

CPI-5 缓蚀剂的小鼠急性经口毒性分析

梁俊奕¹, 上官昌淮^{2,3}, 赵华莱^{2,3}, 杨笑曦⁴, 李春美⁵

(1. 西南石油大学石油工程学院, 成都 610500; 2. 中国石油集团工程设计有限责任公司西南分公司, 成都 610017;

3. 中国石油天然气集团公司石油管力学和环境行为重点实验室四川研究室, 成都 610017;

4. 武汉大学医学院, 武汉 430071; 5. 华中农业大学, 武汉 430070)

摘要:为适应油气田现场化学剂使用时 QHSE 发展趋势, 确保油气田现场用化学助剂安全无毒无污染的性能特点, 采用小白鼠毒性测试研究了现场用化学剂的毒性。通过采用灌胃的方法, 研究了 CPI-5 缓蚀剂对小鼠的急性毒性。一次性给药后连续观察 7 天, 检测 CPI-5 缓蚀剂对小鼠的急性毒性作用, 包括最小致死剂量和半数致死量。实验结果表明: CPI-5 缓蚀剂灌胃给小鼠的最小致死剂量约为 14.9 g/kg 体重, 半数致死剂量约为 30.45 g/kg 体重, 因此 CPI-5 缓蚀剂属于无毒或微毒的化学剂, 能够适用于油气田现场推广, 同时无毒无害缓蚀剂运用于现场对于改善现场操作环境和保证员工的健康具有重要的意义。

关键词:缓蚀剂; 灌胃; 最小致死剂量; 半数致死剂量

中图分类号: R991

文献标识码: A

随着企业市场化程度的日益加深和经济活动的深化, 建立一个同时满足质量、环境和职业安全健康管理 (QHSE) 体系要求的整合型管理体系, 并进行一体化认证, 已成为众多企业的迫切需求^[1-2]。油气田腐蚀是石油天然气工业主要损耗和风险之一, 采用缓蚀剂是油田设备腐蚀防护保障管道完整性的最有效手段之一^[3-5]。在 QHSE 管理体系发展之前, 油气田使用的很多缓蚀剂毒性和刺激性较大, 对环境及施工人员存在潜在威胁。在 QHSE 的要求下, 毒性较大的缓蚀剂已被逐渐淘汰, 今后缓蚀剂的发展主要秉承环境友好的理念以无毒型为主^[6-8], 因此现场运用缓蚀剂在保障技术系统安全运行的同时, 也保证了操作现场无毒无害的环境, 保证了员工的人身健康, 体现了化学剂现场运用过程中的 QHSE 要求。尤其是目前以中石油为首的国有企业大举进军海外油气田工程市场, 已经涵盖了中亚、中东、东南亚、北美、南美、澳洲和非洲的几十个国家和地区, 国外业主普遍要求选用低毒环保型的油田化学剂, 其中缓蚀剂的市场巨大, 这对国内厂家和科研单位提出非常迫切的现实需求。

1 毒性分析

化学物质的毒性是指化学物质作用于生物体引起生理功能或正常结构的病理改变方面的性能。

1.1 接触限值

为保护作业人员健康而规定的车间空气中有害物质含量的限定值, 不同国家和机构所使用的名称或表示方法不尽相同, 具体包括^[9]:

1.1.1 最高容许浓度 (MAC)

指人工作地点空气中有害物质在长期分次的有代表的采样测定中, 均不应超过的数值, 以保证人在经常生产中不致发生急性和慢性职业性危害而维护人的健康, 单位为 mg/m^3 。

1.1.2 阈限值 (TLV)

指美国政府工业卫生专家会议 (ACGIH) 推荐的接触限值, 该值定期修订、公布, 单位为 mg/m^3 或 ppm。

(1) 时间加权平均阈限值 (TLV-TWA): 正常 8 小时工作日或 40 小时工作周的时间加权平均浓度, 在此浓度下反复接触对几乎全部工人都不致产生不良效应。

收稿日期: 2011-12-21

基金项目: 国家“十二五”科技重大专项 (2011ZX-05059); 中国石油天然气集团公司工程建设分公司科学研究与技术开发项目 (2011GJTC-09-01)

作者简介: 梁俊奕 (1989-), 男, 成都人, 主要从事油气储运方面的研究, (E-mail) ljy70599@hotmail.com

(2)短时间接触阈限值(TLV-STEL):在此浓度下,人能够短时间连续接触而不致引起:刺激作用;慢性的或不可逆的组织病理改变;麻醉的程度达到足以增加意外伤害的危险,自救能力减退或工作效率明显降低。STEL是指每次接触时间不得超过15分钟的时间加权平均接触限值,每天不得超过4次,且前后两次接触至少要间隔60分钟。

(3)上限值(TLV-C):瞬时也不得超过的最高浓度。

1.2 侵入途径

指化学毒物侵入机体引起伤害的途径。主要分为三种途径:吸入、食入和经皮吸收。在生产作业条件下,化学物质主要通过呼吸道和皮肤进入人体,职业中毒时经口途径比较次要。

1.3 毒性

是指毒物引起机体损伤的能力,它总是同进入体内的量相联系,当评价毒性时,应将危害性和危险度两者区别。前者表示某种物质在一定条件下引起机体损伤的可能性,而后者则表示接触某种物质出现不良作用的预期频率。

毒性计算所用的单位一般以化学物质引起实验动物某种毒性反应所需的剂量表示:如为吸入中毒,则用空气中该物质的浓度表示,所需剂量(浓度)愈小,表示毒性愈大,最通用的毒性反应是动物的死亡数。常用的指标有以下几种:

绝对致死量或浓度(LD₁₀₀或LC₁₀₀):即全组染毒动物全部死亡的最小剂量或浓度。

半数致死量或浓度(LD₅₀或LC₅₀):即染毒动物半数死亡的剂量或浓度,此值是将动物实验所得的数据经统计处理而得。

最小致死量或浓度(MLD或MLC):即全组染毒动物中个别动物死亡的剂量或浓度。

最大耐受量或浓度(LD₀或LC₀):即全组染毒动物全部存活的最大剂量或浓度。

根据LD₅₀进行了化学物质的急性毒性分级,世界卫生组织(WHO)的毒性分级标准见表1。欧洲共同体的急性口服毒性分级标准为:高毒(Very Toxic, LD₅₀ < 25 mg/kg)、有毒(Toxic, LD₅₀ 为 25 ~ 200 mg/kg)、有害(Harmful, LD₅₀ 为 200 ~ 2 000 mg/kg)、不分级(Unclassified, LD₅₀ > 2 000 mg/kg)等四个等级。

参考国际上的几种毒性分级标准,我国于1978年提出了农药工业毒物急性毒性分级标准及农药急性毒性分级暂行标准^[10]。目前我国食品毒理则沿用了国际上6级标准,即极毒、剧毒、中等毒、低毒、实际无毒、无

表1 外源化学物急性毒性分级(WHO)

毒性分级	大鼠一次经口 LD ₅₀ (mg/kg)	6只大鼠吸入4小时死亡2~4只的浓度(ppm)	兔经皮 LD ₅₀ (mg/kg)	对人可能致死剂量 (g/kg)	对人可能致死剂量 (g/60kg)
剧毒	<1	<10	<5	<0.05	0.1
高毒	1~	10~	5~	0.05~	3
中等毒	50~	100~	44~	0.5~	30
低毒	500~	1000~	350~	5~	25
微毒	50000~	10000~	2180~	>15	>1000

毒,根据食品安全性毒理学评价程序和方法 GB15193-2003 其分级见表2。

表2 中国食品毒理急性毒性分级法

急性毒性分级	大鼠经口 LD ₅₀ (mg/kg)	大致相当于体重为70 kg 人的致死剂量
6级(极毒)	<1	稍尝, <7滴
5级(剧毒)	1~50	7滴~1茶匙
4级(中等毒)	51~500	1茶匙~35 g
3级(低毒)	501~5000	35~350 g
2级(实际无毒)	5001~15000	350~1050 g
1级(无毒)	>15000	>1050 g

2 实验材料与方法

2.1 实验材料与动物

2.1.1 实验材料

CPI-5 缓蚀剂(1:5浓缩液,四川正蓉实业有限公司抽样)。

2.1.2 实验动物

昆明(KM)小鼠,清洁级,体重18~22 g,雌雄各半,购自湖北省疾控中心(湖北实验动物质量合格证:SCXK(鄂)2008-0005)。

2.2 实验方法

2.2.1 最小致死剂量和最大耐受剂量的确定

依照 GB/T2603-2008 化学品急性经口毒性实验方法和参考文献[11-12]的方法进行。

实验分为预实验和正式实验两部分。

预实验:取2只小鼠,雌雄各半,禁食12 h后,用原液及稀释不同倍数后的药液按小鼠灌胃可承受的最大体积(0.4 mL/10g)的剂量给药,观察在24 h内是否有小鼠死亡或其他异常行为。若死亡则减小剂量若未死亡则增大剂量。确定最小致死剂量的大致范围。

根据预实验的结果,正式实验中按设定组数将小白鼠随机分组,每组10只,雌雄各半,分别编号,给药前禁食不禁水过夜(12 h),各组按0.4 mL/10g 体重给药,每日观察,记录小鼠死亡时间和死亡情况,第7天脱臼处死肉眼观测内脏情况。

2.2.2 半数致死剂量(LD₅₀)的确定

参照 GB/T2603-2008 化学品急性经口毒性实验方

法和陈奇^[10]的方法进行试验。

实验分为预实验和正式实验。预实验的目的是尽可能准确的找出 0% 及 100% 估计致死量,以决定正式实验中采用的最大致死量(D_m)和最小致死量(D_n)。根据 D_m/D_n 来决定组间剂量比值。正式实验中按设定组数将小白鼠随机分组,每组 10 只,雌雄各半,分别编号,给药前禁食不禁水过夜(12 h),各组按 0.2 mL/10g 体重给药。每日观察,记录小鼠死亡时间和死亡情况,第 7 天脱臼处死肉眼观测内脏情况。

表 3 预实验中灌胃给药动物死亡情况

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	死亡数(只)	灌胃后动物表现
1	34	2	2	抽搐,呼吸困难,呕吐,眼眶出血,50min 内死亡
2	25.5	2	2	灌胃后异常运动,半小时后翻正反射消失,70min 内死亡
3	17	2	2	抽搐,呼吸困难,呕吐,眼眶出血,雄鼠 1h 左右死亡,雌鼠 3h 内死亡
4	13.6	2	2	抽搐,呼吸困难,呕吐,眼眶出血,1h 内死亡
5	11.9	2	2	活动力下降,眼眶出血,90min 内死亡
6	10.2	2	2	运动失调,呼吸困难,5h 内死亡
7	8.5	2	2	运动失调,活动力差,呕吐,雌鼠存活 3h,雄鼠第二日死亡
8	6.8	2	2	抽搐,活动力差,存活约 4h
9	5.1	2	0	活动力差,存活 7 天外观基本正常,解剖可见肠暗黄色有很多横向皱纹
10	4.25	2	0	活动力差,困倦,存活 7 天未死亡,解剖可见肠胀气肠壁呈透明状

3.2 最小致死剂量和最大耐受剂量

由表 4 可知,最小致死剂量约为 2.98 g/kg 体重,最大耐受剂量约为 2.55 g/kg 体重。解剖肉眼检验,发现胃肠壁布满血丝,部分肠胀气,其余肠部暗黄有皱纹。

表 4 灌胃给药动物死亡情况

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	死亡数(只)	初始体重(g)	7 天体重(g)
1	5.1	10	6	16.89 ± 1.04	13.73 ± 2.77
2	3.4	10	2	18.06 ± 1.38	17.49 ± 3.63
3	2.55	10	0	25.23 ± 1.49	25.36 ± 3.36
4	2.98	10	1	23.34 ± 1.75	22.35 ± 3.19

由于受小鼠灌胃最大剂量的限制(0.4 mL/10g 体重),实验所采用的样品为 1:5 浓缩液,故 CPI-5 缓蚀剂的最小致死剂量约为 14.9 g/kg 体重,最大耐受剂量约为 12.75 g/kg 体重。

3.3 半数致死剂量(LD₅₀)

根据预实验确定 D_m 约为 6.8 ~ 8.5 g/kg, D_n 约为 2.55 ~ 3.4 g/kg。实验设定为五组,组间剂量比值为 1:0.8。具体剂量为 3.4 g/kg、4.25 g/kg、5.31 g/kg、6.63 g/kg 和 8.30 g/kg。将原液稀释至对应浓度,灌胃量为 0.2 mL/10g。

通过统计小鼠死亡数(表 5),用 SPSS13.0 软件计算,得到此次试验的半数致死剂量 LD₅₀ = 6.09 g/kg,95% 的可信限为 5.20 ~ 6.64 g/kg。1% 的死亡剂量为 2.92 g/kg,95% 的可信限为 1.60 ~ 3.83 g/kg,与上一实

2.2.3 统计方法

数据均通过 SPSS13.0 软件进行统计学处理,结果以平均值 ± 标准差表示。

3 实验结果

3.1 预实验

通过预实验确定最小致死剂量约为 5.1 g/kg 体重(表 3),因此将此剂量作为实验的初始剂量,出现死亡则减小剂量进行下一组,未出现死亡则增大剂量。

验结论接近。由于受小鼠灌胃最大剂量的限制(0.4 mL/10g 体重),实验所采用的样品为 1:5 浓缩液,故 CPI-5 缓蚀剂的 LD₅₀ 约为 30.45 g/kg。

表 5 不同剂量动物死亡情况

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	死亡数(只)
1	3.4	10	2
2	4.25	10	3
3	5.31	10	5
4	6.63	10	6
5	8.30	10	9

3.4 实验动物观测

高剂量灌胃后小鼠出现抽搐、呕吐、眼出血和呼吸困难等现象,一天内即死亡;低剂量灌胃后小鼠出现运动失调、走路站立不稳、活动力下降等现象,基本俯卧不动,死亡时身体消瘦但腹部明显胀大。

7 天时小鼠体重均下降。观察小鼠内脏情况,发现:肝呈暗红色;胃上半部分肿大呈白色,个别肿大与肝及皮肤连接,无法分开;肠胃壁有较多血丝;肠中充满气体,肠壁膨胀为透明的;低剂量的小鼠个别肠中无气体,但肠体呈暗黄色,有较密的横向平行皱纹。

4 结束语

根据 CPI-5 缓蚀剂鼠经口急毒实验分析的结果,其 LD₅₀ 约为 30.45 g/kg,按国内外标准属于 1 级无毒等级,按照世界卫生组织(WHO)标准微毒的级别,是一种安全无毒型的油气田缓蚀剂,完全可以满足油气田现场

QHSE 管理体系的相关要求,因此,无毒或微毒 CPI-5 缓蚀剂在保证集输管线安全运输的同时防止环境造成污染,保证员工的操作环境具有重要的意义。目前,国内缓蚀剂 LD₅₀值除少量外,大部分介于 50~500 mg/kg 之间,属于中等毒级^[13];国外同类产品的 LD₅₀则多在 500~5 000 mg/kg 之间,属于低毒级,其降低毒性的成本也非常高昂(国外产品 LD₅₀值从 500 mg/kg 提升至 1 000 mg/kg时,其成本约需增加一倍)。CPI-5 缓蚀剂的开发成功,系国内首款安全无毒级产品,对于国产缓蚀剂走向国际油气田工程市场具有重大的意义。

参考文献:

- [1] 刘辉.科研单位 QHSE 管理体系整合的思考[J].石油工业技术监督,2009,25(8):25-26.
- [2] 黄东魁,王利洲,刘丽艳.深化 QHSE 管理体系做到精细化管理中国新技术新产品[J].中国新技术新产品,2009(20):191.
- [3] 董绍华.全球油气管道完整性技术与管理的最新进展—中国管道完整性管理的发展对策[J].油气储运,2007,26(2):1-17.
- [4] 王书浩.秦京输油管道腐蚀机理分析及腐蚀检测[J].油气储运,2008,27(2):36-39.
- [5] 翁永基.腐蚀管道安全管理体系[J].油气储运,2003,22(6):1-13.
- [6] 刘声普,张凤兰.无毒缓蚀剂研制[J].内蒙古工业大学学报:自然科学版,1994,13(2):32-34.
- [7] 任呈强.油田缓蚀剂研究现状与发展趋势[J].精细石油化工进展,2002,3(10):33-37.
- [8] 田发国.一种新型油井高温酸化缓蚀剂 SYB 的制备及性能评价[J].石油与天然气化工,2009,38(5):426-429.
- [9] 夏元询.化学物质毒性全书[M].上海:上海科学技术文献出版社,1991.
- [10] 陈奇.中药药理实验[M].贵阳:贵州人民出版社,1988.
- [11] 王钦茂.药理学实验[M].上海:上海科学技术出版社,1987.
- [12] GPTH.化学药物急性毒性试验技术指导原则[S].
- [13] 韩驰.中国食品毒理学的现状和发展[J].中国食品卫生杂志,2003,15(6):481-483.

Acute Oral Toxicity Test on Mouse of CPI-5 Corrosion Inhibitor

LIANG Jun-yi¹, SHANGGUAN Chang-huai^{2,3}, ZHAO Hua-lai^{2,3}, YANG Xiao-xi⁴, LI Chun-mei⁵

(1. School of Petroleum Engineering, Southwest Petroleum University, Chengdu 610500, China; 2. China Petroleum Engineering Southwest Co., Ltd., Chengdu 610017, China; 3. The Key Laboratory for Mechanical and Environmental Behavior of Tubular Goods CNPC, Chengdu 610017, China; 4. School of Medicine, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 5. Food Science and Technology College of Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Base on the QHSE of chemicals used in the oil and gas field, in order to prevent the oil and gas field from polluting, the toxicity of the chemicals testing on mice was studied. The acute oral toxicity of CPI-5 corrosion inhibitor on mouse was tested by a disposable dosage giving chemical after giving chemical 7-days and continuous observation on mouse carried out for the minimum lethal dose & median lethal dose analysis of CPI-5 corrosion inhibitor. The result shows that the minimum lethal dose & LD₅₀ of CPI-5 corrosion inhibitor were about 14.9g/kg weight and 30.45g/kg weight, so CPI-5 corrosion inhibitor was defined as non-toxic or low toxicity, and it could be widely used in oil and gas field. Due to the non-toxic or low toxicity of the corrosion inhibitor in the oil and gas field, it was very important to operation environment and healthy of employees.

Key words: corrosion inhibitor; mouse; lavage; minimum lethal dose; median lethal dose