

四、實驗方法

(一)選擇粵東雞場同日所產之來亨雞種蛋。

(二)孵卵期內孵卵器保持 38 °C 及 65 % ~ 85 % 之一定濕度。

(三)注射藥品時之胚齡：滿 96 小時。

(四)注射液準備：所有注射液 將測定藥品溶於定量蒸餾水中，再經高壓蒸汽滅菌。

(五)劑量：

1 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ：參考學者研究報告 LD_{50} 為 0.05 mg/0.1 c.c，故選擇為 0.02 mg/0.1c.c；0.04 mg/0.1c.c；0.06 mg/0.1c.c

2 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ ：在試管內將 mole 數相等之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 與 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 混合，再用 0.1 N 之 H_2CrO_4 滴定之，無黃色沈澱產生。

若 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 之 mole 數高於 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ ，則有黃色沈澱產生。因此可知相等或高於 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ mole 數之 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 方可解其毒性。又由於原子量不同，0.02 mg/0.1c.c 之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 必須有相等或高於 0.023mg/0.1c.c 之 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 方可解其毒性，故本實驗 分別選取 1 倍、2 倍於 0.023 mg/0.1c.c 濃度之 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 作為研究材料。

(六)注射方法：

1 所有使用器材及雙手皆用酒精消毒過。

2 用解剖針在蛋的鈍端戳一小孔。

3 左手握蛋，右手拿注射針，對著燈光向斜下方將藥物注入卵黃囊內，避免觸及胚胎及血管，注射量每次 0.1cc。

(七)分組：

種蛋 290 個，分成兩批，送入孵蛋器孵滿四天後，選出發育良好之雞胚，每批分成 3 組。

1 第 1 組為對照組，又分 7 小組，分別為注射蒸餾水，0.023

mg/0.1c.c , 0.046 mg/0.1c.c , 0.069 mg/0.1c.c之 Na_2 -EDTA ; 及 0.02 mg/0.1c.c , 0.04 mg/0.1c.c , 0.06 mg/0.1c.c 之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 各 0.1c.c 。

2 第 2 組又分 6 小組，為注射 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 後，隔不同時間再注射 Na_2 -EDTA，間隔時間分別為接著打，隔 3 小時及隔 6 小時 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 之濃度為 0.02 mg/0.1c.c , Na_2 -EDTA 之濃度為 0.046 mg/0.1c.c 及 0.069 mg/0.1c.c

3 第 3 組又分 3 小組，為注射 0.06 mg/0.1c.c 之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 後，緊接著注射不同濃度之 Na_2 -EDTA 其濃度分別為 0.023 mg/0.1c.c , 0.046 mg/0.1c.c 及 0.069 mg/0.1c.c 。

(八)選擇犧牲日期——胚胎送入孵卵器滿 19 天後犧牲。

(九)觀察發育後期之雞胚：

以剪刀柄輕輕敲裂雞蛋鈍端，小心取去卵殼，注意不要傷到卵膜，放入 38 °C 之生理食鹽水中，繼續剝卵殼，小心剪開卵膜及胎膜，避免傷及胚胎。培養皿內之生理食鹽水若混濁，可用滴管小心再換上溫暖之生理食鹽水，然後將整個培養皿放在解剖顯微鏡之載物台上，用低倍鏡觀察。觀察項目為腦、腳、翼、喙及一般形態。

(十)量 CR 長度及稱重。

※第二批亦重覆(一)——(十)之過程

五、實驗結果：

圖表(一)對照組

注射藥品	劑量	總數	死亡數	死亡率(%)
蒸餾水		17	2	11.8
Na ₂ —EDTA	0.023mg/0.1c.c	17	7	41.2
	0.046mg/0.1c.c	17	9	52.9
	0.069mg/0.1c.c	16	10	62.5
Pb(CH ₃ COO) ₂	0.02 mg/0.1c.c	17	8	47.1
	0.04 mg/0.1c.c	16	9	56.3
	0.06 mg/0.1c.c	16	10	62.5

注射藥品	生存畸形數	生存畸形率	生存正常數	生存正常率
蒸餾水	1	5.9	14	82.3
Na ₂ —EDTA	2	11.8	8	47.0
	1	5.9	7	41.2
	2	12.5	4	25
Pb(CH ₃ COO) ₂	1	5.9	8	47.0
	2	12.5	5	31.2
	2	12.5	4	25

圖表(二)第2組—注射 Na₂ — EDTA 之時效

注 射 藥 品	使用劑量 (mg/0.1c.c)	間隔 時數	總數	死亡 數	死亡率 (%)
Na ₂ — EDTA	0.046		17	9	52.9
	0.069		16	10	62.5
Pb(CH ₃ COO) ₂	0.02		17	8	47.1
Pb(CH ₃ COO) ₂	0.02+0.046	0	18	6	33.3
	0.02+0.046	3	17	9	52.9
+ Na ₂ — EDTA	0.02+0.046	6	18	10	55.6
	0.02+0.069	0	17	4	23.5
	0.02+0.069	3	17	7	41.2
	0.02+0.069	2	17	7	41.2

注 射 藥 品	生存畸形數	生存畸形率	生存正常數	生存正常率
Na ₂ — EDTA	1	5.9	7	41.2
	2	12.5	4	25
Pb(CH ₃ COO) ₂	1	5.9	8	47.0
Pb(CH ₃ COO) ₂	5	27.8	7	38.9
	3	17.6	5	29.5
+ Na ₂ — EDTA	4	22.2	4	22.2
	0	0	13	76.5
	2	11.8	8	47.0
	2	11.8	8	47.0

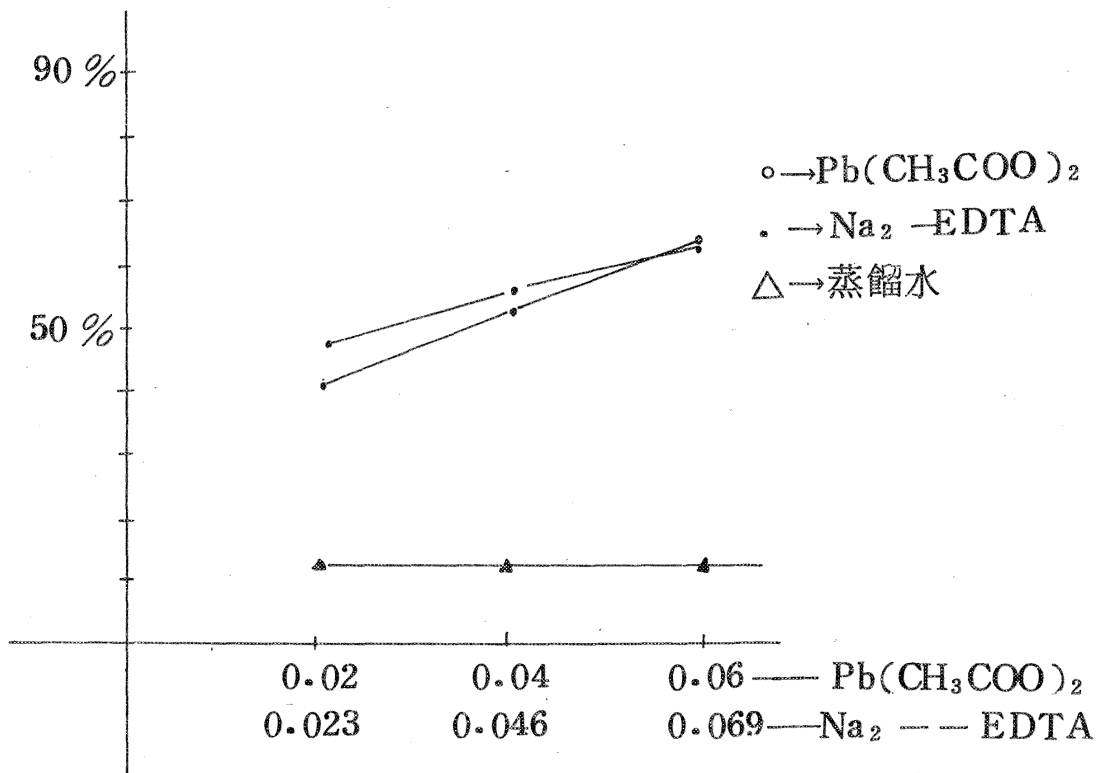
圖表(三)第3組——不同比例之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 之配合情形

注射藥品	使用劑量 (mg/0.1c.c)	比例	總數	死亡數	死亡率 (%)
$\text{Na}_2 - \text{EDTA}$	0.023		17	7	41.2
	0.046		17	9	52.9
	0.069		16	10	62.5
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	0.02		17	8	47.1
	0.04		16	9	56.3
	0.06		16	10	62.5
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ + $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 接著注射	0.02 + 0.069	1:3	17	4	23.5
	0.02 + 0.046	1:2	18	6	33.3
	0.06 + 0.069	3:3	18	10	55.6
	0.06 + 0.046	3:2	17	6	35.3
	0.06 + 0.023	3:1	17	7	41.2

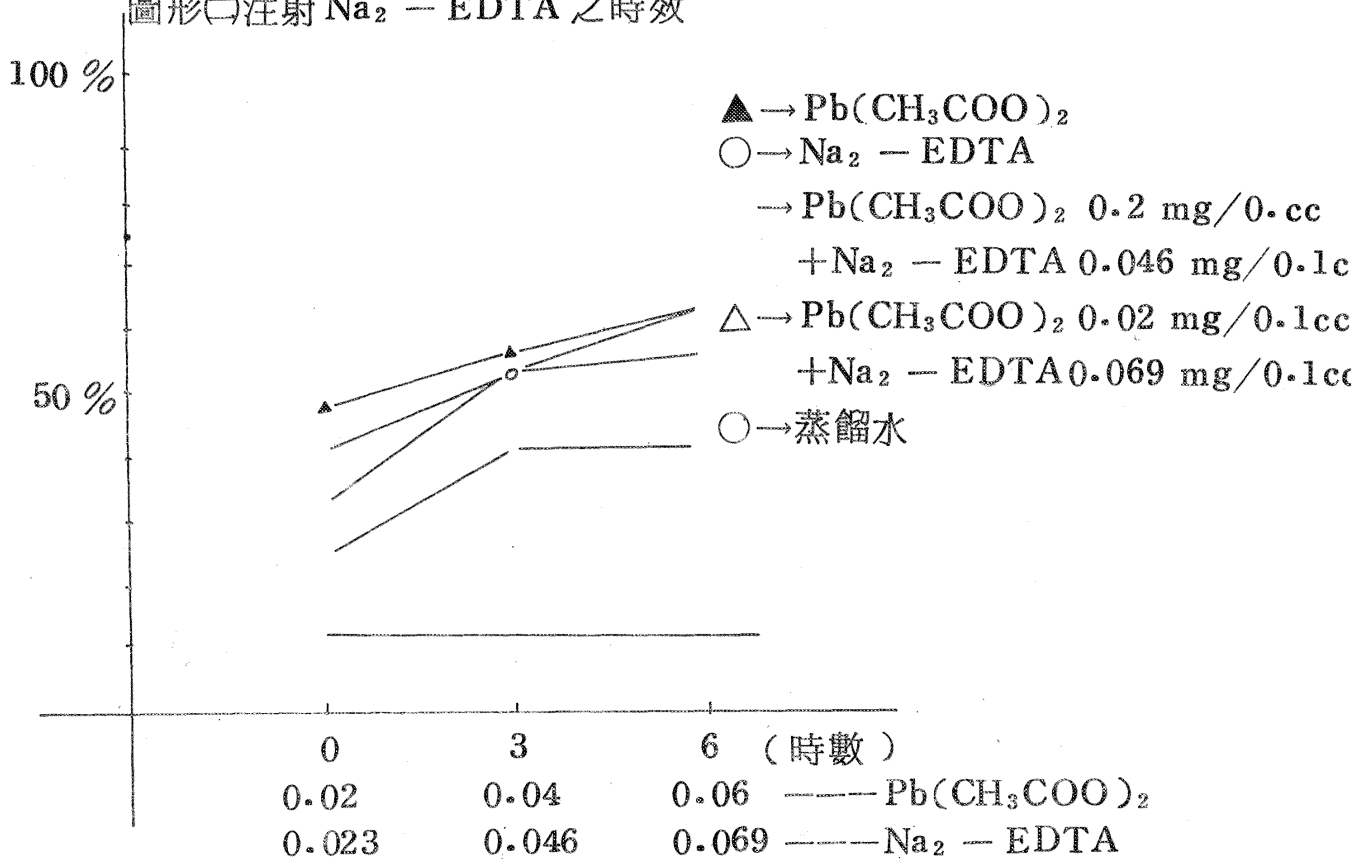
圖表(三)第 3 組——不同比例之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 之配合情形

注 射 藥 品	生存畸形數	生存畸形率	生存正常數	生存正常率
$\text{Na}_2 - \text{EDTA}$	2	11.8	8	47.0
	1	5.9	7	41.2
	2	12.5	4	25
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	1	5.9	8	47.0
	2	12.5	5	31.2
	2	12.5	4	25
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ + $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 接著注射	0	0	13	76.5
	5	27.8	7	38.9
	2	11.1	6	33.3
	1	5.9	10	58.8
	3	17.6	7	41.2

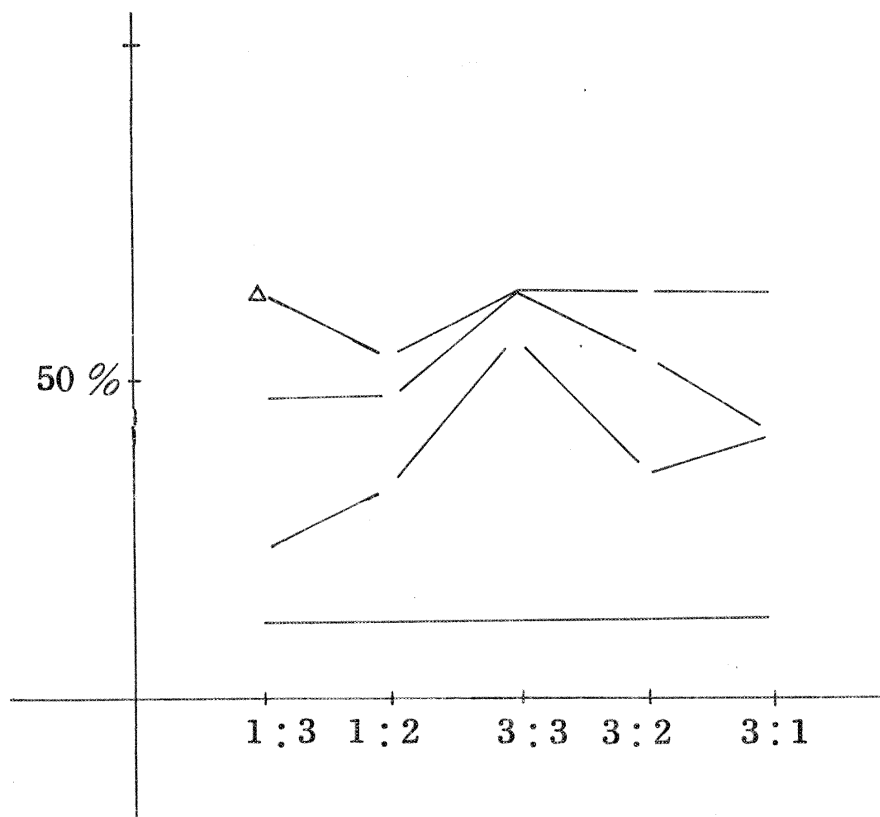
圖形(一)各種雞胚死亡率和分別注射 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 Na_2 — EDTA 之關係



圖形(二)注射 Na_2 — EDTA 之時效



圖形(白)不同比例之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 之配合情形



$\Delta \rightarrow \text{Na}_2 - \text{EDTA}$

$\bigcirc \rightarrow \text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

$\bigcirc \rightarrow \text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO}) + \text{Na}_2 - \text{EDTA}$

\rightarrow 蒸餾水

圖表(四)各組雞胚體重的比較

注 射 藥 品	使 用 劑 量 (mg/0.1cc)	間 隔 時 數	比 例
蒸 餾 水	—	—	—
Na ₂ — EDTA	0.023	—	—
	0.046	—	—
	0.069	—	—
Pb(CH ₃ COO) ₂	0.02	—	—
	0.04	—	—
	0.06	—	—
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA		0	1 : 2
	0.02 + 0.046	3	1 : 2
		6	1 : 2
		0	1 : 3
	0.02 + 0.069	3	1 : 3
		6	1 : 3
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA	0.06 + 0.069	—	3 : 3
	0.06 + 0.046	—	3 : 2
	0.06 + 0.023	—	3 : 1

圖表(四)各組雞胚體重的比較

注 射 藥 品	正常平均 重量(g)	正常重量增 減 率 %	畸形平均 重量(g)	畸形重量 增 減 率
蒸 餾 水	20.948	—	9.15	
Na ₂ — EDTA	19.887	— 5.06	13.205	—36.96
	17.503	—16.45	13.20	—36.98
	15.343	—26.76	16.855	—19.54
Pb(CH ₃ COO) ₂	20.115	— 3.98	17.52	—16.36
	20.052	— 4.28	16.035	—23.45
	11.255	—46.27 ※	18.35	—12.40
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA	18.383	—12.24	16.69	—20.33
	18.485	—11.76 ※	14.65	—30.06
	20.28	— 3.19	17.03	—18.70
	20.307	— 3.06	—	
	18.145	—13.38	16.905	—19.30
	17.705	—15.48	12.32	—41.19
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA	16.23	—22.52 ※	19.77	—33.41
	18.693	—10.76	12.11	—42.19
	13.71	—34.55 ※	13.95	— 5.62

※與蒸餾水比較

(※→P < 0.05)

圖表(五)各組雞胚CR長度的比較

注射藥品	使用劑量 (mg/0.1c.c)	間隔時數	比例
蒸 餾 水	—	—	—
Na ₂ — EDTA	0.023	—	—
	0.046	—	—
	0.069	—	—
Pb(CH ₃ COO) ₂	0.02	—	—
	0.04	—	—
	0.06	—	—
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA	0.02 + 0.046	0	1:2
		3	1:2
		6	1:2
	0.02 + 0.069	0	1:3
		3	1:3
		6	1:3
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA	0.06 + 0.069	—	3:3
	0.06 + 0.046	—	3:2
	0.06 + 0.023	—	3:1

※與蒸餾水比較

(※→P < 0.05)

圖表(五)各組雞胚CR長度的比較

注 射 藥 品	正常平均 長度 (cm)	正常長度增 減率 (%)	畸形平均	畸形長度 增減率 (%)
蒸 餾 水	8.6	—	6	—
Na ₂ — EDTA	9.0	4.17	7.0	— 18.6
	8.0	— 6.97	7.9	— 8.13
	8.13	— 5.46	8.3	— 3.48
Pb(CH ₃ COO) ₂	8.7	1.16	8.52	— 0.93
	8.2	— 4.70	8.2	— 4.65
	7.65	— 11.0	8.5	— 1.16
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA	8.1	— 5.81 ※	8.3	— 3.84
	8.3	— 3.48	7.0	— 18.6
	8.9	3.48	8.0	— 6.97
	8.4	— 2.32	—	—
	8.3	— 3.48 ※	8.2	— 4.65
	6.87	— 20.1	7.9	— 8.13
Pb(CH ₃ COO) ₂ + Na ₂ — EDTA	8.2	— 4.7	8.6	0
	8.56	— 0.46	7.3	— 15.11
	7	— 18.6 ※	7.4	— 13.95

※與蒸餾水比較

※→ P < 0.05)

五、討論：

- (一)對照組注射蒸餾水，其死亡率為 11.8 %，畸形率為 5.9 %，表示自然環境及先天遺傳也可以造成死亡和畸形。
- (二)單獨注射 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 或 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 均會造成死亡和畸形，其比率隨藥物之劑量增高而增大。 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 以 0.06 mg/0.1c.c 最大，死亡率為 62.5 % 0.04 mg/0.1c.c 次之，死亡率為 56.3 % $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 以 0.069 mg/0.1c.c 最大，死亡率為 62.5 % 0.046 mg/0.1c.c 次之，死亡率為 52.9 %
- (三)當 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 混合注射時，其死亡率以 0.02 mg/0.1c.c + 0.046 mg/0.1c.c (1:2) 間隔 6 小時注射或 0.06 mg/0.1c.c + 0.069 mg/0.1c.c (3:3) 連續注射的死亡率為最大— 55.6 % 次為 0.02 mg/0.1c.c + 0.046 mg/0.1c.c (1:2) 間隔 3 小時注射，死亡率為 52.9 %，畸形率以 0.02 mg/0.1c.c + 0.046 mg/0.1c.c (1:2) 連續注射最大，為 27.8 %，次為 0.02 mg/0.1c.c + 0.046 mg/0.1c.c 間隔 6 小時注射為 22.2 %。

造成死亡或畸形的原因是鉛離子可使蛋白質沈澱而失去活性，因此激素或酵素等在體內無法發揮功能。 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 離子則易與二價金屬離子結合，而使該離子失去作用。

- (四)由實驗結果顯示，注射 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 可降低 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 所造成之死亡率其降低情形，又與注射 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 之時間及劑量有關，在時間上，需注射 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 後緊接就注射 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 較有效，如 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 + \text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 為 1 : 2 時，其死亡率為連續注射— 33.3 % ~ 3 小時注射— 52.9 % ~ 6 小時注射— 55.6 % 1:3 小時情形類似。若隔一段時間後注射，其死亡率則與只注射 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 相同，甚且更高，如注射 0.02 mg/0.1c.c $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 之死亡率為 47.1 %，而 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 0.02 mg/0.1c.c + $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 0.046 mg/0.1cc，隔 3 小時注射之死亡率為 52.9 %。

在劑量上，注射 $0.02 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ 之 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 後接著注射 $0.069 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ (降低死亡率為 $47.1\% \sim 23.5\%$) 較注射 $0.046 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ 之 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ (降低死亡率情形為 $47.1\% \sim 23.3\%$) 為佳。

(五)本實驗採用 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 以使鉛離子失去作用，但同時它亦可和其它二價離子作用，如鈣、鎂等離子，而在骨骼成長過程中，需大量的鈣，不論單獨注射 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 或 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 或混合注射時，均發現有畸形，部位多在腳部骨骼，有時且亦影響腦部，造成水腦。

(六)在 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 之用量比例上，以 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 : \text{Na}_2 - \text{EDTA} 1:3$ 時降低死亡率最大，且無畸形發生，其次為 $1:2$ 故此二種藥物在生物體內，必須適當的比例才可達到降低死亡率的效果，且不發生畸形。當比例為 $3:3$ 時，其降低死亡率反不如 $3:2$ 或 $3:1$ ，可能是其剩餘的 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 離子和未作用之鉛離子之總和量比 $3:2$ 或 $3:1$ 多，而 $3:2$ 降低死亡率的效果比 $3:1$ 好，是類似原因。

(七)單獨注射 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 或 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 均會對雞胚生長產生抑制作用，以 $0.06 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 或 $0.069 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 最大，在體重上， $0.06 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 由 20.948 g 降至 11.255 g ； $0.069 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 由 20.948 g 降至 15.343 g ，CR 長度方面， $0.06 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ 之 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 由 8.6 cm 減至 6.87 cm 。

(八) $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 與 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 連續注射，其比例不適宜時，對雞胚生長有抑制作用、重量方面以 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 0.06 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA} 0.023 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ ($3:1$) 緊接著注射，其抑制作用為最大，由 20.948 g 降至 13.71 g ，其次為 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 0.06 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA} 0.069 \text{ mg}/0.1 \text{ c.c}$ ($3:3$) 連續注射，由 20.948 g 降至 16.23 g ，C-R 長度方面則以 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA} 1:3$

隔 6 小時注射時抑制作用最大，由 8.6 cm 降至 6.87 cm，其次為 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 3:1 連續注射，由 8.6 cm 降至 7.0 cm。

六、結論

本實驗之結果顯示 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 和 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 混合注射，在適當比例 1:3 時，其可降低死亡率且無畸形的發生。故我們相信，在某種濃度下 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 對 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 具有解毒作用，俗語說以毒攻毒，本實驗也可相互印證，但必須在鉛中毒後立刻解毒，否則隔一段時間再解毒，可能更加重其毒性。

故在工業污染物不斷威脅人類的此時，對於鉛中毒的患者，應可嘗試採用 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 為治療藥品。但未確定是鉛中毒時，不可恣意注射 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ ，而致弄巧成拙。

參考資料

1. 鋅離子對雞胚發育之影響以及對、鉛離子交互作用之研究—金魏漢馨等。
2. 醋酸鉛對雞胚發育之影響—金魏漢馨等。
3. 離子對雞胚畸形發育影響之研究—金魏漢馨等。
4. 生物科學第一卷第一期—發育中雞胚胎對藥物研究之功用（金魏漢馨譯）。
5. 生物科學第二卷第五期—鈷 60 — γ 射線對雞胚發育之影響（郝道猛）。

評語：1. 本作品對鉛中毒的雞胚設法做解毒方面之研究，動機正確。
2. 實驗時以不同比例之中毒和解毒藥物注射雞胚，設法找出注射解毒藥物， $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 之時間及劑量，方法嚴謹。
3. 惜作品缺少解毒有效之雞胚圖片為美中不足之處。
4. 作者在以 $\text{Na}_2 - \text{EDTA}$ 為解毒藥時，應先對化學藥品之性質有所了解，尤不必強調以毒攻毒。