

Produktionsintegrierter Umweltschutz bei der Herstellung von Schmierstoffen

Incorporation of environmental protection into fabrication of lubricants

A. Eisenträger, C. Brinkmann, K. Michel, W. Dott

Entsprechend den zu erwartenden Änderungen in der europäischen Chemikalienpolitik wird eine Strategie entwickelt, wie ökotoxikologische Untersuchungen frühzeitig in den Entwicklungsprozess neuer Schmierfluide integriert werden können. Es wird gezeigt, dass weder die Testung der Einzelkomponenten noch theoretische Vorhersagen zur Mischungstoxizität alleine ausreichend sind, um das ökotoxische Potential von Schmierfluid-Formulierungen sicher zu bestimmen. Durch praktische Versuche mit verschiedenen Schmierstoffadditiven, einem Grundöl und Formulierungen aus diesen wird ein möglicher Weg aufgezeigt, mit dem schrittweise das Ziel eines optimierten Schmierfluids auch aus toxikologischer Sicht erreicht werden kann. Die Ergebnisse aus den biologischen Untersuchungen werden durch chemisch-analytische Daten ergänzt. Dass die Testung der Einzelsubstanzen und die Berechnung von Mischungstoxizitäten zu anderen Schlussfolgerungen führen als das direkte Testen dieser Mischungen, wird anhand von Schmierstoffen auf Basis synthetischer Ester und Additiven nachgewiesen. Insgesamt soll dieser Ansatz als Beispiel dafür dienen, wie „produktionsintegrierter Umweltschutz“ hinsichtlich ökotoxikologischer Fragestellungen gerade durch die Verwendung einfacher und schneller Testmethoden umgesetzt werden kann.

Schlüsselworte: Schmierfluide, Additive, produktionsintegrierter Umweltschutz, Mischungstoxizität, biologische Testverfahren

According to the upcoming changes in the European chemicals' policy we present a strategy how to incorporate ecotoxicity testing into the developmental process of lubricants at a very early stage. It is demonstrated that an ecotoxicological assessment of lubricant formulations cannot be done by simply testing single substances or calculating mixture toxicity. A possible approach is introduced using suitable bioassays and investigating different additives as well as certain formulations. In addition to biological results data of chemical analyses are considered. By doing so it is shown that single substance testing on the one hand and theoretic predictions on the other hand lead to different conclusions than the direct testing of mixtures for synthetic ester lubricants and additives. The study gives an idea of a way to realize cleaner production with respect to ecotoxicology using simple and rapid test methods.

Key words: Lubricants, additives, cleaner production, mixture toxicity, bioassays

1 Einleitung

Bislang werden Chemikalien, Formulierungen und Produkte in der Regel entwickelt und optimiert, ohne dass deren Umweltverträglichkeit in diesem Prozeß berücksichtigt wird. Es wird zwar versucht, auf bekannte Problemstoffe zu verzichten, um ein umweltverträgliches und damit marktfähiges Endprodukt zu erhalten. Durch die Umsetzung der im Weißbuch der Europäischen Kommission von 2001 [1] formulierten Ziele kommen jedoch grundlegende Änderungen in der europäischen Chemikalienpolitik auf alle EU-Mitgliedstaaten zu. Im Oktober 2003 wurde von der Kommission ein Verordnungsentwurf zum künftigen Chemikalienrecht vorgelegt mit dem Ziel, „die menschliche Gesundheit zu schützen und gleichzeitig die Wettbewerbs- und Innovationsfähigkeit der Industrie zu bewahren“ [2]. Diese sogenannte REACH (Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals)-Verordnung soll die Nachweispflicht für Risiken von Behörden auf Hersteller, Importeure und Weiterverarbeiter übertragen. In Zukunft müssen zu allen Stoffen und Zubereitungen umfassende Daten zur Risikobewertung vorgelegt werden. Besonders problematische Stoffe werden zulassungspflichtig. Eine konsequente Umsetzung des Vorsorge- und Nachhaltigkeitsprinzips auf EU-Ebene wird mit dieser Verordnung angestrebt, wobei eine frühzeitige Untersuchung der Chemikalien von Seiten der Industrie vorgeschrieben wird. Diese Forderungen und deren rechtliche Umsetzung wurden in der letzten

Zeit sehr kontrovers diskutiert. Unter anderem wurden vom Bundesverband der Deutschen Industrie e.V. Studien über die volkswirtschaftlichen Auswirkungen der angestrebten Änderungen in Auftrag gegeben, die eine enorme Zunahme der Arbeitslosenzahlen und große volkswirtschaftliche Konsequenzen prognostizierten [3].

Die dabei vorgenommene kostenseitige Betrachtung der praktischen Auswirkungen der neuen rechtlichen Forderungen läßt jedoch außer acht, daß die frühzeitige Implementierung von Umweltaspekten in den Entwicklungsprozeß auch dazu beitragen kann, Fehlentwicklungen zu vermeiden, bei denen am Ende festgestellt wird, daß das Produkt zu umweltgefährdend ist. Weiterhin werden die Kosten für die Untersuchungen als fixe Kosten angesehen. Mittlerweile stehen jedoch für viele Testverfahren optimierte und neu entwickelte kostengünstige Methoden zur Verfügung, mit denen große Probenmengen untersucht werden können.

Der im Sonderforschungsbereich 442 der Deutschen Forschungsgemeinschaft seit einiger Zeit verfolgte Ansatz des „produktionsintegrierten Umweltschutzes“, der hier vorgestellt wird, entspricht in idealer Weise diesen neuen Grundsätzen der Chemikalienpolitik. Neu synthetisierte bzw. formulierte Schmierfluide werden in diesem Forschungsprojekt direkt vor oder während der Prüfung technischer Eigenschaften auch toxikologisch charakterisiert. Innovative mikroplattenbasierte Testmethoden zur Abschätzung des wassergefährdenden ökotoxischen Potentials werden eingesetzt, mit denen alle

Einzelbestandteile der Schmierfluide charakterisiert werden können. Durch die enge Zusammenarbeit zwischen Chemikern, Toxikologen und Anwendern der Fluide können sämtliche Aspekte des Produktzyklus' in die toxikologische Bewertung eingehen.

In dieser Arbeit wird am Beispiel eines Hydraulikgrundöls und verschiedenen Additiven, einem amin-neutralisierten Phosphorsäureester, Tri-n-butylphosphat und Benzotriazol, untersucht, ob die Bewertung von Einzelkomponenten für die Bewertung des Endprodukts „Schmierfluid“ ausreichend sein kann, indem Mischungstoxizitäten aus den Daten der Einzelkomponenten berechnet werden, oder ob auch die Mischungen in die gleichen Testverfahren eingesetzt werden müssen.

2 Experimentelles

2.1 Schmierfluide und Additive

Für die Untersuchungen wird das Grundöl eines kommerziell erhältlichen Schmierstoffes auf Esterbasis eingesetzt. Es besteht zu 75 % aus Trimethylolpropantrioleat (mit natürlicher Fettsäureverteilung) und 21 % Bis-(2-ethylhexyl)-adipat [4]. Mit diesem Grundöl werden die verschiedenen untersuchten Gemische hergestellt. Als Additive werden Tri-n-butylphosphat (CAS 126-73-8, Merck KGaA, Darmstadt), Benzotriazol (CAS 95-14-7, Merck KGaA, Darmstadt) und ein amin-neutralisierter Phosphorsäureester, welcher von einem Additivhersteller zur Verfügung gestellt wurde, eingesetzt. Die Additive werden dem Grundöl in technisch üblichen Mengen zugesetzt. Für die binären Gemische wird das Hydraulikbasisfluid mit 0,25 % amin-neutralisiertem Phosphorsäureester, mit 0,5 % Tri-n-butylphosphat und mit 0,02 % Benzotriazol versetzt. Für das untersuchte tertiäre Gemisch wird das Grundöl mit 0,5 % Tri-n-butylphosphat und 0,02 % Benzotriazol versetzt. Die Gemische werden auf 40-50 °C erwärmt und bis zur vollständigen Lösung der Komponenten gerührt.

2.2 Herstellung der wässrigen Extrakte

Zur Herstellung der wässrigen Extrakte werden jeweils 100 g des Schmierfluids mit 1000 g Millipore®-Wasser in einer braunen Duran®-Glasflasche (Schott, Mainz) mit Teflon-kaschiertem Schraubdeckel versetzt [5]. Die Suspension wird 24 Stunden im Dunklen „überkopf“ geschüttelt. Anschließend wird das Gemisch zur Phasentrennung in einem Scheidetrichter über Nacht stehengelassen. Um Öltröpfchen zu entfernen wird die wässrige Phase mit Hilfe eines Glasfaserfilters (Porengröße 1 µm, Co. Gelman Sciences, Michigan; USA) filtriert. Der wässrige Extrakt wird in einer dualen Reihe verdünnt innerhalb von 14 Tagen in die Testverfahren eingesetzt. Für die Limit-Tests werden 100 mg Schmierfluid auf die gleiche Weise extrahiert.

Der pH-Wert und die Leitfähigkeit werden mit einem inoLab Multi Level 1 Instrument (WTW GmbH, Weilheim) mit einer pH-Elektrode (SenTix 81, WTW GmbH, Weilheim) und einer Leitfähigkeitselektrode (TetraCon® 325, WTW GmbH, Weilheim) gemessen. Der gelöste organische Kohlenstoff (DOC) wird nach EN 1484 [6] mit einem TOC Messgerät (Model C-Mat 5500 mit Autosampler, Stroehlein Instruments, Juwe GmbH, Viersen) ermittelt.

2.3 Bakterielle Testverfahren

Der Zellvermehrungshemmtest mit *Vibrio fischeri* wird in einem Mikroplatteninkubator mit eingebautem Photometer (IEMS-Reader, Thermo Electron, Finnland) durchgeführt. Abweichend vom Standardtestverfahren nach DIN 38412 L37 [7] werden als Testkultur Kryokonserven von *Vibrio fischeri* eingesetzt [8] und die optische Dichte wird in 20 min Intervallen bei 450 nm gemessen. Um das Sedimentieren der Bakterien zu verhindern, werden die Platten geschüttelt. Alle Testansätze, Kontrollen und Leerwerte werden jeweils in 3 Parallelen bestimmt. Außerdem wird die akute Hemmung der Lumineszenz von *V. fischeri* mit dem Standardtestverfahren nach ISO 11348-1 [10] gemessen. Hierbei werden alle Proben, Kontrollen und Leerwerte in 2 Parallelen angesetzt. Für den Limit-Test mit 100 mg/L werden im Zellvermehrungshemmtest 18, im Lumineszenzhemmtest 12 Parallelen untersucht.

2.4 Algen-Zellvermehrungshemmtests

Der Algentoxizitätstest wird in Mikroplatten nach ISO 8692 [11] bzw. ISO 14443 [12] in zwei Ansatzgrößen durchgeführt. Testorganismus ist die einzellige Grünalge *Desmodesmus subspicatus*, 86.81 SAG (vorher *Scenedesmus subspicatus* CHODAT [13]). Im 24-Well-Test werden Mikroplatten (Multi-Well-Plates, Kat.-Nr. 662102, Greiner GmbH, Solingen) mit 2 ml pro Well eingesetzt. Die Platten werden in beiden Verfahren mit einem Deckel verschlossen und zusätzlich mit Parafilm 'M' (Laboratory Film, American National Can TM, Chicago, IL, USA) versiegelt.

Die Fluoreszenzmessung erfolgt bei folgenden Einstellungen am Fluoreszenzspektrometer (SPECTRAFluorPlus, Tecan AG, Hombrechtikon, Schweiz): Excitation 400 nm bei einer Bandbreite von 40 nm, Emission 690 nm bei einer Bandbreite von 8,4 nm, Auflösung 150. Die Integrationsparameter sind: Lag-Phase 0 µs, Integrationszeit 40 µs, Anzahl der Blitze 50, Orbitalmodus und normale Intensität. Jede Verdünnung des wässrigen Extraktes, jede Kontrolle und jeder Leerwert wird auch hier in 3 Parallelen bestimmt. Für den Limit-Test mit 100 mg/L werden 15 Parallelen untersucht.

2.5 Daphnienimmobilisationstest

Der *Daphnia magna*-Immobilisationstest wird nach ISO 6341 [14] durchgeführt. Vor und nach dem Test werden der pH-Wert und die Leitfähigkeit bestimmt. Eine 10-fach konzentrierte Lösung des Mediums wird zu jedem Testansatz zugegeben, um die Leitfähigkeit unabhängig von der Verdünnung einzustellen. Zur Bestimmung des EC₅₀- bzw. EL₅₀-Werts werden 20 Tiere pro Testansatz eingesetzt. Für den Limit-Test mit 100 mg/L werden 6 Parallelen mit jeweils 10 Tieren untersucht.

2.6 Statistische Auswertung

Die Hemmwerte werden in den Tests nach dem jeweiligen Standardverfahren bestimmt. Die EC bzw. EL-Werte werden aus der sigmoidalen Dosis-Wirkungsbeziehung mit Probitanalyse [15] nach der „Maximum Likelihood“-Methode berech-

net. Die Konfidenzintervalle werden nach Fieller [16] bestimmt.

2.7 Berechnung von Mischungstoxizitäten

In der Literatur werden zwei Methoden zur Bestimmung von Mischungstoxizitäten von wässrigen Lösungen beschrieben. Dies ist zum einen die Methode der Konzentrationsadditivität [17] zum anderen das Konzept der unabhängigen Wirkung [18].

Mit der folgenden Gleichung kann die Toxizität einer multiplen Mischung nach dem Prinzip der Konzentrationsadditivität vorhergesagt werden [19].

$$EC_{Xmix} = \left(\sum_{i=1}^n \frac{p_{Si}}{EC_{XSi}} \right)^{-1} \quad (1)$$

Dabei ist p_{Si} der Anteil der Komponente i in der Mischung, EC_{XSi} die Konzentration der Substanz i , die den Effekt X bei der Testung der Einzelkomponente hervorruft und EC_{Xmix} die Konzentration der Mischung die $X\%$ Effekt liefert. Dieses Konzept setzt bei den Einzelkomponenten den gleichen Wirkort und Wirkmechanismus im Organismus voraus.

Wenn ein unterschiedlicher Wirkort und Mechanismus der Einzelkomponenten angenommen wird, ergibt das Konzept der unabhängigen Wirkung bessere Ergebnisse.

$$E(c_{mix}) = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - E(c_i)) \quad (2)$$

Hier ist $E(c_{mix})$ der Effekt der Mischung und $E(c_i)$ der Effekt der Konzentration der Einzelkomponenten. Diese Theorie basiert auf der Annahme, dass jede einzelne Komponente zwar auf verschiedene Bereiche wirkt, aber einen gemeinsamen Effekt hat.

Für schlecht wasserlösliche Verbindungen wird in dieser Arbeit eine andere Annahme zugrunde gelegt. Es wird angenommen, dass sich das Additiv nicht zwischen der wässrigen Phase und der Ölphase verteilt, sondern bis zur Löslichkeitsgrenze in die wässrige Phase übergeht. Es ergeben sich dann für binäre Mischungen folgende Überlegungen:

2.8 Hydraulikbasisfluid und Tri-n-butylphosphat

Tri-n-butylphosphat ist bis zu 0,4 g/L in Wasser löslich. In einer 0,5 %igen Schmierstoffmischung sind dann 500 mg Tri-n-butylphosphat in 100 g Fluid. Extrahiert man diese Mischung mit 1 L Millipore® Wasser sollte bis zu 400 mg/L Tri-n-butylphosphat im wässrigen Extrakt sein. Das würde z. B., unter Beachtung der EC-Werte der Einzelkomponenten, einen EL_{50} -Wert der Mischung von 0,6 % im Algentest oder 10 % im Dahnientest bedeuten.

Um den Anteil von Tri-n-butylphosphat in wässrigen Lösungen zu bestimmen, wurde ein Verfahren zur Rückextraktion mit Dichlormethan entwickelt. 50 mL des zu untersuchenden wässrigen Extraktes werden dreimal mit 5 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden auf 25 mL aufgefüllt und über Dinatriumsulfat getrocknet. Die entstandenen wasserfreien Dichlormethanextrakte werden gaschromatographisch getrennt und über eine externe Ka-

librierung mit Tri-n-butylphosphat mit MS quantifiziert. Das GC-MS besteht aus dem septenfreien Injektorsystem KAS3 (Gerstel GmbH, Mülheim a. d. Ruhr). Als Detektor dient das Quadrupolmassenspektrometer Hewlett Packard 5972 HP-MSD (Agilent Technologies, Waldbronn). Die Einstellung des Gaschromatographen und Massenspektrometers sind wie folgt. Injector: Gerstel KAS3: Starttemperatur 30 °C, Rampe 1 10 °C/s bis 300 °C, Rampe 2 0 °C, Injektionsvolumen 40 µL, Injektionsgeschwindigkeit 50 µL/min, Gaschromatograph: Säule RTX-5 SilMS, Restek, l = 30 m, ID = 0,28 mm, Schichtdicke = 2,5 µm, Temperaturprogramm: $T_{Start} = 65$ °C, Rampe 1 15,0 °C/min; $T_{Ende} = 200$ °C Rampe 2 10,0 °C/min; $T_{Ende} = 330$ °C, Massenspektrometer: MS Temperatur 180 °C, Transferline 300 °C, Lösungsmittelverschiebung 3 min, Scans pro sec 1,3, Mode Massenbereich 50-400 au und Full Scan

Die Quantifizierung des Benzotriazol in den wässrigen Extrakten erfolgt mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie auf einem Hewlett-Packard 1100 Series Flüssigchromatograph, ausgestattet mit einem Degaser, einem binärem Pumpsystem, dem Injektor, einem thermostatisierbaren Säulenraum, einem Diodenarraydetektor, sowie dem Finnigan MAT® MS-System SSQ 7000 (Finnigan Corp., San Jose, CA, USA). Die Geräteparameter sind wie folgt: Säule Nucleosil 100 C₁₈ 250 x 4,1 mm, Teilchendurchmesser 5 µm, Injektionsvolumen 5 µL, Säulentemperatur 40 °C, Fließmittel Wasser/Acetonitril, Start 40 %, 25 min 100 %, 32 min 40 %, 35 min 40 % Acetonitril, Fluß 0,8 ml/min, Detektionswellenlänge 210 nm, Massenspektrometer: ESI-MS negativ, Kapillartemperatur 200 °C, Sprayspannung 4,5 kV, CID 20 V, Sheathgas 4 bar

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Testung von Einzelsubstanzen

Um toxikologische Daten über die Bestandteile von Schmierfluiden zu erhalten, werden die Grundöle und verschiedene Additive in biologischen Testverfahren untersucht. Da die Reduktion von Verschleiß eine der wichtigsten Aufgaben eines Schmierfluides ist, spielen Antiwear-Additive eine entscheidende Rolle bei der Formulierung von Schmierstoffen. Es wurden deshalb zwei phosphorhaltige Verschleißschutzadditive untersucht, Tri-n-butylphosphat und ein amin-neutralisierter Phosphorsäureester. Um verschiedene Wirkmechanismen und Orte abzudecken, wurde mit Benzotriazol ein Buntmetalldeaktivator mit einer völlig anderen Struktur und damit völlig anderen Eigenschaften untersucht. So ist Tri-n-butylphosphat bei Raumtemperatur flüssig und hat eine geringe Wasserlöslichkeit, Benzotriazol dagegen fest und bis zu 19 g/L in Wasser löslich. Als letztes wurden auch die Grundöle untersucht, um deren ökotoxikologisches Potential zu ermitteln.

Die untersuchten Additive zeigen im Algentest sehr niedrige EC- bzw. EL-Werte (Tabelle 1). Sie sind also stark toxisch. Die bakteriellen Testverfahren spielen für diese Additive keine Rolle. Dagegen ist der Lumineszenzhemmtest für Benzotriazol das empfindlichste Testverfahren. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Algentest und der Daphnientest sehr empfindlich in der ökotoxikologischen Testung von verschiedensten Substanzen sind, aber auch der Lumineszenzhemmtest mit *V. fischeri* für einige Substanzen von Bedeutung sein kann.

Tabelle 1. EL₅₀- bzw. EC₅₀-Werte [mg/L] für Schmierstoffadditive in verschiedenen biologischen Testverfahren (95 % Konfidenzintervalle in Klammern)

Table 1. EL₅₀ resp. EC₅₀ [mg/L] for lubricant additives in different ecotoxicological assays (95 % confidence intervals in parentheses)

Probe	Funktion	Algentest (ISO 8692)	Daphnientest (ISO 6341)	Lumineszenzhemmtest mit <i>Vibrio fischeri</i> (ISO 11348-1)	Zellvermehrungshemmtest mit <i>Vibrio fischeri</i> (DIN 38412 L37)
amin-neutralisierter Phosphorsäureester(EL ₅₀)	Anti-wear Additiv	1,0	1,5	> 100	> 100
Tri-n-butylphosphat (EC ₅₀)	Anti-wear Additiv	2,4 (1,6 – 3,6)	41 (29 – 57)	191 (186 – 195)	97 (88 – 106)
Benzotriazol (EC ₅₀)	Buntmetalldeaktivator	242 (192 – 305)	136 (119 – 155)	35 (33 – 38)	249 (216 – 287)

Nach den Ergebnissen der Biotests der untersuchten Einzelsubstanzen fällt aus ökotoxikologischer Sicht die Wahl für das Antiwear-Additiv auf Tri-n-butylphosphat, da es in allen Verfahren weniger toxisch als der andere Phosphorsäureester war.

3.2 Bestimmung von Mischungstoxizitäten

Zusätzlich zur Testung der Einzelsubstanzen soll auch die Toxizität von Mischungen bestimmt werden. Zunächst werden die Mischungstoxizitäten von Tri-n-butylphosphat und Benzotriazol in zwei verschiedenen Konzentrationen nach den Modellen der Konzentrationsadditivität und der unabhängigen Wirkung berechnet. Hierbei dominiert der Einfluß von

Tri-n-butylphosphat deutlich die Toxizität der Gesamtmischung. Das wird umso deutlicher, wenn man den Anteil der Mischung an Tri-n-butylphosphat von 50 % auf ca. 72 % erhöht. Übereinstimmend mit der Testung der Einzelsubstanzen sollte nach Berechnung der Mischungstoxizitäten der Anteil des Tri-n-butylphosphats in Schmierfluiden im Hinblick auf die ökologische Verträglichkeit gesenkt werden.

Um diese Ergebnisse zu bestätigen, wurden die formulierten Mischungen in den biologischen Testverfahren untersucht. Die erhaltenen EC₅₀-Werte werden mit den theoretischen Werten verglichen. Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung mit den zuvor berechneten Werten (Tabelle 2).

Die Formulierung der Schmierfluide erfolgt nach den technischen Anforderungen. Als Grundöl dient ein Hydraulikba-

Tabelle 2. EC₅₀-Werte [mg/L] der Additivmischungen in verschiedenen biologischen Testverfahren (mit 95 % Konfidenzintervall) im Vergleich mit theoretisch nach dem Konzept der Konzentrationsadditivität und dem Prinzip der unabhängigen Wirkung berechneten Werten

Table 2. EC₅₀-values [mg/L] for additive mixtures in different ecotoxicological assays (95 % confidence intervals in parentheses) compared with theoretic values predicted by the concepts of concentration addition and independent action

	Algentest (ISO 8692)	Daphnientest (ISO 6341)	Lumineszenzhemmtest mit <i>Vibrio fischeri</i> (ISO 11348-1)	Zellvermehrungshemmtest mit <i>Vibrio fischeri</i> (DIN 38412 L37)
Tri-n-butylphosphat + Benzotriazol (1 + 1)				
Vorhersage mit Konzentrationsadditivität	4,8	63	60	139
Vorhersage mit unabhängiger Wirkung	4,9	82	64	185
Testergebnisse	6,0 (3,9 – 9,2)	80 (60 – 106)	74 (73 – 76)	177 (173 – 181)
Tri-n-butylphosphat + Benzotriazol (2,5 + 1)				
Vorhersage mit Konzentrationsadditivität	3,3	51	85	117
Vorhersage mit unabhängiger Wirkung	3,4	58	86	134
Testergebnisse	3,3 (2,2 – 5,0)	25 (16 – 41)	64 (31 – 67)	118 (74 – 188)

sisfluid aus 75 % Trimethylolpropan (mit natürlicher Fettsäureverteilung) und 21 % Bis-(2-ethylhexyl)-adipat [3]. Außer dem Molekulargewicht stehen über Trimethylolpropan keine weiteren physikalisch-chemischen Daten zur Verfügung. Bis-(2-ethylhexyl)-adipat ist wasserunlöslich und bei Raumtemperatur flüssig. Um die Fluidformulierungen herzustellen, werden die vorher einzeln untersuchten Additive in technisch relevanten Mengen dem Basisfluid zugegeben.

3.3 Untersuchung von Schmierfluidformulierungen

Bei den für die rechtliche Beurteilung durchgeführten Limittests (100 mg/L) konnte keine Hemmung über 50 % festgestellt werden. Die eingesetzten Fluidformulierungen sind daher rechtlich unbedenklich (Abb. 1)

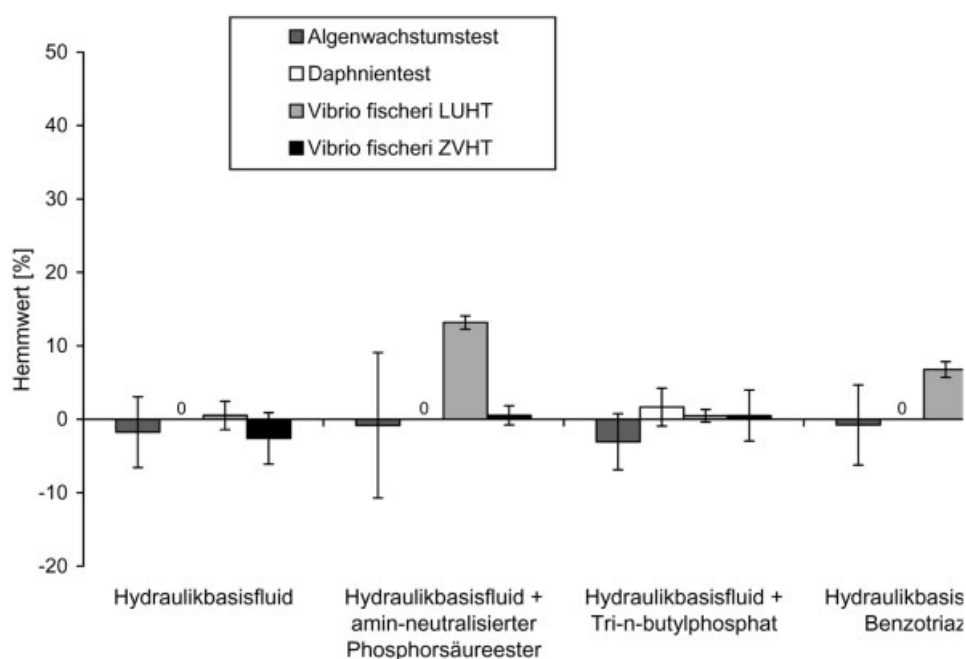


Abb. 1. Ökotoxikologische Charakterisierung von Schmierfluidformulierungen 100 mg/L – Limit test.

Fig. 1. Ecotoxicity testing with lubricant formulations in a concentration of 100 mg/L – limit test.

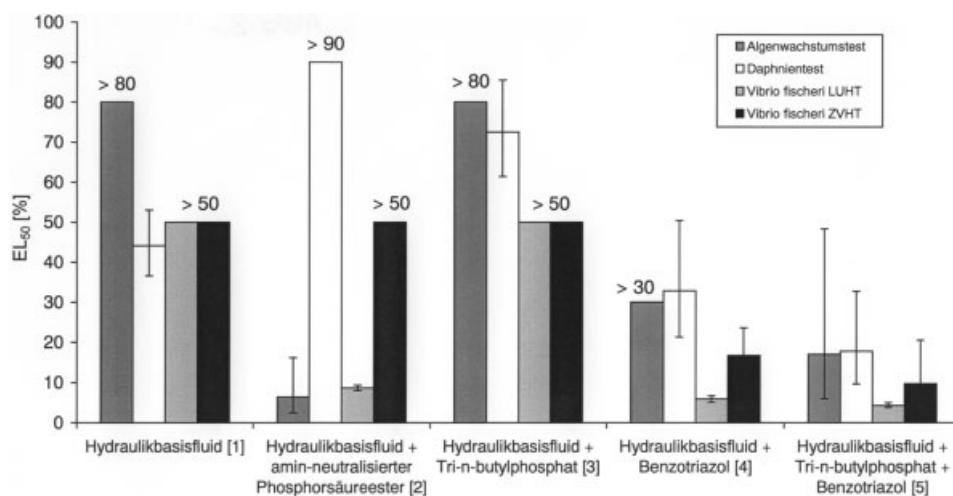


Abb. 2. EL₅₀-Werte des Hydraulikbasisfluids und der untersuchten Fluidformulierungen (1:10 Eluate) in verschiedenen biologischen Testverfahren,

Fig. 2. EL₅₀ values [%] for the hydraulic base fluid and four lubricant formulations (extracted with 100 g/L) in different ecotoxicological assays.

Tabelle 3. pH-Werte, Leitfähigkeit und gelöster organischer Kohlenstoff (DOC) der wässrigen Extrakte (100 g/L)
Table 3. pH-values, conductivity and dissolved organic carbon (DOC) of the water extracts of lubricants with 100 g/L

	pH-Wert	Leitfähigkeit [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	DOC ^[a] [mg/L]	Additiv im Eluat [mg/L]
Hydraulikbasisfluid	4.8	5.6	45.8 \pm 0.4	
Hydraulikbasisfluid + amin-neutralisierter Phosphorsäureester	4.1	40.3	235 \pm 0.9	
Hydraulikbasisfluid + Tri-n-butylphosphat	7.4	13.3	20.0 \pm 0.2	n.n
Hydraulikbasisfluid + Benzotriazol	4.6	32.0	134 \pm 0.6	
Hydraulikbasisfluid + Tri-n-butylphosphat + Benzotriazol	4.5	35.5	202 \pm 0.7	11

^[a] Mittelwert von 3 Messungen mit Standardabweichungen

^[b] Nachweis mit GC-MS

^[c] Nachweis mit HPLC-DAD

n.n: nicht nachweisbar

45,5 mg/L; Leitfähigkeit: 5,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$) (Tabelle 3). Es ist daher wahrscheinlich, dass der auch als Einzelsubstanz toxische Phosphorsäureester in den Extrakt übergegangen ist und die Toxizität der Mischung verursacht.

Tri-n-butylphosphat ist alternativ als Antiwear-Additiv in einer Formulierung eingesetzt worden, um auch hier einen Kombinationseffekt zu zeigen. Allerdings zeigt die Mischung hier die gleiche Toxizität wie das Basisfluid.

Um diesen Effekt aufzuklären, wurde ein Verfahren zur Rückextraktion von Phosphorsäureestern entwickelt. Es wurde eine Mischung des Hydraulikgrundöls mit Tri-n-butylphosphat ausgewählt, wobei mit 0,5 % Tri-n-butylphosphat die technisch übliche Konzentration verwendet wurde. Aus diesem Fluid wurde ein Eluat mit Wasser im Verhältnis 1:10 hergestellt und zunächst dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten Dichlormethanextrakte wurde dann über Natriumsulfat getrocknet und mit GC-MS quantifiziert. Im wässrigen Eluat des mit Tri-n-butylphosphat dotierten Hydraulikgrundöls konnte kein Additiv gefunden werden (Tabelle 3). Theoretisch erwartete man aufgrund der hohen Toxizität von Tri-n-butylphosphat in den Einzeluntersuchungen für den EL_{50} -Wert der Mischung einen Wert von 0,6 %. Vergleicht man die erhaltenen Ergebnisse mit den vorhergesagten, zeigt sich ein komplett anderes Bild. In diesem Fall kann mit theoretischen Vorhersagen keine Aussage über das tatsächliche Verhalten der Mischung getroffen werden.

Eine weitere wichtige Klasse von Additiven sind Buntmetalldeaktivatoren, wie z. B. Benzotriazol. Eine Mischung des Basisfluides mit Benzotriazol ist in allen Testverfahren toxischer als das Grundöl. Aufgrund des gemessenen DOC (134 mg/L) und der erhöhten Leitfähigkeit (45,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$) (Tabelle 3) kann man davon ausgehen, dass es leichter in die Wasserphase übergeht als Tri-n-butylphosphat. Wäre alles im Öl vorhandene Benzotriazol in den Extrakt übergegangen, würde man eine Konzentration von 20 mg/L erwarten. HPLC-Untersuchungen des erhaltenen wässrigen Extraktes einer Mischung von Benzotriazol, Tri-n-butylphosphat und dem Hydraulikgrundöl ergeben eine Konzentration von Benzotriazol im Eluat von ca. 11 mg/L (Tabelle 3). Selbst wenn man davon ausgeht, dass das gesamte Benzotriazol in die wässrige Lösung übergegangen ist, würde man keine Lumineszenzhemmung über 50 % erwarten, da der EC_{50} -Wert von Benzotriazol

35 mg/L beträgt. Der EL_{50} -Wert des Extraktes ist allerdings 10 %. Rechnet man dieses Ergebnis auf die Menge Benzotriazol um, erhält man einen EC_{50} -Wert des Benzotriazol in dieser Mischung von 2 mg/L. Somit ist erstaunlicherweise der Extrakt der Mischung ca. 17mal toxischer als die Einzelsubstanz. Durch Zugabe von Tri-n-butylphosphat erhöht sich die Toxizität noch weiter. Der gestiegene DOC (202 mg/L) und die erhöhte Leitfähigkeit (Tabelle 3) lassen auf eine bessere Bioverfügbarkeit der Substanzen schließen.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass für einzelne Substanzen und Mischungen eine theoretische Vorhersage zwar möglich ist. Für eine tatsächliche Abschätzung des ökotoxikologischen Potentials von realen Mischungen kann aber nicht auf biologische Testverfahren verzichtet werden.

4 Zusammenfassung

Schmierfluide werden in der Regel so formuliert, daß sie technischen Anforderungen gerecht werden. Umweltverträgliche Schmierfluide müssen darüber hinaus aber auch ökotoxikologischen Ansprüchen genügen. Beide Aspekte sollen bei der Entwicklung von Formulierungen möglichst frühzeitig berücksichtigt werden, damit das Ziel des produktionsintegrierten Umweltschutz umgesetzt wird. Da Mensch und Umwelt häufig nicht mit Reinsubstanzen sondern mit Mischungen unterschiedlichster Substanzen konfrontiert werden, muß das Risiko dieser Mischungen ermittelt werden. Mischungstoxizitäten können nach zwei verschiedenen Modellen berechnet werden. Diese Modelle, zum einen das Konzept der Konzentrationsadditivität, zum anderen das Prinzip der unabhängigen Wirkung, sind für Mischungen von wasserlöslichen Substanzen brauchbar. Für die hier untersuchten Schmierfluidformulierungen versagen die Modelle allerdings. Eine theoretische Vorhersage der Toxizität einer Schmierfluidmischung ist somit bislang nicht möglich. Daher muß die Abschätzung des ökotoxikologischen Risikos durch praktische Versuche mit biologischen Testverfahren erfolgen. Eine frühzeitige Integration dieser Testverfahren in den Prozeß der Schmierfluidformulierung kann darüber hinaus sicherstellen, daß das Endprodukt umweltverträglich ist und Entwicklungskosten einge-

spart werden. Eine sinnvoll aufgebaute chemische Begleitanalytik zur Ermittlung des extrahierten und damit bioverfügbaren Anteils in der Formulierung könnte darüber hinaus zu grundlegenden, übertragbaren Erkenntnissen führen.

5 Danksagung

Diese Arbeit ist Teil des Sonderforschungsbereich 442 „Umweltverträgliche Tribosysteme durch geeignete Werkstoffverbunde und Zwischenstoffe am Beispiel der Werkzeugmaschine“ finanziert von der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Die Autoren danken im besonderen Sigrid Hutmacher, Nina Kuckelkorn und Verena Pickart für die Durchführung der praktischen Arbeiten und Matthias Mundt für die Unterstützung bei den HPLC-MS-Messungen.

6 Literatur

1. Anonymus, Richtlinie 2001/59/EG der Kommission vom 6. August zur 28. Anpassung der Richtlinie 67/548/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe an den technischen Fortschritt, **2001**.
2. Anonymus, Vorschlag für eine VERORDNUNG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe sowie zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und der Verordnung (EG) {über persistente organische Schadstoffe} und Vorschlag für eine RICHTLINIE DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES zur Änderung der Richtlinie 67/548/EWG des Rates im Hinblick auf ihre Anpassung an die Verordnung (EG) des Europäischen Parlaments und des Rates über die Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe, Brüssel, **2003**, KOM(2003) 0644 (04).
3. Arthur D. Little GmbH: Wirtschaftliche Auswirkungen der EU-Stoffpolitik – Bericht zum BDI-Forschungsprojekt, **2002**; (www.vci.de/Template_Downloads/tmp_0/ADLstudie.pdf).
4. S. Hahn, W. Dott, A. Eisentraeger, *J. Synthetic Lubrication* **2003**, 20, 123.
5. G. Maxam, S. Hahn, W. Dott, A. Eisenträger, *Ecotoxicology* **2002**, 11, 349.
6. EN 1484, 1997. Water analysis – Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC); German version DIN EN 1484, Deutsches Institut fuer Normung e.V., Beuth Verlag GmbH, Berlin.
7. DIN 38412 L37, Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L), Teil 37: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasser auf das Wachstum von Bakterien (*Photobacterium phosphoreum* – Zellvermehrungs-Hemmtest) L37, Deutsches Institut fuer Normung e.V., **1999**, Beuth Verlag GmbH, Berlin.
8. R.P.H. Schmitz, A. Eisenträger, W. Dott, *J. Microbiol. Meth.* **1998**, 31, 159.
9. ISO 11348–1, Water Quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 1: Method using freshly prepared bacteria, **1998**, International Standard.
10. ISO 11348–1, Water Quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 1: Method using freshly prepared bacteria, **1998**, International Standard.
11. ISO 8692, Water Quality – Frech water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*, **1989**, International Standard.
12. ISO 14443, Water quality – Guidelines for algal growth inhibition tests with poorly soluble materials, volatile compounds, metals and waste water, **1999**, International Standard.
13. E. Hegewald, *Algol. Stud.* **2000**, 96, 1.
14. ISO 6341, Water Quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test, **1996**, International Standard.
15. D.J. Finney, Probit Analysis. University Press **1964**, Cambridge, MA.
16. E. Weber, Grundriss der Biologischen Statistik. Gustav Fischer Verlag, **1980**, Stuttgart.
17. S. Loewe, H. Muischnek, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. **1926**, 114, 313.
18. C. I. Bliss, *Ann. Appl. Biol.* **1939**, 26, 585.
19. M. C. Berenbaum, *J. theor. Biol.* **1985**, 114, 413.

Correspondence: PD Dr.-Ing. Adolf Eisenträger, Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Universitätsklinikum Aachen, Medizinische Fakultät der RWTH Aachen, Pauwelsstr. 30, 52074 Aachen, Fax: +49-241-8082477, e-mail: adolf.eisentraeger@post.rwth-aachen.de

Eingangsdatum für endgültige Form: 23.7.04 [T 815]