 30 份高碳醇、20 份硬脂酸酯,20 份正构烷烃与硬脂酸铝混合物和 30 份硬脂酸三乙醇胺充分混合即成 DSA 消泡剂。其外观为白色或淡黄色粘稠液体,性能稳定,比重 0.78~0.88, pH 值(1%水溶液)8~9。

### (二) 试验方法和结果

1. 急性毒性试验 选体重 180~220g 健康大鼠 12 只雄、雌各半,将 DSA 样品于 40℃水浴微热,待融化后直接按 15000mg / kg 剂量给动物空腹一次灌胃,观察并记录其表现;结果所有大鼠未见任何异常表现。观察二周未见死亡,可认为 DSA 消泡剂大鼠经口急性 LD<sub>50</sub> 大于 15g / kg,属于实际无毒类。

2. 蓄积毒性试验 选健康雄性大鼠(120~160g) 20 只和雌性大鼠(110~140g) 20 只,按照剂量递增染毒法求蓄积系数。将 DSA 样品于 40℃水浴融化后直接经口灌胃,首次剂量为 0.1LD<sub>50</sub>(LD<sub>50</sub>以 15g / kg 计),每 4 天递增剂量 50%,并按体重校正给药量,连续给药 20 天。观察动物一般状态,死亡数及体重变化,于试验第 20 日,将存活鼠雌、雄各剖杀 8 只,大体观察脏器病理改变。

整个期间动物死亡 4 只,按公式计算蓄积系数 $>5$ 。试验期间动物体重持续增长,未见任何中毒症状。试验结束时,剖杀动物大体观察各脏器,均未见明显病理变化。

3. Ames 试验 使用由美国 Ames 试验室引进的试验菌株,TA1535,TA100(碱基置换型),TA1537、TA1538 和 TA98(码组移位型)、按 Ames 原法制备培养基,进行菌株特性鉴定和回变分析。

用点试法(加与不加 S-9 混合液)对 DSA 消泡剂及其七种配方原料分别进行了试验重复试验二次,每次做二个平行样品,同时用 DMSO 做阴性对照,用敌克松做阳性对照。结果各试验样品对 5 个菌株均未引起菌株回变。

在掺入法试验中,样品用二甲基甲酰胺配成 0.5mg / ml、2mg / ml、5mg / ml 三个浓度。在加与不加 S-9 混合液条件下,不同剂量 DSA 消泡剂所引起的菌落回变数均未超过自发回变的 2 倍,亦无剂量一效应关系,说明不论是否经过肝微粒体酶代谢活化,DSA 消泡剂均无致突变作用。

4. 大鼠骨髓细胞染色体畸变分析 选体重 140~160g 健康雄性大鼠 20 只随机分成 4 组,每组 5 只。DSA 样品剂量各组依次为 0mg / kg、80mg / kg、240mg / kg、720mg / kg 样品溶于熟豆油中,配成 10ml / kg 体重的容积,阴性对照只给熟豆油。分别连续灌胃给药 5 天,第 6 天处死动物,处死前动物腹腔注射秋水仙素,剂量为 4mg / kg。按常规方法取骨髓,制备骨髓染色体标本。每只动物观察 100 个中期分裂相细胞,记录染色体数畸变类型和畸变细胞数,计算畸变率。

结果发现染色体畸变类型主要有断片,缺失、成环、裂隙和微小体,各组之间细胞畸变率没有显著性差异。

5. 小鼠显性致死突变试验 选择健康的体重 32~42g 雄性小鼠 30 只随机分成 3 组,每组 10 只,第一组为阴性对照组,给热豆油,第二,三组为试验组,分别给 DSA 消泡剂油溶液,剂量为 80mg / kg 和 800mg / kg,连续灌胃一周。再选用成熟未交配过的雌性小鼠,体重 30~40g,雄、雌以 1:1 同笼交配 7 天,换另一批雌鼠,连续交配 5 周。每批雌鼠到与雄鼠同笼的第十九天,颈椎脱臼处死。剖腹取出子宫,检查记录活胎数,死胎数和吸收胎数,总着床数。并按负二项分布统计模型来比较其毒性。

结果雄性小鼠给予 DSA 消泡剂后未见异常表现。在五周试验期间,各剂量组雌鼠的平均受孕率为 84%,78%和 78%。分别将五个星期试验中各剂量组的胚胎死亡数累加,按负二项分布统计处理。经方差分析,结果各剂量组之间胚胎死亡水平差别无显著性。如果按不同的交配周期处理,结果每个配周期组间差异也没有显著性。

#### 6. 亚慢性毒性试验

6-1. 方法:选体重 160~180g 健康大鼠 80 只,随机分成 4 组,每组 20 只,雌、雄各半。第一组为对照组,饲料为不含 DSA 消泡剂的普通饲料,第二,三,四组分别每天给以含 800ppm、8000ppm,80000ppm 的 DSA 消泡剂饲料。此饲料中按不同比例添加酪蛋白,使试验组饲料中蛋白质含量与对照组相同。受试动物自由进食,进水。试验共进行三个月,每周称动物体重一次,记录饲料消耗量。在试验的一个半月和三个月时检查了大鼠的血红蛋白、红细胞数,白细胞总数及分数、血清谷丙转氨酶。试验中期测定了大鼠粪便中粗脂肪含量,并做了尿中酮体定性试验。试验结束时,每组取 12 只鼠(雌、雄各半)断头处死,称取脏器重量。脑,心,肝,脾;肺,肾,睾丸及子宫用 10% 甲醛固定,做病理组织学检查。

## 6-2. 结果

6-2-1. 体重, 饲料利用率: 整个试验间动物没有死亡。高剂量组动物体重, 增长较慢, 与对照组相比有显著性差异; 高剂量组饲料利用率也偏低, 这与体重增长情况相符, 但统计学处理无显著性差异。

6-2-2. 血液学检查结果: 在试验三个月时, 高剂量组动物血红蛋白含量与对照组相比, 雄鼠有高度显著性差异, 雌鼠有显著性差异; 淋巴细胞比值偏低, 与对照组相比差异显著。但各组红细胞和白细胞计数均在正常范围之内, 血清谷丙转氨酶的测定结果在各剂量组之间均无差异;

6-2-3. 粪中粗脂肪含量测定: 随着饲料中 DSA 消泡剂含量增加, 大鼠粪便中粗脂肪排出量亦增加, 高剂量组与对照组相比有高度显著性差异。

6-2-4. 尿中酮体定性试验: 各剂量组大鼠尿酮体定性试验均为阴性结果。

6-2-5. 脏器 / 体重比值: 高剂量组雄性大鼠的脾 / 体, 肾 / 体, 雌性大鼠的脾 / 体、肾 / 体、肝 / 体比值与对照组相比均有显著性差异。

6-2-6. 病理组织学结果: 各剂量组试验动物的脑、心、肝、脾、肺、肾、睾丸, 子宫均未见病理改变。

## 7. 胚胎毒性和致畸性毒性试验

7-1. 方法: 以体重 190~270g 雌性大白鼠与雄性大白鼠 3:2 同笼交配。每日清晨做雌鼠阴道涂片查有否精子, 以发现精子之日为受孕零天。将孕鼠随机分为四组, DSA 消泡剂的剂量分别为 0mg / kg、80mg / kg、800mg / kg, 另设一敌克松双阴性对照组, 剂量为 0、75mg / kg, 于大鼠妊娠的第 7~16 天每日连续经口灌胃给药。在受孕的第 0、7、12、16、20 天称体重, 并按体重调整给药量。于孕期第 20 天颈椎脱臼处死动物, 剖腹取出子宫, 记录黄体数、活胎数、死胎数及吸收胎数。逐一检查活胎外观有无畸形, 称胎仔重、测尾长、身长、胎盘重。将 1 / 2 活胎仔用 Bonin 氏液固定, 做内脏畸形检查, 另外 1 / 2 用茜素红染色并使之透明化, 备做骨骼畸形检查。

## 7-2. 结果

7-2-1. 对孕鼠体重增长的影响, 除阳性对照组外各组孕鼠体重增长无显著性差异。

7-2-2. 一对大鼠胚胎发育的影响。不同剂量 DSA 消泡剂对大鼠胎仔存活无影响, 除阳性对照组外, 各剂量组胎鼠的体重, 身长, 尾长及胎盘重与阴性对照组相比均无显著性差异。

7-2-3. 对胎鼠胸骨和枕骨骨化迟缓的影响, 高剂量组胎鼠枕骨和胸骨骨化迟缓的百分率增加, 但无统计学意义。阳性对照组胎鼠枕骨骨化不全表现为两半枕骨未融合或融合不全呈蝴蝶状, 与阴性对照组比较差异显著;

7-2-4. 对胎鼠畸形率的影响。各试验组均未发现肉眼可见的胎鼠外观畸形和内脏畸形, 阳性对照组外观畸形率占 30.5%, 主要表现为无尾, 后肘内翻、脑膨出、露舌、短颈、脊柱裂、肠外置等。各试验组和阴性对照组均未见肋骨、椎骨等畸形, 而阳性对照组有 6 只胎鼠表现为肋骨融合、波状肋, 短肋及脊柱弯曲等畸形。

8. DSA 消泡剂在白糖中残留量的测定 取工艺中使用 DSA 消泡剂的白糖样品 100g 用氯仿提取 2 次, 合并氯仿在水浴上挥发至少许, 转移入至先恒重的表皿内, 挥干氯仿、110℃烘烤 4 小时, 在除湿器内冷却、称重、做平行测定同时做试剂空白对照。本法所得回收率为 93.14%。在制糖工艺中每吨制糖原料加 DSA 消泡剂 20g, 出糖率为 13%, 相当每 100g 糖中

含 DSA 消泡剂 0.0154g，试验中糖样品提取 DSA 消泡剂的平均残渣重比试剂空白样品的平均残渣重高 0.0004g，假定氯仿溶出物全部是消泡剂，则 DSA 消泡剂在糖中的可能残留量为加入量的 2.6%。

### (三) 总结

DSA消泡剂为高碳醇、硬脂酸的复合物。国外类似成份的消泡剂早已用于食品工业，如国外测定 11 个种类的山梨酸硬脂酸酯LD<sub>50</sub> 为 10~20g / kg，国内DSA消泡剂LD<sub>50</sub>为 15g / kg与其相符。在亚慢性实验期间测定大鼠粪便中粗脂肪含量，以表示可能有部分DSA未被吸收而直接排出，尿中酮体定性试验的阴性结果表示动物食入大量DSA后肝脏氧化脂肪酸生成酮体的速度并未超出正常肝外组织利用酮体的能力，因而不能引起体内脂类代谢紊乱。本试验中得出最大无作用量是饲料中含 8000ppm消泡剂，按摄入量换算相当 400mg / kg，加上 100 倍安全系数，ADI可以为 4mg / kg，假如每人每日摄取 100g 白糖，即最多摄入 DSA0.0004g，成人体重以 60kg计，相当 0.007mg / kg。因此，ADI可比估计摄入量大 570 倍。综合以上毒理学试验和残留量测定结果表明，DSA消泡剂是一种安全的食品添加剂，建议参照其它卫生质量鉴定结果，将其列为允许使用的食品添加剂。

(王 枫 史永亮 高双斌 曹 瑞 于 芳)

## 附录一

## 中华人民共和国国家标准

GB 15193.1-94

## 食品安全性毒理学评价程序

Procedures for toxicological assessment on food safety

## 1 主题内容与适用范围

本标准规定了食品安全性毒理学评价的程序。

本标准适用于评价食品生产、加工、保藏、运输和销售过程中使用的化学和生物物质以及在过程中产生和污染的有害物质，食物新资源及其成分和新资源食品。也适用于食品中其他有害物质。

## 2 受试物的要求

2.1 提供受试物（必要时包括杂质）的物理、化学性质（包括化学结构、纯度、稳定性等）。

2.2 受试物必须是符合既定的生产工艺和配方的规格化产品，其纯度应与实际应用的相同，在需要检测高纯度受试物及其可能存在的杂质的毒性或进行特殊试验时可选用纯品，或以纯品及杂质分别进行毒性检验。

## 3 食品安全性毒理学评价试验的四个阶段和内容及选用原则

## 3.1 毒理试验的四个阶段和内容

## 3.1.1 第一阶段：急性毒性试验。

经口急性毒性：LD<sub>50</sub>，联合急性毒性。

## 3.1.2 第二阶段：遗传毒性试验，传统致畸试验，短期喂养试验。

遗传毒性试验的组合必须考虑原核细胞和真核细胞、生殖细胞与体细胞、体内和体外试验相结合的原则。

3.1.2.1 细菌致突变试验：鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验（Ames 试验）为首选项目，必要时可另选和加选其他试验。

3.1.2.2 小鼠骨髓微核率测定或骨髓细胞染色体畸变分析。

3.1.2.3 小鼠精子畸形分析和睾丸染色体畸变分析。

3.1.2.4 其他备选遗传毒性试验：V79/HGPRT 基因突变试验、显性致死试验果蝇伴性隐性致死试验，程序外 DNA 修复合成（UDS）试验。

3.1.2.5 传统致畸试验

3.1.2.6 短期喂养试验：30d 喂养试验。如受试物需进行第三、四阶段毒性试验者，可不进行本试验。

3.1.3 第三阶段：亚慢性毒性试验——90d 喂养试验、繁殖试验、代谢试验。

3.1.4 第四阶段：慢性毒性实验（包括致癌试验）。

## 3.2 对不同受试物选择毒性试验的原则

3.2.1 凡属我国创新的物质一般要求进行四个阶段的试验。特别是对其中化学结构提示有慢性毒性、遗传毒性或致癌性可能者或产量大、使用范围广、摄入机会多者，必须进行全部四个阶段的毒性试验。

3.2.2 凡属与已知物质（指经过安全性评价并允许使用者）的化学结构基本相同的衍生物或

类似物，则根据第一、二、三阶段毒性试验结果判断是否需进行第四阶段的毒性试验。

3.2.3 凡属已知的化学物质，世界卫生组织已公布每人每日容许摄入量（ADI,以下简称日许量）者，同时申请单位又有资料证明我国产品的质量规格与国外产品一致，则可先进行第一、二阶段毒性试验，若试验结果与国外产品的结果一致，一般不要求进行进一步的毒性试验，否则应进行第三阶段毒性试验。

3.2.4 农药、食品添加剂、食品新资源和新资源食品、辐照食品、食品工具及设备用清洗消毒剂的安全性毒理学评价试验的选择。

#### 3.2.4.1 农药

按卫生部和农业部颁布的《农药安全性毒理学评价程序》进行。对于由一种原药配制的各种商品，其中未加入其他未允许使用的成分时，一般不要求分别对各种商品进行毒性试验。凡将两种或两种以上已经国家批准使用的原药混合配制的农药或农药商品的制剂中添加了未经批准的其他具有较大毒性的化学物质作为重要成分，则应先进行急性联合毒性试验，如结果表明无协同作用，则按已颁布的个别农药的标准进行管理，并对所用的未经批准的化学物质进行安全性评价。如有协同作用，则需完成混合制品的第一、二、三阶段毒性试验。

#### 3.2.4.2 食物添加剂

3.2.4.2.1.1 凡属世界卫生组织已建议批准使用或已制定日许量者，以及香料生产者协会（FEMA）、欧洲理事会（COE）和国际香料工业组织（IOFI）四个国际组织中的两个或两个以上允许使用的，在进行急性毒性试验后，参照国外资料或规定进行评价。

3.2.4.2.1.2 凡属资料不全或只有一个国际组织批准的，先进行急性毒性试验和本程序所规定的致突变试验中的一项，经初步评价后，再决定是否需进行进一步试验。

3.2.4.2.1.3 凡属尚无资料可查、国际组织未允许使用的，先进行第一、二阶段毒性试验，经初步评价后，决定是否需进行进一步试验。

3.2.4.2.1.4 从食用动植物可食部分提取的单一高纯度天然香料，如其化学结构及有关资料并未提示具有不安全性的，一般不要求进行毒性试验。

#### 3.2.4.2.2 其他食品添加剂

3.2.4.2.2.1 凡属毒理学资料比较完整，世界卫生组织已公布日许量或不需规定日许量者，要求进行急性毒性试验和一项致突变试验，首选 Ames 试验或小鼠骨髓微核试验。

3.2.4.2.2.2 凡属有一个国际组织或国家批准使用，但世界卫生组织未公布日许量，或资料不完整者，在进行第一、二阶段毒性试验后作初步评价，以决定是否需进行进一步的毒性试验。

3.2.4.2.2.3 对于由天然植物制取的单一组分，高纯度的添加剂，凡属新产品需先进行第一、二、三阶段毒性试验，凡属国外已批准使用的，则进行第一、二阶段毒性试验。

3.2.4.2.3 进口食品添加剂：要求进口单位提供毒理学资料及出口国批准使用的资料，由省、直辖市、自治区一极食品卫生监督检验机构提出意见报卫生部食品卫生监督检验所审查后决定是否需要进行毒性试验。

#### 3.2.4.3 食品新资源和新资源食品

食品新资源及其食品原则上应进行第一、二、三个阶段毒性试验，以及必要的人群流行病学调查。必要时进行第四阶段试验。若根据有关文献资料及成分分析，未发现有害或有但量甚少，不至构成对健康有害的物质，以及较大数量人群有长期食用历史而未发现有有害作用的天然动植物（包括作为调料的天然动植物的粗提制品）可以先进行第一、二阶段毒性试

验，经初步评价后，决定是否需要进一步进行进一步的毒性试验。

#### 3.2.4.4 辐照食品

按《辐照食品卫生管理办法》要求提供毒理学试验资料。

#### 3.2.4.5 食品工具设备用清洗消毒剂：按卫生部颁发的《消毒管理办法》进行

### 4 食品安全性毒理学评价试验的目的和结果判定

#### 4.1 毒理学试验的目的

4.1.1 急性毒性试验：测定 LD<sub>50</sub>，了解受试物的毒性强度、性质和可能的靶器官，为进一步进行毒性试验的剂量和毒性判定指标的选择提供依据。

#### 4.1.2 遗传毒性试验

对受试物的遗传毒性以及是否具有潜在致癌作用进行筛选。

#### 4.1.3 致畸试验

了解受试物对胎仔是否具有致畸作用。

#### 4.1.4 短期喂养试验

对只需进行第一、二阶段毒性试验的受试物，在急性毒性试验的基础上，通过 30d 喂养试验，进一步了解其毒性作用，并可初步估计最大无作用剂量。

#### 4.1.5 亚慢性毒性试验-----90d 喂养试验，繁殖试验

观察受试物以不同剂量水平经较长期喂养后对动物的毒性作用性质和靶器官，并初步确定最大作用剂量；了解受试物对动物繁殖及对仔代的致畸作用，为慢性毒性和致癌试验的剂量选择提供依据。

#### 4.1.6 代谢试验

了解受试物在体内的吸收、分布和排泄速度以及蓄积性，寻找可能的靶器官；为选择慢性毒性试验的合适动物种系提供依据；了解有无毒性代谢产物的形成。

#### 4.1.7 慢性毒性试验（包括致癌试验）

了解经长期接触受试物后出现的毒性作用，尤其是进行性或不可逆的毒性作用以及致癌作用；最后确定最大无作用剂量，为受试物能否应用于食品的最终评价提供依据。

### 4.2 各项毒理学试验结果的判定

#### 4.2.1 急性毒性试验

如 LD<sub>50</sub> 剂量小于人的可能摄入量的 10 倍，则放弃该受试物用于食品，不再继续其他毒理学试验。如大于 10 倍者，可进入下一阶段毒理学试验。凡 LD<sub>50</sub> 在人的可能摄入量的 10 倍左右时，应进行重复试验，或用另一种方法进行验证。

#### 4.2.2 遗传毒性试验

根据受试物的化学结构、理化性质以及对遗传物质作用终点的不同，并兼顾体外和体内试验以及体细胞和生殖细胞的原则，在 3.1.2.1, 3.1.2.2 和 3.1.2.3 中所列的遗传毒性试验中选择四项试验，根据以下原则对结果进行判断。

4.2.2.1 如其中三项试验为阳性，则表示该受试物很可能具有遗传毒性作用和致癌作用，一般应放弃该受试物应用于食品；毋需进行其他项目的毒理学试验。

4.2.2.2 如其中两项试验为阳性，而且短期喂养试验显示该受试物具有显著的毒性作用，一般应放弃该受试物用于食品；如短期喂养试验显示有可疑的毒性作用，则经初步评价后，根据受试物的重要性和可能摄入量等，综合权衡利弊再作出决定。



4.2.2.3 如其中一项试验为阳性,则再选择 3.1.2.4 中的两项遗传毒性试验;如再选的两项试验均为阳性,则无论短期喂养试验和传统致畸试验是否显示有毒性与致畸作用,均应放弃该受试物用于食品;如有一项为阳性,而在短期喂养试验和传统致畸试验中未见有明显毒性与致畸作用,则可进入第三阶段毒性试验。

4.2.2.4 如四项试验均为阴性,则可进入第三阶段毒性试验。

#### 4.2.3 短期喂养试验

在只要求进行两阶段毒性试验时,若短期喂养试验未发现有明显毒性作用,综合其他各项试验即可作出初步评价;若试验中发现有明显毒性作用,尤其是有剂量-反应关系时,则考虑进一步的毒性试验。

#### 4.2.4 90d 喂养试验、繁殖试验、传统致畸试验

根据这三项试验中所采用的最敏感指标所得的最大无作用剂量进行评价,原则是:

4.2.4.1 最大无作用剂量小于或等于人的可能摄入量的 100 倍者表示毒性较强,应放弃该受试物用于食品。

4.2.4.2 最大无作用剂量大于 100 倍而小于 300 倍者,应进行毒性试验。

4.2.4.3 大于或等于 300 倍者则不必进行慢性毒性试验,可进行安全性评价。

#### 4.2.5 慢性毒性(包括致癌)试验

根据慢性毒性试验所得的最大无作用剂量进行评价,原则是:

4.2.5.1 最大无作用剂量小于或等于人的可能摄入量的 50 倍者,表示毒性较强,应放弃该受试物用于食品。

4.2.5.2 最大无作用剂量大于 50 倍而小于 100 倍者,经安全性评价后,决定该受试物可否用于食品。

4.2.5.3 最大无作用剂量大于或等于 100 倍者,则可考虑允许使用于食品。

4.2.6 新资源食品、复合配方的饮料等在试验中,若试样的最大加入量(一般不超过饲料的 5%)或液体试样最大可能的浓缩物加入量仍不能达到最大无作用剂量为人的可能摄入量的规定倍数时,则可以综合其他的毒性试验结果和实际食用或饮用量进行安全性评价。

### 5 进行食品安全性评价时需要考虑的因素

5.1 人的可能摄入量:除一般人群的摄入量外,还应考虑特殊和敏感人群(如儿童、孕妇及高摄入量人群)。

5.2 人体资料:由于存在着动物与人之间的种族差异,在将动物试验结果推论到人时,应尽可能收集人群接触受试物后反应的资料,如职业性接触和意外事故接触等。志愿受试者体内的代谢资料对于将动物试验结果推论到人具有重要意义。在确保安全的条件下,可以考虑按照有关规定进行必要的人体试食试验。

5.3 动物毒性试验和体外试验资料:本程序所列的各项动物毒性试验和体外试验系统虽然仍有待完善,却是目前水平下所得到的最重要的资料,也是进行评价的主要依据。在试验得到阳性结果,而且结果的判定涉及到受试物能否应用于食品时,需要考虑结果的重要性和剂量-反应并系。

5.4 由动物毒性试验结果推论到人时,鉴于动物、人的种属和个体之间的生物特性差异,一般采用安全系数的方法,以确保对人的安全性。安全系数通常为 100 倍,但可根据受试物的理化性质、毒性大小、代谢特点、接触的人群范围、食品中的使用量及使用范围等因素,

综合考虑增大或减小安全系数。

**5.5 代谢试验的资料：**代谢研究是对化学物质进行毒理学评价的一个重要方面，因为不同化学物质、剂量大小，在代谢方面的差别往往对毒性作用影响很大。在毒性试验中，原则上应尽量使用与人具有相同代谢途径和模式的动物种系来进行试验。研究受试物在实验动物和人体内吸收、分布、排泄和生物转化方面的差别，对于将动物试验结果比较正确地推论到人具有重要意义。

**5.6 综合评价：**在进行最后评价时，必须在受试物可能对人体健康造成的危害以及其可能的有益作用之间进行权衡。评价的依据不仅是科学试验资料，而且与当时的科学水平、技术条件，以及社会因素有关。因此，随着时间的推移，很可能结论也不同。随着情况的不断改变，科学技术的进步和研究工作的不断进展，对已通过评价的化学物质需进行重新评价，作出新的结论。

对于已在食品中应用了相当长时间的物质，对接触人群进行流行病学调查具有重大意义，但往往难以获得剂量-反应关系方面的可靠资料，对于新的受试物质，则只能依靠动物试验和其他试验研究资料。然而，即使有了完整和详尽的动物试验资料的一部分人类接触者的流行病学研究资料，由于人类的种族和个体差异，也很难作出能保证每个人都安全的评价。所谓绝对的安全实际上是不存在的。根据上述材料，进行最终评价时，应全面权衡和考虑实际可能。从确保发挥该受试物的最大效益，以及对人体健康和环境造成最小危害的前提下作用结论。

#### **检验单位**

凡食品卫生监督检验机构、营养与食品卫生研究所和教学机构中从事食品毒理学工作的单位和部门，均可根据《食品卫生检验单位管理办法》，按本程序进行毒理学试验，提出申请，经有关单位认可后，才能出具试验报告。申请报告由当地省、直辖市、自治区一级食品卫生监督检验机构初审，当地卫生行政部门审核，卫生部食品卫生监督检验所审查后，报卫生部卫生监督司认可和备案。

#### **附加说明：**

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由卫生部食品卫生监督检验所、中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所负责起草。

本标准主要起草人戴寅、陈君石、徐晋康、李悠慧。

本标准由卫生部委托技术归口单位卫生部食品卫生监督检验所负责解释。

## 附录二

### 中华人民共和国国家标准

GB 15193.2-94

### 食品毒理学实验室操作规范

Good laboratory practice for food toxicology

#### 1 主题内容与适用范围

本规范规定了食品毒理学实验室(包括实验动物房)的要求。

本规范适用于经卫生行政部门认可有资格进行食品毒理学试验的单位。

#### 2 引用标准

GB 5749 生活饮用水卫生标准

#### 3 定义

##### 3.1 受试物 test substances

指本规范“范围”内的各种测试样品。

##### 3.2 试验系统 test system

3.2.1 指经受试物及对照物处理的一切动物，微生物及其他生物。

3.2.2 按食品毒理学要求进行的试验，也包括所用的方法。

##### 3.3 对照物 reference materials

指在试验系统中用于鉴定测试生物的生物学特性和试验系统的敏感性及特异性的物质，以及用于试验系统中结果判定时同受试物进行比较的物质。

##### 3.4 标本 specimen

一切用于测试的受试物，从试验系统中取出的用于检查或分析的物品均称作标本。

##### 3.5 原始资料 raw data

实验研究过程中进行试验和各种活动观察的记录，包括所有实验记录及数据，自动分析测试仪器上的记录资料，照片和声像记录，原件或复印件等。

##### 3.6 试验开始日期及完成日期 study initiation and completion date

试验负责人签署试验方案的日期为试验开始日期，签署最终试验结果报告的日期为试验完成日期。

##### 3.7 试验负责人 program director

负责有关课题设计的审查批准或兼为课题负责人。

##### 3.8 课题负责人 project director

负责课题或分课题的设计，试验的技术措施，对试验进行解释，分析起草有关文件和试验报告，对实验的质控提出证明。

##### 3.9 质量控制人员 quality control officier

指课题负责人之外的食品毒理学专家及有关人员，负责对实验质量的控制。

#### 4 人员和组织

##### 4.1 人员

4.1.1 实验人员必须经过良好的教育和训练，具有一定的工作经验，能胜任相应的工作，具有严谨的科学态度和高度的责任心。

- 4.1.2 实验人员必须注意个人卫生, 避免污染受试物、对照物和试验系统。
- 4.1.3 实验人员必须穿着适合其工作性质的特定的工作服, 这些工作服必须能防止实验人员受到受试物、对照物和试验系统的污染, 并适当地进行更换。
- 4.1.4 实验人员一旦发现患有对实验质量有不良影响的疾病时, 必须禁止其直接接触所有的受试物、对照物和试验系统, 直到疾病痊愈。如果实验人员的健康影响到实验质量, 必须立即向试验负责人及课题负责人汇报并采取必要的措施, 以确保实验质量。
- 4.1.5 所有实验人员必须明确他们自己所从事工作的内容和各自的职责。

## 4.2 组织

- 4.2.1 课题负责人提出全面的试验方案, 经试验负责人签署。
  - 4.2.1.1 确定课题的参加人员及分工。
  - 4.2.1.2 实施试验方案。
  - 4.2.1.3 一旦发现影响实验质量和可靠性的意外情况, 必须立即采取相应的纠正措施, 并作好记录。
- 4.2.2 由除课题负责人以外的具有丰富经验的专家组成质量保证系统, 负责监控实验, 确保设备、仪器、人员、方法、操作、记录和质量控制符合本规范。
- 4.2.3 按照试验计划, 在人力、财力、设备、材料和法学上得到充分保证, 确保及时和准确地完成实验设计中所规定的研究项目。
- 4.2.4 课题负责人负责课题资料的分析、解释, 起草有关文件和试验报告。
- 4.2.5 试验全过程资料归档。

## 5 实验室

### 5.1 试验和测量装置

- 5.1.1 实验室应配备满足试验和测量要求的装置。装置应合理安放, 以利于操作、检查、清理及保养。
- 5.1.2 每项试验和测量装置应保存记录, 记录应包括:
  - 5.1.2.1 该项装置的名称;
  - 5.1.2.2 制造厂家及型号标志;
  - 5.1.2.3 收到日期;
  - 5.1.2.4 启用日期;
  - 5.1.2.5 电源安置;
  - 5.1.2.6 维护细节;
  - 5.1.2.7 最近检定校准日期。
- 5.1.3 每项试验和测量装置的操作说明书应妥善保存, 并应方便使用, 实验装置只应由批准从事该项工作的人员操作。
- 5.1.4 装置任何部分出现超负荷, 或使用不当, 或结果可疑, 或由检定及其他方法判定有缺陷时, 应停止使用, 进行修理并记录备案。如果是测量装置, 还应经检定校准合格后才能使用。

### 5.2 检验方法及程序

- 5.2.1 实验单位备有说明机器的正确操作, 检查、调整及整理的方法, 以及机器发生故障或破损时应采取的修理手续的标准操顺序书面说明书, 便于工作人员查阅和使用。规定的标准

操作程序的任何变动应得到主管部门的书面批准。

## 5.2.2 试剂与溶液

5.2.2.1 实验区内的所有试剂与溶液应用标签标明其性质、浓度、保存要求及失效期，特殊试剂应用指定容器保存。

5.2.2.2 变质或过期的试剂与溶液不能使用。

5.2.2.3 试剂与溶液(特别是危险品)应妥善保管，在称取和使用防止造成污染和变质，保持试剂与溶液的专一性质。

5.2.2.4 接收与取出试剂的量及日期应记录存档。

## 5.2.3 受试物 and 对照物

### 5.2.3.1 受试物 and 对照物的特性

受试物 and 对照物的成分含量、浓度、纯度、稳定性及合成方法等反映受试物 and 对照物特性的指标应有完整资料并存档。如受试物 and 对照物为市售品，应加以注明。

### 5.2.3.2 受试物 and 对照物的管理

5.2.3.2.1 用于贮存受试物 and 对照物的容器应标明名称、批号、有效期及贮存条件。

5.2.3.2.2 受试物应注明其属性和采集日期，并与标本容器的标签及其他结果相一致。

5.2.3.2.3 应妥善保管标本及其观察记录，便于进一步的研究。标本保存应满足记录资料保存的有关要求(见第 6 章)。

### 5.2.3.3 受试物、对照物与载体的混合物

5.2.3.3.1 受试物、对照物与载体的混合物应符合试验要求。所用载体应对混合物中受试物 or 对照物的特性、试验系统、程序实施及测试结果无干扰作用。

5.2.3.3.2 应测定受试物，对照物在混合物中的均匀性，定期测定受试物、对照物在混合物中的浓度及稳定性。

5.2.3.3.3 在受试物、对照物与载体的混合物中，任一组分有失效期时，应在容器上注明；如两种或两种以上组分有失效期时，应注明较早的那一种。

## 6 检验的方案设计与实施

### 6.1 方案设计

6.1.1 每项试验应有书面的设计方案，包括：

6.1.1.1 试验项目名称及研究目的；

6.1.1.2 试验项目来源；

6.1.1.3 试验单位的名称和地址；

6.1.1.4 试验项目论证；

6.1.1.5 所用试验系统；

6.1.1.6 试验系统的鉴定；

6.1.1.7 所用试验和测量装置的名称、型号、量程以及测定项目；

6.1.1.8 给予受试物及对照物，或受试物、对照物与载体的混合物的剂量、途径和频率；

6.1.1.9 试验记录；

6.1.1.10 出现不一致的结果 or 异常情况时，应采取的措施。

6.1.1.11 拟用的统计学方法。

6.1.1.12 为保证实验人员安全和防止其他损失应采取的预防措施。

6.1.2 设计方案认可后,任何更改及其原因应由试验负责人签字,注明日期,并与原方案一同备案保存。

## 6.2 试验的实施

6.2.1 试验的实施应按设计方案进行。

6.2.2 试验过程中获取的标本应注明其属性和采集日期,并与标本容器的标签及其他记录相一致。

6.2.3 应妥善保存标本及其观察记录,便于进一步的研究。标本保存应满足记录资料保存的有关要求(见第6章)。

## 7 记录和资料

7.1 除自动分析测试系统得到的资料外,所有观察和计算应立即用墨水笔清楚地记录下来,由记录人签字并注明日期;记录资料的任何更改应注明原因、更改日期并签字。自动分析测试系统得到的资料应由操作者签字并注明日期;更改自动分析测试系统记录的资料时,应由试验负责人认可,注明原因,更改日期并签字。

### 7.2 记录和资料的保存

7.2.1 试验获得的所有原始数据、文件、设计方案、标本(血、尿、便、体液等湿标本除外)、阶段性报告及总报告应存档,建立索引以便于查阅。

7.2.2 记录和资料应有指定存放地点,并由档案负责人管理,查阅档案应事先得到批准。

7.2.3 记录和资料应至少保留两年,但应视情况具体考虑,如用于案件诉讼,提供法律依据的记录和资料,有关尚未批准的新原料、新产品检验的记录和资料,则可延长到5年。

## 8 试验报告

8.1 实验室所完成的工作应有全面的试验报告。试验报告应准确,客观地陈述试验结果及所有有关情况。

8.2 试验报告应包括如下内容:

8.2.1 实验室的名称和地址,试验的起止日期;

8.2.2 统一的试验报告顺序编号;

8.2.3 试验报告应标明页码;

8.2.4 送检单位名称;

8.2.5 检品的描述和识别标志,收到日期;

8.2.6 试验方法和程序;

8.2.7 资料分析所用的统计学方法;

8.2.8 试验结果和结论;

8.2.9 课题负责人姓名,所有其他参与检验的人员及管理人員的姓名;

8.2.10 对试验报告负有核验责任的有关人员签名及日期;

8.2.11 总报告应由试验负责人签名并注明日期。

8.2.12 总报告需修改或补充时,应由试验负责人负责,明确需修改或补充的部分,说明原因,签名并注明日期。

## 9 环境

9.1 实验室的环境条件应满足其检测工作的要求。

9.2 实验室应采取适当的措施以保证得到良好的管理。

9.3 实验用品及废弃物处理应满足有关规定和要求。

## 10 实验动物以及动物房

### 10.1 实验动物的房舍设施要求

10.1.1 实验动物的房舍设施应分开为独立的建筑。包括工作人员更衣洗澡间, 动物饲养室, 洗刷消毒室, 饲料储藏室, 垫料储藏室和隔离检疫室。粪便、污水、用过垫料、动物尸体和废物应有安全处理措施。有特殊要求的实验动物, 如无菌动物, 无特殊病原体动物, 纯系动物和裸鼠均应有符合特定要求的建筑设备, 严格的卫生管理制度和操作规程。

10.1.2 根据需要应具有足够数量的动物室或区域;

10.1.2.1 根据动物品种、品系或不同来源进行分离饲养;

10.1.2.2 根据不同研究项目进行分离饲养;

10.1.2.3 对已知具有生物性危害的受试物(包括挥发性物质、放射性物质、传染因子及具有“三致”危害的物质), 必须有能进行隔离试验的特别动物室或区域, 以防环境污染。

10.1.3 动物室设施应有良好的换气通风装置和排水通道。室内六面光洁, 设有防鼠、防虫和降温防寒等设施。

10.1.4 猫、狗、猴等大型实验动物的繁殖室或实验室应有适当的运动场地, 可靠的铁丝网或高墙和双层门的设施, 以防动物逃逸。

10.1.5 具有一定规模的实验动物室建筑, 周围至少应有 20m 卫生间隔区。

### 10.2 一般动物房的管理要求

10.2.1 动物房的温度要保持相对恒定, 每天的温度相差不超过 2~4℃, 各类动物对温度的要求是: 18~25℃。

10.2.2 室内相对湿度以 40%—80%为宜。

10.2.3 应避免高频率噪音, 控制噪音在 60dB 以内, 并避免超声波的干扰。

10.2.4 动物房内不应有异常浓烈的气味, 主要由动物排泄物产生的氨味(其浓度应控制在 20mg/kg 以下)。

10.2.5 动物房应保持整齐, 室内动物笼具不能过密, 每笼动物只数不能过多。

10.2.6 动物房内禁止吸烟。

10.2.7 动物饲养室内不得放置与试验无关的杂物。

### 10.3 动物管理要求

10.3.1 动物由繁殖动物房或由外单位购入时, 必须核实动物是否符合有关管理要求(品种、动物等级等)。

10.3.2 所有从外界新接收进的动物要隔离, 并对其健康状况作出评价, 至少对其观察 3d, 确认正常后才能开始实验。

10.3.3 领入动物必须由课题组专人负责, 进行登记和写处理记录。包括动物数量、性别、体重范围、供给来源、属、种、亚种、年龄等。

10.3.4 用于研究的动物都要有恰当的标记(如刺字、颜色编码、耳标、耳穿孔等), 研究期间, 每个动物笼上必须有记录卡片。

10.3.5 处死的正常和实验动物应及时送出动物室, 并作符合要求的处理。对有严重毒性(包括致癌性)物质及经此处理的动物应及时放置规定的场所并进行焚毁。

### 10.4 卫生防护要求

#### 10.4.1 实验动物的检疫和疾病的控制及处理

10.4.1.1 凡外来实验动物至少经过 3d 以上的隔离检疫,以防传染病的侵入。外观无病征(必要时作相应的实验室检查阴性者)方能进入饲养繁殖室。

10.4.1.2 食品毒理学研究前,要保证动物无任何疾病,并保证动物避免可影响研究目的及实施的因素。如果在研究过程中,动物接触了上述疾病与因素,有病动物必须隔离,如有需要并且治疗不影响研究,可对动物进行对病或对症的治疗。其诊断、对动物治疗的批准、治疗所用药品、措施及治疗的日期都要有记录并保存。

10.4.1.3 动物发生疾病死亡应及时进行病理尸检或其他实验室检查,作出诊断,提出处理意见。当动物发生传染病时,原则上全部销毁。房屋、用具、笼架、垫料、衣帽等必须进行彻底消毒。动物室封锁一段时间才能使用。必要时报告试验负责人及主管部门。

10.4.1.4 实验动物发生烈性传染病流行时,应立即上报实验动物检定中心,同时采取严格的隔离消毒措施,以免传染病的蔓延。如有拖延或不报告者,所在单位及个人要承担责任。

10.4.1.5 尸体处理:尸体处理一般要求焚烧,深埋,大型动物可消毒加工后利用。

#### 10.4.2 饲料和饲喂卫生

10.4.2.1 为了保障实验动物的营养和健康,保证动物的质量,必须供应给实验动物营养丰富、清洁新鲜的全价饲料。一般动物房应有符合要求的各种配方的动物饲料,成品应放在塑料桶内,最长不宜超过两个月。若置于低温储藏库内,可适当延长保存期。防止野鼠、昆虫、化学药品和农药的污染。

10.4.2.2 自配饲料必须保证原料的卫生安全,必要时对某些成分进行消毒处理。

10.4.2.3 新鲜饲料、水果、牛奶、牛肉必须冷藏(4~8℃),新鲜蔬菜必须洗净,晾干后再用。

10.4.2.4 对腐烂、发霉、调剂不当、接触过有毒药物的饲料,没有消毒蒸熟及其他动物剩余的饲料不能喂养动物,否则易引起疾病或死亡。

10.4.2.5 应供给动物清洁,充足的饮用水,饮水必须符合 GB 5749 的要求,给水的用具一定要保持卫生,水瓶定时洗刷和消毒,防止堵塞或水管过大漏水。

10.4.2.6 用于动物的饲料及饮水要定期分析,以保证已知的可能影响研究的而又可能存在于这些饲料和饮水中的污染物不超过设计中所限定的水平,这些分析资料要作为原始资料保存。

#### 10.4.3 用具卫生

10.4.3.1 动物笼架及附属设备使用完毕必须刷洗消毒,妥善存放。

10.4.3.2 填料来源应符合要求,必要时消毒处理。

10.4.3.3 对于啮齿类动物,铺(填)料每周至少更换三次(隔日一次),并清洗底盘,一般每 2~4 周消毒一次,必要时每周消毒一次。

10.4.3.4 笼架每天清洗一次,必要时进行刷洗、消毒。

10.4.3.5 动物房内设备、桌面、地面应每日进行清扫和擦洗。

10.4.3.6 有毒物特别是毒性强、有致癌作用的饲料,在实验结束时必须及时焚毁盛放的容器,操作的用具应作消毒处理。

#### 10.4.4 工作人员卫生防护

10.4.4.1 动物房内有专用的衣、帽、手套、鞋等,工作人员进出动物房必须更换这些专用衣着,一般情况下,每周换洗一次,特殊情况下随时换洗和消毒处理。



10.4.4.2 接触动物之前、后都应洗手(必要时消毒),尤其在做过清洁卫生,饭前便后以及同时接触两种不同的动物或两种以上受试物等时更应洗手。

10.4.4.3 工作人员有轻度感冒时应戴口罩,应尽量避免减少直接接触动物。严重感冒或其他传染性疾病者禁止进入动物房直到疾病痊愈。所有实验人员的健康状况如果影响到实验质量,必须向上一级有关人员汇报。

10.4.4.4 随时关好动物房门窗,在处理动物、开关笼门时应防止动物逃逸,若有动物逃逸时,必须由当事人负责捕获并作出处理。

附加说明:

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由卫生部食品卫生监督检验所、南京医学院、浙江省卫生防疫站负责起草。

本标准主要起草人杨迎、曹来福、马凤楼、赵硕、余强。

本标准由卫生部委托技术归口单位卫生部食品卫生监督检验所负责解释。