Kühlschmierstoffe:
Analytisch-chemische Charakterisierung
und Untersuchungen zur mutagenen Wirkung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

dem Fachbereich Chemie der Universität Dortmund

vorgelegt von
Marcus Kleber
aus Dortmund

2000

1.Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr. H.M. Bolt
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. B. Lippert
Tag der mündlichen Prüfung:	06.03.2001

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1996 bis Mai 2000 im Institut für Arbeitsphysiologie an der Universität Dortmund durchgeführt und stand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. H. M. Bolt.

Herrn Prof. Dr. Dr. H. M. Bolt danke ich herzlich für die Bereitstellung des Themas, für die Betreuung der Arbeit und für die großzügige Unterstützung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit.

Herrn Prof. Dr. B. Lippert möchte ich für die freundliche Übernahme des Korreferates danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. Weinert sowie Herrn Dr. K. Schulte und Herrn Dr. D. Thamke vom Institut für Spanende Fertigung an der Universität Dortmund danke ich für die hervorragende Zusammenarbeit, für die Einblicke in bisher unbekannte Techniken der industriellen Zerspanung und für die Kontakte zu den Industriebetrieben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. M. Blaszkewicz für die ständige und intensive Diskussionsbereitschaft und die sehr wertvolle Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich besonders Frau S. Lucas und Frau I. Ester für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Mutagenitätsteste und der hervorragenden Zusammenarbeit danken.

Herrn Dr. W. Föllmann danke ich für die ständige Diskussionsbereitschaft und die Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ferne möchte ich allen Mitarbeitern der Abteilung „ZE Analytische Chemie“ für die Hilfe bei allen technischen Problemen und der sehr guten Zusammenarbeit danken.

Verzeichnis der Abkürzungen **IV**

Vorwort **VI**

1 Einleitung und Aufgabenstellung **1**

2 Kühlschmierstoffe (KSS) **5**

2.1 Aufgaben von KSS 5
2.2 Einteilung und Verbrauch von KSS 7
2.3 Zusammensetzung von KSS 9
2.3.1 Basisstoffe 10
2.3.2 Zusätze 11
2.3.3 Begleitstoffe 15
2.3.4 Reaktionsprodukte 15
2.3.5 Fremdstoffe 16
2.3.6 Mikroorganismen 16
2.4 Toxikologisch-arbeitsmedizinische Aspekte beim Umgang mit KSS 17
2.4.1 Expositionspfade von KSS 17
2.4.2 Hauterkrankungen 18
2.4.3 Atemwegserkrankungen 19
2.4.4 Kanzerogene und mutagene Wirkung 21
2.4.5 Einfluss von Mikroorganismen 22
2.5 Grenzwertregelungen 23
2.5.1 Einführung 23
2.5.2 Grenzwertregelungen für KSS 24

3 Methoden zur Erfassung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe beim Umgang mit KSS **26**

3.1 Geräte, Chemikalien und Lösungen 26
3.1.1 Geräte 26
3.1.2 Labor- und Verbrauchsmaterialien 27
3.1.3 Chemikalien 27
3.1.4 Lösungen und Medien 29

3.2	Konzept zur Erfassung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe beim Umgang mit KSS	31
3.3	Beschreibung der verwendeten analytisch-chemischen Messprinzipien	33
3.3.1	UV/VIS-Spektralphotometrie	33
3.3.2	Infrarot-Spektroskopie (IR-Spektroskopie)	34
3.3.3	Chromatographische Trennverfahren	35
3.3.4	Analytische Qualitätskriterien	36
3.4	Bestimmung des Nitrit-Gehaltes in KSS-Emulsionen	38
3.5	Bestimmung von Aldehyden	39
3.5.1	Einführung	39
3.5.2	Bestimmung des „freien“ Formaldehyd-Gehaltes in KSS-Emulsionen	40
3.5.3	Bestimmung von Formaldehyd in KSS-Emulsionen	42
3.5.4	Bestimmung von Aldehyden in der Luft	45
3.6	Bestimmung von leichtflüchtigen organischen Bestandteilen in der Luft	48
3.7	Bestimmung von KSS-Aerosol und –Dampf	49
3.8	Screening-Methode für Aldehyde mit der FT-IR	54
3.9	Entwicklung von Modellen zum thermischen Einfluss auf KSS	56
3.10	Abschätzung des mutagenen Potenzials mit Hilfe des Ames-Testes	59
3.10.1	Grundlagen des Ames-Testes	59
3.10.2	Durchführung	61
3.10.3	Stammkontrollen	63
3.10.4	Stammerhaltung der Salmonellen für den Ames-Test	65
3.10.5	Adaptation des Testes für Schmierstoffe	66
3.10.5.1	Stand der Technik	66
3.10.5.2	Entwicklung einer Teststrategie	66
3.10.5.3	Validierung des Ames-Testes	68
4	**Mutagenes Potenzial von wassermischbaren KSS und Schmierstoffen für die MMS**	**72**
4.1	Einführung und Charakterisierung der verwendeten KSS	72
4.2	Wassermischbare KSS	74
4.2.1	Konzentrate	74
4.2.1.1	Einsatz als komplexe Mischung	74

4.2.1.2	Einzelsubstanzen	76
4.2.1.3	Ursachen der mutagenen Wirkung	81
4.2.2	Luftproben aus Konzentraten der wassermischbaren KSS	88
4.2.3	Extraktion der wässrigen Emulsionen	90
4.2.4	Luftproben von KSS-Emulsionen	92
4.3	Schmierstoffe für die MMS	92
4.3.1	Direkter Einsatz der Schmierstoffe	92
4.3.2	Luftproben aus Schmierstoffen für die MMS	94
4.4	Diskussion	96
5	**Untersuchungen zum thermischen Einfluss auf KSS**	**97**
5.1	Einführung	97
5.2	Vergleichende Untersuchungen	99
5.2.1	Wassermischbare KSS	99
5.2.1.1	IR-Spektroskopie	99
5.2.1.2	GC-MS	101
5.2.2	Schmierstoffe für die MMS	102
5.2.2.1	IR-Spektroskopie	102
5.2.2.2	GC-MS	103
5.2.2.3	Identifizierung eines Reaktionsproduktes	105
5.3	Bestimmung von Aldehyden als Reaktionsprodukte	108
5.4	Diskussion	109
6	**Felduntersuchungen und Messergebnisse von Emulsionen**	**110**
6.1	Felduntersuchung 1	110
6.2	Felduntersuchung 2	113
6.3	Felduntersuchung 3	116
6.4	Messergebnisse von Emulsionen	118
6.5	Diskussion	120
7	**Zusammenfassung**	**121**
8	**Literaturverzeichnis**	**125**

Verzeichnis der Abkürzungen:

a	Blindwertbeitrag
A	Absorption
Abb.	Abbildung
AAN	2-Aminoanthracen
AGS	Ausschuss für Gefahrstoffe
AUFS	Absorption Units Full Scale
BAT-Wert	Biologischer Arbeitsstofftoleranz-Wert
BIA	Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit
BRD	Bundesrepublik Deutschland
c	Konzentration
c_L	Nachweisgrenze
CI	chemische Ionisierung
d	Schichtdicke einer Probe bzw. Durchmesser
d_{ae}	aerodynamischer Durchmesser
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNPH	Dinitrophenylhydrazin
ε	molarer Absorptionskoeffizient
E	einatembarer Anteil
EDAO	5-Ethyl-3,7-dioxa-1-azabicyclo[3.3.0]octan
EI	Elektronenstoß-Ionisierung
EKA	Expositionsäquivalent für Krebs erzeugende Arbeitsstoffe
EP	extreme pressure
FDH	Formaldehyddehydrogenase
FT	Fourier-Transformation
GC	Gaschromatographie
GGP	Gesamtstaub-Gasprobennahme an der Person
Gl.	Gleichung
HHT	N,N´,N´´-Tris(β-hydroxy-ethyl)-hexahydro-1,3,5-triazin
HPLC	Hochleistungs-Flüssigchromatographie
IR	Infrarot
KBE	Kolonie bildende Einheit
KSS	Kühlschmierstoff
λ	Wellenlänge
m	Steigung der Kalibrierfunktion
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MBTH	3-Methyl-benzthiazolon-hydrazon
MEA	Monoethanolamin
MMS	Minimalmengenschmierung
MS	Massenspektrometrie
n	Anzahl der Messungen
NAD	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
NDELA	N-Nitrosodiethanolamin
NOEL	no observed effect level
OECD	Organisation for Economic and Development

PAK	polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
PKW	Personenkraftwagen
R^2	Regressionskoeffizient zum Quadrat
σ	absolute Standardabweichung
σ_b	absolute Standardabweichung des Blindwertbeitrags
σ_u	absolute Standardabweichung des Untergrundsignals
Tab.	Tabelle
TEA	Triethanolamin
Tox	Toxizität
TRGS	Technische Regeln für Gefahrstoffe
TRK	Technische Richtkonzentration
υ	Wellenzahl
UDP-	Uridindiphospho-
UV	ultraviolett
verm. HR	verminderte Hintergrundrate
VIS	visuell
x_i	Zahlenwert einer Probe
$\bar{x}$	Mittelwert
y	Messsignal
y_u	Messsignal des Untergrundes
ZNS	zentrales Nervensystem

Vorwort

Diese Arbeit wurde im Rahmen des Verbundprojektes „Trockenzerspanung mit definierter Schneide - Bohren mit Wendeschneidplatten“ vom BMBF gefördert (Förderkennzeichen 02 PV 20250). Das Projekt wurde initiiert von Prof. Dr. Dr. Weinert vom Institut für Spanende Fertigung der Universität Dortmund. Im Verbund sollten die Teilprojekte „Werkzeug orientierte Untersuchungen“, „Schneidstoff orientierte Untersuchungen“, „Analysen beim Maschinenhersteller“, „Zerspanversuche“ und „Toxikologische Untersuchungen“ interdisziplinär bearbeitet werden. Im Vordergrund standen Untersuchungen zum umweltverträglichen Bohren mit Wendeschneidplatten-Bohrern in Stahl, mit den Aspekten der Werkzeug- und Werkzeugmaschinengestaltung beim Einsatz geringster Kühlschmierstoffmengen, der sog. Minimalmengenschmierung. Dabei waren Belastungen des Arbeitsumfeldes durch Schmierstoffe und andere Prozessemissionen als Risikofaktoren für den Menschen besonders zu berücksichtigen. Die Arbeitsgruppe am Institut für Arbeits-physiologie an der Universität Dortmund unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Bolt hatte die Aufgabe, eine toxikologische Beurteilung der neuen Technologie im Vergleich zur konventionellen Schmierung zu erstellen. Zur Bearbeitung des Verbundprojektes haben sich folgende Partner zusammengeschlossen:

- Komet Präzisionswerkzeuge Robert Breuning GmbH (Ansprechpartner: Herr Dr. Fritsch)
- Kennametal Hertel AG Werkzeuge und Hartstoffe (Ansprechpartner: Herr Just)
- Hüller Hille GmbH, Werk Diedesheim (Ansprechpartner: Herr Dr. Pause)
- Institut für Spanende Fertigung, Universität Dortmund
  (Ansprechpartner: Herr Prof. Dr.Dr. Weinert, Herr Dr. Schulte)
- Institut für Arbeitsphysiologie an der Universität Dortmund
  (Ansprechpartner: Herr Prof. Dr.Dr. Bolt, Herr Dr. Blaszkewicz, Herr Dr. Föllmann)

Im Projekt wurden Ziele und Vorgehensweisen durch regelmäßige Berichterstattungen unter den Projektpartnern gelenkt und abgestimmt. Die Felduntersuchungen konnten am Institut für Spanende Fertigung und den Firmen Volkswagen (Baunatal; Ansprechpartner: Herr Dr. Nöhring) und Ronal (Forst; Ansprechpartner: Herr Brecht) mit Messungen am Arbeitsplatz unter Einsatz der konventionellen Schmierung und der neuen Technologie durchgeführt werden.
Die Ergebnisse des Projektes wurden als VDI-Bericht 1532 (2000) veröffentlicht.

1 Einleitung und Aufgabenstellung

In der Metall verarbeitenden Industrie wurden die Bearbeitungsprozesse durch die Verbesserung von Maschinen, Werkzeugen und Materialien sowie durch steigenden Einsatz und Weiterentwicklung von Kühlschmierstoffen (KSS) als Fertigungshilfsstoffe stetig optimiert, um die Prozesssicherheit und die Produktivität zu erhöhen. Die KSS haben die Aufgabe, die Reibung zwischen dem zu bearbeitenden Werkstück und dem dafür nötigen Werkzeug durch Schmierung zu reduzieren und die enstehende Wärme sowie den Metallabrieb bzw. die Späne zu entfernen. Dadurch wird die Lebensdauer (Standzeit) der Werkzeuge verlängert und höhere Bearbeitungsgeschwindigkeiten ermöglicht. Dies trägt zu einer Verringerung der Produktionskosten bei.

Bei den KSS handelt es sich um wassermischbare oder nicht-wassermischbare Zubereitungen. Als Grundsubstrate für die KSS werden Mineral- und Pflanzenöle verwendet. Aufgrund der vielfältigen Aufgaben der KSS und den immer spezieller werdenden Anforderungsprofilen wurde eine große Anzahl von Zusatzstoffen, sog. Additive, entwickelt und den KSS zugesetzt. Dabei stand die Auswirkung auf den Bearbeitungsprozess im Vordergrund, die Gefährdung des Menschen durch die z.T. gesundheitsgefährdenden Stoffe bzw. beim Gebrauch entstehenden Produkte wurde kaum betrachtet. Erst durch die verstärkte Zunahme von Hauterkrankungen, Beeinträchtigungen der Atemwege durch die entstehenden Ölnebel und Austragungen aus der Maschine in die Luft sowie Krebserkrankungen bei Beschäftigten, die mit KSS regelmäßig und intensiv in Kontakt kamen, wurden Maßnahmen und Regelungen eingeleitet, die die Zusammensetzung der KSS auf ihre Gesundheitsgefährdung überprüfen.

Die toxikologische Bewertung der KSS und die Ermittlung der Belastungssituation am Arbeitsplatz ist von der Zusammensetzung des KSS abhängig. Diese kann entsprechend der Anforderung und des Bearbeitungsprozesses sehr verschieden sein und durch das Maschinenumfeld stark beeinträchtigt werden. Das dem KSS beigefügte Datenblatt enthält in der Regel nur wenig Informationen über die genaue Zusammensetzung und die einzelnen Inhaltsstoffe, da diese laut Gefahrstoffverordnung in Zubereitungen nicht deklariert werden müssen. So ist dem Anwender die Zusammensetzung unzureichend bekannt und ein wirkungsvoller Arbeitsschutz erschwert.

Aus ökologischen und ökonomischen Betrachtungen wird nach neuen Strategien der Schmierung bei industriellen Bearbeitungsprozessen gesucht. Triebfeder sind die Kosten, die mit dem Einsatz, der Pflege und der Entsorgung der KSS verbunden sind. Ein Großteil dieser

KSS-Kosten entfallen auf die Entsorgung von gebrauchten Emulsionen [Pfeiffer 1993], wie in Abb. 1.1 dargestellt.

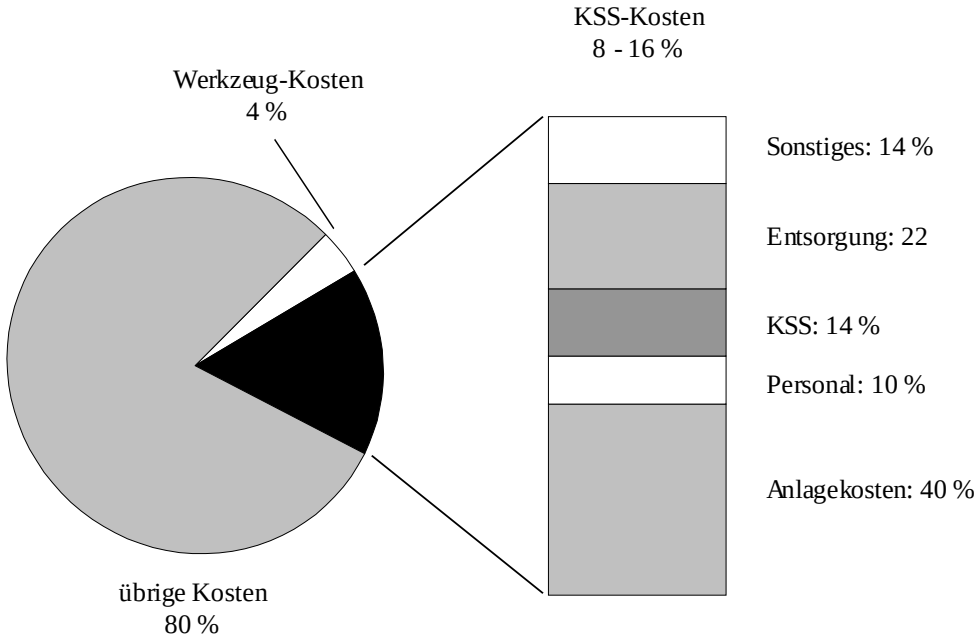


Abb. 1.1: KSS-Kosten in der Serienfertigung eines Automobilherstellers [Schmidt 2000]

Die Erkenntnis, dass die Werkstück bezogenen Aufwendungen für den KSS (ca. 7–17 % bezogen auf das Werkstück [Weinert 1995]) um ein Mehrfaches höher sein können als die Werkzeugkosten und einen immer größeren Anteil an den Gesamtherstellungskosten einnehmen, hat bei vielen Anwendern zu einer neuen Bewertung des KSS-Einsatzes geführt. Eine Konsequenz ist die Verringerung der durch den KSS-Einsatz verursachten Kosten-Belastungen. Eine neue Technologie ermöglicht es, viele Prozesse in der spanenden Fertigung ohne den Einsatz von KSS durchzuführen. Diese sog. Trockenbearbeitung ist für ein großes Spektrum an Werkstoffen (Stahl, Aluminium, Grauguss) bei den spanenden Fertigungsverfahren Drehen und Fräsen möglich und entspricht der industriellen Praxis. Bohrverfahren besitzen einen Anteil von ca. 60 % an den Zerspanaufgaben und sind für eine Trockenbearbeitung aus wirtschaftlichen Erwägungen und unter Umweltaspekten besonders interessant. Diese Fertigungsverfahren sind aber im Hinblick auf eine Trockenbearbeitung technologisch besonders kritisch, da die Wirkstelle im Inneren des Bauteils liegt, und der KSS als weitere Funktion den Spantransport gewährleisten muss. Zudem erzeugen Bohrverfahren

wegen der vergleichsweise großen Kontaktfläche eine große Wärmemenge, die ebenfalls aus der Bohrung abgeführt werden muss. In vielen Fällen, insbesondere beim Bohren von schwer zerspanbaren Werkstoffen, ist die Trockenbearbeitung bislang nicht möglich [Schulte 2000].
Ein Kompromiss zwischen dem KSS-Einsatz und der Trockenbearbeitung, der sich besonders für Bohrverfahren anbietet, ist die Minimalmengenschmierung (MMS). Hierbei wird ein spezieller Schmierstoff eingesetzt, der in der Regel aus den Verbindungsklassen Fettalkohol oder Fettsäureester besteht. Dieser wird mit Druckluft u.a. durch die im Bohrwerkzeug liegenden Kühlkanäle als Aerosol zur Wirkstelle geführt. Bei der MMS werden zwischen 20 und 50 ml Schmierstoff pro Stunde als Verlustschmierung verbraucht [Klocke 1997], im Gegensatz zu den konventionellen KSS, die beim Bohren mit bis zu 20 l/min am Werkzeug ankommen und im Kreislauf geführt werden. Gemessen daran, dass bei einer Transferstraße mit einem KSS-Gesamtvolumen von 60 m^3 täglich bis zu 6 m^3 ausgetragen werden können [Klocke 1997], stellt das bei der MMS-Technik verbrauchte Volumen eine beachtliche Mengenreduzierung dar. Ein wesentliches Merkmal der MMS ist, dass bei korrektem Einsatz Werkzeuge, Werkstücke und Späne trocken bleiben. Diese bedürfen daher keiner weiteren Aufbereitung oder Nachbehandlung und die Späne können direkt dem metallurgischen Recycling zugeführt werden. Nach dem derzeitigen Stand der Technik sind zur Realisierung einer prozesssicheren Einführung der MMS noch weitere Optimierungen nötig.
Aus toxikologischer Sicht ist die Verwendung der MMS bislang nur unzureichend beschrieben. Ein Risiko dieser Technik ist die Erzeugung eines Aerosols, das in das Maschinenumfeld gelangen kann. Den verwendeten Dosiergeräten ist es gemeinsam, dass der Schmierstoff in feine Tröpfchen zerlegt wird und als Aerosol an die Wirkstelle gelangt. Während man bei der konventionellen Kühlschmierflutung bemüht ist mit neuen Technologien und emissionsarmen KSS die Aerosolbildung zu reduzieren, erzeugt man bei der MMS bewusst Aerosole, die an die Arbeitsraumluft abgegeben werden. Es muss kritisch überprüft werden, ob der in den Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS 900) festgelegte Grenzwert von 10 mg/m^3 für die Summe aus KSS-Aerosol und -Dampf bei der MMS eingehalten werden kann. Weiterhin kommt es durch den verminderten Schmierstoff-Einsatz und durch die geringere Wärmekapazität der Druckluft im Vergleich zum Wasser einer Emulsion zur Erhöhung der Prozesstemperaturen an der Schneide des Werkzeuges. Somit ist die Entstehung von Reaktionsprodukten möglich, die von den Arbeitern im Maschinenumfeld aufgenommen werden können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die toxikologischen Aspekte sowohl bei der Bearbeitung mit wassermischbaren KSS als auch bei der Bearbeitung mit der MMS-Technik vergleichend zu untersuchen und die toxikologische Datenlage auf diesem Gebiet zu verbessern, um so Aussagen über das Gefahrenpotenzial der neu einzuführenden Technik im Vergleich zu der bisherigen zu treffen.

Für die vergleichenden Untersuchungen mussten folgende Teilbereiche bearbeitet werden:

- Entwicklung von Anlagen zur Simulation des thermischen Einflusses auf Schmierstoffe
- Entwicklung und Etablierung von analytisch-chemischen Methoden zur Bestimmung von Komponenten und Reaktionsprodukten in den Schmierstoffen und in der Luft
- Etablierung eines biologischen Testsystems zur Bestimmung des mutagenen Potenzials der Schmierstoff-Proben
- Messung der Konzentration von Schmierstoff-Aerosol und –Dampf sowie Reaktionsprodukten an Arbeitspätzen in der Metall verarbeitenden Industrie (Felduntersuchungen)

Die Untersuchungen wurden durch die Projektpartner begleitet, bei denen Versuche zur technologischen Machbarkeit der MMS auf den verschiedenen Ebenen durchgeführt wurden. So standen Schmierstoffe aus den Anwendungen in diesen Bereichen zur Verfügung.

2 Kühlschmierstoffe (KSS)

2.1 Aufgaben von KSS

KSS haben die Aufgabe, die Reibung an den Berührungsstellen zwischen Werkstück und Werkzeug sowie zwischen Werkzeug und entstandenem Span bei Zerspanvorgängen zu mindern und die Prozesswärme abzuführen. Die Zufuhr des KSS kann von außen oder innen durch das Werkzeug erfolgen. Eine weitere wesentliche Aufgabe ist der Abtransport der bei der Bearbeitung entstehenden Späne sowie des Abriebs vom Werkzeug. Von besonderer Bedeutung für die Kühlung und Schmierung ist der Ort der eigentlichen Spanbildung, die sog. Spanfläche. Hier treten je nach Bearbeitungsverfahren unterschiedlich hohe Temperaturen auf, so z.B. beim Bohren in Vergütungsstahl bis ca. 450 °C [Schulte 2000]. In diesem Bereich sind die Reibpartner durch Grenzschichten mit molekularen Abmessungen (Grenzschmierung) voneinander getrennt. Die durch die Spanabhebung freigelegte Metallfläche besitzt eine starke chemische Aktivität [Mang 1983], da hier die Oberfläche noch nicht passiviert ist. Hier kann es leicht zu Reaktionen mit dem Luftsauerstoff oder KSS-Inhaltsstoffen kommen. Mit speziell beigefügten Komponenten, den polaren Zusätzen oder Hochdruck-Additiven, ist eine Reaktion unter Bildung von Grenzschmierschichten vorgesehen, die die Reibung zwischen der freigelegten Metalloberfläche und dem Werkzeug verringert.

Insgesamt wirken die Kühlung und die Schmierung als Faktoren, durch die der Werkzeugverschleiß verringert, die Produktpräzision erhöht und hohe Prozessgeschwindigkeiten prozesssicher durchgeführt werden können. Diese Aufgaben werden bei der konventionellen Schmierung durch wassermischbare und nicht-wassermischbare KSS abgedeckt. In Abb. 2.1.1 ist der Einfluss des KSS auf die am Zerspanprozess beteiligten Komponenten ausführlich dargestellt.

Werkstück	Werkzeug
Einhaltung von Maß- und Formgenauigkeit durch Kühl- und Schmiereigenschaften Verhinderung thermischer Oberflächenschäden Verbesserung der Oberflächengüte durch Schmiereigenschaften Reinigung der Werkstücke von Spänen Korrosionsschutz	Erhöhung der Standzeit durch Kühlung und Schmierung der Schneide Reduzierung der Adhäsionsneigung geringere Diffusionsneigung Beeinflussung der Spanbildung/Spanformung Spänetransport weg von der Entstehungsstelle und somit auch vom Werkzeug
Maschine	**Mensch und Umwelt**
Spänetransport aus der Werkzeugmaschine und somit Beseitigung von Wärme- und Störquellen Temperaturreduzierung und Konstanthaltung durch direkte Kühlung Reinigen und Freispülen von Spannvorrichtungen und Werkstückauflagen Reinigen und Freispülen von Mess- und Steuereinrichtungen	Luftverunreinigung durch Nebel-, Dampf- und Rauchbildung Verunreinigung von Erdreich durch Leckagen beim Gebrauch und Transport Wasserverunreinigung bei unsachgemäßem Einsatz oder unsachgemäßer Entsorgung Gesundheitsrisiko Geruchsbelästigung

Abb. 2.1.1: Einfluss des KSS auf die am Zerspanprozess beteiligten Komponenten [Zielasko 1993]

Bei der MMS werden die beschriebenen Aufgaben von einem Schmierstoff-Aerosol bewältigt, das mit Hilfe von Druckluft erzeugt und von außen oder durch das Werkzeug zur Wirkstelle transportiert wird. Das feinverteilte Schmierstoff-Aerosol übernimmt die Schmierung. Die Kühlung des Prozesses erfolgt mit Hilfe der Druckluft. Ein Großteil der Wärme wird über die Späne abgeführt, die durch die Druckluft aus dem System heraustransportiert werden. Somit kommt der Druckluft auch eine Transportfunktion zu. Im Vergleich zur konventionellen Schmierung sind die Prozesstemperaturen bei der MMS beim Bohren von Vergütungsstahl zu ca. 200 °C höher [Schulte 2000].

2.2 Einteilung und Verbrauch von KSS

Die in der Vergangenheit häufig benutzten Synonyme für KSS, wie Bohrmilch, Schleifwasser, Honöl, Schneidöl oder Bohröl, werden oft nicht klar definiert und können leicht verwechselt werden. Daher ist eine Begriffsvereinheitlichung der KSS nach der Verwendung vorgenommen worden [DIN 51 385]. Diese ist in Abb. 2.2.1 und Tab. 2.2.1 dargestellt.

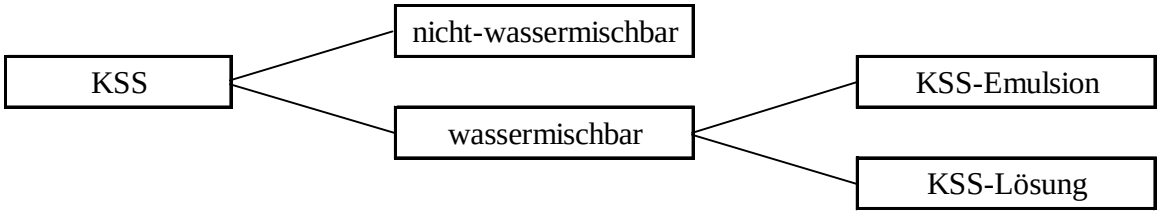


Abb. 2.2.1: Einteilung der KSS [DIN 51 385]

Tab. 2.2.1: Begriffsdefinitionen der KSS

Nr.	Benennung	Definition
0	KSS	Stoff, der beim Trennen und Umformen von Werkstoffen zum Kühlen und Schmieren eingesetzt wird
1	nicht-wassermischbarer KSS	KSS, der für die Anwendung nicht mit Wasser gemischt wird
2	wassermischbarer KSS:	KSS, der für die Anwendung mit Wasser gemischt wird
2.1	emulgierbarer KSS	wassermischbarer KSS, der die diskontinuierliche Phase einer Emulsion (Wasser-in-Öl) bilden kann
2.2	wasserlöslicher KSS	KSS, der mit Wasser gemischt Lösungen ergibt
3	wassergemischter KSS	mit Wasser gemischter KSS (wassermischbarer KSS im Anwendungszustand)
3.1	KSS-Emulsion	mit Wasser gemischter emulgierbarer KSS
3.2	KSS-Lösung	mit Wasser gemischter wasserlöslicher KSS

Der Verbrauch an Schmiermitteln und der Anteil der KSS daran ist in Abb. 2.2.2 dargestellt. Das Verhältnis von wassermischbaren und nicht-wassermischbaren KSS liegt bei ca. 40:60 [Hübner 1995]. Die nicht-wassermischbaren KSS werden im Anlieferungszustand direkt eingesetzt, die wassermischbaren KSS dagegen unter kräftigem Rühren mit Wasser gemischt

und als Emulsion eingesetzt. Die für den Bearbeitungszustand nötigen Konzentrationen liegen zwischen 2 und 12 %. Bei einer angenommenen Durchschnittskonzentration von 3 % ergibt sich ein Verbrauch von 947.200 t (ca. 900.000 m^3) Emulsion.

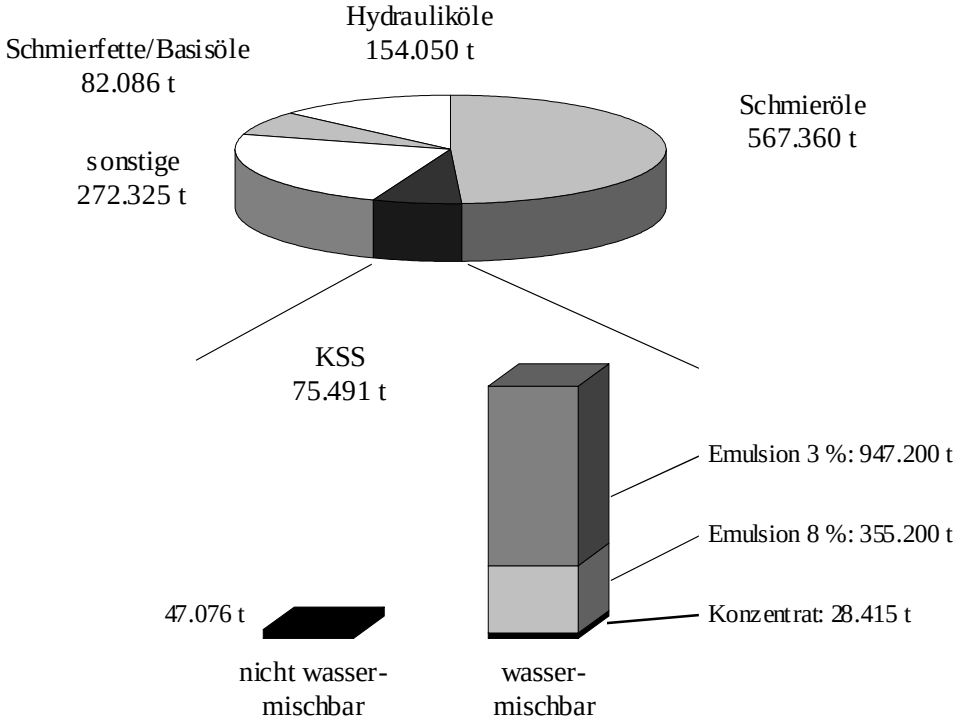


Abb. 2.2.2: Schmierstoffverbrauch in der BRD pro Jahr [Schmidt 2000]

Die Lebensdauer der KSS ist durch die Alterung der Komponenten, der Einschleppung von festen und flüssigen Fremdstoffen sowie durch mikrobielle Vorgänge begrenzt [Schulten 1994]. Die Pflege der KSS durch Reinigungs-, Filtrations- und Sedimentationsschritte und der Zusatz von neuem KSS sind daher für eine Verlängerung des Einsatzes nötig, können eine Entsorgung jedoch nur verzögern. Der Aufwand der Entsorgung ist groß und übersteigt meist die Anschaffungskosten des KSS (siehe Kap. 1). Die KSS sind Wasser gefährdende Stoffe [Mang 1980] und dürfen nicht unbehandelt ins Gewässer gelangen. Bei der Entsorgung werden Öl- und Wasserphase getrennt. Die abgetrennten Öl-Bestandteile werden verbrannt oder deponiert [Tönshoff 1992]. Die Wasserphase wird so aufgearbeitet, dass eine Einleitung in die Kanalisation erfolgen kann.

Die Schmierstoffe der MMS-Technik werden kurz vor Gebrauch in das Vorratsgefäß des Aerosol-Generators eingefüllt und sind je nach Maschineneinsatz innerhalb weniger Stunden bzw. Tagen verbraucht. Eine Verunreinigung des Öles ist hier kaum gegeben. Da es sich bei

der MMS um eine Verlustschmierung handelt und der Schmierstoff in Form von Dampf und Aerosol in den Arbeitsraum abgegeben wird, entfällt die Entsorgung des Schmierstoffes. Filter einer vorhandenen Absauganlage müssen dagegen speziell entsorgt werden.

2.3 Zusammensetzung von KSS

Die zu Beginn der Industrialisierung üblichen Metallbearbeitungsprozesse wurden mit einfachen Fettölen als KSS durchgeführt [Möller 1993]. Dabei fanden mit pflanzlichen Ölen (Rüb-, Lein-, Tran-, Senfsaat- oder Palmöl) versetzte Seifenlösungen Verwendung sowie wasserlösliche Öle mit Zusatz von Ammoniak- und Kaliseife oder auch Mineralöl-Graphit-Pasten. Steigende Bearbeitungsgeschwindigkeiten mit höheren Vorschüben und Kräften, härtere Werkstoffe und wachsende Anforderungen an die Oberflächengüte haben zu der Entwicklung der heutigen KSS auf Mineralölbasis mit Additiven geführt, welche bis zu 25 Einzelkomponenten enthalten [Baumann 1996]. Im Allgemeinen werden bei Verfahren mit hohen Schneidenbelastungen bei niedrigen Schnittgeschwindigkeiten gute Schmiereigenschaften gefordert und es kommen nicht-wassermischbare KSS zum Einsatz. Bei Verfahren mit hohen Schnittgeschwindigkeiten werden wassermischbare KSS wegen der besseren Kühlwirkung bevorzugt eingesetzt. Die MMS findet verbreitet Anwendung, hat jedoch mengenmäßig weiterhin einen niedrigen Stellenwert. Durch die starke Förderung dieser Technik und die guten Bearbeitungsergebnisse wird sich der Anteil dieser Schmierstoffe in den nächsten Jahren deutlich erhöhen.
Zur besseren Orientierung und Vergleichbarkeit kann die Zusammensetzung nach Inhaltsstoffen gegliedert werden, wie in Abb. 2.3.1 dargestellt.

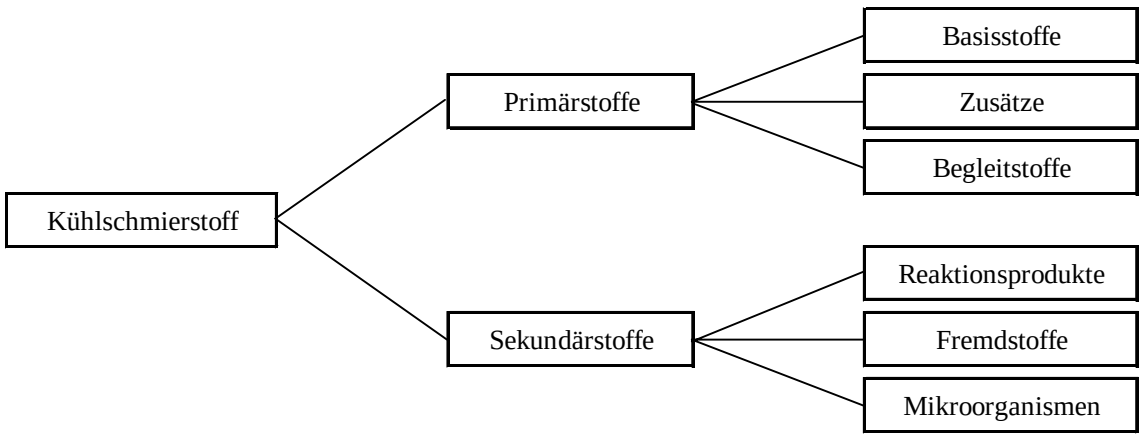


Abb. 2.3.1: Zusammensetzung der KSS

Die Inhaltsstoffe der KSS können in Primär- und Sekundärstoffe unterteilt werden. Primärstoffe sind Basisstoffe (Basisöle), Zusätze (Additive) und Begleitsstoffe (unbeabsichtigte Inhaltsstoffe, z.B. durch Verunreinigung der Zusätze) und entsprechen dem KSS im Anlieferungszustand. Sekundärstoffe enstehen während des Gebrauchs und sind Reaktionsprodukte (z.B. durch thermische Zersetzung), Fremdstoffe (z.B. eingeschleppte Hydrauliköle) und Abbauprodukte von Mikroorganismen. Da in dieser Arbeit wassermischbare KSS und Schmierstoffe der MMS untersucht wurden, wird auf diese im Folgenden näher eingegangen.

2.3.1 Basisstoffe

Wassermischbare KSS

Bei den wassermischbaren KSS ist das zum Konzentrat zugegebene Wasser ein Basisstoff, an den besondere Forderungen bezüglich der Qualität zu stellen sind. Die zulässigen Wasserdaten umfassen das Aussehen, die Gesamt- und Carbonathärte, den Chlorid-, Phosphat-, Sulfat- und Nitratgehalt, die Koloniezahl, den pH-Wert und die Oxidierbarkeit. Eine detaillierte Auflistung findet sich bei [Klamann 1982].

Die Konzentrate der wassermischbaren KSS enthalten als Basisstoff Mineralölprodukte (paraffinische, naphthenische und aromatische), denen aufgrund ihrer relativ niedrigen Produktionskosten und der guten Schmiereigenschaften eine große Bedeutung zukommt. Die Mineralölprodukte werden aus Erdölraffinationsrückständen durch Vakuumdestillation gewonnen und in verschiedene Siedelagen getrennt. Sie unterscheiden sich in Viskosität, Zusammensetzung, Schwefelgehalt und den Lösungseigenschaften. Es ist sinnvoll diese Vielstoffgemische aus verschiedenen Kohlenwasserstoffen anhand des paraffinischen, naphthenischen und aromatischen Anteils zu charakterisieren. Die langkettigen Paraffine und verzweigten Isoparaffine sind die mengenmäßig wichtigste Gruppe, da deren Eigenschaften wie das Viskositäts-Temperatur-Verhalten, die Fließeigenschaften, die Stabilität, die Grenzflächen- und Lösungseigenschaften, und die Wärmeaufnahme durch Anregung der Molekülschwingung für die Schmierung von Bedeutung sind. Auch das Qualitätsniveau bei der Herstellung ist wichtig. So steigt die Qualität von den Destillaten, Raffinaten, Solvent- und Hydrierraffinaten zu den Hydrocracköle an. Tendenziell werden Öle mit höherem Qualitätsniveau aufgrund längerer Standzeiten und geringerer Störungen im Bearbeitungsablauf bevorzugt verwendet. Toxikologisch relevant sind aufgrund der

kanzerogenen Wirkung die aromatischen Kohlenwasserstoffe. Daher sind Öle mit möglichst geringem Aromatengehalt (meist <10 %) einzusetzen. Der Mineralölanteil in KSS-Konzentraten mit niedrigem Mineralölgehalt liegt bei etwa 30 % und kann für bestimmte Anwendungsfälle mehr als 60 % betragen [Baumann 1996].

Schmierstoffe für die MMS

Da es sich bei der MMS um eine reine Verlustschmierung handelt und der Schmierstoff anteilig in Form von Dampf und Aerosol in den Arbeitsraum abgegeben wird, sollten Basisstoffe verwendet werden, die toxikologisch weitgehend unbedenklich sind. Hier werden bislang Esteröle und Fettalkohole mit einem geringen Anteil an Zusätzen eingesetzt [Mang 1998].

Natürliche Öle haben den Nachteil, dass sie oxidativ meist instabil sind und bei Verfahren mit hoher Wärmeentwicklung zu Verharzungen auf Bauteilen und in der Maschine neigen. Hier sollten daher Esteröle und Fettalkohole verwendet werden.

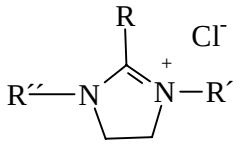
Gegenüber Esterölen haben Fettalkohole bei gleicher Viskosität einen niedrigeren Flammpunkt. Sie verdampfen leicht, was zu einer höheren Kühlwirkung führt. Dagegen ist die Schmierwirkung der Fettalkohole geringer als die der Esteröle. Daher werden Fettalkohole bei Zerspanungsaufgaben eingesetzt, bei denen die Kühl- gegenüber der Schmierwirkung im Vordergrund steht. Dagegen finden Esteröle bei Zerspanungsverfahren Anwendung, bei denen die Schmierwirkung wichtig ist.

2.3.2 Zusätze

Emulgatoren

Emulgatoren, auch grenzflächenaktive Substanzen genannt, sind für die Stabilität einer KSS-Emulsion verantwortlich. Die Emulgatormoleküle bestehen aus einem hydrophilen und lipophilen Teil. Sie lagern sich mit dem lipophilen Ende am Öltröpfchen an, der hydrophile Teil ragt in die wässrige Phase. So wird die Oberflächenspannung der im Wasser schwebenden Öltröpfchen verringert. Je größer der Emulgatoranteil ist und je wirkungsvoller die verwendeten Emulgatoren sind, desto kleiner sind die im Wasser schwebenden Tröpfchen, d.h. um so stabiler und feindisperser sind die Emulsionen. Der Anteil von Emulgatoren im KSS liegt bei etwa 15-20 % [Baumann 1996]. In Tab. 2.3.1 wird ein Überblick über die verwendeten Emulgatoren gegeben [Famulok 1995 und Baumann 1996].

Tab. 2.3.1: Auswahl von Emulgatoren für wassermischbare KSS

Emulgatortyp	Formelbeispiel
a) Anion aktive Emulgatoren:	
-Na- und K-Seifen	$R\text{-}COO^- Metall^+$
	(von z.B. Öl-, Stearin-, Naphthensäure)
-Sulfonate	$R\text{-}SO_3^- Metall^+$
-sulfatierte Fette	(von Rizinusöl, Rüböl, Spermöl)
-Salze der Phosphorsäureester	$(RO)_2PO_2^- Metall^+$
-Salze der Amidocarbonsäure	$R\text{-}CO\text{-}NH\text{-}R´\text{-}COO^- Metall^+$
b) Kation aktive Emulgatoren:	
-Salze von Fettaminen	$R\text{-}NH_3^+ CH_3COO^-$
-Imidazoliniumsalze	
c) nichtionogene Emulgatoren:	
-Polyglykolether	$R\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}H$
	(mit R von Alkoholen/Phenolen, Fettsäuren, Fettaminen und Fettamiden)

Stabilisatoren und Lösungsvermittler

Dies sind Zusätze, die zu einer dauerhaften Stabilisierung des KSS-Konzentrates und zur Verbesserung der Öllöslichkeit von KSS-Komponenten beitragen. Zu diesem Zweck werden meist Alkohole und Glykole eingesetzt [BIA 1996].

Antischaummittel

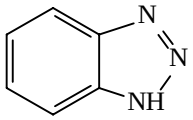
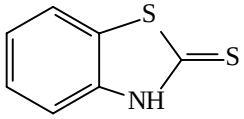
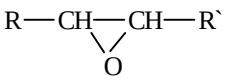
Schaumbildungsinhibitoren sind Zusätze, die die Entstehung stabilen Schaums verhindern sollen. Es werden Siliconpolymere oder Alkylphosphate verwendet. Sie bewirken die Herabsetzung der Oberflächenspannung der Ölfilme, die eine Luftblase umhüllen [BIA 1996].

Korrosionsinhibitoren

Korrosionsinhibitoren erfüllen die zu den Hauptaufgaben wassergemischter KSS gehörende Funktion des Korrosionsschutzes. Die Wirkmechanismen der verschiedenen verwendeten

Substanzen sind sehr unterschiedlich. Die meisten Zusätze bilden durch Adsorption auf der Metalloberfläche wirksame Schutzbarrieren. In Tab. 2.3.2 ist eine Auswahl von Korrosionsinhibitoren wiedergegeben, die in KSS Verwendung finden [Famulok 1995].

Tab. 2.3.2: Auswahl von Korrosionsinhibitoren für KSS

Stoffbezeichnung	Formelbeispiel	Grund des Einsatzes
Basische Metallsulfonate	$R\text{-}SO_3^-\ Metall^+$	Säureneutralisierend und emulgierend
Natriumnitrit (*)	$NaNO_2$	Oxidationsinhibitor
Benzotriazol		Metall-Desaktivator
Mercaptobenzothiazol		Inhibitor bei Kupfer-Bearbeitung
Primäre und tertiäre Amine (*)	$H_2N\text{-}(CH_2)_2\text{-}OH$ (MEA) $N(\text{-}(CH_2)_2\text{-}OH)_3$ (TEA)	Säureneutralisierend und Anhebung der Alkalität
Epoxidierte Fettsäureester		Säureneutralisierend, emulgierend
Benzoesäurederivate	R-Phenylen-COOR´	Passivierung der Metalloberfläche
Langkettige Carbon- und Dicarbonsäuren und –ester	R-COOH, R-COO-R´, HOOC-R-COOH	Passivierung der Metall-oberfläche, emulgierend
Carbonsäurealkanolamide	$R\text{-}CO\text{-}NH\text{-}(CH_2)_n\text{-}OH$	Passivierung der Metall-oberfläche, emulgierend
Borsäurealkanolamine	$B(O\text{-}CH_2\text{-}CH_2NR_2)_3$	Rostinhibitor
Borsäure	$B(OR)_3$	Rostinhibitor

(*) sekundäre Amine und Nitrit sind heute als KSS-Inhaltsstoffe verboten

Polare Wirkstoffe

Polare Wirkstoffe werden den KSS zugegeben, um die Grenzschmierung zu optimieren, d.h. den Bereich der direkten Kontaktstelle zwischen Werkstück und Werkzeug. Die

zugrundeliegenden Moleküle besitzen eine unpolare Kohlenstoffkette mit einer polaren funktionellen Gruppe, die an dem Werkstückmetall- bzw. den Metalloxidflächen unter Bildung von Metallseifen chemisorbieren. Auch eine pH-Wert-Erhöhung bewirkt, z.B. bei der Eisenbearbeitung, einen wirkungsvollen Korrosionsschutz. Eingesetzt werden Triglycerid-Fettstoffe (Palmöl, Sojaöl, Rüböl, ...) sowie Spermöl, Fettsäuren, Fettsäuremethylester, Fettsäureamide, Fettalkohole und Metallseifen [BIA 1996].

Hochdruckzusätze (Extrem Pressure (EP)-Additive)

EP-Additive haben die Aufgabe bei hohen Drücken und Temperaturen mit den Metalloberflächen zu reagieren und einen Schmierfilm zu bilden. Da EP-Additive auch bei Temperaturen höher als 200 °C geringe Reibungskoeffizienten gewährleisten, sind sie eine Ergänzung zu den polaren Zusätzen, die bei diesen Temperaturen ein schlechteres Reibungsverhalten aufweisen [Mang 1983]. Dabei kann zwischen chlorhaltigen (Chlorparaffinen), phosphorhaltigen (Alkyl- bzw. Aryl-Phosphorsäureester, Aminphosphate, Zinkdialkyldithiophosphate) und schwefelhaltigen EP-Additiven ($R\text{-}S_x\text{-}R$, geschwefelte Olefine und geschwefelte Fettsäureester) unterschieden werden [Famulok 1995].

Konservierungsmittel/Biozide

Diese in wassermischbaren KSS eingesetzten Zusätze erfüllen die Aufgabe gegen Mikroorganismen zu schützen und damit dem Abbau von Inhaltsstoffen unter Bildung von Spaltprodukten, dem Absinken des pH-Wertes, Nachlassen des Rostschutzes, der Schaumbildung sowie Verstopfungen von Leitungen entgegenzuwirken. Sie sollen ein möglichst breites Wirkungsspektrum gegen Bakterien, Pilze und Hefen aufweisen und die Vermehrung vorhandener Keime unterdrücken. Weiterhin soll die Wirkung schnell einsetzen und lang anhalten bei einer guten Hautverträglichkeit, geringer Toxizität für den Menschen und guter Mischbarkeit mit den anderen KSS-Komponenten. Die Metallbearbeitung und die Wirksamkeit anderer Inhaltsstoffe sollte nicht negativ beeinflusst werden. Tab. 2.3.3 gibt eine Übersicht über die wichtigsten Wirkstoffklassen von Konservierungsmitteln für KSS [Famulok 1995].

Tab. 2.3.3: Konservierungsmittel für KSS

Stoffgruppe	Wirkungsweise	Aufbau
Aldehyddepot-Verbindungen:	Antimikrobielle Wirkung durch Formaldehyd, welches leicht aus den Verbindungen abgespaltet wird	O-Formale, N-Formale, z.B. Hexahydrotriazine, Oxazolidine, Imidazolidine
Phenolderivate:	Fungizide; nehmen an Bedeutung ab	z.B. o-Phenylphenol, Dichlorophen
Schwefelkohlenstoff-Derivate:	Antimikrobiell und z.T. fungizid	Dithiocarbamate: $R\text{-}NH\text{-}CS\text{-}S^{-}$ $Metall^{+}$ $\leftrightarrow$ R-N=C=S + Metall SH
Thiazole, Isothiazolone:	Reaktivität und Wirkungsweise je nach Struktur; sind hochtoxisch und können Haut und Schleimhäute angreifen	Isothiazolone, Thiazole
Andere:	Unterschiedliche Substanzen mit unterschiedlichen Eigenschaften	z.B. Pyridinthion-N-Oxid, Tribromacetamid

2.3.3 Begleitstoffe

Begleitstoffe entstehen bei der Synthese der Einzelstoffe als Nebenprodukte. Art, Menge und Zusammensetzung der Nebenprodukte sind stark vom Herstellungsprozess abhängig und müssen für jedes Produkt einzeln betrachtet werden.

2.3.4 Reaktionsprodukte

Die zu den Sekundärstoffen zählenden Substanzen entstehen durch thermische Prozesse, katalytische Reaktionen (z.B. an der reaktiven Metalloberfläche) oder durch Abbaureaktionen von Mikroorganismen. Es ist eine Vielzahl verschiedener Verbindungen denkbar und nur schwer abschätzbar. In der Diskussion sind hier vor allem N-Nitrosamine (Nitrosierungsprodukt von sekundären Aminen), polyzyklische aromatische

Kohlenwasserstoffe (PAK) als Zersetzungsprodukte von Mineralölkomponenten, Aldehyde als Spaltprodukte des thermischen Abbaus [ASF 1983], Abbauprodukte von Mikroorganismen (meist Säuren, Ester und Ketone) sowie Metalloxide und –salze.

2.3.5 Fremdstoffe

Zu den Fremdstoffen werden alle Stoffe gezählt, die beabsichtigt oder unbeabsichtigt während des Gebrauchs in den KSS gelangen. Unbeabsichtigte Einschleppungen können andere Schmierstoffe oder Hydraulikflüssigkeiten aus der Maschine, Metallabrieb, Abwaschungen von Werkstücken (Reinigungs- und Korrosionsschutzmittel) und luftgetragene Stoffe in der Halle sein. Beabsichtigte Einschleppungen sind die Zugabe von KSS-Konzentrat, Additiven oder Wasser als Verlustausgleich, Konservierungsmittel und Systemreiniger vor einer Neubefüllung des Systems.

2.3.6 Mikroorganismen

Mikroorganismen besiedeln bevorzugt wassergemischte KSS, da hier gute Wachstumsbedingungen für die meisten Mikroorganismen in dem für diese optimalen Temperaturbereich zwischen 20 und 45 °C herrschen. Sie können die Bestandteile des KSS nutzen und somit die Emulsion in ihrer Funktion angreifen. Die gewachsenen Mikroorganismen können Zuleitungen und Filter verstopfen, den Korrosionsschutz verringern, Gerüche entwickeln und arbeitshygienische Probleme schaffen. Am häufigsten werden Bakterien und Pilze in einer Konzentration zwischen 10^6 bis 10^8 KBE/ml (Kolonie bildenden Einheiten pro ml) gefunden, wobei ein Wert von 10^6 KBE/ml nicht überschritten werden sollte [BIA 1996]. Neben dem direkten Hautkontakt spielt auch die Bildung von Aerosolen eine entscheidende Rolle. So werden Luftkeimkonzentrationen zwischen 10^3 und 10^5 KBE/m^3 gefunden [BIA 1996]. Da es hier keinen Richtwert gibt, sollte dieser Wert und damit die Keimzahl der Emulsion möglichst klein gehalten werden.

2.4 Toxikologisch-arbeitsmedizinische Aspekte beim Umgang mit KSS

Die Zusammensetzung der in der Industrie verwendeten KSS ist, wie zuvor dargestellt, sehr komplex und umfangreich. Oft stellt der KSS einen für den Anwender optimierte Mischung von Substanzen dar, die durch die speziellen Gegebenheiten des Anwendungsfeldes auf den dort arbeitenden Menschen unterschiedlich in Zusammensetzung und Expositionspfad einwirken. Daher ist eine für alle KSS gültige toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung kaum möglich [Stork 1995] und Beobachtungen können nicht generell auf andere KSS übertragen werden, sondern müssen speziell diskutiert werden. Beim Einsatz der MMS sind aufgrund der bisher kurzen Verwendungsdauer auch kaum epidemiologisch gesicherte Erfahrungen vorhanden.

2.4.1 Expositionspfade von KSS

Bei der Verwendung von konventionellen KSS und Schmierstoffen für die MMS können Arbeitnehmer bei verschiedenen Arbeitsabläufen über direkten Hautkontakt oder durch Aerosole und Dämpfe aus der Umgebungsluft mit Bestandteilen dieser Stoffe in Berührung kommen.

Der Hautkontakt kommt z.B. beim Ansetzen einer KSS-Emulsion, Befüllen der Maschine mit KSS, Reinigen des Bearbeitungsraumes, beim Umgang mit dem Werkstück oder durch mit KSS benetzte Kleidung zustande.

Neben der Resorption von KSS-Bestandteilen über die Haut sind die Atemwege als weiterer wichtiger Expositionspfad zu nennen. KSS unterliegen bei der Zerspanung von Werkstoffen einer mechanischen Belastung mit Aerosolbildung und durch die entstehende Reibungswärme auch einer thermischen Belastung, die zu einer Verdampfung von KSS-Anteilen führt. Das Aerosol besteht dabei aus in der Luft schwebenden Tröpfchen mit Durchmessern von 0,1 bis 10 µm [Kiessling 1977], die in den Atemtrakt gelangen und dort abgelagert werden können. Die Zusammensetzung entspricht dem des Öles und möglichen entstandenen Reaktionsprodukten im Öl.

Der Transport und die Ablagerung von Partikeln im Atemtrakt hängen von der Größe, der Form und der Dichte ab. Wichtige Parameter für Partikel größer 0,5 µm ist der aerodynamische Durchmesser d_{ae} [MAK- und BAT-Werte-Liste 2000, Noldes 1998]. Partikel mit $d_{ae} > 15$ µm werden fast ausschließlich im Bereich von Nase, Rachen und Kehlkopf abgelagert, kleinere Partikel im Tracheo-Bronchial-Bereich oder im Alveolarraum (< 5 µm).

Ein Teil der eingeatmeten Partikel wird nicht im Atemtrakt deponiert und wieder ausgeatmet. Lösliche Anteile werden resorbiert und können in der Zelle lokal oder nach Eintritt in den Blutkreislauf systemisch wirken. Nicht-lösliche und nicht-resorbierte Anteile können mit mukoziliaren Reinigungsmechanismen aus dem Tracheo-Bronchial-Bereich und aus dem Nasen-Rachen-Kehlkopf-Bereich auch durch Verschlucken in den Verdauungstrakt gelangen.

Schmierstoff-Dämpfe bestehen aus leichtflüchtigen organischen Stoffen und Reaktionsprodukten. Bereits der Gebrauch von KSS bringt eine Ausdampfung flüchtiger Stoffe mit sich, die durch die starke Flüssigkeitskonvektion, die Hallentemperaturen und die enthaltenen grenzflächenaktiven Substanzen erleichtert wird [Berezkin 1986]. Die hauptsächlich auftretenden leichtflüchtigen Substanzen sind niedrig siedenden Mineralölkomponenten, Aldehyde, Ketone, Alkohole, Ester, Epoxide [Berezkin 1986] sowie Abbauprodukte (z.B. N-Nitrosamine).
Die Aufnahme über den Verdauungstrakt ist zwar prinzipiell möglich, Krankheitsbilder werden aber wegen der niedrigen oralen Toxizität der verwendeten Öle nicht diskutiert.

2.4.2 Hauterkrankungen

In der Liste der Arbeitsstoffe, die im Metallgewerbe berufsbedingte Hauterkrankungen verursachen, stehen die Schmierstoffe an erster Stelle. 40 % aller der Berufsgenossenschaften gemeldeten Hauterkrankungen sind durch KSS verursacht und können entstehen durch [Baumann 1996]:

- zu hohe Konzentratmengen in wassergemischten KSS
- regelmäßigen Hautkontakt, besonders mit eingetrockneten KSS
- zu hohe pH-Werte
- hautentfettende Öle in nicht-wassermischbaren und durch oberflächenaktive Substanzen in wassergemischten KSS
- Biozide in wassergemischten KSS
- Späne und Werkstoffabrieb, die Hautverletzungen verursachen

Die hervorgerufenen Hauterkrankungen können verschiedene Ursachen haben. Folgende Erkrankungen werden häufig beschrieben [Alomar 1994]:

- Toxisch-degeneratives Kontakt-Ekzem:

  Diese am häufigsten auftretende Erkrankung, auch Abnutzungsdermatose genannt, entsteht durch Abnutzung der natürlichen Schutzfunktion der Haut. Diese wird durch austrocknend wirkende Mineralöle oder die alkalische Einstellung der wassergemischten KSS ausgelöst. Das Entstehen wird durch eine Überdosierung eines alkalischen Bakterizids, durch die dauerhaft nasse Umgebung und durch spezifische Inhaltsstoffe, z.B. grenzflächenaktive Substanzen, gefördert. Vorboten dieser Erkrankungen sind Rötungen der betroffenen Hautpartien, die sich im weiteren Verlauf der Erkrankung rissig und schuppig, später in Form von Juckreiz, Bläschen und Entzündungen äußern. Diese Erkrankung ist meist durch geeigneten Hautschutz vermeidbar [Lautenschläger1997].

- Allergisches Kontaktekzem:

  Die Entstehung eines allergischen Kontaktekzems ist nur schwer vorhersehbar und kann durch Hautschutzmaßnahmen selten vermieden werden. Es resultiert aus einer Überempfindlichkeit einzelner Personen gegenüber KSS-Inhaltsstoffen und äußert sich in starken Hautreaktionen. Häufig sind Biozide in KSS Auslöser von allergischen Kontaktekzemen, wobei Formaldehydabspalter eine wichtige Rolle spielen [TRGS 540, Goh 1994]. Weiterhin sind Korrosionsinhibitoren (z.B. Mercaptobenzthiazol), bestimmte Alkanolamine, Emulgatoren, Duftstoffe, schwefelhaltige EP-Additive und Salze der Metalle Co, Cr und Ni zu nennen [BIA 1996].

- Öl-Akne:

  Die Ölakne kann durch verstopfte und entzündete Talgdrüsen auf der Haut entstehen und äußert sich in Mitessern, Eiterpusteln und Furunkeln. Außer an den Händen, Armen und im Gesicht treten diese Effekte auch an Körperstellen auf, die mit Öl, Schmutz und Metallteilchen verunreinigten Kleidungsstücken in Berührung kommen [BIA 1996].

2.4.3 Atemwegserkrankungen

Wie bereits erwähnt, erreichen Öltröpfchen mit einem Durchmesser kleiner 5 µm die unteren Atemwege, können sich dort ablagern und phagozytiert werden. Im Tierexperiment wurden mit einer Mineralöl-Konzentration von $5\,mg/m^3$ keine histologisch gravierenden Entzündungsreaktionen oder Lungenveränderungen beobachtet. Erst bei einer Konzentration

von 100 mg/m^3 konnten Fremdkörperreaktionen und Entzündungen der Lunge nachgewiesen werden.

Umfangreiche Untersuchungen [Stalder 1985] wiesen für verschiedene KSS auf eine Beeinträchtigung des lung-surfactant (oberflächenaktive Lipide) wahrscheinlich als Folge des Einsatzes von Emulgatoren hin (bei wassermischbaren KSS stärker). In weiteren Inhalationsexperimenten [Schaper 1991] wurden die akuten Atemwegsirritationen geprüft. Bei 10 verschiedenen KSS zeigten sich RD-50-Werte (Konzentration, bei der 50 % der Versuchstiere eine Reaktion auf die Noxe zeigen) für wassergemischte KSS zwischen 100 und 1000 mg/m^3, bei nicht-wassermischbaren KSS erst bei 100000 mg/m^3. Die geringe Toxizität von Basisölen für KSS konnte in einem 4-wöchigen Inhalationsexperiment an Sprague-Dawley-Ratten gezeigt werden [Dalbey 1991].

Beim Menschen werden bei hochkonzentrierten Ölnebeln unspezifische Symptome wie Kopfschmerz, Schwindel, Übelkeit und allgemeine Abgeschlagenheit beschrieben [BIA 1996]. Daneben wird auch in vielen Kasuistiken über Schleimhautreizungen der oberen Atemwege sowie Lungenfunktionsstörungen und Bronchitis berichtet [Zacharisen 1998].

- Asthma bronchiale durch KSS-Exposition:

  Durch Sensibilisierung gegenüber KSS-Bestandteilen kann eine Allergie vom Soforttyp mit einem klinischen Bild eines Asthma ausgelöst werden. In einer Übersicht [Robertson 1988] konnte von 25 begutachteten Berufskrankheits-Verdachtsfällen bei 13 Fällen ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem KSS und der Krankheit bestätigt werden, wobei 12 Fälle mit wassergemischten KSS zu tun hatten. Als Allergene wurden hier natürliche Allergene wie Ester, pflanzliche Fettsäuren [Spallek 1989] und Pilzantigene [Prelicz 1991] identifiziert.

- Akute Lungenfunktionsänderungen:

  Akute Lungenfunktionsänderungen unter KSS-Exposition werden in der Literatur widersprüchlich diskutiert [Kennedy 1989, Stork 1990]. So fand sich bei 89 Arbeitnehmern bereits bei Konzentrationen von KSS-Aerosol von 0,5 mg/m^3 eine signifikante Einschränkung der Lungenfunktion (Einsekunden-Kapazität). Es werden allerdings klinisch keine chronischen Atemwegserkrankungen oder langfristige Lungenfunktionsänderungen beschrieben, so dass die Messwerte der Einsekunden-Kapazität eventuell auf die körperliche Erschöpfung zurückzuführen sind [Kennedy 1989]. In einer weiteren Untersuchung [Stork 1990] ließen sich keine akuten Lungenfunktions-änderungen reproduzieren, obwohl die Arbeitnehmer über Atemwegsbeschwerden klagten.

- Chronische Bronchitis:

  Zahlreiche Studien beschäftigen sich mit der Häufigkeit der chronischen Bronchitis bei KSS-Exponierten. Sowohl für nicht-wassermischbare wie auch für wassermischbare KSS zeigen die Studien keine Erhöhung der chronischen Bronchitis. Dagegen fanden einige Autoren [Rosenman 1997] eine erhöhte Bronchitishäufigkeit. In einer weiteren Untersuchung wurde eine unspezifische Reizwirkung auf die oberen Atemwege und die Bindehaut beschrieben [Stork 1990], die bei wassergemischten KSS stärker ausgeprägt ist als bei nicht-wassermischbaren KSS. Als Auslöser für die Reizwirkung werden oberflächenaktive Substanzen in wassergemischten, aber auch thermische Degradationsprodukte wie Aldehyde diskutiert [Stork 1995].

2.4.4 Kanzerogene und mutagene Wirkung

Als kanzerogene Inhaltsstoffe von KSS werden die in Mineralölprodukten vorkommenden bzw. beim Gebrauch entstehenden polyzyklisch aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) (hauptsächlich in nicht-wassermischbaren KSS) und als weitere wichtige Stoffklasse die N-Nitrosamine (hauptsächlich in wassergemischten KSS) diskutiert [Stork 1988].

Die bis ca. 1970 häufig verwendeten Öle auf der Grundlage von säurebehandelten Mineralölen wiesen hohe Konzentrationen (30-300 ppm der Leitkomponente Benz-a-pyren) an PAK´s auf. Nach 1970 wurden Lösemittelraffinate mit deutlich geringeren PAK-Konzentrationen (um 1 ppm) benutzt [Stork 1995]. Die in dieser Größenordnung beobachteten PAK-Konzentrationen dürften verstärkt zu einer Hautbelastung und weniger zu einer relevanten inhalativen Exposition geführt haben. Vor 1970 sind zwar keine Expositionsmengen publiziert, eine Abschätzung zeigt jedoch bei einer KSS-Konzentration von 10 mg/m^3 in der Luft und der gleichen Zusammensetzung in KSS und Aerosol eine Unterschreitung des heutigen TRK-Wertes für Benz-a-pyren von 2,5 $\mu g/m^3$ [Stork 1995]. So ist die Hautkrebs verursachende Wirkung von nicht-wassermischbaren KSS mit hohen PAK-Gehalten erwiesen. Auch im Tierexperiment besteht eine gute Korrelation zwischen dem PAK-Gehalt in Ölen und Hauttumoren bei Kaninchen [Roy 1988].

In den fünfziger, sechziger und siebziger Jahren sind in wassergemischten KSS Konzentrationen bis zu 2000 ppm an N-Nitrosodiethanolamin (NDELA) als Nitrosierungs-produkt von Diethanolamin beobachtet worden. Nitrosamine erweisen sich in zahlreichen Mutagenitätstests als genschädigend und im Tierexperimenten als kanzerogen, mitunter bei

bereits sehr kleinen Dosen. Auch bei Arbeitern mit NDELA-Exposition wurden DNA-Schäden in Blutzellen gefunden [Fuchs 1995]. Durch die TRGS 611 konnte eine Reduzierung der Konzentration erreicht werden. Doch auch in heutigen modernen KSS, die kein Nitrit und sekundäre Amine enthalten, können Nitrosamine durch Abbau- und Oxidationsvorgänge von KSS-Inhaltsstoffen entstehen.

Neben den genannten Verbindungen besitzen auch einige Zusätze kanzerogene Wirkung, so z.B. einige aromatische Amine (Phenylnaphthylamin, Diphenylamin) oder Chlorparaffine. Als krebsverdächtig sind der Formaldehyd und die Formaldehydabspalter eingestuft. Zudem hat Formaldehyd eine reizende und allergisierende Wirkung.

Die möglicherweise als Sekundärstoffe auftretenden Ni-, Co,- und Cr-Salze sind im Tierexperiment kanzerogen. Einzelne Autoren leiten aus epidemiologischen Studien eine erhöhte Wahrscheinlichkeit von Bauchspeicheldrüsen-, Darm-, Harnblasen- und Leberkrebs sowie Tumoren des Gehirns und der Lunge beim Umgang mit KSS ab. Diese Ergebnisse werden allerdings widersprüchlich diskutiert [BIA 1996, Schroeder 1997].

2.4.5 Einfluss von Mikroorganismen

Weiterhin kann eine Gesundheitsgefährdung von den in wässrigen Emulsionen enthaltenen Mikroorganismen ausgehen [Jaksic 1998]. In Untersuchungen sind Krankheitserreger gefunden worden, die z.B. für die Auslösung von Atemwegserkrankungen verantwortlich sein können.

Jeder KSS-Kreislauf besitzt seine eigene Mikroorganismenflora. Es ist unbedingt sinnvoll in bestimmten Zeitabständen eine Keimzahlbestimmung durchzuführen. Dieser Wert ist stark von der Zusammensetzung des KSS und den Bedingungen im Betrieb abhängig und somit für jeden Betrieb spezifisch. Tritt eine starke Erhöhung dieses Parameters auf, sollte die Emulsion ausgetauscht oder gezielt mit einem Biozid behandelt werden [Chazal 1995].

Neben der gesundheitlichen Belastung führt eine zu hohe Keimzahl zur Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit des KSS. Weiterhin wird in der Literatur diskutiert, ob von Pilzen, die als Rasen auf der Emulsion wachsen, ein allergisierendes Potenzial ausgeht [BIA 1996].

Untersuchungen beim Schleifen zeigten eine Beteiligung von Schimmelpilzspezies bei der Entstehung einer fibrotischen Lungenveränderungen [Galetke 1994], wobei auch eine Co-Exposition diskutiert wird [Migliori 1994]. Auf die Bedeutung der Mikroorganismen bei allergischen Reaktionen wurde bereits hingewiesen.

2.5 Grenzwertregelungen

2.5.1 Einführung

Es gibt für die generell dosisabhängigen Substanzwirkungen oft eine Schwellendosis. Unterhalb dieser Dosis treten keine Effekte auf, darüber wird ein dosisabhängiger Anstieg der Wirkung beobachtet. Die Schwellendosis wird von der empfindlichsten Versuchstierspezies und dem empfindlichsten Zielorgan bestimmt und als „no observed effect level“ (NOEL) bezeichnet. Dagegen gibt es für kanzerogene und mutagene Stoffe keine Wirkungsschwelle, da Veränderungen der DNA bereits bei kleinsten Dosen zu irreversiblen Schäden führen können. Daher kann bei Einhaltung von Grenzwerten für kanzerogene Stoffe eine Erkrankung nur begrenzt, nicht aber ausgeschlossen werden.

Als Grenzwerte für Arbeitsstoffe sind die Maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK), der Biologische Arbeitsstofftoleranzwert (BAT), Expositionsäquivalente für Krebs erzeugende Arbeitsstoffe (EKA) und die Technische Richtkonzentration (TRK) zu nennen.

- MAK-Wert:

  Dieser Grenzwert definiert sich als „die höchstzulässige Konzentration eines Arbeitsstoffes als Gas, Dampf oder Schwebstoff in der Luft am Arbeitsplatz, die nach dem derzeitigen Stand der Kenntnis auch bei wiederholter und langfristiger, in der Regel 8-stündigen Exposition, jedoch bei Einhaltung der durchschnittlichen Wochenarbeitszeit von 40 Stunden im allgemeinen die Gesundheit der Beschäftigten nicht beeinträchtigt“ [MAK- und BAT-Werte-Liste 2000]. Diese Grenzwerte gelten für reine Substanzen mit einer reversiblen Wirkung, für die keine Hinweise auf mutagene oder kanzerogene Wirkung vorliegen. Bei Anwesenheit von Stoffgemischen ermöglicht die TRGS 403 eine Risikoabschätzung, in dem ein Grenzwert für Stoffgemische als Summe der Quotienten der gemessenen Konzentration der Einzelstoffe zu ihrem MAK-Wert aufgestellt wird. Erreicht die Summe einen Wert größer 1, ist der betroffenen Arbeitnehmer zu stark exponiert.

- BAT-Wert:

  Der BAT-Wert ist „die beim Menschen höchstzulässige Quantität eines Arbeitsstoffes bzw. Arbeitsstoffmetaboliten oder die dadurch ausgelöste Abweichung eines biologischen Indikators von seiner Norm, die durch den gegenwärtigen Stand der Kenntnis im allgemeinen die Gesundheit der Beschäftigten auch dann nicht beeinträchtigt, wenn sie durch Einflüsse am Arbeitsplatz regelhaft erzielt wird“ [MAK- und BAT-Werte-Liste 2000]. Wie beim MAK-Wert wird eine tägliche Expositionszeit von 8 Stunden bei

40 Wochenstunden zugrunde gelegt. Die BAT-Werte gelten für Reinsubstanzen und werden für Blut und/oder Urin als Untersuchungsmaterial aufgestellt. Es kann aufgrund der interindividuellen Unterschiede wie die körperliche Arbeit, das Atemminutenvolumen, der Hautresorption, Abweichungen im Stoffwechsel des Stoffes nicht auf die Luftkonzentration geschlossen werden.

- EKA:

  Da für Krebs erzeugende Arbeitsstoffe kein BAT-Wert, also eine unbedenkliche Konzentration des Stoffes im Körper, festgelegt werden kann, stellt die Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe eine Beziehung zwischen der Stoffkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz und den entsprechenden Stoff- bzw. Metabolit-Konzentrationen im Blut oder Harn auf.

- TRK-Werte:

  TRK-Werte werden für Stoffe erarbeitet, die beim Menschen erfahrungsgemäß Tumore auslösen, oder die aus tierexperimentellen Daten auf eine kanzerogene oder mutagene Wirkung am Arbeitsplatz schließen lassen. Da für diese Stoffe keine unbedenkliche Konzentration angegeben werden kann, richtet sich der TRK-Wert neben den arbeitsmedizinischen Erkenntnissen nach der technischen Machbarkeit und der Möglichkeit der analytischen Überwachung.

Die MAK- und BAT-Werte und EKA werden von der Senatskommission der DFG zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe erarbeitet, jährlich veröffentlicht und dem Ausschuss für Gefahrstoffe (AGS) zur Überprüfung vorgelegt. Mit der Veröffentlichung in den Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) werden die MAK-Werte (TRGS 900) wie auch die Einstufung in einer der Gruppen für Krebs erzeugende Arbeitsstoffe (TRGS 905) rechtsverbindlich. Für kanzerogene Arbeitsstoffe werden vom AGS Technische Richtkonzentrationen (TRK) festgelegt und in der TRGS 905 veröffentlicht.

2.5.2 Grenzwertregelungen für KSS

Beim Einsatz von KSS können, wie bereits erwähnt, KSS-Dämpfe und –Aerosole in die Luft am Arbeitsplatz übergehen. Da über die Langzeitwirkung auf die Lunge nach Aufnahme von KSS-Dämpfen und –Aerosolen bisher kaum tierexperimentelle und epidemiologische

Erfahrungen vorliegen, ist eine Grenzwertfestlegung schwierig. Die toxischen Wirkungen auf den Gesamtorganismus dürften aber weitestgehend von den Zusätzen ausgehen. Da die KSS eine komplexe Zusammensetzung aufweisen, ist allein die Mineralölkomponente für eine Grenzwertfestlegung nicht repräsentativ. Der früher für reine Mineralöle aufgestellte MAK-Wert von 5 mg/m^3 kann daher auf die heutigen komplexen KSS nicht angewendet werden. Ein einheitlicher MAK-Wert für alle KSS ist nicht in Aussicht. Zur Verbesserung der Arbeitshygiene an den Arbeitsplätzen hat der AGS für wassermischbare und nicht-wassermischbare KSS mit einem Flammpunkt höher 100 °C einen Grenzwert von 10 mg/m^3 für die Summe aus KSS-Aerosol und –Dampf (TRGS 900) aufgestellt.

Aus toxikologischer Sicht enthält die TRGS 611 eine weitere wichtige Regelung. In der TRGS 611 wird die Verwendungsbeschränkung für wassermischbare bzw. wassergemischte KSS, bei deren Einsatz N-Nitrosamine auftreten können, beschrieben. Die TRGS 611 ergänzt damit die TRGS 552 „Nitrosamine“. So werden in der TRGS 611 Einschränkungen beim Nitrat-Gehalt des Ansetzwassers (< 50 mg/l), Nitrit-Gehalt in der Emulsion (< 20 mg/l) der N-Nitrosamin-Konzentration (< 0,0005 %), dem pH-Wert (Abweichung um nur 0,5 von der Ursprungs-Emulsion) und der Konzentration sekundärer Amine im Konzentrat (< 0,2 %) geregelt.

Für N-Nitrosamine wurde ein TRK-Wert von 2,5 µg/m^3 festgelegt. Hinzuweisen ist allerdings auch auf die Bildung von N-Nitrosooxazolidinen in KSS, die primäre Monoethanolamine, Formaldehyd und Nitrit enthalten.

Weiterhin sei der MAK-Wert von Formaldehyd mit 370 µg/m^3 erwähnt, da Formaldehyd abspaltende Biozide in KSS Verwendung finden und in die Umgebungsluft ausdampfen können. Neben den genannten Verbindungen beschäftigt sich die DFG mit KSS-Inhaltsstoffen. Die Kommission erarbeitet toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen einzelner Stoffe mit dem Ziel einer Bewertung, eventuell in Form von MAK-Werten. Bisher wurden 54 Einzelstoffe bearbeitet. Jährlich erscheint eine aktuelle Liste von bewerteten KSS-Inhaltsstoffen in den MAK- und BAT-Werte-Listen.

3 Methoden zur Erfassung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe beim Umgang mit KSS

3.1 Geräte, Chemikalien und Lösungen

3.1.1 Geräte

Gerät		Lieferant
Brutschrank Function line		Heraeus
Diodenarray Spektrophotometer 8452 A		Hewlett Packard
FT-IR-Anlage:	FT-IR 410	Jasco
	KBr-Fenster	Buck Scientific
	Teflon Distanzstück (12 mm)	Eigenbau
Gasprobennehmer GS 312		Desaga
GC-MS-Anlage:	Autosampler 8200 CX	Varian
	GC 3400 CX	Varian
	Ionenfalle Saturn 4D	Varian
	Säule: DB-5-MS (30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm Film)	J&W Scientific
GGP-Probennahmesystem		Leschke Messtechnik
Heizblock R18/08		Nabertherm
HPLC-Anlage:	Probengeber SIL-6B	Shimadzu
	Pumpe LC 6A	Shimadzu
	UV-VIS-Spektrophotometer SPD-6AV	Shimadzu
	Integrator HP 3394 A	Hewlett Packard
	System Controller SCL-6B	Shimadzu
	Säule: Kromasil 5C18 (250 mm x 3 mm)	VDS optilab
Koloniezähler Biotran III		New Brunswick Scientific
Labormikroskop Telaval 31		Zeiss
Labormixer VIBRAX-VXR		IKA Labortechnik
pH-Meter E 532		Metrohm
peristaltische Pumpe Minipuls 2		Gilson
Probennahme-Pumpe P 4000		Du Pont
Schüttelwasserbad 1092		GFL
Sterilwerkbank Hera Save		Heraeus
Ultraschallbad Sonorex Super RK 510 H		Bandelin
UV-Lampe Typ 3.260 002		Schütt Labortechnik
Varioklav Dampfsterilisator Typ 500 E		H+P Labortechnik
Vortexer		Heidolph
Waagen:	Analysenwaage AE 163	Mettler
	Präzisionswaage 1574 MP 1	Sartorius
Wasser-Anlage :	prima reverse osmosis	Elga
	maxima ultra pure water	Elga
Wasserbad U3		Julabo

3.1.2 Labor- und Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Lieferant
Combitips steril (5 und 10 ml)	Eppendorf
DNPH-Kartuschen	Supelco
Filterplättchen für Stammkontrollen	Difco
Glasfaserfilter MN 85/70 BF	Macherey-Nagel
Kolben (10, 20, 50, 100, 250, 500 und 1000 ml)	Brand
Mikroschraubgefäße steril aus Polypropylen (2 ml)	Sarstedt
ORSA 5-Röhrchen	Dräger
Platten aus Polypropylen (85 mm Durchmesser)	Waldeck
Röhrchen Cellstar aus Polypropylen steril (50 ml)	Greiner Labortechnik
Röhrchen aus Polypropylen (13 ml)	Sarstedt
Sterilfilter (25 mm Durchmesser, 0,22 µm Porengröße)	Diagonal
Vials (2 ml) mit Schraubdeckel	Chromacol
Wägeschiffchen 609	Schleicher & Schuell

3.1.3 Chemikalien

Substanz	Lieferant
Acetaldehyd	Merck
Acetonitril	Baker
Acrolein	Fluka
Amidoschwefelsäure	Merck
2-Aminoanthracen	Sigma
Ampicillin Trihydrat	Serva
Bacto Agar	Difco
Benzaldehyd	Fluka
D-Biotin	Serva
Butyraldehyd	Merck
Calciumhypochlorit	Fluka
Capronaldehyd	Fluka
Caprylaldehyd	Fluka
Crotonaldehyd	Merck
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Merck
2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH)	Fluka
Eisen-(III)-chlorid	Merck
Eisessig	Merck
Ethanol	Merck
5-Ethyl-3,7-dioxa-1-azabicyclo-[3.3.0]-octan (EDAO) (95 %-ig)	Aldrich
Formaldehyddehydrogenase (FDH) (0,3 U/mg)	Sigma
Formaldehydlösung (35 %ig)	Sigma
D-(+)-Glucose (40 %ig)	Sigma
Glucose-6-phosphat	Boehringer

Helium 5.0	Messer Griesheim
L-Histidin Monohydrat	Sigma
Kaliumchlorid	Merck
Kaliumhexacyanoferrat (II)	Merck
di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck
Kristallviolett	Sigma
Magnesiumchlorid	Merck
Magnesiumsulfat wasserfrei	Fluka
Magnesiumsulfat Heptahydrat	Merck
Methanol	Baker
3-Methylbenzthiazolonhydrazon-Hydrochlorid (MBTH)	Merck
Methylglyoxal	Sigma
Mitomycin C	Roth
1-Naphthylamin	Merck
Natriumammoniumhydrogenphosphat Tetrahydrat	Merck
Natriumazid	Merck
Natriumchlorid	Merck
Natriumdihydrogenphosphat Monohydrat	Merck
di-Natriumhydrogenphosphat	Merck
Natriumhydrogensulfit	Merck
Natriumhydroxid	Merck
Natriumnitrit	Merck
Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD)	Sigma
Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADP)	Sigma
2-Nitrofluoren	Aldrich
Nutrient Broth No. 2	Oxoid
Oenanthaldehyd	Merck
Oleylalkohol	Fluka
Pelargonaldehyd	Fluka
Phosphorsäure (85 %ig)	Merck
Propionaldehyd	Merck
S9-Fraktion (Fertigpräparat)	ICN
Salzsäure	Riedel de Haen
Schwefelkohlenstoff	Fluka
Schwefelsäure (95-97 %)	Merck
Stickstoff 4.6	Messer Griesheim
Sulfanilsäure (4-Aminobenzolsulfonsäure)	Merck
Tetrabutylammoniumhydrogensulfat	Merck
Tetrachlorethylen	Fluka
Tetracyclin	Sigma
Toluol	Merck
N,N´,N´´-Tris(ß-hydroxyethyl)-hexahydro-1,3,5-triazin (ca. 80 %ig)	Fuchs
Tween 80	Sigma
Valeraldehyd	Merck
XAD-2-Adsorberharz (Supelpak 2)	Supelco

Zinkacetat	Merck
Zitronensäure Monohydrat	Merck

3.1.4 Lösungen und Medien

Nitrit-Bestimmung:

- Diazotierungslösung: 0,5 g 1-Naphthylamin werden in 100 ml Eisessig und 2 g Sulfanilsäure in 100 ml Wasser gelöst, in einem 500 ml-Kolben vereinigt und bis zur Eichmarke mit Wasser aufgefüllt.
- Kaliumhexacyanoferrat-(II)-Lösung: Es werden 30 g des Stoffes in 200 ml Wasser gelöst.
- Nitrit-Stammlösung (50 mg Nitrit/l): 0,3 g Natriumnitrit werden in 20 ml Wasser gelöst. Anschließend werden 250 µl dieser Lösung auf 50 ml mit Wasser verdünnt.
- Zinkacetat-Lösung: 46 g des Stoffes werden in 200 ml Wasser gelöst.

Bestimmung des „freien“ Formaldehyd:

- MBTH-Lösung: Es werden 0,05 g MBTH in 100 ml Wasser gelöst.
- Oxidationsreagenz: 1,0 g Eisen-(III)-chlorid und 1,6 g Amidoschwefelsäure werden in 100 ml Wasser gelöst.
- Stammlösung (1 g Formaldehyd/l): Es werden 132,3 µl der Formaldehyd-Lösung (35 %-ig) mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt.

Bestimmung von Formaldehyd in KSS-Emulsionen:

- DNPH-Lösung: Zu 300 mg 2,4-DNPH werden 10 ml Phosphorsäure (85%) gegeben und mit Acetonitril auf 100 ml aufgefüllt.
- Stammlösung (1 g Formaldehyd/l): Es werden 132,3 µl der Formaldehyd-Lösung (35 %ig) mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt.

Bestimmung von Aldehyden in der Luft:

- Stammlösung (1 g Aldehyd/l): Es werden 264,6 µl Formaldehyd-Lösung (35 %ig), 128,2 µl Acetaldehyd, 123,5 µl Propionaldehyd, 124,8 µl Butyraldehyd, 123,5 µl Valeraldehyd, 122,9 µl Capronaldehyd, 122,2 µl Oenanthaldehyd, 121,7 µl Caprylaldehyd, 120,9 µl Pelargonaldehyd, 118,3 µl Acrolein, 117,4 µl Crotonaldehyd und 95,2 µl Benzaldehyd mit Acetontiril auf 100 ml aufgefüllt.

Medien und Platten für den Ames-Test:

- Aminoanthracen: 500 µg 2-Aminoanthracen werden in 10 ml DMSO gelöst.
- Ampicillin-Lösung (0,8 %): 400 mg Ampicillin und 50 ml einer 0,02 N Natronlauge werden vermischt und in 500 µl-Portionen bei –20 °C eingefroren.
- Biotin-Lösung (0,5 mM): 12,2 mg Biotin wird in wenig warmem Wasser gelöst, auf 100 ml aufgefüllt und steril filtriert.
- Biotin/Histidin-Lösung (je 0,5 mM): 61,1 mg Biotin und 52,4 mg Histidin werden unabhängig voneinander in wenig warmem Wasser gelöst. Beide Lösungen werden vereint und auf 500 ml aufgefüllt. Die Lösung wird steril filtriert.
- FDH-Lösung: Es werden 300 mg NAD und 5 Units FDH (16,6 mg) für eine Konzentration von 0,5 U FDH/ml bzw. 10 Units FDH (33,3 mg) für eine Konzentration von 1,0 U FDH/ml auf 10 ml Phosphatpuffer gelöst. Beim Ansatz mit S9-Mix werden 15 Units bzw. 30 Units und 900 mg NAD in der Kofaktorenlösung eingesetzt.
- Glucoselösung: Etwa 600 ml warmes Wasser werden vorgelegt und 400 g Glucose unter Rühren dazugegeben. Der Ansatz wird unter Erwärmen gerührt bis die Glucose vollständig gelöst ist und nach dem Abkühlen mit Wasser auf 1 l aufgefüllt. Die Lösung wird 20 min bei 121 °C autoklaviert.
- Glucose-6-Phosphat-Lösung: 56,4 mg Glucose-6-Phosphat werden mit 1 ml Wasser gelöst.
- Histidin-Lösung (25 mM): 0,5 g Histidin wird in 100 ml Wasser gelöst und steril filtriert.
- Kaliumchlorid/Magnesiumchlorid-Lösung: 3,728 g Kaliumchlorid und 2,541 g Magnesiumchlorid werden mit Wasser auf 50 ml Wasser aufgefüllt und bei 4 °C gelagert.

- Kofaktorenlösung: 2,6 ml der Kaliumchlorid/Magnesiumchlorid-Lösung, 1 ml der Glucose-6-phosphat-Lösung, 4 ml der NADP-Lösung und 20 Phosphat-Puffer werden vereint, steril filtriert und kurz auf Eis gelagert.
- Kristallviolett-Lösung (0,1 %): 0,1 g Kristallviolett werden in 100 ml Wasser gelöst. Die Lösung wird bei 4 °C durch Alufolie vor Licht geschützt aufbewahrt.
- Master-Plates: 7,5 g Bacto-Agar und 455 ml Wasser werden gemischt und für 20 min bei 121 °C autoklaviert. Nach dem Abkühlen werden 20 ml der VBMM-Salzlösung, 25 ml Glucose-Lösung, 5 ml Histidin-Lösung und 3 ml Biotin-Lösung zugegeben.
- Methylglyoxal: Es werden 10 mg Methylglyoxal in 10 ml Wasser gelöst.
- Minimalagar: 7,5 g Bacto-Agar und 455 ml Wasser werden gemischt und für 20 min bei 121 °C autoklaviert. Nach dem Abkühlen werden 20 ml der VBMM-Salzlösung und 25 ml Glucose-Lösung zugesetzt.
- Mitomycin C: 2 mg Mitomycin C werden in 10 ml Wasser gelöst.
- NADP-Lösung: 122,4 mg NADP werden in 4 ml Wasser gelöst.
- Natriumazid: Es werden 2 mg Natriumazid in 10 ml Wasser gelöst.
- Natriumdihydrogenphosphat (0,2 M): Es werden 2,76 g Natrium-dihydrogenphosphat in 100 ml Wasser gelöst.
- Di-Natriumhydrogenphosphat (0,2 M): Es werden 14,1 g di-Natriumhydrogenphosphat in 500 ml Wasser gelöst.
- Nitrofluoren: 5 mg 2-Nitrofluoren werden in 10 ml DMSO gelöst.
- Nutrient-Agar-Platten: 7,5 g Bacto Agar und 12,5 g Nutrient Broth Oxoid werden in einer 500 ml-Kulturflasche angesetzt und 20 min bei 121 °C autoklaviert. Nach dem Abkühlen auf ca. 55 °C werden die Agarplatten unter der Sterilbank gegossen.
- Nutrient-Bouillon: Es werden 1,25 g Nutrient Broth Oxoid in einer Medienflasche in 50 ml Wasser gelöst. Die Bouillon wird bei 121 °C für 20 min autoklaviert. Es wird eine Sterilkontrolle von 50 ml mitgeführt.
- Phosphatpuffer: 60 ml 0,2 M Natrium-dihydrogenphosphat und 440 ml Di-Natriumhydrogenphosphat werden gemischt, auf pH 7,4 eingestellt, 20 min bei 121 °C autoklaviert und bei 4 °C aufbewahrt.
- S9-Mix (10 %): In einer sterilen Scott-Flasche wird der S9-Mix angesetzt und sofort auf Eis gestellt. 3,0 ml der aufgetauten S9-Fraktion, 20,7 ml der Kofaktorenlösung und 6,3 ml steriles Wasser werden zusammen gegeben und auf Eis gelagert.
- Tetracyclin-Lösung: 400 mg Tetracyclin und 50 ml einer 0,02 N Salzsäure werden vermischt und in 500 µl-Portionen bei –20 °C eingefroren.
- Top-Agar: 0,5 g Bacto-Agar und 0,5 g Natriumchlorid werden in 100 ml Wasser gelöst und 20 min bei 121 °C autoklaviert. Nach dem Abkühlen gibt man 10 ml der Biotin/Histidin-Lösung dazu.
- VBMM-Lösung (Vogel-Bonner-Medium): Es werden 670 ml erwärmtes Wasser vorgelegt und 5 g Magnesiumsulfat, 50 g Zitronensäure, 250 g di-Kaliumhydrogenphosphat und 87,5 g Natriumammoniumhydrogenphosphat einzeln unter Rühren darin gelöst. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser auf 1 l aufgefüllt. Die Lösung wird 20 min bei 121 °C autoklaviert.

Die verwendeten Teststämme TA 98, TA 100, TA 102 und TA 104 wurden von den Laboratorien von B.N. Ames bezogen (Biochemistry Department, University of California, Berkeley, CA 94720, U.S.A.).

3.2 Konzept zur Erfassung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe beim Umgang mit KSS

Die Erfassung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe am Arbeitsplatz beim Umgang mit konventionellen KSS und Schmierstoffen für die MMS stehen im Vordergrund der Untersuchungen. Diese Stoffe können in den KSS bereits enthalten sein oder bei der Bearbeitung freigesetzt werden. Desweiteren können sie durch mikrobiellen Abbau oder thermisch gebildete Reaktionsprodukte erst entstehen. Aufgrund der komplexen und variierenden Zusammensetzung der KSS, der unterschiedlichen Bearbeitungsprozesse und der jeweiligen mikrobiellen Verhältnisse kann das Spektrum der gesundheitsschädlichen Arbeitsstoffe sehr verschieden sein und sich auch während des Bearbeitungsprozesses verändern. Eine allumfassende Beurteilung der KSS sowohl als flüssige Probe als auch für die am Arbeitsplatz auftretenden KSS-Aerosole und –Dämpfe ist bislang nicht möglich, da keine analytische Methode die rasche Erfassung aller jeweils vorliegenden KSS-Einzelstoffe erlaubt. Es war daher nötig ein Konzept zu entwickeln (siehe Abb. 3.2.1), das über Screening-Methoden, Bestimmungsverfahren einiger chemischer Parameter und Anlagen zur Simulation thermischer Ereignisse eine Abschätzung des Gefahrenpotenzials ermöglicht. Die Ergebnisse können dann sinnvolle Messungen in Betrieben ermöglichen.

Im Bereich der analytisch-chemischen Untersuchungen wird zunächst in Emulsionen der Nitrit-Gehalt (nach TRGS 611 < 20 mg/l) und der pH-Wert (nach TRGS 611 pH-Abweichung nicht geringer als 0,5 der frischen Emulsion) als Marker für eine mögliche Nitrosamin-Bildung bestimmt. Weiterhin gibt die Keimzahl und der Formaldehyd-Gehalt (Formaldehyd als biozides Agens) eine Auskunft über den Zustand der Emulsion. Beim Bohren unter Einsatz wassermischbarer KSS werden Temperaturen bis ca. 450 °C an der Schneide erreicht [Schulte 2000]. Bei der MMS entstehen aufgrund des geringeren Wärmeleitkoeffizienten der Luft im Vergleich zum Wasser ca. 200 °C höhere Prozesstemperaturen [Schulte 2000]. Daher ist es wichtig, den Temperatureffekt auf den Schmierstoff mit Hilfe einer Modellanlage im Labormaßstab in diesem Temperaturbereich (offenes System) zu simulieren und analytisch-chemisch zu begleiten. Zugleich wurden damit Proben für das biologische Testsystem generiert. Desweiteren ist eine Entstehung von leichtflüchtigen Reaktionsprodukten zu überprüfen. Es war daher die Etablierung einer zweiten Modellanlage notwendig, die höhere Temperaturen berücksichtigt und geschlossen ist, damit geringe Mengen an Reaktionsprodukten noch nachzuweisen sind (geschlossenes System). Die erhaltenen

Informationen dienen als Grundlage zur Entwicklung von Probennahmeverfahren bestimmter Analyte in der Luft am Arbeitsplatz. Unabhängig davon wird die Summe an KSS-Aerosol und –Dampf in der Luft bestimmt, für die nach der TRGS 900 ein Grenzwert von 10 mg/m^3 festgelegt ist. Darüber hinaus wird die Bestimmung von Aldehyden in der Luft durchgeführt, die als mögliche Reaktionsprodukte auftreten können. Dazu gehört auch Formaldehyd, der als aktives biozides Agens durch die Formaldehyd abspaltenen Bioziden freigesetzt wird.

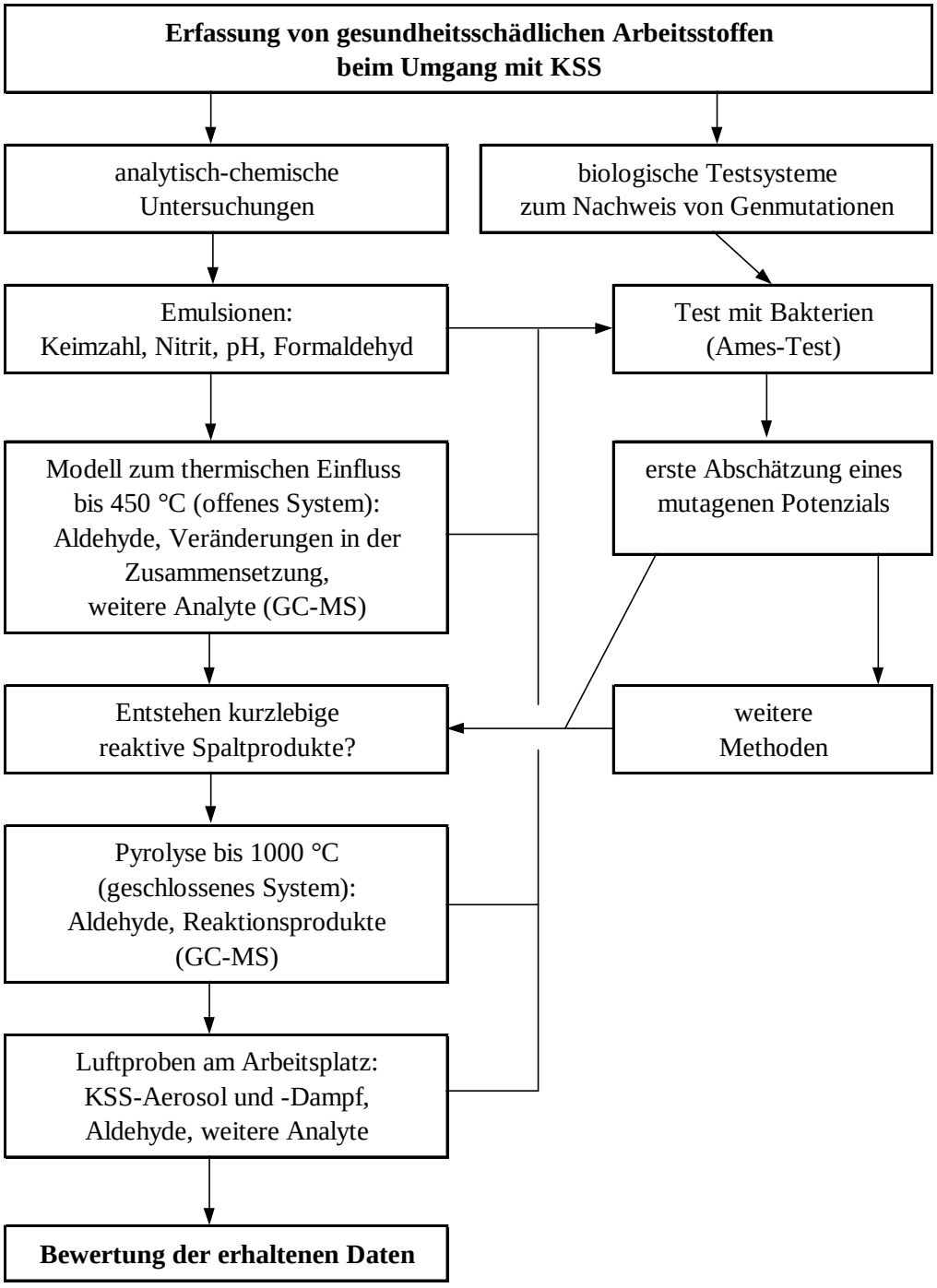


Abb. 3.2.1: Konzept zur Erfassung gesundheitsschädlicher Stoffe beim Umgang mit KSS

Im Bereich der biologischen Testsysteme wurde der Salmonella-Mutagenitätstest (Ames-Test) zum Nachweis von Genmutationen verwendet. Dieser ist ein Standard-Test bei der Bewertung von Chemikalien nach dem Chemikaliengesetz und ermöglicht eine erste Abschätzung des mutagenen Potenzials, das mit weiteren Methoden (z.B. Tests mit Säugetierzellen) abgesichert werden kann.
Die Ergebnisse von Einzeltests zur Erfassung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe stehen nicht im Vordergrund, da sie oft nur eine begrenzte Aussagefähigkeit haben. Erst nach umfassender Bearbeitung aller Parameter dieses Konzeptes ist eine Bewertung der erhaltenen Einzeldaten und eine daraus resultierende Schlussfolgerung möglich.
Für die Untersuchungen standen verschiedene Konzentrate der wassermischbaren KSS und Schmierstoffe der MMS sowie gebrauchte Emulsionen aus Bearbeitungszentren als Proben zur Verfügung. Dieses Material fand bei den Vesuchen zur technologischen Machbarkeit der MMS im Vergleich zur konventionellen Schmierung bei den Projektpartnern Verwendung.

3.3 Beschreibung der verwendeten analytisch-chemischen Messprinzipien

3.3.1 UV/VIS-Spektralphotometrie

Das Spektrum des sichtbaren Lichtes erstreckt sich von etwa 380 bis 750 nm (UV/VIS). Mit Hilfe von Prismen und Gittern ist es möglich, Licht mit einem schmalen Wellenlängen-Bereich, sog. monochromatisches Licht, zu erzeugen. Wird durch eine farbige Lösung Licht der Wellenlänge der Komplementärfarbe mit der Intensität I_o durchgeleitet, so schwächt sich die Intensität durch Absorption ab. Die Absorption ist mit einer Anregung von Elektronenübergängen verknüpft. Nach dem Lambert-Beer´schen-Gesetz kann nach Kalibrierung des Systems durch Messung der Absorption A der farbigen Lösung die Konzentration c bestimmt werden. Für das Lambert-Beer´sche Gesetz gilt:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d \qquad (3.3.1)$$

mit ε dem molaren Absorptionskoeffizienten und d der Schichtdicke der Probe.

Somit kann durch Farbreaktion eines Analyten dieser spektralphotometrisch bei einer definierten Wellenlänge in einer Lösung bestimmt werden. Ein Spektralphotometer besteht aus einer Lichtquelle, einem Monochromator, einem Probenraum und einem Detektor. In dieser Arbeit wurden Nitrit spektralphotometrisch als Azofarbstoff und Formaldehyd als Tetraazapentamethincyanin-Farbstoff bestimmt.

3.3.2 Infrarot-Spektroskopie (IR-Spektroskopie)

Die IR-Spektroskopie ist eine Routinemethode der optischen Spektroskopie, bei der Absorptionsspektren von anorganischen und organischen festen, flüssigen und gasförmigen Analyten im Bereich von Wellenlängen zwischen 0,8 bis 500 µm zur qualitativen und quantitativen Analyse und zur Konstitutionsermittlung herangezogen werden [Perkampus 1993]. Während Absorptionsspektren im UV/VIS-Wellenlängen-Bereich durch Anregung von äußeren Valenzelektronen zustande kommen, sind die IR-Spektren Schwingungsspektren in Molekülen. Durch Absorption von Lichtenergie im Bereich der IR-Strahlung werden in einem Molekül unterschiedliche mechanische Schwingungen von Atomen oder funktionellen Gruppen angeregt. Bedingung für die Anregung ist, dass mit der Schwingung eine periodische Änderung des Dipolmomentes des Moleküls verbunden ist. Stark polare Gruppen in einem Molekül ergeben deshalb besonders intensive Absorptionen. Die Grundschwingungen unterteilen sich in Valenzschwingungen, bei denen sich die Abstände der Atome in Bindungsrichtung ändern, und in verschiedene Arten von Deformationsschwingungen, die auf einer Änderung des Bindungswinkels beruhen. Aufgrund der unterschiedlichen Bindungen und Bindungsenergien absorbieren Strukturelemente (z.B. OH, C=O, CH, C=C, u.a.) in einem für sie typischen Energiebereich. So ergibt sich mit der IR-Spektroskopie die Möglichkeit, aus dem Spektrum Informationen über die Konstitution chemischer Verbindungen zu erhalten. Da das Lambert-Beer´sche-Gesetz (Gl. 3.3.1) auch für die IR-Spektroskopie gilt, kann die Absorption der verschiedenen Banden im Spektrum für eine quantitative Bestimmung einer Verbindung herangezogen werden.

Ein IR-Spektrometer besteht aus einer Strahlungsquelle, einem Monochromator, einer Küvette mit der zu untersuchenden Substanz und einem Detektor. Bei dem in dieser Arbeit verwendeten FT-IR-Spektrometer ist als Strahlungsquelle ein keramischer schwarzer Strahler enthalten. Als Küvettenfenster erwies sich KBr als geeignetes Material. Der Monochromator ist bei der Fourier-Transform-(FT)-Technik durch ein Interferometer ersetzt. Das erhaltene Interferogramm enthält die gesamte Strahlungsabsorption der Probe nach Wellenlänge und Intensität als Fourier-Summe aller Spektrallinien und wird durch eine Fourier-Transformation in ein Absorptionsspektrum in Abhängigkeit von der Wellenzahl umgerechnet. Vorteil dieser Methode sind ein besseres Auflösungsvermögen und ein höherer Energiefluss.

Mit der FT-IR-Technik wurde ein Verfahren zur Bestimmung von KSS-Aerosolen und –Dämpfen, für die gemäß TRGS 900 einen Grenzwert von 10 mg/m^3 existiert, etabliert und validiert. Dazu wurde die Absorption der C-H-Valenzschwingung im Wellenzahl-Bereich von 2800-3000 cm^{-1} gemessen.

Zudem wurde die Möglichkeit geprüft, inwieweit Reaktionsprodukte anhand des Auftretens bestimmter funktioneller Gruppen mit dem zugehörigen IR-Signal nachzuweisen sind.

3.3.3 Chromatographische Trennverfahren

Bei den chromatographischen Trennverfahren werden zur Stofftrennung zwei Phasen, eine mobile und eine stationäre, verwendet. Ein Gemisch verschiedener Analyte wird dabei mit der mobilen über die stationäre Phase bewegt. Aufgrund unterschiedlich starker Wechselwirkungen zwischen den Analyten und der stationären Phase werden die Komponenten eines Gemisches im Verlauf der Trennstrecke getrennt und mit Hilfe eines Detektors erfasst [Meyer 1996]. Die für die Trennung verantwortlichen physikalischen Vorgänge teilen die Chromatographie in die Adsorptions-Chromatographie (Verteilung erfolgt durch Adsorption an einem Feststoff) und Verteilungs-Chromatographie (Stofftrennung durch Lösevorgänge in zwei miteinander nicht mischbaren Phasen). Eine weitere Einteilung ermöglicht die Kombination der Phasenzustände fest, flüssig und gasförmig für die mobile und stationäre Phase. Das Detektorsignal wird als Funktion der Intensität über die Zeit als sog. Peak in einem Chromatogramm aufgezeichnet. Die Fläche des Peaks ist der Menge des Stoffes proportional. Als Retentionszeit wird die Zeit bezeichnet, die vom Einbringen der Probe in das Trennsystem bis zum Erscheinen des Stoffes im Detektor vergeht.

In dieser Arbeit wurde die Hochleistungsflüssig-Chromatographie in Verbindung mit einem UV/VIS-Detektor (HPLC-UV/VIS) und die Kapillar-Gaschromatographie gekoppelt mit einem Massenspektrometer (GC-MS) verwendet.

HPLC-UV/VIS

Bei der HPLC wird mit Hilfe von Pumpen die flüssige mobile Phase durch die Trennsäule gepumpt. In dieser Arbeit wurde die reversed-phase-Technik eingesetzt, d.h. die stationäre Phase (eine Umkehrphase mit C_{18}-Kohlenstoffketten) ist weniger polar als die mobile Phase (Gemisch aus H_2O, Acetonitril und Methanol). Als Detektor wurde ein UV/VIS-Spektralphotometer für die chromatographische Anwendung verwendet, das bei λ=365 nm für die Aldehyd-Bestimmung betrieben wurde.

GC-MS

Die GC-MS ist eine moderne leistungsfähige Methode zur Bestimmung einzelner Substanzen in komplexen Gemischen. Die Massenspektrometrie als Detektionsmethode liefert hierbei

Daten hoher Aussagekraft, die durch den direkten Nachweis der Substanzmoleküllionen oder ihrer Fragmente stammen. Die Dosierung der Probelösung wird in einem konstant beheizten Injektor vorgenommen. Abhängig vom teilweise oder vollständigen Transfer der Lösemittel- und Proben-Anteile in das Trennsystem werden die Betriebsweisen Split-Injektion und Totalaufgabe (spiltlos) unterschieden. Das Trägergas He transportiert das Substanzgemisch über die Kapillarsäule (DB-5MS mit 95 %-Dimethyl-5 %-Diphenyl-Polysiloxan als unpolare stationäre Phase [Hübschmann 1996]) zum Detektor. Der Detektor, eine Ionenfalle, ist eingerichtet für die Elektronenstoß-Ionisierung (EI) und die chemische Ionisierung (CI). Bei der EI werden in der Probe durch Beschuss mit hochenergenistischen Elektronen zunächst Molekülionen erzeugt, die anschließend weiter fragmentieren. Häufig ist das Molekülion nur in geringer Intensität vorhanden. Die CI ist eine Ionisierungstechnik, bei der mit Hilfe eines Reaktandgases und dessen Reaktand-Ionen meist einfach protonierte Molekülionen erzeugt werden.

3.3.4 Analytische Qualitätskriterien

Kalibrierfunktion

Die meisten instrumentellen Analysenmethoden sind Relativverfahren und müssen kalibriert werden, d.h. es muss der Zusammenhang zwischen einem detektierbaren Messsignal y und der Analytkonzentration c anhand bekannter Proben ermittelt werden [Otto 1995]. Die Abhängigkeit der Signalgröße von der Analytkonzentration wird durch die Kalibrierfunktion beschrieben. Besteht, wie oft der Fall, ein linearer Zusammenhang zwischen den beiden Größen, so kann diese dargestellt werden durch:

$$y = m \cdot c + a \qquad (3.3.2)$$

Die Steigung der Kalibriergeraden m (dy/dc) wird als Empfindlichkeit des Analysenverfahrens bezeichnet. Die Größe a entspricht dem Blindwertbeitrag, also dem Analysensignal, das sich bei der Durchführung des Verfahrens mit einer Analytkonzentration c =0 ergibt. Unbekannte Konzentrationen einer analysierten Probe können, wenn m und a bekannt sind, mit Gl. 3.3.2 ermittelt werden [Fifield 1990, Doerffel 1994].

Fehler

Bei analytischen Untersuchungen unterscheidet man zwischen statistischen und systematischen Fehlern. Statistische Fehler werden durch zufällige Gegebenheiten bei der Probenvorbereitung und der Analyse hervorgerufen und beeinflussen die Präzision der Analyse. Die Präzision wird bei einer Normalverteilung der Messwerte durch die absolute Standardabweichung σ wiedergegeben [Doerffel 1990].

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \tag{3.3.3}$$

mit $\bar{x}$ Mittelwert, x_i Wert der Probe und n Anzahl der Messungen

Wichtige analytische Qualitätskriterien sind die Präzision in der Serie von Wiederholungsmessungen und die Präzision von Tag-zu-Tag-Messungen.

Systematische Fehler bewirken eine gerichtete Verschiebung der Analysenergebnisse zu höheren bzw. tieferen Werten und bestimmen die Richtigkeit der Analyse [Doerffel 1990]. Solche Fehler sind schwer zu erkennen. Hier kann nur ein Vergleich der Ergebnisse mit denen unabhängiger Methoden Aufschluß bringen. Strategien zur Erkennung der Ursachen und zur Vermeidung von systematischen Fehlern sind beschrieben [Tschöpel 1980].

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze c_L eines Verfahrens ist die Konzentration, bei der mit einer statistischen Sicherheit von 99,86 % das erhaltene Signal y vom Untergrundsignal y_u unterschieden werden kann [Kaiser und Specker 1956]. Es gilt [Doerffel 1990]:

$$y - y_u = 3 \cdot \sigma \tag{3.3.4}$$

Die Nachweisgrenze hängt mit der Empfindlichkeit der Kalibrierfunktion zusammen. Wenn in der Nähe des Untergrundes das Rauschen des Signals σ_y und des Untergrundes σ_u gleich sind, so gilt für die Nachweisgrenze c_L:

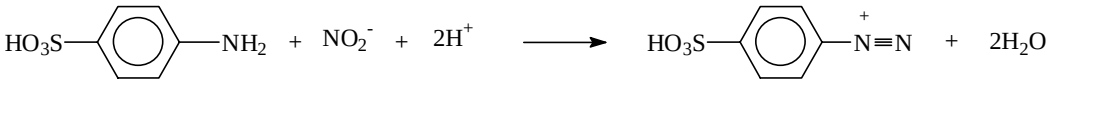
$$c_L = \left(\frac{dy}{dc}\right)^{-1} \cdot 3\sqrt{2}\sigma_u \tag{3.3.5}$$

Bei Blindwertbeiträgen verschlechtert sich die Nachweisgrenze. In einem solchen Fall wird die Nachweisgrenze nicht durch die Standardabweichung des Untergrundes, sondern durch die Standardabweichung des Blindwertes σ_B bestimmt.

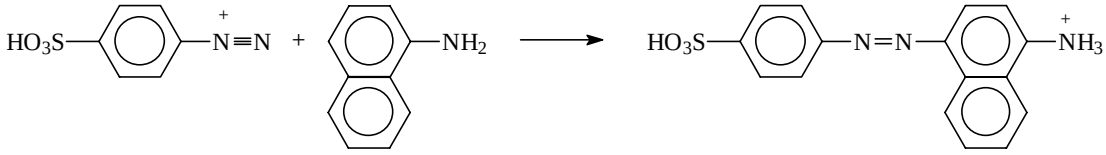
3.4 Bestimmung des Nitrit-Gehaltes in KSS-Emulsionen

Wie bereits in Kap. 2.4.4 beschrieben, dürfen in wassermischbaren KSS keine Nitrosierungsreagenzien oder deren Vorstufen, wie Nitrit, enthalten sein, die zur Bildung von N-Nitrosaminen führen können. So ist in der TRGS 611 der Nitrit-Gehalt in KSS-Emulsionen geregelt, der 20 mg/l nicht übersteigen darf. Bei einem Gehalt von 20 mg Nitrit/l Emulsion oder mehr, sollte eine Überprüfung des Nitrosamin-Gehaltes durchgeführt bzw. der KSS ausgetauscht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Nitrit-Gehalt von KSS-Emulsionen photometrisch mit Sulfanilsäure und 1-Naphthylamin bestimmt [BIA 1996]. Die Reaktionsgleichung ist im Folgenden dargestellt:



(3.4.1)



(3.4.2)

Zur Bestimmung wurden 5 ml der KSS-Emulsion in einen 100 ml-Kolben gegeben und mit jeweils 2 ml der $K_4[Fe(CN)_6]$-Lösung und Zn-Acetat-Lösung zur Fällung von Fe-Salzen versetzt. Es wird mit H_2O auf 100 ml aufgefüllt und kräftig geschüttelt. Nach 10 min wird filtriert und 10 ml des Eluates mit der Diazotierungslösung aus 1-Naphthylamin und Sulfanilsäure in einem 25 ml-Kolben aufgefüllt. Nach 30 min wird die rotgefärbte Lösung spektralphotometrisch bei λ=546 nm gemessen. Die Standardreihe zwischen 0,5 und 8,0 mg/l wird gleichermaßen vorbereitet. In Abb. 3.4.1 ist die Kalibrierfunktion aufgeführt. Es ergibt sich eine Nachweisgrenze von 0,9 mg/l. Der lineare Bereich der Kalibrierfunktion erstreckt sich über den betrachteten Konzentrationsbereich bis 8 mg/l. Die relative Standardabweichung der Wiederholungsmessungen (Präzision in der Serie) liegt bei einer Konzentration von 1,5 mg/l bei 4,2 % (n=5), die Präzision der Tag-zu-Tag-Messungen (ermittelt aus der Steigung der jeweiligen Kalibrierfunktionen) liegt bei 4,4 % (n=4).

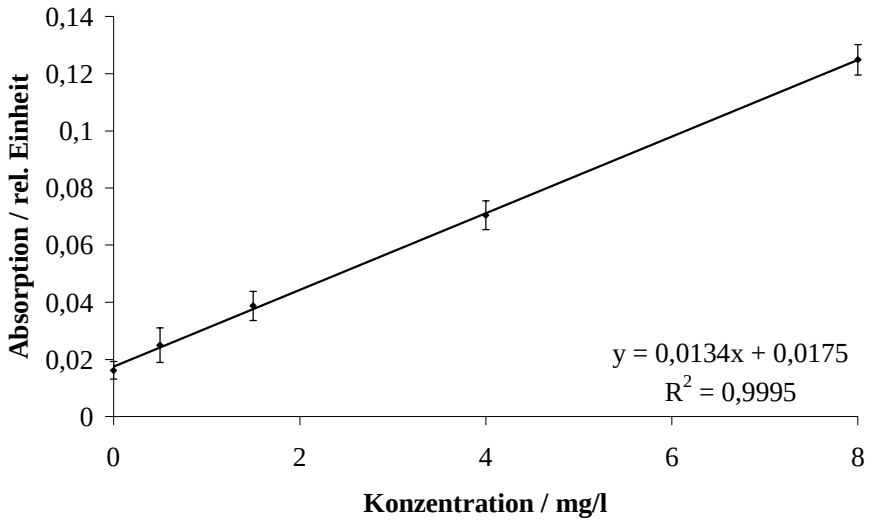


Abb. 3.4.1: Kalibrierfunktion für die Bestimmung von Nitrit in KSS-Emulsionen

3.5 Bestimmung von Aldehyden

3.5.1 Einführung

Wie bereits beschrieben, können Formaldehyd abspaltende Biozide in KSS-Emulsionen enthalten sein. Diese Verbindungen werden aus Formaldehyd und Alkoholen (O-Formale) bzw. Aminen (N-Formale) hergestellt. In einer Gleichgewichtsreaktion entsteht zunächst aus Formaldehyd und Alkohol bzw. Amin ein Halbformal, das in einem weiteren Schritt zum Formal reagiert, wie am Beispiel eines N-Formals gezeigt ist:

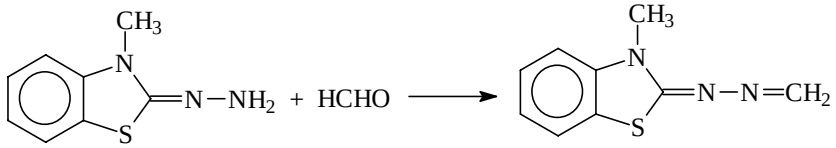
$$HCHO + R_2NH \rightleftharpoons \underset{\text{Halbaminal}}{R_2N-CH_2-OH} \overset{R_2NH}{\rightleftharpoons} \underset{\text{Aminal}}{R_2N-CH_2-NR_2} \qquad (3.5.1)$$

Die Konzentrationen sind im Gleichgewicht stark zu den Produkten hin verschoben. Aufgrund der Reversibilität steht deshalb in wässrigen Medien immer etwas Formaldehyd zur Verfügung. Durch Abreagieren des Formaldehyd verschiebt sich das Gleichgewicht in Richtung der Ausgangssubstanzen und es wird wieder Formaldehyd aus dem Halbaminal freigesetzt. Das Wirkungsprinzip der Formaldehyddepot-Verbindungen beruht auf der ständigen Neueinstellung dieses Gleichgewichtes [Anker 1993]. Die bekannteste Verbindung der N-Formale ist das aus Monoethanolamin (MEA) und Formaldehyd kondensierte N´,N´´,N´´´-Tris-(hydroxyethyl)-hexahydro-1,3,5-triazin (HHT). Da Formaldehyd als

mögliches Kanzerogen diskutiert wird und ein MAK-Wert von 370 µg/m^3 existiert, ist die Bestimmung von Formaldehyd in Emulsionen und in der Luft sinnvoll und wichtig.
Desweiteren können Aldehyde bei der Metallbearbeitung als Spaltprodukte des thermischen Abbaus von Kohlenwasserstoffen auftreten [ASF 1983]. Acrolein, das als möglicherweise kanzerogen beim Menschen eingestuft ist (MAK- und BAT-Werte-Liste III 3 B), wird bei der Verbrennung von Fettalkoholen als Reaktionsprodukt diskutiert [Hörner 1997]. Dabei können gerade bei der MMS aufgrund der höheren Prozesstemperaturen Aldehyde entstehen und in die Luft am Arbeitsplatz übergehen. So wurde zum einen der Gehalt an „freiem“ Formaldehyd in KSS-Emulsionen bestimmt, wie es von dem BIA zur Kontrolle von Emulsionen vorgeschlagen wird [BIA 1993]. Hierbei wird der aus einer Emulsion ausdampfende Formaldehyd ermittelt. Weiterhin sollen der in der Emulsion gebundene Formaldehyd sowie weitere Aldehyden in der Luft bestimmt werden.

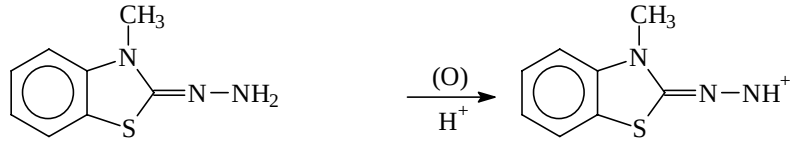
3.5.2 Bestimmung des „freien“ Formaldehyd-Gehaltes in KSS-Emulsionen

Aldehyde, hauptsächlich solche kurzkettiger aliphatischer Carbonsäuren, reagieren mit 3-Methyl-benzthiazolon-hydrazon (MBTH) in Gegenwart von Oxidationsmitteln zu blau gefärbten Tetraazapentamethincyanin-Farbstoffen [DFG 1975]. Die gemessene Absorption ist ein Maß für die Konzentration des jeweiligen Aldehyds. Die Methode eignet sich zur Spurenanalyse von Formaldehyd, da dieser unter den aufgeführten Reaktionsbedingungen die größte Farbtiefe hat. Die Reaktionsgleichung ist im Folgenden dargesellt [Veydelek 1969]:



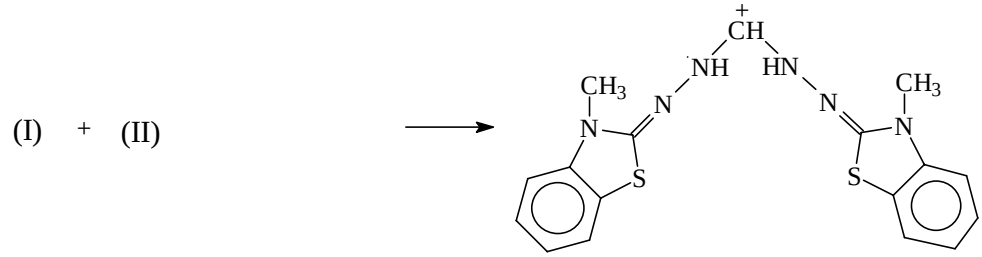
(3.5.2)

(I)



(3.5.3)

(II)



(3.5.4)

Zur Bestimmung des „freien“ Formaldehyds werden 10 ml KSS-Emulsion in einem 100 ml-Schlifferlenmeyerkolben vorgelegt und ein definierter N_2-Volumenstrom (2 l/min) für 20 min darüber geleitet. Damit wird die Luftbewegung, die auf die Emulsion im Arbeitsumfeld einer Maschine wirkt, simuliert und der ausdampfende Formaldehyd ermittelt. Der Luftstrom wird in eine mit 20 ml Wasser gefüllte Waschflache geführt. Von dieser Lösung werden 5 ml abgenommen und 5 ml MBTH-Lösung zugegeben. Das Gemisch wird für 1 h im Dunkeln gelagert. Anschließend werden 2 ml Oxidationslösung bestehend aus $FeCl_3$ und Amidoschwefelsäure zugeführt. Nach 20 min wird die blaugefärbte Lösung spektralphotometrisch bei λ=622 nm gemessen. Die Standardreihe zwischen 200 µg/l und 4 mg/l wird gleichermaßen vorbereitet. In Abb. 3.5.1 ist die Kalibrierfunktion aufgeführt. Es ergibt sich eine Nachweisgrenze von 117 µg „freier“ Formaldehyd, der aus 1 l einer Emulsion austritt und nachgewiesen werden kann. Die Kalibrierfunktion ist im betrachteten Konzentrationbereich linear. Die Präzision in der Serie liegt bei einer Konzentration von 2 mg/l bei 0,4 % (n=5), die Präzision der Tag-zu-Tag-Messungen (ermittelt aus den Steigungen der Kalibrierfunktion) liegt bei 8,1 % (n=3). Die Wiederfindungsrate wurde mit dem in Kap. 3.5.4 beschriebenen Aufbau ermittelt. Dazu wurden 10 ml Standardlösung vorgelegt und mit dem N_2-Strom bis zur Trockne in die mit Wasser gefüllte Waschflasche überführt. Die Wiederfindungsrate beträgt 94 ± 4 % (n=4).

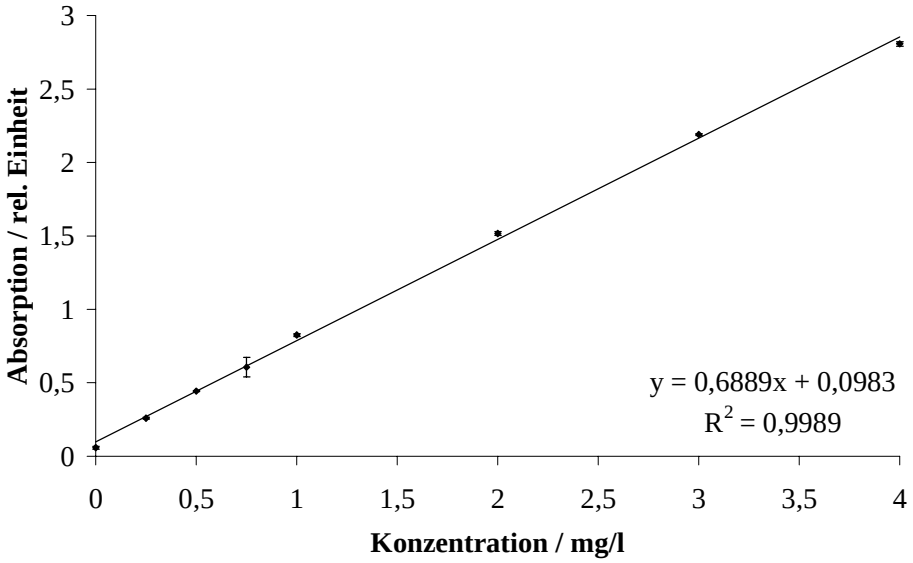
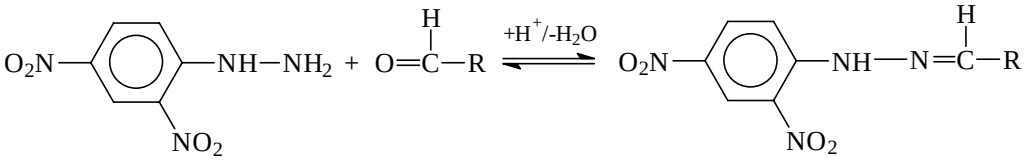


Abb. 3.5.1: Kalibrierfunktion für die Bestimmung von „freiem“ Formaldehyd in KSS-Emulsionen

3.5.3 Bestimmung von Formaldehyd in KSS-Emulsionen

Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Aldehyden und Ketonen ist 2,4-Dinitrophenylhydrazin (2,4-DNPH) ein vielfach eingesetztes Reagenz. Dabei werden die Analyte mit 2,4-DNPH zu Phenylhydrazonen umgesetzt:



(3.5.5)

Peschel beschreibt auf der Grundlage dieser Derivatisierung ein Verfahren zur Bestimmung von kurzkettigen Aldehyden in KSS-Emulsionen [Peschel 1997]. Dabei wird ein Aliquot der zu untersuchenden Emulsion in einem Überschuss der Reaktionslösung (2,4-DNPH in saurem Acetonitril) gegeben. Nach Einstellung des Reaktionsgleichgewichtes kann der Formaldehyd als Phenylhydrazon mit Hilfe der HPLC-UV/VIS von anderen Phenylhydrazonen getrennt und quantitativ bestimmt werden. Die Gleichgewichtskonstante für die Reaktion kurzkettiger Aldehyde mit 2,4-DNPH liegt zwischen $2 \cdot 10^5$ und $8 \cdot 10^5$ [Lowe 1981]. So empfehlen Rutten et al. zur quantitativen Bestimmung des Gesamtaldehyds einen 150-fachen Überschuss an 2,4-DNPH [Rutten 1988]. So wurden zu 50 µl Probe (KSS-Emulsion) 950 ml einer 3 g/l DNPH-Derivatisierungslösung gegeben. Bei der maximal aufgetretenen Konzentration an Formaldehyd ist ein 200-facher Überschuss an Reagenz vorhanden. Die Reaktionslösung wurde mit einem 10 %igen Anteil an konz. H_3PO_4 angesetzt. Der Ansatz wurde 1 h geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. In Untersuchungen mit Standard-Lösungen wurde die Derivatisierung zeitabhängig getestet. Dabei zeigte sich, dass nach 8 h die Gleichgewichtseinstellung beendet ist und das Formaldehyd-Signal konstant bleibt. In Abb. 3.5.2 ist die Kalibrierfunktion von wässrigen Standard-Lösungen aufgeführt. Die Funktion ist über den untersuchten Konzentrationsbereich linear. Als Nachweisgrenze ergab sich eine Konzentration von 2 mg/l. Die Präzision in der Serie liegt bei einer Konzentration von 100 mg/l bei 1,2 % (n=5), die Präzision der Tag-zu-Tag-Messungen bei 6,8 % (n=4). Anhand wässriger Testlösungen von 50 und 250 mg/l ergab sich jeweils eine Wiederfindungsrate von 95 ± 4 % (n=4).

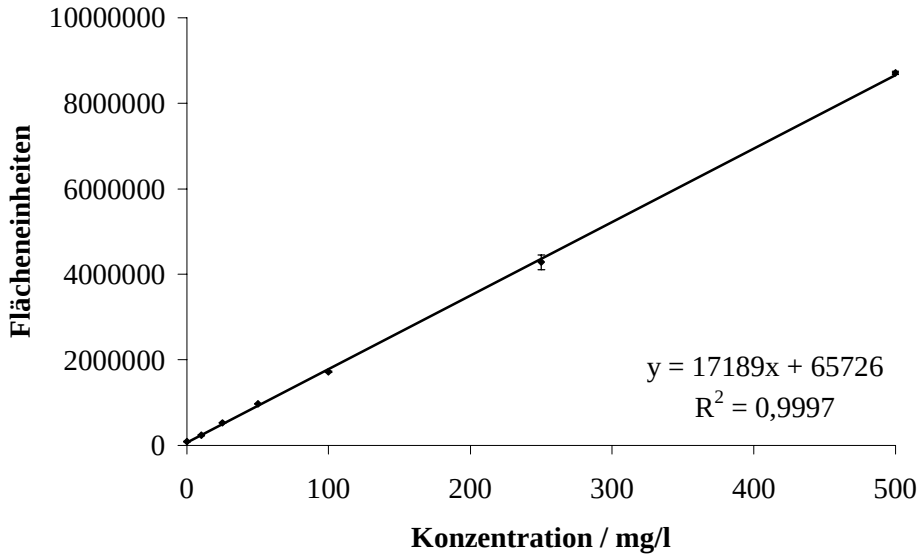


Abb. 3.5.2: Kalibrierfunktion für die Bestimmung von Formaldehyd in KSS-Emulsionen

Stationäre Phase: Kromasil 5C18, 20 °C
Mobile Phase: 52 % Methanol, 33 % H_2O, 15 % Acetonitril
Bedingungen: 15 min bei 0,8 ml/min (isokratisch)
Detektor: UV/VIS mit λ=365 nm, AUFS=0,08
Injektionsvolumen: 10 µl

Als Beeinflussungen der Formaldehyd-Bestimmung in KSS-Emulsionen sind Störungen durch Matrixbestandteile zu nennen. So sind in den Emulsionen Alkanolamine, z.B. Monoethanolamin (MEA), enthalten, die als direkt konkurrierendes Reagenz zu DNPH fungieren können.

$$HO{-}CH_2{-}CH_2{-}NH_2 \;+\; O{=}CH_2 \;\underset{+H_2O}{\overset{-H_2O}{\rightleftharpoons}}\; HO{-}CH_2{-}CH_2{-}N{=}CH_2 \qquad (3.5.6)$$

Damit wäre ein Teil des vorhandenen Formaldehyds nicht mehr frei, sondern in Form eines Adduktes mit MEA in den Emulsionen vorhanden. Auf der anderen Seite finden N-Formale als sog. Formaldehyddepot-Verbindungen in KSS breite Anwendung, deren Hydrolyse zu einer Erhöhung des Formaldehyd-Gehaltes in der Emulsion beitragen. Zur Klärung der Beeinflussung der Formaldehyd-Bestimmung durch die KSS-Bestandteile wurde zu 5 %igen Emulsionen der wassermischbaren Schmierstoffe KSS A, KSS B und KSS C eine bekannte Menge an Formaldehyd zugegeben und die Wiederfindung bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tab. 3.5.1 wiedergegeben.

Tab. 3.5.1: Beeinflussung von KSS-Inhaltsstoffen auf den Formaldehyd-Gehalt und die Wiederfindung in KSS-Emulsionen

	KSS A 2% Formaldehyd-depot-Verbdg. 4% MEA	KSS B 1% Formaldehyd-depot-Verbdg. 2% MEA	KSS C keine Formaldehyd-depot-Verbdg. MEA-Anteil unbekannt
Formaldehyd-Gehalt in der Emulsion	360,1 mg/l	194,5 mg/l	12,4 mg/l
Wiederfindungsrate:			
Zusatz von 20 mg/l	79 %	111 %	83 %
Zusatz von 50 mg/l	81 %	116 %	87 %
Zusatz von 100 mg/l	86 %	110 %	91 %

Es zeigt sich, dass in den Emulsionen der Schmierstoffe KSS A und KSS B, die ein Formaldehyd abspaltendes Biozid enthalten, ein höherer Formaldehyd-Gehalt nachweisbar ist, als in der Emulsion des Schmierstoffes KSS C, der kein solches Biozid enthält. Es werden Wiederfindungsraten für den Zusatz an Formaldehyd zwischen 79 und 116 % gefunden. Bei dem höheren MEA-Gehalt in KSS A ist die Wiederfindung des dotierten Formaldehyd geringer als in KSS B mit dem niedrigeren MEA-Gehalt. Allerdings ist die Wiederfindungsrate bei KSS B größer 100 %. Es zeigt sich somit, dass noch weitere Bestandteile der KSS die Formaldehyd-Bestimmung beeinflussen. Da die Standardabweichungen der Wiederfindungsrate für den jeweiligen Schmierstoff max. 5 % betragen, die Unterschiede zwischen den Schmierstoffen mit ca. 20 % weitaus größer sind, ist ein Einfluss von Schmierstoff-Komponenten auf die Formaldehyd-Bestimmung wahrscheinlich. Insgesamt ist mit einer großen Standardabweichung bei der Formaldehyd-Bestimmung in den KSS-Emulsionen zu rechnen, für eine Abschätzung des Formaldehyd-Gehaltes und der Erkennung von Tendenzen scheint diese Methode jedoch geeignet. Weitere Untersuchungen zur Beeinflussung des Hydrolysegleichgewichtes der Formaldehyddepot-Verbindungen bei der Formaldehyd-Bestimmung durch die Derivatisierung mit DNPH werden in Kap. 4.2.1.3 diskutiert.

3.5.4 Bestimmung von Aldehyden in der Luft

Da der KSS während des Produktionsprozeses intensiv umgewälzt wird, ist ein Austrag von flüchtigen Aldehyden aus der Emulsion möglich. Auch bei der MMS sollte das Auftreten von Aldheyden als mögliche Reaktionsprodukte in der Luft überprüft werden.

Zunächst wurde eine aktive Probennahme mit DNPH-imprägnierten Glasfaserfiltern untersucht. Diese Probennahme wies jedoch Standardabweichungen in der Serie um 10 % und Wiederfindungsraten nur bis zu 80 % auf. Zur Bestimmung der in der Luft in Arbeitsbereichen vorhandenen Aldehyde wurde somit mittels einer Probennahmepumpe ein definiertes Luftvolumen (in der Regel 8 l bei einem Fluss von 4 l/h) über Kartuschen gesaugt, die mit einem 2,4-DNPH imprägnierten Adsorberharz gefüllt sind. Die Aldehyde werden entsprechend der Gl. 3.5.5 zu Hydrazonen umgesetzt. Nach Elution mit Acetonitril erfolgt die quantitative und qualitative Bestimmung der Hydrazone mit Hilfe der HPLC-UV/VIS. Es wurde eine Methode zur Bestimmung von 12 Aldehyden (Formaldehyd, Acetaldehyd, Propionaldehyd, Butyraldehyd, Valeraldehyd, Capronaldehyd, Oenanthaldehyd, Caprylaldehyd, Pelargonaldehyd, Acrolein, Crotonaldehyd, Benzaldehyd) erarbeitet. Die bisherige DFG-Analyse [DFG 1995] erfasst 10 Aldehyde. Zur Optimierung der chromatographischen Bedingungen wurden zunächst die Hydrazone der entsprechenden Aldehyde synthetisiert [Organikum 1977].

Synthese der Phenylhydrazone als Vergleichsstandards

Zu 0,4 g 2,4-DNPH gibt man 2 ml konz. H_2SO_4 und anschließend unter Rühren tropfenweise 3 ml H_2O. Der warmen Lösung setzt man 10 ml 95 %igen Ethanol zu. Zur Herstellung des Phenylhydrazons wird zu dieser Lösung unter Rühren 1 ml einer 20 %igen ethanolischen Lösung des Aldehyds zugegeben. Das Hydrazon fällt nach 5 Minuten aus. Der Feststoff wird abgesaugt, in Ethanol umkristallisiert und die Schmelzpunkte kontrolliert [Organikum 1977].

Nach Anpassung der mobilen Phasen und des Gradienten ergaben sich die nachfolgend aufgeführten chromatographischen Bedingungen. In Abb. 3.5.3 ist das Chromatogramm der Bestimmung von 12 Aldehyden (Standardlösungen) in der Luft am Arbeitsplatz dargestellt.

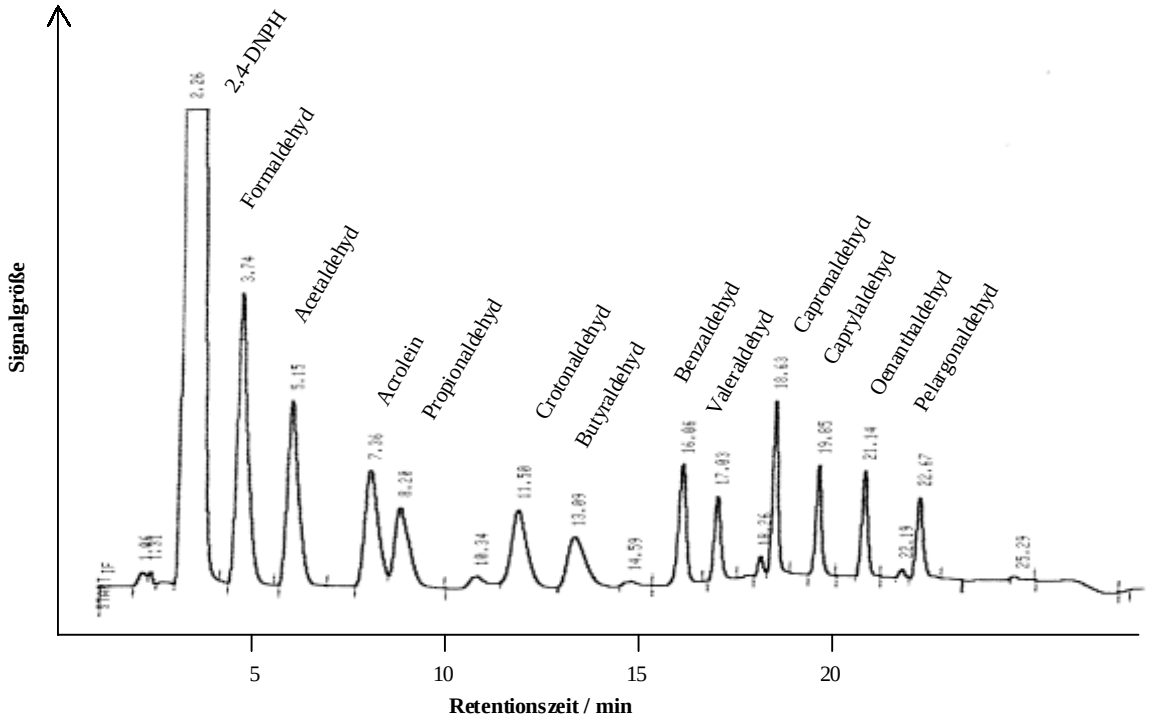


Abb. 3.5.3: Chromatogramm zur Aldehyd-Bestimmung in der Luft

Stationäre Phase: Kromasil 5C18, 20 °C
Mobile Phase: A 52 % Methanol, 33 % H_2O, 15 % Acetonitril
B 52 % Methanol, 8 % H_2O, 40 % Acetonitril
Gradient: 8 min A, auf 14 min linear zu 100 % B, bis 22 min B, bis 30 min A
Flussrate: 0,8 ml/min
Detektor: UV/VIS mit λ=365 nm, AUFS=0,08
Injektionsvolumen: 10 µl

Zur Bestimmung der Kalibrierfunktionen wurden 100 µl eines Mischstandards in den Konzentrationen von 10 bis 1000 µg/l der Aldehyde auf die DNPH-Kartusche pipettiert, nach 20 min mit 5 ml Acetonitril eluiert und mit Acetonitril auf 10 ml aufgefüllt. 10 µl des Eluates wurden mit der HPLC-UV/VIS bei λ=365 nm bestimmt. In Tab. 3.5.2 sind die Kalibrierfunktionen und die Nachweisgrenzen für die Bestimmung von 12 Aldehyden in der Luft bei einem Probennahmevolumen von 8 l (4 l/h) wiedergegeben. Die Kalibrierfunktionen sind in dem betrachteten Konzentrationsbereich linear. Die Präzision in der Serie liegt bei einer Konzentration von 250 µg/l für die 12 Aldehyde zwischen 0,5 und 1,3 % (n=4). Die Präzision der Tag-zu-Tag-Messungen (ermittelt aus den Steigungen der Kalibrierfunktionen) liegt bei einer Konzentration von 250 µg/l für die 12 Aldehyde zwischen 4,5 und 7,1 % (n=3).
Zur Erfassung der Wiederfindungsrate des Verfahrens wurden festgelegte Mengen (jeweils 250 µg/l) der einzelnen Aldehyde in einem Glaskolben verdampft und mit Hilfe einer

Probennahmenpumpe über die DNPH-Kartusche geleitet (Abb. 3.5.4), die wie oben beschrieben aufgearbeitet wurde. Um Kontaminationen von Aldehyden aus der Umgebungsluft auszuschließen, wurde der angesaugte Luftstrom vor dem Eintritt in den Glaskolben durch eine Waschflasche mit DNPH-Lösung geleitet. Die Wiederfindungsraten (n=3) sind in Tab. 3.5.2 wiedergegeben.

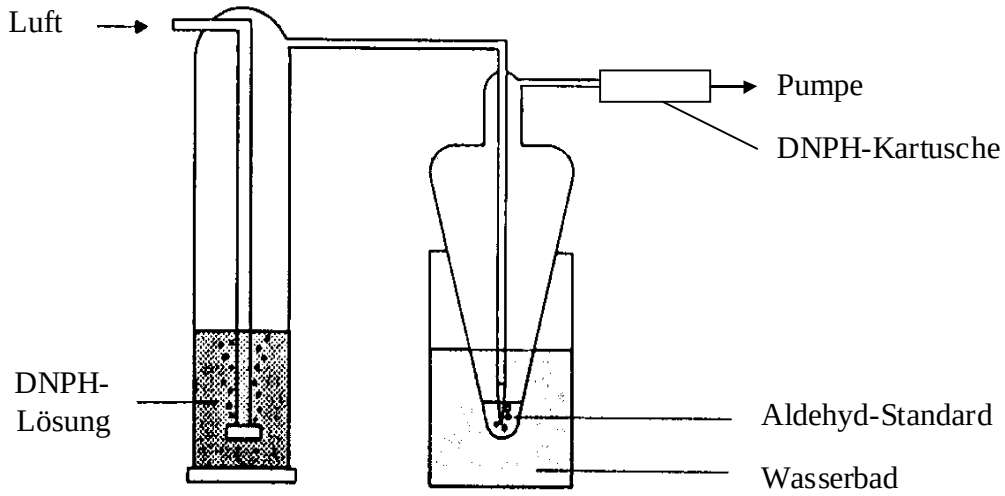


Abb. 3.5.4: Anlage zur Bestimmung der Wiederfindungsrate

Tab. 3.5.2: Analytische Güteziffern für die Bestimmung von Aldehyden in der Luft

	Empfindlichkeit in (Flächeneinheit · l)/µg	Nachweisgrenze in µg/m^3	Wiederfindungsrate in %
Formaldehyd	321,0	3,9	92
Acetaldehyd	240,6	5,2	94
Acrolein	123,3	10,2	89
Propionaldehyd	116,3	10,8	96
Crotonaldehyd	142,4	8,8	103
Butyraldehyd	113,8	11,0	92
Benzaldehyd	110,5	11,3	86
Valeraldehyd	70,8	17,7	84
Capronaldehyd	118,1	10,6	86
Oenanthaldehyd	79,9	15,7	85
Caprylaldehyd	80,1	15,6	86
Pelargonaldehyd	67,3	18,6	82

3.6 Bestimmung von leichtflüchtigen organischen Bestandteilen in der Luft

Aufgrund der erhöhten Prozesstemperaturen bei der MMS ist die Entstehung von Reaktionsprodukten möglich. Diese können in die Luft am Arbeitsplatz gelangen und von Personen im Umfeld der Maschine aufgenommen werden. Als Ergänzung zur Aldehyd-Bestimmung in der Luft wurde ein Verfahren etabliert, mit dem leichtflüchtige organische Reaktionsprodukte (gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aromaten, ...) in der Luft bestimmt werden können. Für die adsorptive Anreicherung von organischen Luftinhaltsstoffen werden feste Adsorbentien unterschiedlichster Art benutzt. Hier finden anorganische Adsorptionsmittel, Adsorptionsmittel auf Kohlenstoffbasis und poröse Polymere bzw. Polymerschäume Verwendung. Von Figge et al. sind allgemeine Aussagen und Vergleiche verschiedener Adsorptionsmittel in ihrem Verhalten und Eigenschaften gegenüber einer Vielzahl von organischen Luftinhaltsstoffen tabelliert worden [Figge 1987]. So weisen die Aktivkohlen ein allgemein gutes Adsorptionsvermögen auf und sind als universelle Adsorptionsmittel für polare und unpolare Substanzen einzusetzen. Ein weiterer Vorteil ist die gute Hitzebeständigkeit bis zu Temperaturen von 700 °C [Nunez 1984], da auch Probennahmen bei erhöhten Temperaturen im Bereich der Bearbeitungsstelle möglich sein sollten. Für die Probennahme sind aktive (mit Pumpen) und passive (ohne Pumpen) Techniken einsetzbar. Da nicht genügend Probennahmepumpen zur Verfügung standen, wurde eine passive Probennahme mit Diffusionssammlern ORSA-5 realisiert, die 400 mg Aktivkohle aus Kokosnussschalenkohle enthalten. Nach entsprechender Probennahmezeit wurde die Aktivkohle in ein 4 ml-Glasvial überführt und mit 2 ml CS_2 für 1 h geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Von dem Eluat wurde 1 µl mit Hilfe der GC-MS auf leichtflüchtige organische Bestandteile untersucht.

Die Nachweisgrenze der Bestimmung von Toluol in CS_2 wurde mit Hilfe der GC-MS bei Auswertung der Masse 91 auf 75 µg/l bestimmt. Die Desorptionsausbeute wurde experimentell bestimmt und beträgt 91,7 %.

Die Nachweisgrenze für die Bestimmung von leichtflüchtigen organischen Bestandteilen in der Luft kann mit Hilfe der Diffusionsrate einiger Stoffe für ORSA-5-Röhrchen abgeschätzt werden. Auf der Grundlage der Nachweisgrenze für die Bestimmung von Toluol in CS_2 von 75 µg/l muss bei dem Elutionsvolumen von 2 ml CS_2 und einer Desorptionsrate von 91,7 % einer Substanz von dem ORSA-Röhrchen mindestens eine Substanzmenge von 164 ng auf der Aktivkohle des ORSA-Röhrchens vorhanden sein, damit diese mit der GC-MS noch nachgewiesen werden kann. Die Diffusionsrate vieler leichtflüchtiger organischer Stoffe für

ORSA-Röhrchen liegt zwischen 1 und 2 µg/(ml·m^{-3}·h) [Pannwitz 1983]. Bei einer Probennahmezeit von 6 h, wie sie in der Regel vorgenommen wurde, ergibt sich eine Diffusionsrate von 6000 bis 12000 ng/(ml/m^3). Damit eine Substanzmenge von 164 ng innerhalb von 6 h in das ORSA-5-Röhrchen diffundieren kann, muss die Umgebungsluft eine Konzentration der leichtflüchtigen Substanz zwischen 0,030 und 0,015 ml/m^3 (ppm) enthalten. Diese Konzentration liegt deutlich unterhalb vieler MAK-Werte. Die passive Probennahme mit ORSA-5-Röhrchen mit einer Probennahmezeit von 6 h ist damit für die Bestimmung leichtflüchtiger organischer Verbindungen eine geeignete Methode.

3.7 Bestimmung von KSS-Aerosol und –Dampf

KSS können am Arbeitsplatz als Dampf und Aerosol in die Luft gelangen und vom Organismus aufgenommen werden. Daher ist die messtechnische Überwachung der KSS-Emissionen am Arbeitsplatz notwendig. Zudem gibt es seit 1996 einen Luftgrenzwert von 10 mg/m^3 für wassermischbare und nicht-wassermischbare KSS mit einem Flammpunkt größer 100 °C. Der Grenzwert gilt für die Summe aus Aerosol und Dampf gemessen als einatembarer Aerosolanteil E, der in Abb. 3.7.1 näher charakterisiert ist.

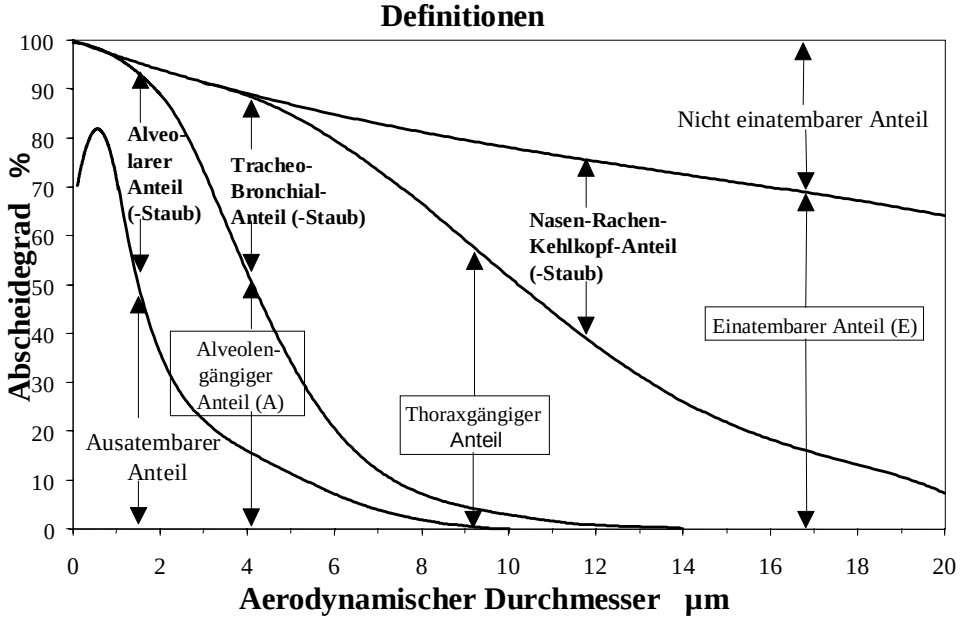


Abb. 3.7.1: Definition der Aerosolanteile in Abhängigkeit vom aerodynamischen Durchmesser [MAK- und BAT-Werte-Liste 2000]

Von dem im Atembereich insgesamt vorhandenen Partikel wird nur ein Teil eingeatmet. Dieser wird als einatembarer Anteil bezeichnet und ist abhängig vom Durchmesser der Partikel. Ein Teil ist thoraxgängig, ein noch kleinerer Teil alveolargängig, ein Teil wird wiederum ausgeatmet. Für KSS-Dämpfe und -Aerosole ist bei der DFG ein luftanalytisches Verfahren beschrieben [DFG 1994].

Beschreibung des Probennahmesystems und der Probennahme

Bei diesem Verfahren wird mit Hilfe eines GGP-Probennahmekopfes (Gesamtstaub-Gasprobennahme an der Person), der den einatembaren Anteil in der Luft erfasst, ein definiertes Luftvolumen von 420 l in 2 h angesaugt. Der Probennahmekopf ist so gestaltet, dass bei einem Volumenstrom von 3,5 l/min am Ansaugstutzen eine Ansauggeschwindigkeit von 1,25 m/s entsprechend der Atemgeschwindigkeit herrscht. Der Probennahmekopf enthält einen bindemittelfreien Glasfaserfilter (d=3,7 cm) zur Abscheidung des Aerosols und eine Adsorberkartusche, die mit 2,0 g XAD-2-Polymerharz zur Sammlung des KSS-Dampfes befüllt wird (Abb. 3.7.2). Das XAD-2-Harz wird aus Styrol-Divinylbenzol-Copolymeren gebildet und hat eine spezifische Oberfläche von ca. 300 m^2/g und einen mittleren Porendurchmesser von 850 bis 900 nm [DFG 2000].

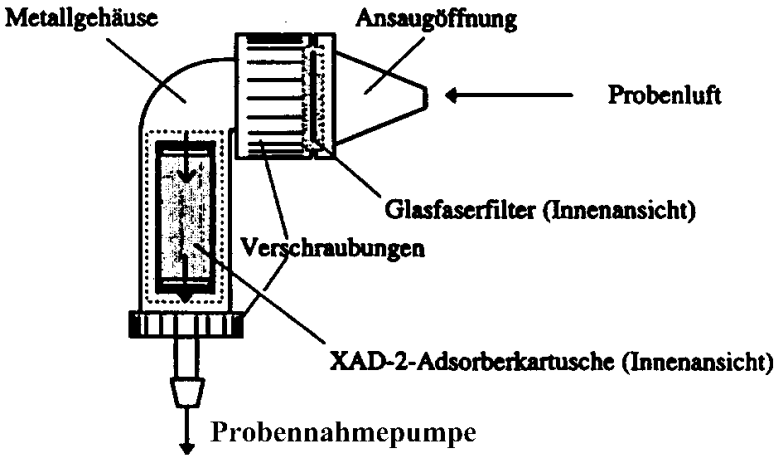


Abb. 3.7.2: GGP-Probennahmesystem

In der Literatur [DFG 2000, Famulok 1995] wird eine aufwendige Reinigung des XAD-2-Harzes empfohlen. Zur Reduzierung der Blindwertbeiträge, die das Adsorbermaterial aufweist, wurde das Harz zweimal für jeweils 8 h mit Tetrachlorethylen in einer Soxhlett-Apparatur extrahiert. Trotzdem zeigte das Material nach der Behandlung weiterhin wechselnde Blindwertbeiträge. So konnte in dieser Arbeit erstmals ein firmenseitig

aufgereinigtes XAD-2-Material verwendet werden, das keine Blindwerteinflüssen mehr zeigt und ohne Aufreinigung verwendet werden konnte. Nach der Probennahme werden die Probenträger mit speziellen Klappen verschlossen und bis zur Aufarbeitung bei Raumtemperatur gelagert. Eine Lagerung ist bis zu 10 Tage möglich [BIA 1996]. Die in dieser Arbeit beaufschlagten Probenträger wurden nach spätestens 24 h aufgearbeitet.

Aufarbeitung und Bestimmung

Die Probenträger wurden jeweils mit 10 ml Tetrachlorethylen 2 h geschüttelt und die Lösung IR-spektroskopisch im Wellenzahlen-Bereich der C-H-Valenzschwingung aliphatischer Verbindungen (υ=2800-3000 cm^{-1}) in einer KBr-Küvette (12 mm-Schichtdicke) bei 2 cm^{-1} Auflösung und 16-facher Spektrenaddition bestimmt. Tetrachlorethylen ist als Lösemittel sinnvoll, da es keine C-H-Bindungen aufweist und somit das Untergrundsignal bei der Bestimmung nicht zusätzlich beeinflusst. Das Distanzstück der KBr-Küvette (12mm) wurde aus Teflon speziell angefertigt und enthält eine 2 ml-Probenkammer. KBr wurde als Fenstermaterial ausgewählt, da dieses Material im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Verfahren verwendeten Quarz-Küvetten eine hohe IR-Durchlässigkeit aufweist und so eine Auswertung weiterer Schwingungsbanden (z.B. Aldehyde) möglich wird. Die Methode ist nicht spezifisch für KSS, da viele organischen Substanzen über aliphatische CH-Gruppen verfügen. Während der Probennahme ist daher sicherzustellen, dass weitere Emissionsquellen wie Lösemittel- oder Kraftstoffdämpfe im Arbeitsbereich nicht auftreten und zu einer systematischen Verfälschung der Messergebnisse führen.

Kalibrierung

Aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzungen der KSS ist es zur Kalibrierung notwendig, Lösungen der jeweils eingesetzten Schmierstoffe am Arbeitsplatz zu verwenden. So wurden Kalibrierfunktionen von 5 wassermischbare KSS und 8 Ölen für die MMS für die Bestimmung dieser KSS in der Luft ermittelt. Dazu wurden Standardlösungen durch gravimetrische Messung zwischen 5 und 150 mg/l erzeugt und die Absorption der C-H-Valenzschwingung im Wellenzahl-Bereich zwischen 2800 und 3000 cm^{-1} gemessen. Die Kalibrierfunktionen verlaufen im angegeben Konzentrationsbereich linear. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen 78 und 150 $\mu g/m^3$ (3,3 bis 6,3 mg/l) für die wassermisch-baren KSS und zwischen 60 und 93 $\mu g/m^3$ (2,5 bis 3,9 mg/l) für die Schmierstoffe der MMS. Die Präzision in der Serie liegt bei einer Konzentration von 60 mg/l für die Schmierstoffe zwischen 0,1 und 0,5 % (n=5), die Präzision der Tag-zu-Tag-Messungen bei dieser

Konzentration liegt zwischen 4,2 und 5,5 % (n=3). In Abb. 3.7.3 sind Kalibrierfunktionen von 3 wassermischbaren KSS mit einem unterschiedlichen Mineralöl-anteil dargestellt. Entsprechend des Mineralölanteils steigt die Empfindlichkeit der Kalibierfunktion.

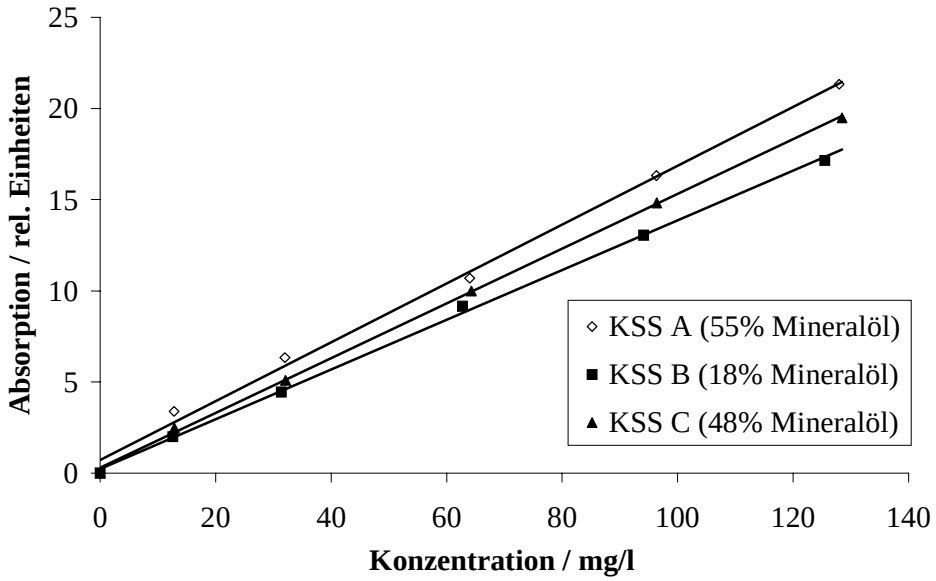


Abb. 3.7.3: Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von 3 wassermischbaren KSS in der Luft

Desorptionsrate

Zur Bestimmung der Desorptionsrate der KSS-Aerosole und -Dämpfe von den Probenträgern des GGP-Probennahmesystems wurden 100, 500 und 1000 µl einer 1 g/l-Stammlösung der Schmierstoffe auf den Glasfaserfilter (KSS-Aerosol) bzw. das XAD-Harz (KSS-Dampf) gegeben. Anschließend wurde jeweils mit 10 ml Tetrachlorethylen für 2 h geschüttelt und IR-spektroskopisch die C-H-Valenzschwingung gemessen. In Tab. 3.7.1 sind die Desorptions-raten für verschiedene Konzentrationen und Schmierstoffsorten wiedergegeben.

Tab. 3.7.1: Desorptionsraten verschiedener Schmierstoffsorten in %

	50 mg/l		100mg/l	
	Filter	Harz	Filter	Harz
wassermischbare KSS (n=3)	89 ± 6	91 ± 4	90 ± 5	89 ± 3
Schmierstoffe für die MMS (n=3)	105 ± 4	101 ± 3	104 ± 5	97 ± 2

So zeigen die Schmierstoffe für die MMS in allen untersuchten Konzentrationsbereichen gute Desorptionsraten um 100 %. Die Desorptionsraten für die wassermischbaren KSS liegen niedriger.

Wiederfindungsrate

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate des Verfahrens wurden Filter und Adsorberharz jeweils mit 500 µl und 1000 µl der 1 g/l-Stammlösung beaufschlagt und für 2 h im GGP-Probennahmekopf einem Volumenstrom von 3,5 l/min N_2 ausgesetzt und anschließend, wie zuvor beschrieben, aufgearbeitet. In Tab. 3.7.2 sind die Ergebnisse wiedergegeben.

Tab. 3.7.2: Wiederfindungsraten verschiedener Schmierstoffsorten in %

	50 mg/l		100mg/l	
	Filter	Harz	Filter	Harz
wassermischbare KSS (n=3)	95 ± 3	101 ± 6	89 ± 5	88 ± 7
Schmierstoffe für die MMS (n=3)	97 ± 5	96 ± 5	94 ± 6	92 ± 8

Die Wiederfindungsraten sind im Vergleich zur Desorptionsrate für die wassermischbaren KSS leicht höher, für die Schmierstoffe der MMS etwas niedriger. Die Abweichungen liegen jedoch im Bereich der jeweiligen Standardabweichungen. Es ist davon auszugehen, dass ein Volumenstrom von 3,5 l/min nicht zu einem Verlust von KSS-Aerosol und –Dampf von den Probenträgern führt.

Zusätzlich wurden die Wiederfindungsraten für den wassermischbaren Schmierstoff KSS A vom XAD-Harz bei verschiedenen Volumenströmen der Probennahmepumpe überprüft.

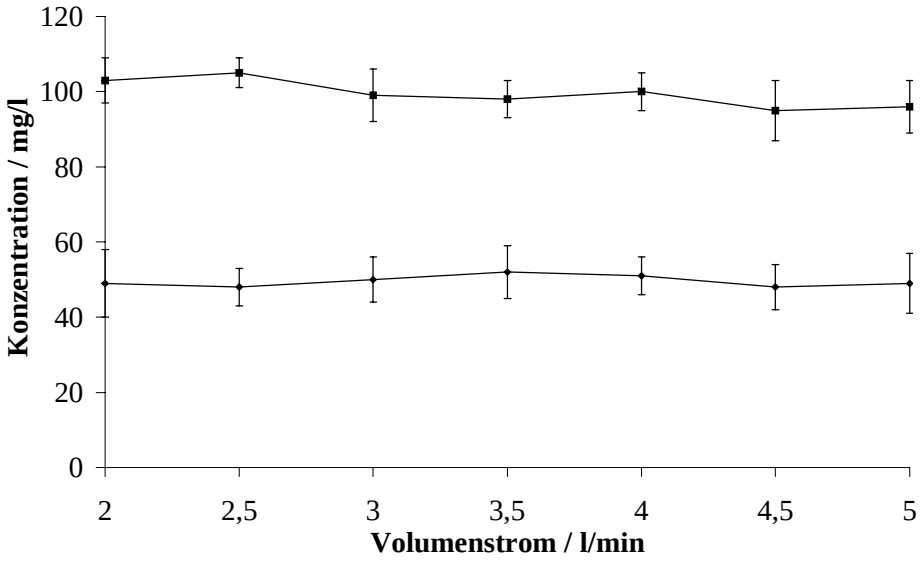


Abb. 3.7.4: Abhängigkeit der Wiederfindungsrate von KSS A vom XAD-Harz vom Volumenstrom

Aus Abb. 3.7.4 wird ersichtlich, dass sich für Volumenströme zwischen 2 und 5 l/min für die untersuchten Konzentrationen eine konstante Wiederfindung über den gesamten Bereich ergibt und so Schwankungen des Volumenstroms während der Probennahme keine Einflüsse auf das Analysenergebnis haben.

Hier zeigen sich die in der Literatur beschriebenen Vorteile des XAD-2-Harzes gegenüber anderen Adsorbentien. So wird von der konstanten Wiederfindung über große Konzentrationsbereich, dem vernachlässigbaren Einfluss der Luftfeuchtigkeit, der verlustfreien Lagerfähigkeit der Probenträger bei einer Lagerung bis 10 Tage und der hohen Kapazität der Sammelphase bis zu Konzentrationen von 150 mg/m^3 Luft berichtet [Famulok 1995].

3.8 Screening-Methode für Aldehyde mit der FT-IR

Die IR-Spektroskopie bietet die Möglichkeit durch das Auftreten oder das Fehlen von bestimmten Schwingungsbanden Aussagen über die Zusammensetzung einer Probe zu treffen. Es sollte daher überprüft werden, inwieweit ein Screening von Reaktionsprodukten im Zusammenhang mit der IR-spektroskopischen Bestimmung des KSS-Aerosols und –Dampfes integriert werden kann. Dieses Verfahren wäre somit auch anwendbar für die Probennahme an thermischen Simulationsanlagen oder für extrahierte KSS-Emulsionen.

So wurde zunächst modellhaft für die Aldehyde die Möglichkeit eines Screenings überprüft. Es wurden für Propionaldehyd, Butyraldehyd, Pelargonaldehyd und Benzaldehyd Standardlösungen zwischen 10 und 100 mg/l in Tetrachlorethylen im Bereich der C=O-Schwingungsbande (υ=1750-10 cm^{-1} ist die C=O-Valenz-Schwingung und υ=2720-2820 cm^{-1} ist die OC-H-Valenzschwingung) gemessen. Es wurde eine Küvettenstärke von 1 mm statt 12 mm gewählt, da es ansonsten in diesem Wellenzahlen-Bereich Problemen bei der Spektrensubtraktion aufgrund des Untergrundsignals des Lösemittels gibt. Die Kalibrierfunktionen der Aldehyd-Bestimmung verlaufen in dem untersuchten Konzentrations-bereich nach den jeweiligen Auswertebanden linear. In Tab. 3.8.1 sind die Steigungen der Kalibrierfunktionen bezogen auf die jeweiligen Substanzen in der Einheit (Absorption · l)/mg und bezogen auf die Carbonylgruppe in der Einheit (Absorption · l)/mmol vergleichend aufgeführt.

Tab. 3.8.1: Steigungen der Kalbrierfunktionen der Aldehyd-Bestimmung mit Hilfe der FT-IR

Auswertung in cm^{-1}	Einheit	Propion-aldehyd	Butyr-aldehyd	Pelargon-aldehyd	Benz-aldehyd
1750	(Abs · l)/mg	0,0039	0,0028	0,0028	0,0081
1750	(Abs · l)mmol	0,2243	0,2035	0,3980	0,8550
2750	(Abs · l)/mg	0,0015	0,0012	0,0010	0,0010
2750	(Abs · l)mmol	0,0896	0,0860	0,1477	0,1081

Abs = Absorption

Tab. 3.8.2: Steigungen der Kalibrierfunktion in (Absorption · l)/mg (υ=1750 cm^{-1}) mit und ohne KSS

	Butyraldehyd	Benzaldehyd
ohne KSS	0,0028	0,0081
mit 0,5 % KSS A	0,0021	0,0071
mit 1 % KSS A	0,00019	0,0069

Es wird deutlich, dass die Steigungen der Kalibrierfunktionen bei den verschiedenen Auswertebanden sehr stark schwanken. Für ein Screening des Gesamtaldehyd-Gehaltes ohne Kenntnis der einzelnen Aldehyde ist eine einheitliche Steigung der Kalibrierfunktionen bezogen auf die jeweilige Substanz-Konzentration (mg/l) oder bezogen auf die Konzentration der Carbonylgruppen (mmol/l) notwendige Voraussetzung. Diese Voraussetzung ist, wie in Tab. 3.8.1 gezeigt, nicht erfüllt. Durch den Zusatz von KSS (Tab. 3.8.2) nehmen die Steigungen der Kalibrierfunktionen zudem ab, so dass für unterschiedliche KSS-Konzentrationen auch unterschiedliche Kalibrierfunktionen für die Bestimmung der Aldehyde existieren und somit eine weitere Fehlerquelle entsteht. Weiterhin müssen Blindwerteinflüsse bekannt sein und zuvor abgezogen werden, so z.B. Störungen bei vorhandenen Estern im Bereich 1750 cm^{-1}. Die Nachweisgrenzen mit 5 bis 18 mg/l sind zudem sehr hoch, so dass die HPLC-Methode für die Bestimmung von Aldehyden in der Luft das Nachweis stärkere Verfahren darstellt. Das Screening von Aldehyden in der Luft im Zusammenhang mit der Probennahme für KSS-Aerosole und -Dämpfe ist daher mit diesem Verfahren nicht möglich. Trotzdem kann eine qualitative Veränderung des KSS in der Veränderung des Bandenmusters erkannt werden. So wurden Proben aus der thermischen Simulationsanlage (offenes System) und extrahierte Emulsionen mit Hilfe der IR-Spektroskopie untersucht.

3.9 Entwicklung von Modellen zum thermischen Einfluss auf KSS

Die Simulation der thermischen Effekte auf den KSS beim Bearbeitungsprozess wird mit Hilfe von zwei Modellsystemen im Labormaßstab durchgeführt, die zu diesem Zweck im Eigenbau gefertigt wurden. Bei dem sog. offenen System (Abb. 3.9.1) wird mit Hilfe eines Zerstäubers ein Schmierstoff-Aerosol erzeugt, das über eine Heizstrecke zu einer Probennahmeeinrichtung geführt wird. Die Heizstrecke soll Temperaturprozesse und mögliche chemische Reaktionen an der Zerspanstelle simulieren. Damit die Konzentration an Analyten möglichst hoch ist, wurde der KSS-Rauch in eine Glocke geleitet, in der sich die Probennahmeinrichtungen befinden.

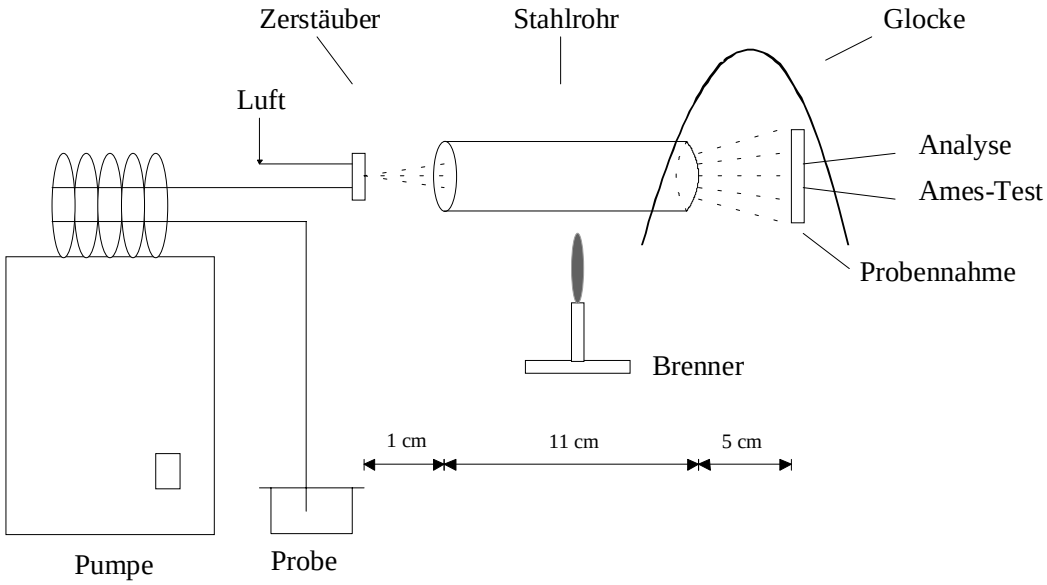


Abb. 3.9.1: Modellsystem zum thermischen Einfluss auf KSS (offenes System)

Die Temperaturverteilung des punktuell geheizten Stahlrohres aus dem Vergütungsstahl Ck 45 (11 cm Länge) wurde mit einem Ni-Cr-Ni-Thermoelement ermittelt und ist in Abb. 3.9.2 dargestellt. Demnach wird das Aerosol kontinuierlich bis 450 °C aufgeheizt. Es entstand in der Regel bei einer Flussrate von 0,2 ml Schmierstoff/min eine starke Rauchentwicklung.

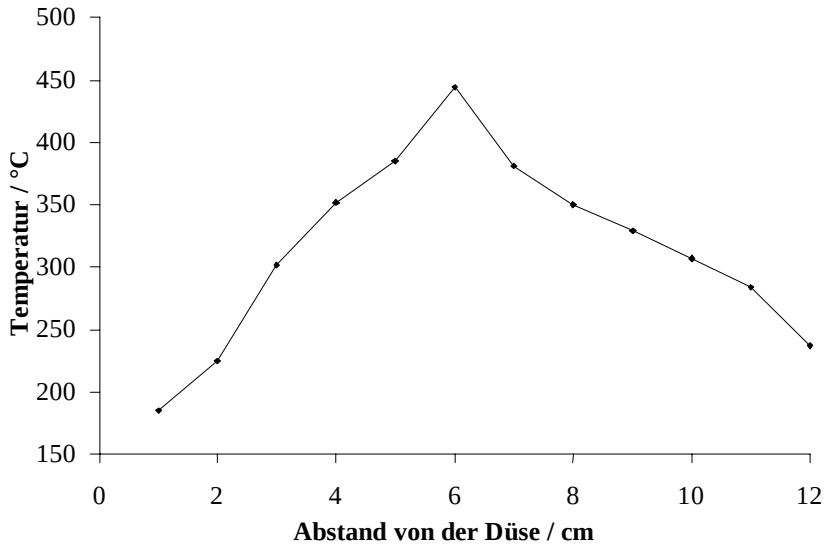


Abb. 3.9.2: Temperaturverlauf in der Heizstrecke des offenen Systems

Zur Probennahme wurden DNPH-Kartuschen zur Bestimmung von Aldehyden und Aktivkohle-Röhrchen zur Bestimmung leichtflüchtiger organischer Substanzen aus der Luft verwendet. Weiterhin wurde der GGP-Probennahmekopf mit Glasfaserfilter und XAD-2-Harz eingesetzt. Die Extrakte von den Glasfaserfiltern und dem Adsorberharz wurden zur Bestimmung von Reaktionsprodukten mit Hilfe der GC-MS und der IR-Spektroskopie untersucht und als Probenmaterial für den Salmonella-Mutagenitätstest verwendet.
Da das offene System aufgrund seiner Konstruktion für große Probenmengen ausgelegt ist und leichtflüchtige Reaktionsprodukte mit dieser Probennahme nur unzulänglich erfasst werden, war ein sog. geschlossenes System (Abb. 3.9.3) notwendig. Die Schmierstoff-Probe wird in eine heizbare Probenkammer aus Quarz geschleust. Dort können Metallspäne eingebracht werden, um auch katalytische Effekte des Werkstückmaterials zu berücksichtigen. Als maximale Temperatur sind 1000 °C einstellbar. Über einen Luftstrom werden die Reaktionsprodukte zu einem Adsorptionsmaterial transportiert, dort gebunden, aufgearbeitet und mit Hilfe der GC-MS untersucht. Da dieses System zur Bestimmung von leichtflüchtigen Reaktionsprodukten dient, sollten Adsorptionen von Analyten an den Gefäßwänden vermieden werden. Besonders ist auf die Transferstrecke zwischen Probenkammer und Adsorbermaterial hinzuweisen, bei der es zu keinen Kondensationen kommen sollte. Daher wurde die gesamte Strecke mit einer Heizwendel von außen beheizt.

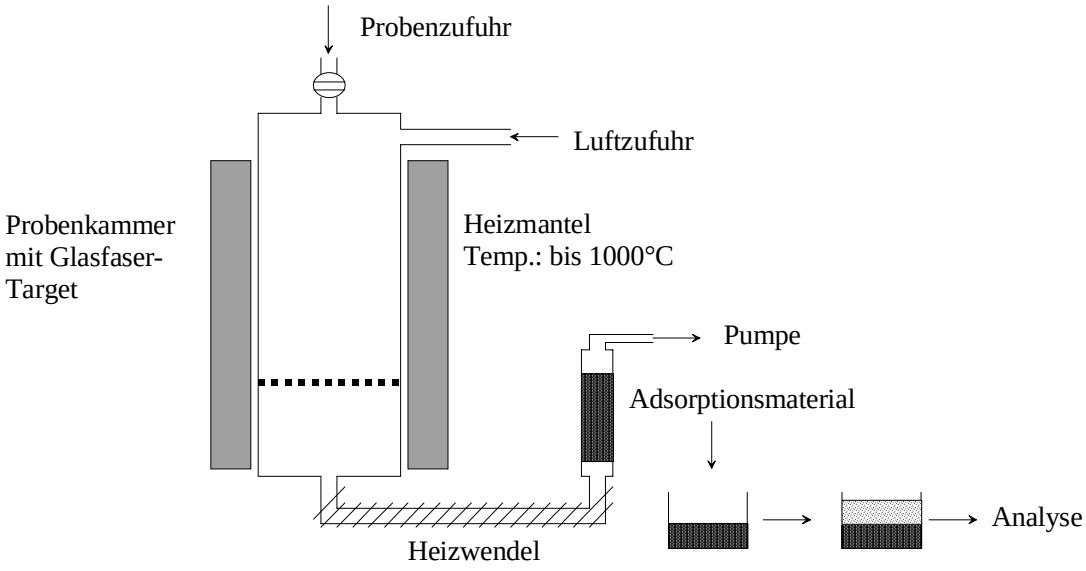


Abb. 3.9.3: Modellsystem zum thermischen Einfluss auf KSS (geschlossenes System)

Anhand der Bestimmung von Toluol wurden die Eigenschaften des geschlossenen Systems ermittelt. So wurden 100 µl einer Toluol-Standardlösung (500 µg/l) in das System injiziert und bei einer Probennahmezeit von 30 min bei 4 l/h Luftzufuhr die Wiederfindungsrate von Toluol bestimmt. Als Adsorbermaterial wurden 2,0 g XAD-2-Harz verwendet, die mit 10 ml Acetonitril eluiert wurden. Die Kalibrierfunktion für die Bestimmung von Toluol in Acetonitril mit der GC-MS ist in Abb. 3.9.4 dargestellt (1µl injiziert, Auswertung der Masse 91). Die Nachweisgrenze beträgt 50 µg/l. Die Wiederfindungsrate bei der zugegebenen Konzentration von 500 µg/l in das geschlossene System beträgt 99,7 ± 0,5% (n=4). Damit ist die Adsorption von Analyten an den Gefäßwänden minimiert und der Luftstrom von 4 l/h für den Transport der Analyten zum Adsorptionsmaterial bei einer Probennahmezeit von 30 min ausreichend.

Mit den zwei beschriebenen Modellsystemen wurde der thermische Einfluss auf die verschiedenen KSS simuliert. Die unterschiedlichen Probenträger wurden wie beschrieben eluiert. Die daraus erhaltenen Proben für die Untersuchungen werden im Folgenden als generierte Luftproben bezeichnet.

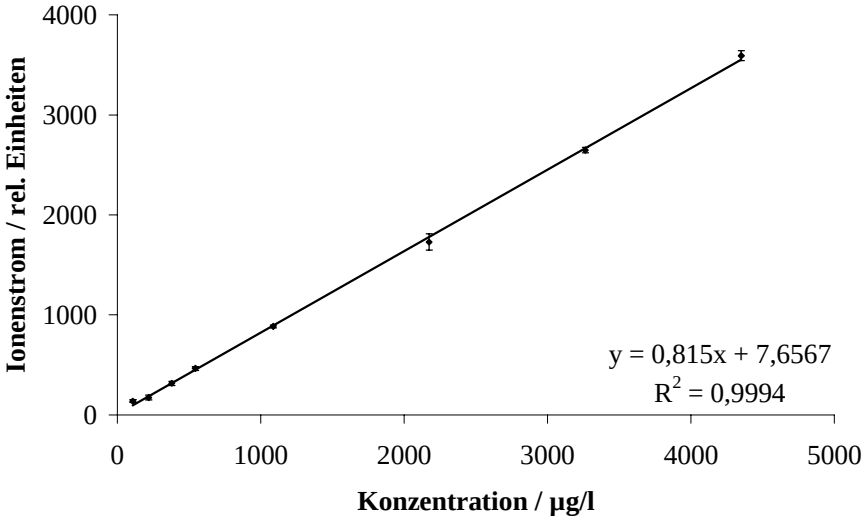


Abb. 3.9.4: Kalibrierfunktion für die Bestimmung von Toluol in Acetonitril

Stationäre Phase: DB 5 MS
Mobile Phase: He, 1 ml/min, split
Temperaturprogramm: 70 auf 120 °C (10°C/min), 120 auf 150 °C (20°C/min)
Injektor: 250 °C
Massenspektrometer: Ionenfalle 170 °C
Injektionsvolumen: 1 µl

3.10 Abschätzung des mutagenen Potenzials mit Hilfe des Ames-Testes

3.10.1 Grundlagen des Ames-Testes

Zur Beurteilung der Wirkung eines chemischen Stoffes auf dem Organismus gibt es eine Vielzahl an Kriterien, u.a. auch die Frage nach dem kanzerogenen Potenzial. Eine zentrale Rolle bei der Entstehung von Krebs spielt die Veränderung des Erbgutes, die durch chemische Substanzen an der DNA hervorgerufen werden kann. Ist der Organismus nicht in der Lage DNA-Schäden zu reparieren, werden sie bei der Zellvermehrung als Mutationen weitergegeben. Der Ames-Test, der in diesen Untersuchungen verwendet wird, dient zum Nachweis von Genmutationen, also von DNA-Schäden, die als Mutationen an die Folgegeneration weitergegeben werden. Mit diesem Test können Basensubstitutions- und Leserastermutationen erfasst werden, so dass der Test für die Abschätzung des mutagenen Potenzials von chemischen Stoffen geeignet ist.

Es handelt sich hierbei um einen Bakterientest, der von Maron und Ames [Maron 1983] mit dem Ziel entwickelt wurde, durch die Bestimmung der mutagenen Wirkung einer Substanz

Voraussagen über die kanzerogene Wirkung dieser machen zu können. Es werden dabei Histidin-Mangelmutanten von *Salmonella typhimurium* verwendet. Die Mangelmutanten sind durch eine DNA-Mutation im Gegensatz zum Wildtyp nicht mehr in der Lage, die für die Bakterien lebensnotwendige Aminosäure Histidin zu synthetisieren. Dabei kann die genetische Information für unterschiedliche Enzyme des Histidin-Biosyntheseweges fehlerhaft sein, so dass es verschiedene Stämme von *Salmonella typhimurium* mit einer charakteristischen Histidin-Mangelmutation gibt.

Im Ausgangszustand sind diese Bakterien auf einem Histidin freien Minimalnährboden nicht überlebensfähig. Durch Zusatz einer mutagenen Chemikalie kann eine Rückmutation zum Wildtyp ausgelöst werden, die die Bakterien dann in die Lage versetzt, sich auf diesem Nährboden doch zu vermehren und als Kolonie zu wachsen. Diese Bakterienkolonien sind zählbar und werden als Revertanten bezeichnet. Eine Substanz wird dann als mutagen im Ames-Test bezeichnet, wenn die Revertantenzahl gegenüber einer Kontrolle konzentrationsabhängig angestiegen ist, dieses Ergebnis in einem Stamm auftritt und sich reproduzieren lässt [OECD-471 1983].

Um die Empfindlichkeit gegenüber Mutagenen zu steigern, enthalten die Mangelmutanten eine weitere Mutation (uvrB–Gen), die zu einer Deletion des Excissionsreparatursystems führt. Dadurch sind die Bakterien nicht mehr in der Lage, entstandene Schäden aus der DNA herauszuschneiden, zu ersetzen und damit die DNA zu reparieren.

Weiterhin ist durch Mutation die Zellwand der Bakterien verändert (rfa-Mutation), damit auch die Mutagenität größerer Moleküle mit diesem Testsystem erfasst werden kann.

Durch die Einführung des Plasmids pkM 101 ist die Empfindlichkeit weiter gesteigert worden. Der Einbau dieses Plasmids führt zu einer fehlerhaften SOS-Reparatur, einem weiteren Reparaturmechanismus der DNA. Weiterhin ist eine Ampicillin–Resistenz auf diesem Plasmid lokalisiert. Das paQ1-Plasmid enthält die in dem Stamm TA 102 enthaltene Histidin-Mutation als 40-fache Kopie und eine Tetracyclin-Resistenz. Die Resistenz gegenüber den Antibiotika Ampicillin und Tetracyclin ermöglicht die Selektion gegenüber anderen Bakterienstämmen bei der Stammerhaltung und den Stammkontrollen.

Im menschlichen Organismus finden komplexe enzymatische Stoffwechselvorgänge statt. Dabei kann es neben Entgiftungsreaktionen von Fremdstoffen auch zu Giftungsreaktionen kommen, so dass zunächst nicht-mutagene Stoffe in mutagene Substanzen überführt werden können. Bakterien verfügen nicht über das gleiche komplexe Stoffwechselsystem. Diesen Mangel an Fremdstoff metabolisierenden Enzymen versucht man durch die Zugabe einer subzellulären Fraktion aus den Lebern von Ratten (sog. S9-Fraktion) auszugleichen. Die S9-

Fraktion enthält als Fremdstoff metabolisierende Enzyme verschiedene Cytochrom-P450-abhängige Monooxygenasen, Cytochrom-P450-Reduktasen, UDP-Glucuronosyltransferasen, Epoxidhydrolasen, Acetyl-, Sulfo- und Glutathiontransferasen [Andrae 1996]. Die S9-Fraktion und die zugehörigen Cofaktoren bilden den sog. S9-Mix. Der Aspekt der sogenannten metabolischen Aktivierung wird im Ames-Test in einer zweiten Versuchsreihe durch Zugabe des S9-Mix untersucht.

Bei der Bewertung von 501 Veröffentlichungen, die innerhalb des „Gene-Tox-Programms“ der Vereinigten Staaten von Amerika durchgeführt wurden, konnte der Ames-Test eine Korrelation zwischen Mutagenität und Kanzerogenität mit einer durchschnittlichen Übereinstimmung von 80 % erzielen [Göggelmann 1993]. In bestimmten chemischen Klassen findet man jedoch eine große Zahl von falsch-negativen Ergebnissen, die u.a. auf Unzulänglichkeiten des metabolischen Aktivierungssystems oder auf toxischen Wirkungen der Prüfsubstanz beruhen können [Göggelmann 1993]. Zudem werden im Ames-Test nur Substanzen erfasst, die Basensubstitutions- oder Leserastermutationen induzieren. Dagegen werden Chemikalien, die Chromosomen- oder Genommutationen verursachen, nicht erkannt.

3.10.2 Durchführung

Für die Routinetestung wird der Einsatz der Stämme TA 1535 und TA 100 (detektieren Basensubstitutionen), der Stämmen TA 1537 und TA 98 (detektieren Leseraster-Mutationen) sowie dem Stamm TA 102, der besonders empfindlich auf oxidierend wirkende Mutagene anspricht [Marnett 1985], empfohlen. Aufgrund der zu erwartenden großen Probenanzahl wurde die Proben hauptsächlich mit den Stämmen TA 98 und TA 100 getestet. Bei kritischen Ergebnissen wurden zusätzlich die Stämme TA 102 und TA 104, die auf oxidierend wirkende Mutagene empfindlich reagieren, eingesetzt. Die Stämme TA 1535 und TA 1537, die aufgrund des fehlenden Plasmids pkM 101 weniger empfindlich sind, wurden nicht verwendet.

Die Charakteristika der verwendeten Teststämme sind in Tab. 3.10.1 aufgeführt.

Tab. 3.10.1: Charakteristika der Stämme TA 98, TA 100, TA 102 und TA 104

Stamm	rfa-Mutation	uvrB-Gen	Plasmid	erkennbarer Mutationstyp
TA 98	+	+	pkM 101	Leseraster-Mutation
TA 100	+	+	pkM 101	Basen-Substitution
TA 102	+	-	pkM 101 und paQ 1	Basen-Substitution und Leseraster-Mutation
TA 104	+	+	pkM 101	Basen-Substitution

Es werden 100 µl Salmonellen-Suspension eines Stammes mit einer Zelldichte von 10^7 bis 10^9 KBE/ml 9 h in einer Nährlösung bestehend aus Fleischextrakt, Pepton und NaCl (Nutrient-Bouillon) bei 37 °C im Schüttelwasserbad angezüchtet. Am Testtag werden 500 µl Phosphatpuffer oder frisch angesetzter S9-Mix (Unterscheidung der Untersuchung mit und ohne metabolische Aktivierung), 100 µl der angezüchteten Bakteriensuspension und 100 µl der zu untersuchenden Probe in ein Probengefäß pipettiert. Der Ansatz wird 20 min bei 37 °C im Wasserbad präinkubiert. Anschließend wird der Ansatz in 2 ml Weich-Agar (Top-Agar) gegeben, der in einem Wasserbad bei 42 °C flüssig gehalten wird. Dieser Oberschichtagar enthält Spuren von Histidin und Biotin. Damit wird erreicht, dass die Bakterien sich wenige Male teilen können und sich eine Mutation manifestieren kann. Der Ansatz wird gleichmäßig auf einer Agarplatte mit einem Selektivnährboden (Minimal-Agar-Platte) verteilt. Die Platten werden 72 h bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Das im Top-Agar vorhandene Histidin erlaubt den plattierten Bakterien einige Zellteilungen. Dadurch entstehen mikroskopisch kleine Kolonien, die einen milchigen Grauschleier im Plattenhintergrund bilden. Wenn das Histidin verbraucht ist, wachsen nur noch die rückmutierten Bakterien zu sichtbaren Kolonien. Diese können mit einem automatischen Zählgerät ausgewertet werden. Nach der Auswertung wurden die Platten mikroskopiert und der Plattenhintergrund bewertet. Bei einer Erhöhung der Revertantenzahl und einem gleichmäßigen Plattenhintergrund ist von einem mutagenen Effekt auszugehen. Ist die Revertantenzahl gegenüber der Spontanrate stark erniedrigt und der Plattenhintergrund sehr aufgelockert, liegt ein cytotoxischer Effekt vor und die Bakterien sind vor der ersten Teilung abgestorben. Die Durchführung des Testes ist in Abb. 3.10.1 dargestellt.

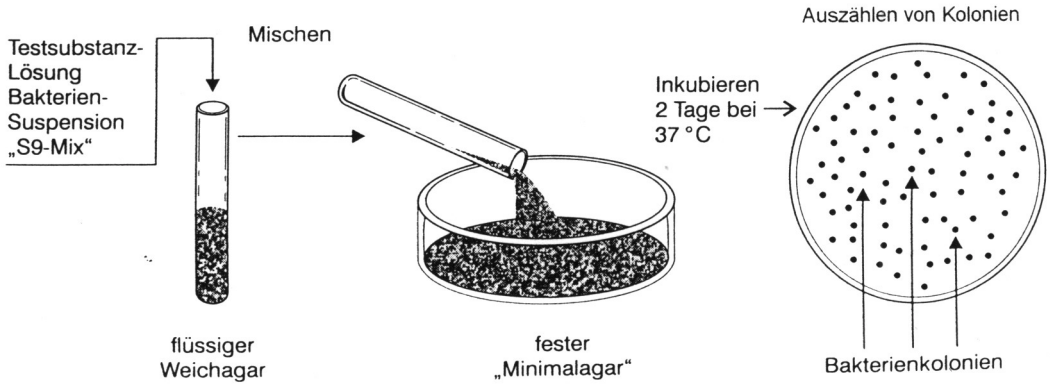


Abb. 3.10.1: Durchführung des Ames-Testes [Andrae 1996]

Bei jeder Testdurchführung wurden Stammkontrollen sowie Negativ-Kontrollen mit dem verwendeten Lösemittel und Positiv-Kontrollen mit einem Referenzmutagen für den jeweiligen Stamm (Tab. 3.10.2) anstelle der Probe mitgeführt. Zudem wurde jede Probe pro Stamm dreifach mit einer unabhängigen Testwiederholung getestet.

Tab. 3.10.2: Referenzmutagene für die verwendeten Stämme (± metabolische Aktivierung)

Testprotokoll	Referenzmutagen	Lösemittel	Konzentration
TA 98 ohne S9	2-Nitrofluoren	DMSO	50 µg/Platte
TA 100 ohne S9	NaN_3	H_2O	20 µg/platte
TA 102 ohne S9	Mitomycin C	H_2O	20 µg/Platte
TA 104 ohne S9	Methylglyoxal	H_2O	100 µg/Platte
alle Stämme mit S9	2-Aminoanthracen	DMSO	5 µg/Platte

3.10.3 Stammkontrollen

UV Sensivität (Kontrolle der uvrB-Deletion)

Durch die uvrB-Deletion können DNA-Schäden, so z.B. Schäden die durch UV-Licht hervorgerufen werden, nicht mehr repariert werden. Zur Stammkontrolle werden daher diese Bakterien mit UV-Licht bestrahlt und sterben ab. 100 µl der angezüchteten Bakterien-Suspension werden auf einem Nährboden (Nutrient-Agar-Platte) verteilt. Der Deckel der Petrischale wird zur Hälfte abgedeckt, damit ein Vergleich der Wirkung zwischen bestrahlter

und nicht-bestrahlter Bakterien-Suspension erzielt wird. Die Belichtung erfolgt 10 sec bei Verwendung einer UV-Lampe mit einer Wellenlänge von λ=254 nm (15 Watt-Lampe). Nach der Belichtung werden die Kulturen über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die Stämme TA 98, TA 100 und TA 104 können nach der UV-Behandlung keine Kolonien bilden, da der DNA-Reparaturmechanismus nicht mehr funktioniert. Bei dem Stamm TA 102, der keine uvrB-Deletion hat, wachsen Bakterienkolonien auch nach UV-Bestrahlung.

Ampicillin-Resistenz (Kontrolle des pkM 101-Plasmids)

Auf dem pkM 101-Plasmid befindet sich eine Ampicillin-Resistenz. Daher müssen zur Stammkontrolle bei Zugabe des Antibiotikums Ampicillin trotzdem Bakterienkolonien wachsen. So werden 100 µl der angezüchteten Bakterien-Suspension auf einem Nährboden (Nutrient-Agar-Platte) verteilt. Ein Filterpapierblättchen wird auf den Agar gelegt und mit 5µl Ampicillinlösung (0,8 %) beschickt. Wachsen Bakterienkolonien um das Filterpapier, so ist das pkM 101-Plasmid in Funktion und der Stamm ist resistent gegenüber dem Antibiotikum.

Tetracyclin-Resistenz (Kontrolle des paQ1-Plasmids)

Der Stamm TA 102 verfügt über ein paQ1-Pasmid, das eine Resistenz gegen das Antibiotikum Tetracyclin enthält. Somit muss dieser Stamm bei Zugabe von Tetracyclin weiterhin wachsen. Der Test mit 5µl Tetracyclinlösung (0,8 %) und die Auswertung erfolgt wie bei der Kontrolle der Ampicillin-Resistenz.

Kristallviolett-Sensivität (Kontrolle der rfa-Mutation)

Durch die rfa-Mutation ist die Zellwand dahingehend verändert, dass auch große Moleküle wie z.B. Kristallviolett in die Zelle eintreten können. Das Eindringen von Kristallviolett hat das Absterben des Bakteriums zur Folge. So werden 100 µl der angezüchteten Bakterien-Suspension auf einem Nährboden (Nutrient-Agar-Platte) verteilt und wie zuvor beschrieben mit einem Filterpapierblättchen versehen. Das Blättchen wird mit 5 µl Kristallviolettlösung (1mg/ml) beschickt. Wachsen keine Kolonien um das Filterpapier heran, verfügt der Stamm über eine rfa-Mutation.

Biotin-Histidin-Bedürftigkeit

Auf einem Nährboden („Masterplate“), der sowohl Biotin als auch Histidin enthält, und einem Selektivnährboden (Minimal-Agar-Platte), der weder Biotin noch Histidin enthält, wird die

angezüchteten Bakterien-Suspension mit Hilfe einer Impföse ausgestrichen. Alle Platten werden 24 h lang bei 37 °C inkubiert. Wachsen auf der „Masterplate“ Bakterienkolonien heran und auf der Minimal-Agar-Platte nicht, so weisen die Teststämme die für den Test notwendige Biotin-Histidin-Bedürftigkeit auf.

Keimzahl-Bestimmung

Zur Keimzahl-Bestimmung wird von der angezüchteten Bakterien-Suspension eine Verdünnungsreihe in steriler 0,9 %iger NaCl-Lösung angesetzt. Dazu werden 9 ml der NaCl-Lösung vorgelegt und 1 ml der Bakterien-Suspension zugegeben. Diese Lösung wird mehrfach 1:10 verdünnt bis zu einer Verdünnung von 10^{-7}. Anschließend werden 100 µl der verdünnten Lösungen und etwas Nährlösung (Nutrient-Bouillon) auf einem Selektivnährboden (Minimal-Agar-Platte) ausplattiert und bei 37 °C in den Brutschrank gestellt. Nach 48 h werden die Keime gezählt. Durch Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor erhält man die Keimzahl in KBE/ml.

3.10.4 Stammerhaltung der Salmonellen für den Ames-Test

Eine frisch autoklavierte Nutrient-Bouillon (50 ml) wird mit 200 µl aus einem eingefrorenen Aliquot des betreffenden Stammes angeimpft. Die Kultur wird 9 h im Schüttelwasserbad bei 37 °C inkubiert. Es werden pro Stamm 3 „Master-Plates“ angelegt, die Bakterien mit einer Impföse darauf ausgestrichen und 48 Stunden bei 37 °C bebrütet. Die Ampicillin bzw. Tetracyclin resistenten Stämme werden auf „Master-Plates“ mit den betreffenden Antibiotika ausgestrichen (Ampicillin 25 µg/ml Agar, Tetracyclin 2 µg/ml Agar). Für jede Kultur werden alle Stammkontrollen durchgeführt. Pro Stamm wird je eine frisch autoklavierte Nutrient-Bouillon mit einer gut isolierten Kolonie der 2 Tage alten „Master-Plates“ angeimpft. Diese Kultur wird wieder 9 h im Schüttelwasserbad inkubiert. 30 ml dieser Bouillon werden mit 2,7 ml DMSO versetzt, gut gemischt und 30 min stehen gelassen. Es werden noch einmal alle Stammkontrollen durchgeführt. Die Kultur wird danach zu 1 ml-Portionen in Cryoröhrchen aliquotiert. Anschließend werden die Röhrchen in einen Cryobehälter gegeben und mit flüssigem N_2 schockgefroren. Nach dem Erstarren werden die Kulturen bei -80 °C gelagert und sind mindestens 2 Jahre haltbar.

3.10.5 Adaptation des Testes für Schmierstoffe

3.10.5.1 Stand der Technik

In zahlreichen Arbeiten wird über Mutagenitätsuntersuchungen mit dem Ames-Test in Verbindung mit Schmierstoffen berichtet. Dabei kann zwischen Untersuchungen mit wassermischbaren und nicht-wassermischbaren Schmierstoffen unterschieden werden, sowie einer Aufarbeitung der Proben durch Extraktion und direktem Einsatz der Probe.

Bei den nicht-wassermischbaren KSS ist hauptsächlich die Enstehung und Wirkung von PAK´s untersucht worden. Dabei wurden die Schmierstoffe so für den Ames-Test vorbereitet, dass eine Korrelation zwischen der gefundenen Kanzerogenität an der Haut von Mäusen und dem mutagenen Potenzial der PAK´s in den Schmierstoffe beschrieben werden konnte [Dickson 1997, Brooks 1995, Apostoli 1993, Granella 1995 und 1991, Roy 1988, Blackburn 1986 und 1984, Watson 1985]. Die Methode nach Blackburn et al. [Blackburn 1984] verwendet mehrere Extraktionen des Öles mit Pentan, Cyclohexan und Dimethylformamid. Die Extrakte werden jeweils in DMSO rückextrahiert. DMSO als Lösemittel für den Ames-Test für KSS soll die Sensitivität des Testes gegenüber mutagenen Kohlenwasserstoffen verbessern [Roy 1988]. Weiterhin werden Extraktionen nach der Methode von Dutcher et al. mit Dichlormethan und Rückextraktion mit DMSO durchgeführt [Dutcher 1986]. Im Falle der Extraktion werden nach Aussage einiger Autoren aber synergistische und antagonistische Effekte der komplexen Mischung nicht betrachtet [Brooks 1995]. So gibt es eine Reihe von Arbeiten, die die Öle mit DMSO oder dem Emulgator Tween 80 [Brooks 1995, Apostoli 1993, Hermann 1981 und 1980], oder auch mit Tween 80 in Aceton [Watson 1985] versetzen, und ohne Extraktion in den Test einsetzen.

Bei den wassermsichbaren KSS steht das mutagene Potenzial von NDELA im Vordergrund. So wird von einem Einsatz der Emulsion nach steriler Filtration und Zugabe von Tween 80 berichtet und vergleichend einer Extraktion mit Diethylether [Monarco 1993].

3.10.5.2 Entwicklung einer Teststrategie

In dieser Arbeit soll das mutagene Potenzial von wassermischbaren KSS und Schmierstoffen für die MMS im Ames-Test vergleichend untersucht werden. Aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der KSS-Konzentrate (wassermischbare KSS und Schmierstoffe der MMS) ist es zur Vergleichbarkeit der Proben wünschenswert, diese als komplexe Proben

ohne Extraktion in den Test einzusetzen und so den Test als Screening-Verfahren zu verwenden. Neben den Konzentraten der jeweiligen Schmierstoffe sollen auch Luftproben untersucht werden. Es war weiterhin Ziel, gebrauchte Emulsionen verschiedener Bearbeitungszeiträume aus Bearbeitungszentren zu untersuchen. In Voruntersuchungen wurden Schwierigkeiten bei der Aufarbeitung der Emulsionen deutlich, die im realen Einsatz waren. Bei diesen Proben war bereits nach einer Bearbeitungszeit von 2 Wochen eine Verkeimung der Emulsion zu beobachten, die den Ames-Test massiv beeinträcht. Somit können die Emulsionen nicht als komplexe Probe in den Test eingesetzt werden, da eine sterile Filtration aufgrund der starken Verkeimung und der Porengröße des Filters von 0,22 µm nicht durchgeführt werden konnte. Ein Autoklavieren der Emulsion bei 121 °C und 1,4 bar würde einen unerwünschten Temperatureinfluss auf die Probe bedeuten. So wurde zur Abtrennung der wässrigen Phase mit Diethylether extrahiert [Famulok 1995]. Der Extrakt und der wässrige Rückstand konnten so jeweils getrennt im Ames-Test untersucht werden. Die Keime konnten bei der Extraktion abgetötet werden. Bei den Luftproben erfolgte eine Extraktion der Probenträger (Glasfaserfilter und XAD-Adsorbens) mit Diethlyether. Nach Abdampfen des Ethers erhielt man die Proben für den Test.

So wurde eine Teststrategie erarbeitet, die neben den Konzentraten der wassermischbaren KSS und Schmierstoffen der MMS und deren Luftproben auch die Emulsionen und deren Luftproben berücksichtigt. Die Teststrategie ist in Abb. 3.10.2 dargestellt.

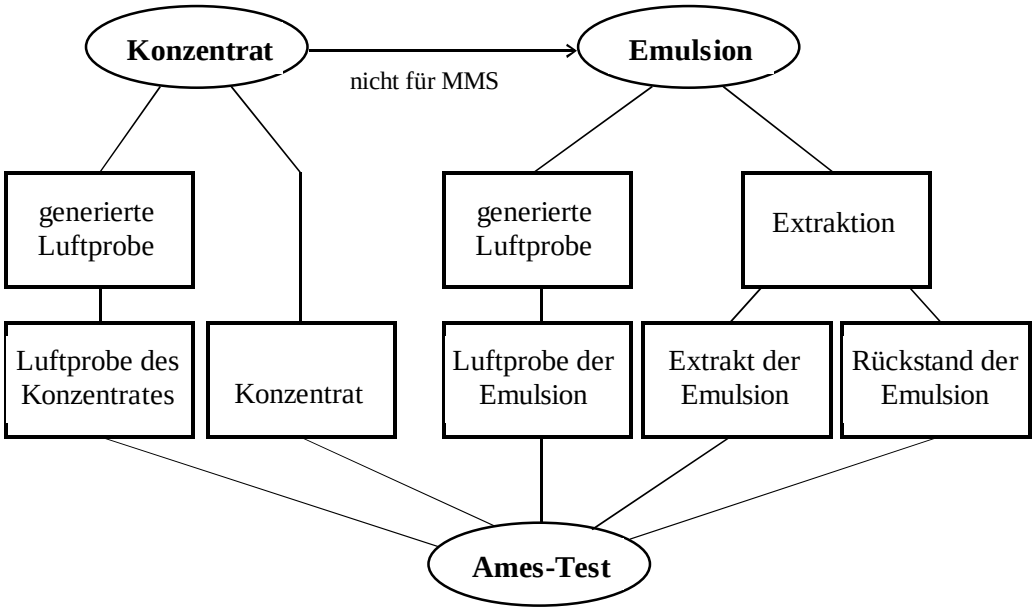


Abb. 3.10.2: Teststrategie zur Bestimmung des mutagenen Potenzials bei KSS

Die als ölige Flüssigkeit vorliegende Luftprobe (von wassermischbaren KSS und Schmierstoffen für die MMS), die KSS-Konzentrate (von wassermischbaren KSS und Schmierstofe für die MMS) und der Extrakt der Emulsionen wurden mit dem Emulgator Tween 80 im gleichen Mengenanteil intensiv vermischt. Das Gemisch wurde mit H_2O/DMSO (1:1) emulgiert und als wässrige Emulsion in den Test eingesetzt.

3.10.5.3 Validierung des Ames-Testes

Zunächst wurde das Lösemittel bestehend aus Tween 80/DMSO/H_2O im Ames-Test untersucht. Da die Tween 80-Konzentration der Schmierstoffmenge angepasst werden sollte, wurde es konzentrationsabhängig in allen Stämmen getestet. In Abb. 3.10.3 ist beispielhaft für die Stämme TA 98 und TA 100 die Abhängigkeit der Revertantenzahl von der Tween 80-Konzentration dargestellt.

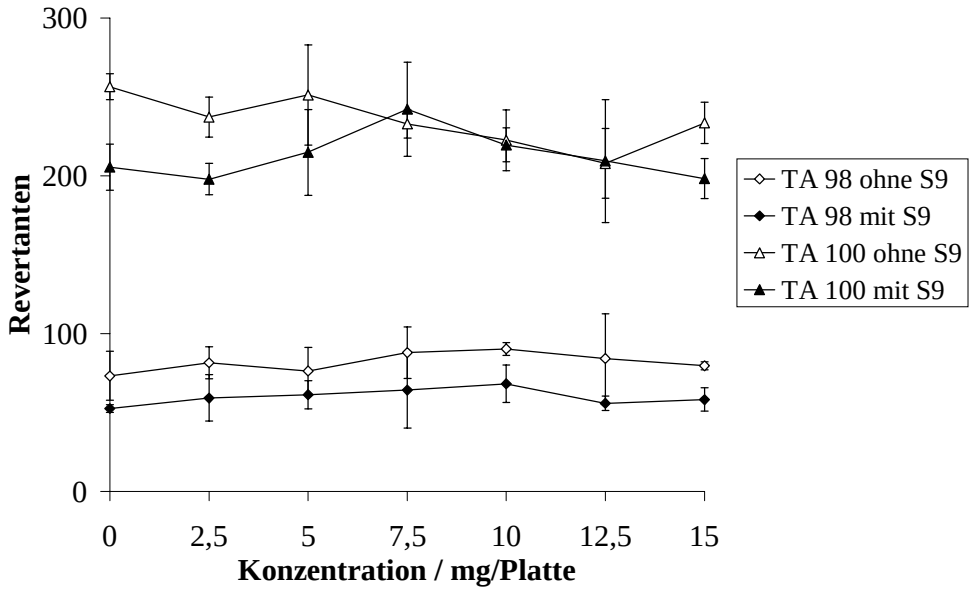


Abb. 3.10.3: Abhängigkeit der Revertantenzahl von der Tween 80-Konzentration

Man erkennt, dass Tween 80 in dem verwendeten Konzentrationsbereich innerhalb der Standardabweichung keinen Einfluss auf die Revertantenzahlen in den Stämmen TA 98 und TA 100 hat. Dieses Ergebnis zeigte sich auch für die Stämme TA 102 und TA 104.

Da alle Schmierstoffproben als wässrige Emulsionen in den Test eingesetzt werden, musste überprüft werden, ob aus einer Emulsion mit einer nicht näher charakterisierten Tröpfchengrößenverteilung hydrophile und lipophile Stoffe als Mutagene im Ames-Test nachgewiesen werden können. Dazu wurden NaN_3 als hydrophiles und 2-Aminoanthracen (AAN) als lipohiles Referenzmutagen in verschiedenen Konzentrationen dem Testansatz mehrerer wassermischbarer KSS zugesetzt. In Abb. 3.10.4 ist die Wirkung von NaN_3 in einer 5 %igen KSS-Matrix mit dem Teststamm TA 100 ohne Zusatz von S9-Mix dargestellt.

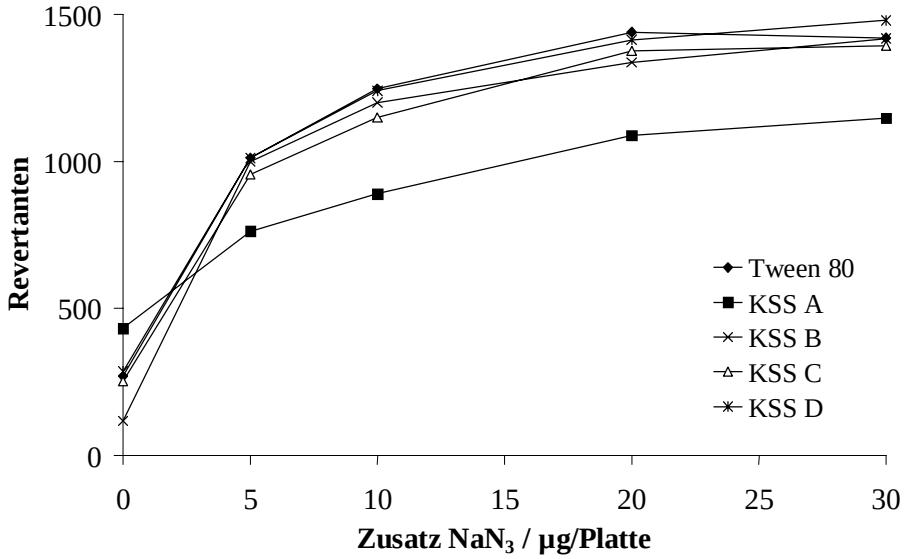


Abb. 3.10.4: Wirkung von NaN_3 in einer 5 %igen KSS-Matrix (TA 100) ohne metabolische Aktivierung

Es zeigt sich, dass sich mit steigender Konzentration des Referenzmutagens NaN_3 eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für die getesteten KSS und für die Tween 80-Kontrolle ergibt. Ohne Zusatz an NaN_3 (c_{NaN3}=0) kann bereits die Wirkung der 5 %igen Schmierstoff-Proben ohne metabolische Aktivierung beobachtet werden. Bei KSS A ist eine Erhöhung der Revertantenzahl gegenüber der Tween 80-Kontrolle und damit des mutagenen Potenzials, bei KSS B eine Erniedrigung der Revertantenzahl und damit ein cytotoxischer Effekt zu erkennen. Konzentrationsabhängige Untersuchungen von KSS A und KSS B werden in Kap. 4.2.1.1 diskutiert. Damit ist die Möglichkeit der Bestimmung hydrophiler Mutagene aus einer emulgierten KSS-Probe nachgewiesen.

Der Beweis für lipophile Mutagene erfolgte mit AAN. Dieser Stoff wird erst durch enzymatische Aktivierung zu einer mutagen wirkenden Substanz. In Abb. 3.10.5 ist die

Revertantenzahl in Abhängigkeit der AAN-Konzentration mit und ohne metabolische Aktivierung (Zusatz des S9-Mix) dargestellt. Man erkennt, dass nur bei Zugabe von S9-Mix eine Erhöhung der Revertantenzahl mit steigender Konzentration zu erreichen ist. Ohne Zugabe des metabolischen Systems ist AAN im Ames-Test nicht mutagen.

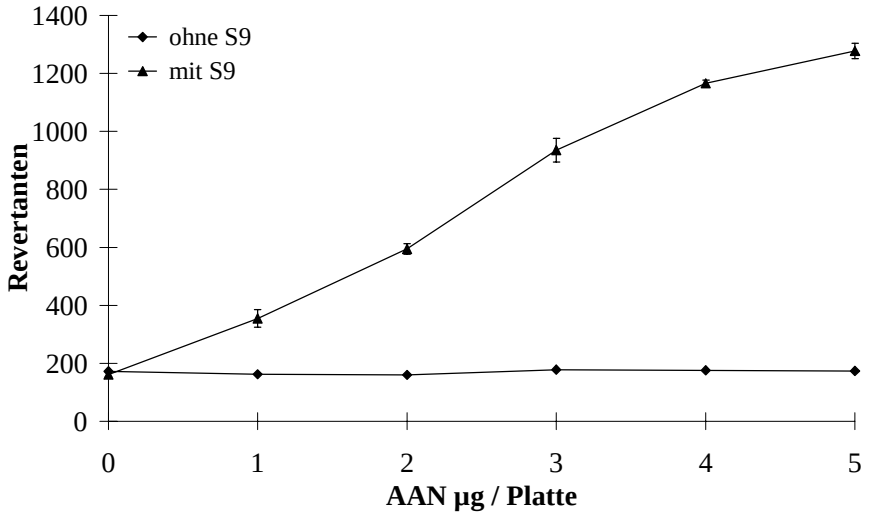


Abb. 3.10.5: Dosis-Wirkungs-Beziehung für AAN mit und ohne metabol. Aktivierung (TA 100)

In einer emulgierten Schmierstoff-Probe entwickelt AAN nach Zugabe von S9-Mix ebenfalls sein mutagenes Potenzial, wie in Abb. 3.10.6 dargestellt.

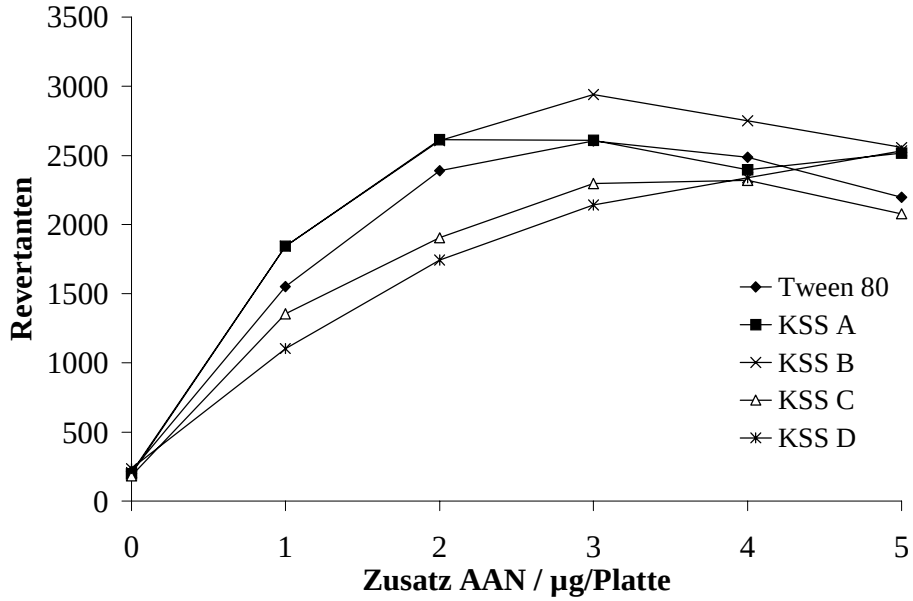


Abb. 3.10.6: Wirkung von AAN in einer 5 %igen Schmierstoff-Probe mit metabolischer Aktivierung (TA 100)

Somit wurde bestätigt, dass sowohl hydrophile als auch lipophile Substanzen in einer emulgierten KSS-Matrix im Ames-Test als Mutagene nachweisbar sind.

Bislang wurden 5 wassermischbare KSS und 5 Schmierstoffe für die MMS verschiedener Grundrezepturen im Ames-Test exemplarisch für eine Vielzahl von KSS untersucht. Bei den 5 wassermischbaren KSS wurden neben den Konzentraten gebrauchte Emulsionen verschiedener Standzeiten getestet.

Diese Schmierstoffe wurden bei den Versuchen zur Werkzeug,- Werkzeugmaschinen- und Prozessoptimierung von den Projektpartnern eingesetzt und zur Verfügung gestellt.

4 Mutagenes Potenzial von wassermischbaren KSS und Schmierstoffen für die MMS

4.1 Einführung und Charakterisierung der verwendeten KSS

In bisherigen Untersuchungen, die in der Literatur diskutiert werden (siehe Kap. 3.10.1), konnte mit dem Ames-Test die Mutagenität von nicht-wassermischbaren KSS gezeigt werden. Die mutagene Wirkung wurde hierbei auf den PAK-Gehalt, der häufig während des Gebrauchs der Schmierstoffe zunahm, zurückgeführt [Granella 1991, Apostoli 1993]. Dabei wurden die Schmierstoffe extrahiert oder auch direkt mit einem Emulgator in den Test eingesetzt [Blackburn 1984, Brooks 1995].

In dieser Arbeit wurden KSS-Konzentrate (von wassermischbaren KSS und Schmierstoffen der MMS) und gebrauchte Emulsionen nach der in Kap. 3.10.5.2 beschriebenen Teststrategie in den Ames-Test eingesetzt. Bei den wassermischbaren KSS wurden das Konzentrat, generierte Luftproben sowohl der Konzentrate als auch der Emulsionen sowie Extrakte und wässrige Rückstände aus der Extraktion von Emulsionen getestet. Bei den Schmierstoffen der MMS wurden die Konzentrate sowie daraus generierte Luftproben getestet. Es standen 5 wassermischbare KSS und 5 Schmierstoffe der MMS zur Verfügung, die bei den Projektpartnern verwendet wurden. In Tab. 4.1.1 und 4.1.2 sind die verwendeten KSS mit den Informationen aus dem jeweiligen Datenblatt charakterisiert.

Tab. 4.1.1: Charakterisierung der verwendeten wassermischbaren KSS

Bezeichnung	Information aus dem Datenblatt
KSS A	Mineralölhaltige Zubereitung (55 % Mineralöl) aus anionischen und nicht-ionogenen Emulgatoren und Korrosionsschutz-Additiven sowie Lösungs-vermittlern auf Glykol-Fettalkoholbasis (u.a. 3 % Fettalkohol-Ethoxylat, 3 % Aminomethylpropanol, 2 % Oxazolidin-Derivat)
KSS B	Mineralölhaltige Zubereitung (18 % Mineralöl) aus anionischen und nicht-ionogenen Emulgatoren und Korrosionsschutz-Additiven sowie Lösungs-vermittlern auf Glykol-Fettalkoholbasis (u.a. 10 % Fettsäure/MEA-Kondensationsprodukt, 4 % Triazolderivat, 2 % prim. Alkanolamin, 1 % Hexahydrotriazin-Derivat)
KSS C	Mineralölraffinat, Emulgatoren, polare Wirkstoffe, Buntmetallinhibitor, Konservierungsmittel, Wasser (u.a. 48 % Mineralöl, 0,1 % N,S-Heterocyclus, 10 % Esteröle)
KSS D	Mineralölhaltige Zubereitung (u.a. 28 % Mineralöl, 0,8 % N,S-Heterocyclus)
KSS E	Mineralölhaltige Zubereitung (u.a. 68 % Mineralöl, 0,9 % N,S-Heterocyclus)

Tab. 4.1.2: Charakterisierung der vewendeten Schmierstoffe für die MMS

Bezeichnung	Informationen aus dem Datenblatt
MMS A	Einzelstoff 2-Octyldodecanol
MMS B	Glyceride, gemischte Decanoyl und Octanoyl
MMS C	Mischung synthetischer und natürlicher Ester
MMS D	100 % paraffinbasisches Mineralöl
MMS E	75 % paraffinbasisches Mineralöl, 10 % Fettstoff (TMP-Ester), 5 % Polysulfid, 5 % Zn-Dialkyldithiophosphat, 5 % Chlorparaffin-Ersatz

Die Datenblätter enthalten nur unzureichende Informationen über die genaue Zusammensetzung der KSS. Nach Absprache mit den Herstellern der Produkte konnten weitere Informationen über die Einzelkomponenten ermittelt werden. Für die Schmierstoffe KSS A und KSS B liegt eine umfassende Beschreibung der Zusammensetzung vor, auf die in Kap. 4.2.1.2 näher eingegangen wird. In KSS C, KSS D und KSS E wird Na-Pyrithion (im Datenblatt als N,S-Heterocyclus bezeichnet) als Breitbandbiozid verwendet. Weitere Einzelstoffe in diesen KSS sind nicht bekannt.

Na-Pyrithion wird aus dem Magen-Darm-Trakt und durch die Haut gut aufgenommen und ist gering toxisch. Die Substanz schädigt nach einmaliger hoher Dosis reversibel das periphere Nervensystem von Nagern, jedoch nicht von Affen und Hunden. Na-Pyrithion wirkt schwach reizend auf Haut und Auge, ist aber weder sensibilisierend noch phototoxisch. Es liegen keine Hinweise auf eine gentoxische oder kanzerogene Wirkung vor. Obwohl beim Affen keine Zeichen einer neurotoxischen Wirkung beobachtet wurden, ist diese beim Menschen bei hoher Exposition nicht mit letzter Sicherheit auszuschließen. Da an Ratten in einem 13-Wochen-Inhalationsversuch ein NOEL von 1,1 mg/m^3 ermittelt wurde, wurde für Na-Pyrithion ein MAK-Wert von 1 mg/m^3 festgelegt [MAK-Begründung 1994].

Die Schmierstoffe für die MMS enthalten nur wenige Komponenten. Darunter sind bisher keine toxikologisch bedenklichen adversen Effekte bekannt.

4.2 Wassermischbare KSS

4.2.1 Konzentrate

4.2.1.1 Einsatz als komplexe Mischung

Es wurden 5 wassermischbare KSS verschiedener Grundrezepturen (siehe Kap. 4.1) im Ames-Test untersucht. Die Proben lagen als Konzentrate vor, die aus der Industrie zur Verfügung gestellt wurden. Diese Konzentrate werden beim Anwender als wässrige Emulsionen (5 %ig) eingesetzt. Für den Test wurden die Konzentrate, wie in Kap. 3.10.5.2 beschrieben, mit der gleichen Menge des Emulgators Tween 80 intensiv gemischt, in DMSO/H_2O (1:1) emulgiert und in Konzentrationen von 2,5 bis 15 mg/Platte im Test eingesetzt. In den Abb. 4.2.1 und 4.2.2 sind die Revertantenzahlen konzentrationsabhängig für KSS A und KSS B bei der Verwendung der Stämme TA 98 und TA 100 dargestellt.

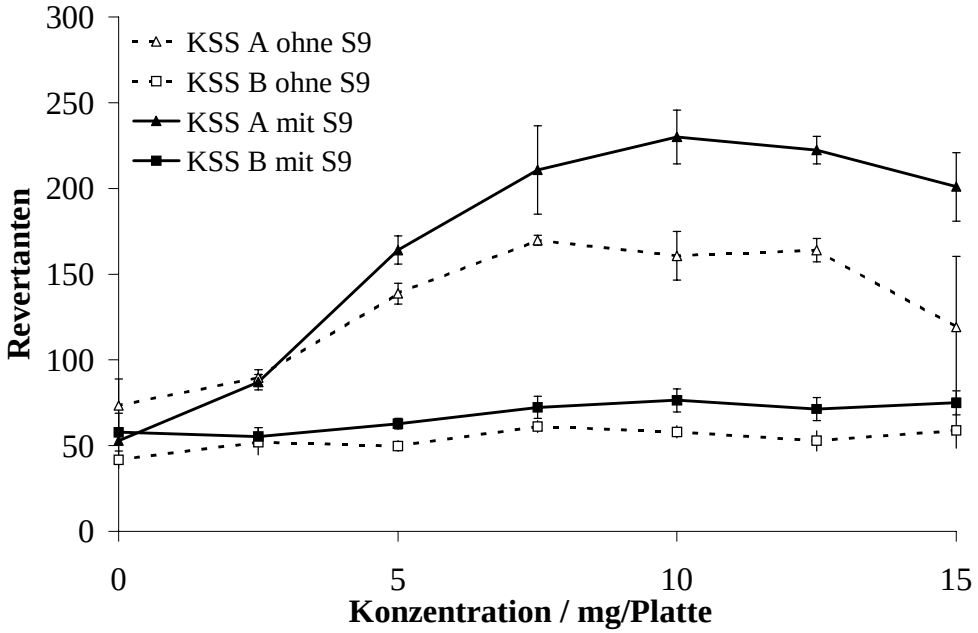


Abb. 4.2.1: Revertantenzahl in Abhängigkeit von der KSS-Konzentration (TA 98)

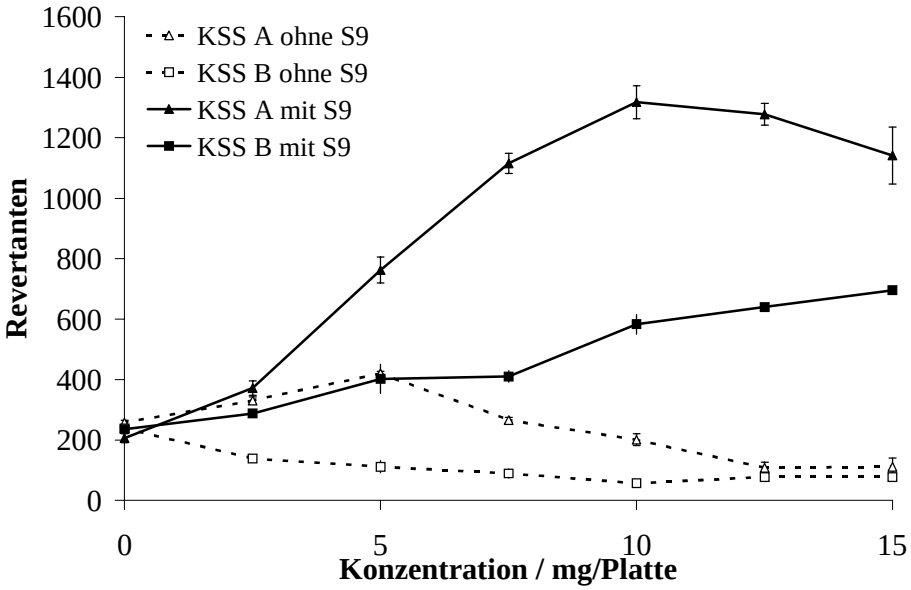


Abb. 4.2.2: Revertantenzahl in Abhängigkeit von der KSS-Konzentration (TA 100)

Bei den Proben KSS A und KSS B zeigen sich Erhöhungen der Revertantenzahlen in Abhängigkeit von der Konzentration und dem verwendeten Stamm, die auf ein mutagenes Potenzial der Proben hinweisen. In Tab. 4.2.1 sind die Ergebnisse für alle getesteten Stämme aufgeführt.

Tab. 4.2.1: Steigerung der Revertantenzahl der Proben KSS A und KSS B gegenüber der jeweiligen Spontanrate

Stamm	KSS A		KSS B	
TA 98 ohne S9-Zusatz	2-fach	(bei 12,5 mg/Platte)	keine Erhöhung	
TA 98 mit S9-Zusatz	4-fach	(bei 12,5 mg/Platte)	keine Erhöhung	
TA 100 ohne S9-Zusatz	Cytotoxizität	(ab 5 mg/Platte)	Cytotoxizität	(ab 2,5 mg/Platte)
TA 100 mit S9-Zusatz	6-fach	(bei 12,5 mg/Platte)	3-fach	(bei 15 mg/Platte)
TA 102 ohne S9-Zusatz	keine Erhöhung		keine Erhöhung	
TA 102 mit S9-Zusatz	2-fach	(bei 15 mg/Platte)	keine Erhöhung	
TA 104 ohne S9-Zusatz	1,5-fach	(bei 10 mg/Platte)	1,5-fach	(bei 15 mg/Platte)
TA 104 mit S9-Zusatz	2-fach	(bei 10 mg/Platte)	2-fach	(bei 15 mg/Platte)

Nach der OECD-Guideline 471 ist eine Substanz mutagen im Ames-Test, wenn ein dosisabhängiger Anstieg der Revertantenzahlen auftritt und sich dieser in einem Teststamm reproduzieren lässt. Diese Kriterien sind bei KSS A und KSS B erfüllt. KSS A weist dabei

stärkere mutagene Eigenschaften als KSS B auf. Die Schmierstoffe KSS C, KSS D und KSS E sind in dem getesteten Konzentrationsbereich nicht mutagen. Nach Absprache mit dem Hersteller der Schmierstoffe KSS A und KSS B wurden die darin enthaltenen Einzelstoffe untersucht.

4.2.1.2 Einzelsubstanzen

Von den wassermischbaren Schmierstoffen KSS A und KSS B, die mutagen im Ames-Test sind, wurden die enthaltenen Einzelkomponenten in den Stämmen TA 98 und TA 100 untersucht. Auf der Grundlage der als komplexe KSS-Mischung getesteten Konzentrationen von 5 und 15 mg/Platte wurden die Konzentrationen der Einzelkomponenten anhand ihres prozentualen Anteils am Konzentrat ermittelt und getestet. Die im Ames-Test eingesetzten Konzentrationen der Einzelkomponenten sind in Tab. 4.2.2 aufgeführt. In Abb. 4.2.3 und 4.2.4 sind die Ergebnisse der Einzelkomponenten dargestellt, wie sie einer KSS-Konzentrat von 5 mg/l entsprechen.

Tab. 4.2.2: Konzentrationen der Einzelkomponenten von KSS A und KSS B im Ames-Test

	Einzelkomponente	Konzentration in mg/Platte (entspricht dem 5 mg/Platte-Test)	Konzentration in mg/Platte (entspricht dem 15 mg/Platte-Test)
KSS A	Mineralöl	2,75	8,25
	Fettester	0,5	1,5
	Fettsäure	0,4	1,2
	C16-Alkohol	0,2	0,6
	Natriumsulfonat	0,4	1,2
	Aminomethylpropanol	0,2	0,6
	Fettalkohol-Ethoxylat	0,15	0,45
	TEA-Salz	0,25	0,75
	Oxazolidon-Derivat	0,1	0,3
KSS B	Mineralöl	0,9	2,7
	Ölsäureester	0,75	2,25
	C16-Alkohol	0,75	2,25
	Fettsäure	0,5	1,5
	Fettsäure-MEA	0,5	1,5
	Alkanolaminsalz	0,25	0,75
	Benzotriazol	0,2	0,6
	MEA	0,1	0,3
	Hexahydrotriazin-Derivat	0,05	0,15

MEA: Monoethanolamin, TEA: Triethanolamin

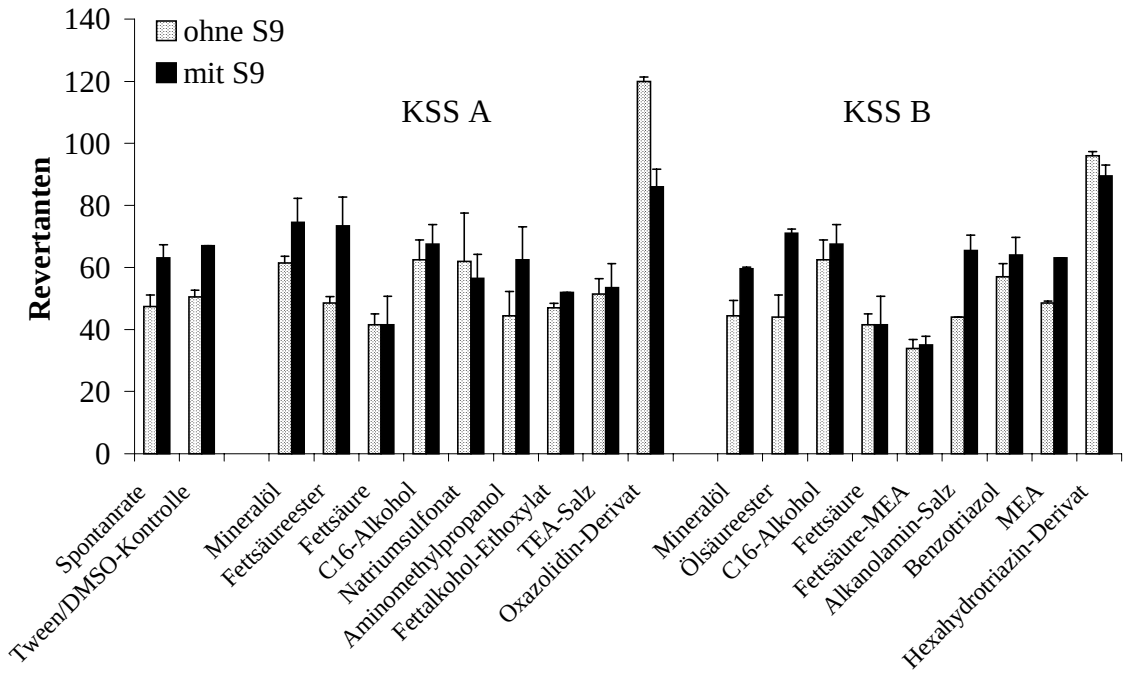


Abb. 4.2.3: Einzelkomponenten von KSS A und KSS B (TA 98)

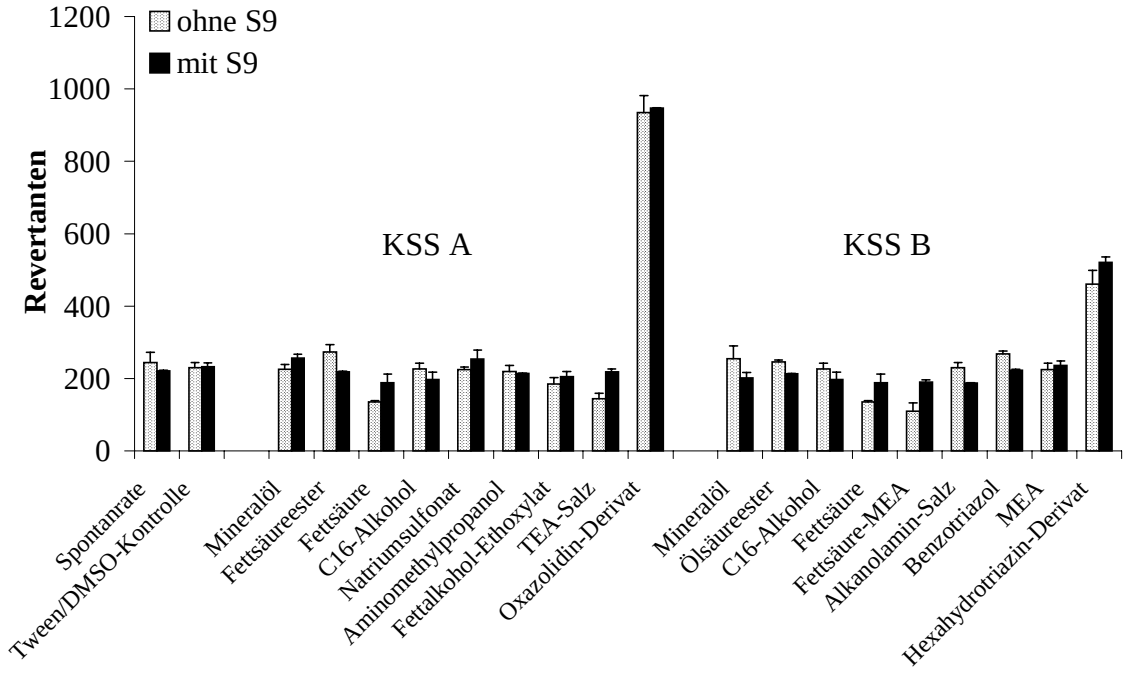
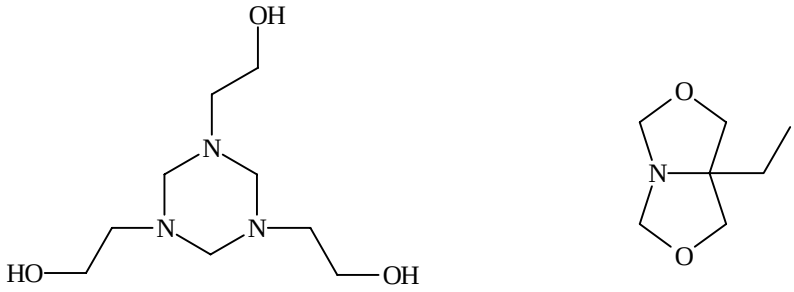


Abb. 4.2.4: Einzelkomponenten von KSS A und KSS B (TA 100)

Die Abbildungen zeigen, dass die in den Schmierstoffen enthaltenen Verbindungen „Oxazolidin-Derivat“ und „Hexahydrotriazin-Derivat“ einen deutlichen Anstieg der Revertantenzahlen in beiden Stämmen mit und ohne metabolische Aktivierung verursachen.

Beim Einsatz der Konzentration von 15 mg/Platte bzw. der entsprechend höheren Menge an Einzelstoff kommt es bei den genannten Verbindungen zu einer weiteren Erhöhung der Revertantenzahlen (Ergebnis nicht dargestellt). Bei den Verbindungen handelt es sich um 5-Ethyl-3,7-dioxa-1-azabicyclo-[3.3.0]-octan (EDAO) [CAS-Nr. 7747-35-5] und N,N´,N´´-Tris-(hydroxyethyl)-hexahydro-1,3-5-triazin (HHT) [CAS-Nr. 4719-04-4]. Die Strukturformeln dieser Verbindungen sind in Abb. 4.2.5 dargestellt. Die Verbindungen sind Formaldehydabspalter und wirken als biozide Agenzien in den beiden wassermischbaren Schmierstoffen KSS A und KSS B.



HHT EDAO

Abb. 4.2.5: Strukturformeln der Biozide HHT und EDAO

Weiterhin weisen die Inhaltsstoffe „Fettsäure“, „Natriumsulfonat“, „TEA-Salz“ und „Fettsäure/MEA“ eine verminderte Hintergrundrate oder eine Cytotoxizität bei der jeweils höchsten getesteten Konzentration auf.

Daraufhin wurden die vier genannten Einzelstoffe in einem niedrigeren Konzentrationsbereich weitergehend untersucht. Die Komponente „Fettsäure“ wurde in einem Konzentrationsbereich zwischen 50 und 400 µg/Platte in den Stämmen TA 98 und TA 100 getestet. Im Stamm TA 100 ohne metabolische Aktivierung zeigt sich ab einer Konzentration von 100 µg/Platte eine Cytotoxizität, mit metabolischer Aktivierung ab 200 µg/Platte eine verminderte Hintergrundrate. Es wurden keine mutagenen Effekte beobachtet.

Die Substanzen „Na-Sulfonat“ (Konzentrationsbereich 200 bis 1000 µg/Platte) und „TEA-Salz“ (Konzentrationsbereich 25 bis 200 µg/Platte) zeigten in den Stämmen TA 98 und TA 100 mit und ohne metabolische Aktivierung keine mutagenen Effekte.

Die Komponente „Fettsäure-MEA“, die in einem Bereich zwischen 100 bis 600 µg/Platte untersucht wurde, zeigt im Stamm TA 100 ohne metabolische Aktivierung ab 200 µg/Platte eine verminderte Hintergrundrate. Mutagene Effekte wurden nicht beobachtet.

Die Biozide EDAO und HHT wurden in den Stämmen TA 98, TA 100, TA 102 und TA 104 in einem Konzentrationsbereich zwischen 25 und 200 (EDAO) bzw. 400 µg/Platte (HHT) gelöst in DMSO/H_2O/Tween 80 untersucht. In den Abb. 4.2.6 und 4.2.7 sind die Ergebnisse für die Stämme TA 98 und TA 100 der konzentrationsabhängigen Untersuchung der Biozide EDAO und HHT dargestellt.

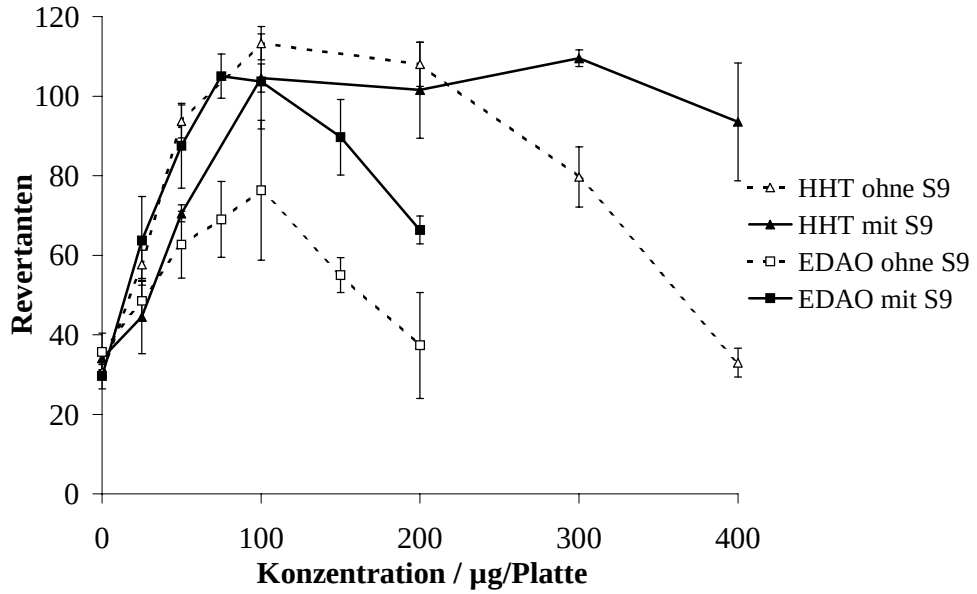


Abb. 4.2.6: Revertantenzahl in Abhängigkeit von der Biozid-Konzentration (TA 98)

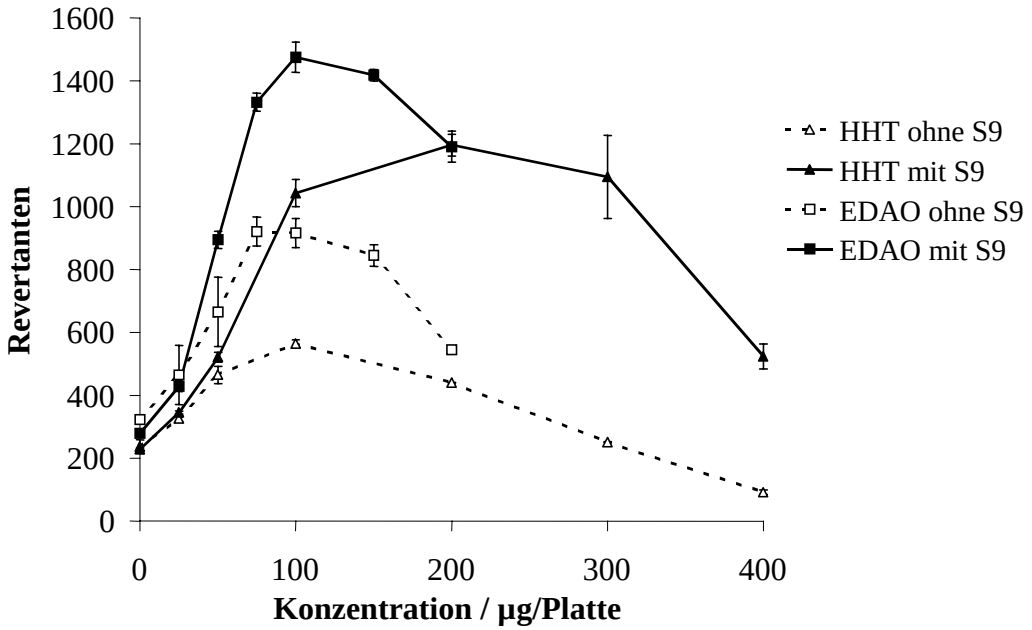


Abb. 4.2.7: Revertantenzahl in Abhängigkeit von der Biozid-Konzentration (TA 100)

Es zeigt sich ein konzentrationsabhängiger mutagener Effekt der Formaldehydabspalter. Für die Stämme TA 102 und TA 104 wurde ebenfalls eine konzentrationsabhängige Erhöhung der

Revertantenzahl bei den gleichen Biozid-Konzentrationen um das 2- bis 3-fache gegenüber der Spontanrate des untersuchten Stammes beobachtet. Entsprechend der OECD-Guideline 471 sind diese Stoffe mutagen im Ames-Test. Diese Ergebnisse finden in der Literatur unter Verwendung von H_2O als Lösemittel Bestätigung [Lucas 1999]. In einer 1982 durchgeführten Untersuchung mit den Stämmen TA 98, 100, 1535, 1537 und 1538 wurde dagegen bei EDAO kein signifikanter Anstieg der Revertantenzahl bis 600 µg/Platte beobachtet [MAK-Begründung 1992]. Bei HHT waren Mikronukleustests nach oraler, dermaler und subkutaner Applikation negativ. Andere Mutagenitätsuntersuchungen mit HHT sind nicht bekannt [MAK-Begründung 1988]. Für EDAO und HHT existieren keine MAK-Werte.

Für die Einzelkomponenten Aminomethlypropanol, Aminoethanol (MEA) und Benzotriazol, die in KSS A und KSS B enthalten sind, wurden von der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der DFG arbeitsmedizinisch-toxikologische Bewertungen vorgenommen.

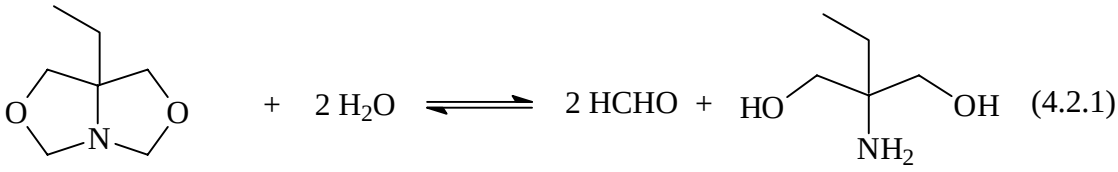
So wirkt Aminomethylpropanol stark reizend auf Haut und Augen. Durch Verdampfung ist aufgrund des geringen Dampfdruckes der Substanz bei niedrigen Temperaturen nicht mit einer signifikanten Exposition zu rechnen. Durch Erwärmung und Aerosolbildung können jedoch Konzentrationen entstehen, die Schleimhautreizungen hervorrufen. Ein mutagenes Potenzial konnte mit dem Ames-Test nicht beobachtet werden. Für Aminomethylpropanol konnte bislang kein MAK-Wert festgelegt werden [MAK-Begründung 1995].

Für MEA wurde ein MAK-Wert von 5,1 mg/m^3 festgelegt [MAK-Begründung 1996]. So führt MEA bei Ratten und Hunden nach einer 40-60tägigen kontinuierlichen Exposition (5 bis 6 ml/m^3) zu Anzeichen von Lethargie und Fellverlust. Es wird angenommen, dass MEA nicht nur inhalativ sondern auch dermal resorbiert werden kann. Obwohl im Tierversuch systemisch toxische Effekte auftraten, ist beim Menschen auch die Reizwirkung der stark basischen Substanz als kritisch anzusehen. Dennoch kann davon ausgegangen werden, dass ein MAK-Wert von 5,1 mg/m^3 vor einer Reizwirkung schützt [MAK-Begründung 1996]. Mutagene Effekte konnten bei MEA nicht beobachtet werden.

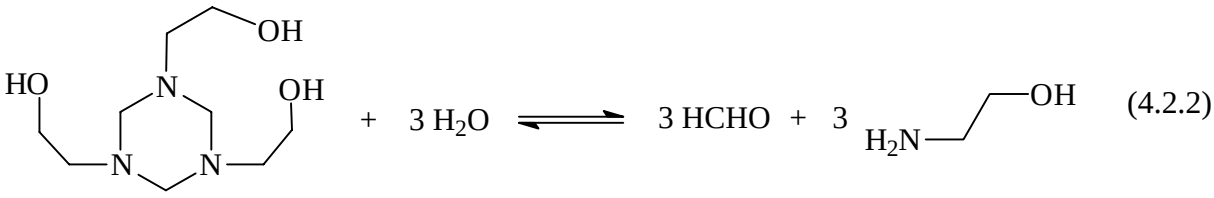
Benzotriazol weist nach inhalativer und oraler Aufnahme bei sehr hohen Konzentrationen akute toxische Wirkungen (ZNS) auf. Da Benzotriazol nur in geringen Konzentrationen bis 0,5 % in KSS enthalten ist, kann nicht mit toxischen Wirkungen beim Arbeiten mit KSS gerechnet werden [MAK-Begründung 1988]. Toxische Effekte bei Langzeitexposition können nicht abschließend bewertet werden. Mutagene Wirkungen von Benzotriazol wurden nicht beobachtet. Ein MAK-Wert für Benzotriazol konnte nicht festgelegt werden.

4.2.1.3 Ursachen der mutagenen Wirkung

Weitere Untersuchungen sollten zeigen, ob die mutagene Wirkung der Schmierstoffe bzw. der Inhaltsstoffe EDAO und HHT auf den freigesetzten Formaldehyd, der im Ames-Test mutagen ist [O´Donovan 1993], oder auf das unzersetzte Biozid zurückzuführen ist. In den folgenden Reaktionsgleichungen ist die Formaldehyd-Freisetzung aus EDAO (Gl. 4.2.1) und HHT (Gl. 4.2.2) dargestellt:



(4.2.1)



(4.2.2)

Zunächst wurde ein Vergleich zwischen dem theoretisch berechneten Formaldehyd-Gehalt und dem analytisch-chemisch bestimmten in den KSS- und den Biozid-Proben vorgenommen. In KSS A sind laut Hersteller 2 % EDAO (M= 143 g/mol, Reinheit 95 %), in KSS B 1 % HHT (M= 219 g/mol, Reinheit 80 %) enthalten. Bei der Annahme einer vollständigen Hydrolyse der Biozide erhält man aus 1 Mol EDAO 2 Mol Formaldehyd, aus 1 Mol HHT 3 Mol Formaldehyd. Mit dieser Annahme lässt sich der maximal mögliche Gehalt an Formaldehyd (potenzieller Formaldehyd-Gehalt) in den Schmierstoffen theoretisch berechnen. In Tab. 4.2.3 sind die Ergebnisse des Vergleichs zwischen berechnetem und mit DNPH bestimmten Formaldehyd-Gehalt (Kap. 3.5.3) in den Proben wiedergegeben.

Tab. 4.2.3: Vergleich zwischen berechnetem und bestimmten Formaldehyd-Gehalt in KSS- und Biozid-Proben

	Formaldehyd in mg/l		
	theoretisch berechnet	im KSS bestimmt	im Biozid bestimmt
KSS A 5 % bzw. EDAO 0,1 %	399	259 (65 %)	359 (90 %)
KSS A 7,5 % bzw. EDAO 0,15 %	598	431 (72 %)	506 (85 %)
KSS A 10 % bzw. EDAO 0,2 %	797	530 (66 %)	686 (86 %)
KSS B 5 % bzw. HHT 0,05 %	164	144 (88 %)	154 (94 %)
KSS B 10 % bzw. HHT 0,1 %	329	265 (81 %)	302 (92 %)
KSS B 15 % bzw. HHT 0,15 %	493	355 (72 %)	420 (85 %)

Für die Biozide EDAO und HHT konnte zwischen den berechneten und bestimmten Formaldehyd-Gehalten in den Proben eine Übereinstimmung zwischen 85 und 94 %, für die Formaldehyd-Bestimmung in den Schmierstoffen zwischen 65 und 72 % für KSS A und 72 bis 88 % für KSS B erzielt werden. Die gute Übereinstimmung bei den Bioziden zeigt die Richtigkeit der getroffenen Annahmen. Die schlechtere Übereinstimmung bei den Schmierstoffen, insbesondere bei KSS A, könnte mit ungenauen Angaben der enthaltenen Biozid-Konzentration durch die Hersteller und mit Störungen von KSS-Bestandteilen bei der Bestimmung begründet werden. Es ist einschränkend anzumerken, dass das bei der Bestimmung verwendete Derivatisierungsmittel DNPH das Hydrolysegleichgewicht der Biozide (Gl. 4.2.1 und 4.2.2) durch Reaktion mit Formaldehyd beeinflusst und somit der gemessene Formaldehyd-Gehalt dem durch Hydrolyse maximal möglichen entspricht. Diese Einschränkung wird in diesem Kapitel später weiter diskutiert.

Ein Ames-Test mit dem Enzym Formaldehyddehydrogenase (FDH) als Zusatz, welches den Formaldehyd oxidiert, sollte Formaldehyd als mutagenes Agens sowohl in der komplexen Mischung als auch in den Bioziden bestätigen. Dazu wurden den Schmierstoffen KSS A und KSS B sowie den Bioziden EDAO und HHT zusätzlich 0,5 U/ml FDH und NAD als Coenzym im Phosphatpuffer bzw. im S9-Mix zugesetzt. Dabei entspricht 1 U der Enzymmenge, die 1 µmol Formaldehyd pro Minute bei pH 7,5 und 37 °C oxidiert. Somit sind in 500 µl (Volumen des Phosphatpuffers bzw. des S9-Mix) 0,25 U FDH enthalten, die bei

einer Präinkubationszeit von 20 min unter optimalen Bedingungen 5 µmol Formaldehyd, also 150 µg Formaldehyd in einer eingesetzten Probenmenge von 100 µl oxidieren können.
Als Kontrolle wurden wässrige Formaldehyd-Lösungen in gleicher Weise untersucht. In Abb. 4.2.8 und 4.2.9 sind die Ergebnisse für den Stamm TA 100 mit und ohne metabolische Aktivierung dargestellt.

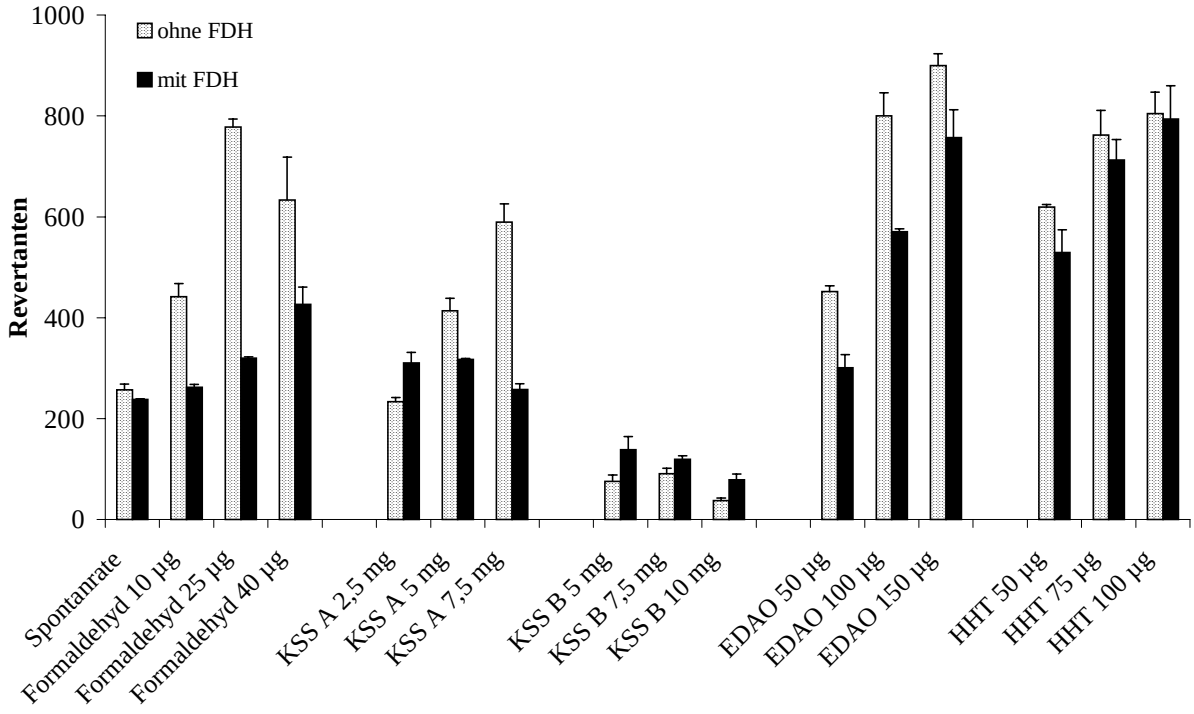


Abb. 4.2.8: Revertantenzahlen von KSS A, KSS B, EDAO, HHT und der Formaldehyd-Kontrolle mit und ohne FDH-Zusatz

(TA 100 ohne Zusatz von S9-Mix; die Konzentrationsangaben beziehen sich auf Menge pro Platte)

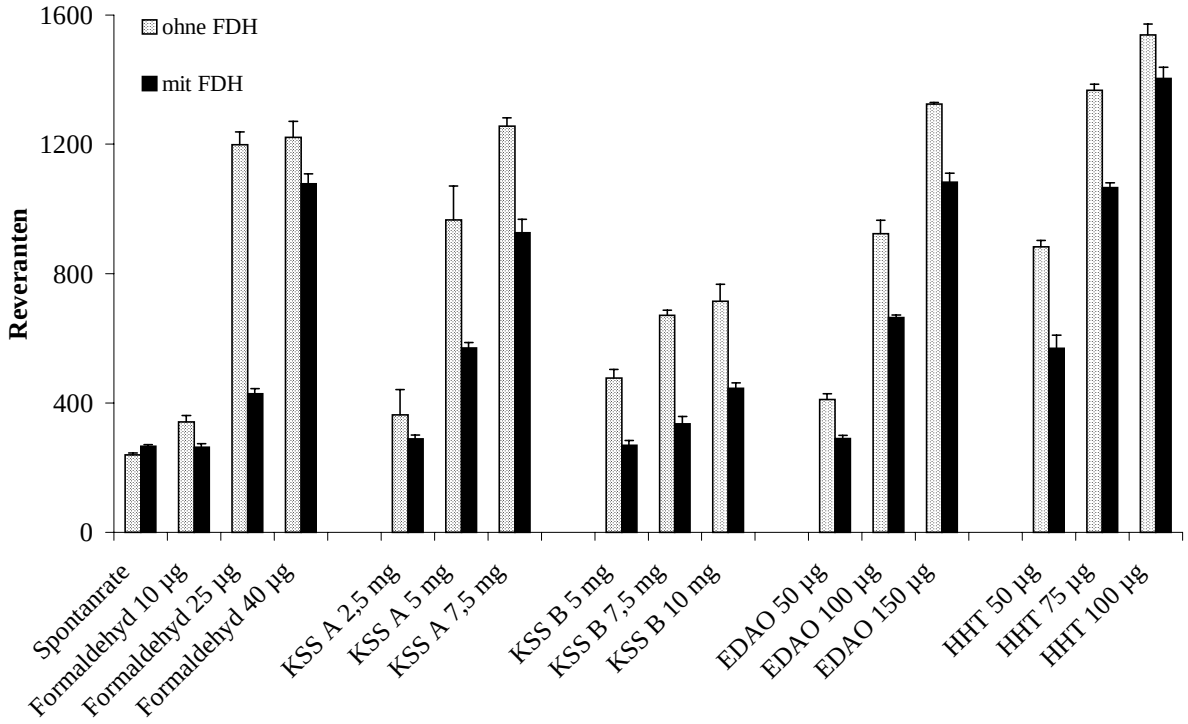


Abb. 4.2.9: Revertantenzahlen von KSS A, KSS B, EDAO, HHT und der Formaldehyd-Kontrolle mit und ohne FDH-Zusatz (TA 100 mit Zusatz von S9-Mix)

Es zeigt sich für fast alle Proben unabhängig von der metabolischen Aktivierung eine Reduktion der Revertantenzahlen bei Zusatz von FDH. Im Stamm TA 98 zeigen sich diese Effekte im gleichen Ausmaß. Für den Schmierstoff KSS B wird allerdings im Stamm TA 100 ohne metabolische Aktivierung eine leichte Erhöhung der Revertantenzahlen bei FDH-Zugabe beobachtet. Die bei der Probe vorhandenen cytotoxischen Effekte, die wahrscheinlich durch das Biozid und weitere Komponenten verursacht werden, werden bei FDH-Zugabe vermindert. Dies bedingt eine Annäherung der Revertantenzahl an die Spontanrate. Im Stamm TA 100 mit metabolischer Aktivierung werden für KSS B keine cytotoxischen Effekte, sondern ein dosisabhängiger Anstieg der Revertantenzahlen, beobachtet, da offensichtlich einige Inhaltsstoffe durch den S9-Mix verändert wurden. Hier bedingt die FDH-Zugabe eine Reduktion der Revertantenzahlen.

In den Biozid- und KSS-Proben ist teilweise eine geringere Reduzierung der Revertantenzahl bei Zugabe von FDH als in der Kontrolle zu beobachten. Dies könnte auf einen Einfluss des Lösemittel-Gemisches DMSO/H_2O zurückzuführen sein, da die Formaldehyd-Kontrolle nur in H_2O angesetzt ist. Daher wurden die Biozide und die Formaldehyd-Kontrolle vergleichend in H_2O und DMSO/H_2O im Stamm TA 100 untersucht. Weiterhin wurde für das Lösemittel-

Gemisch DMSO/H_2O die FDH-Konzentration auf 1,0 U/ml gesteigert. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.2.10 dargestellt.

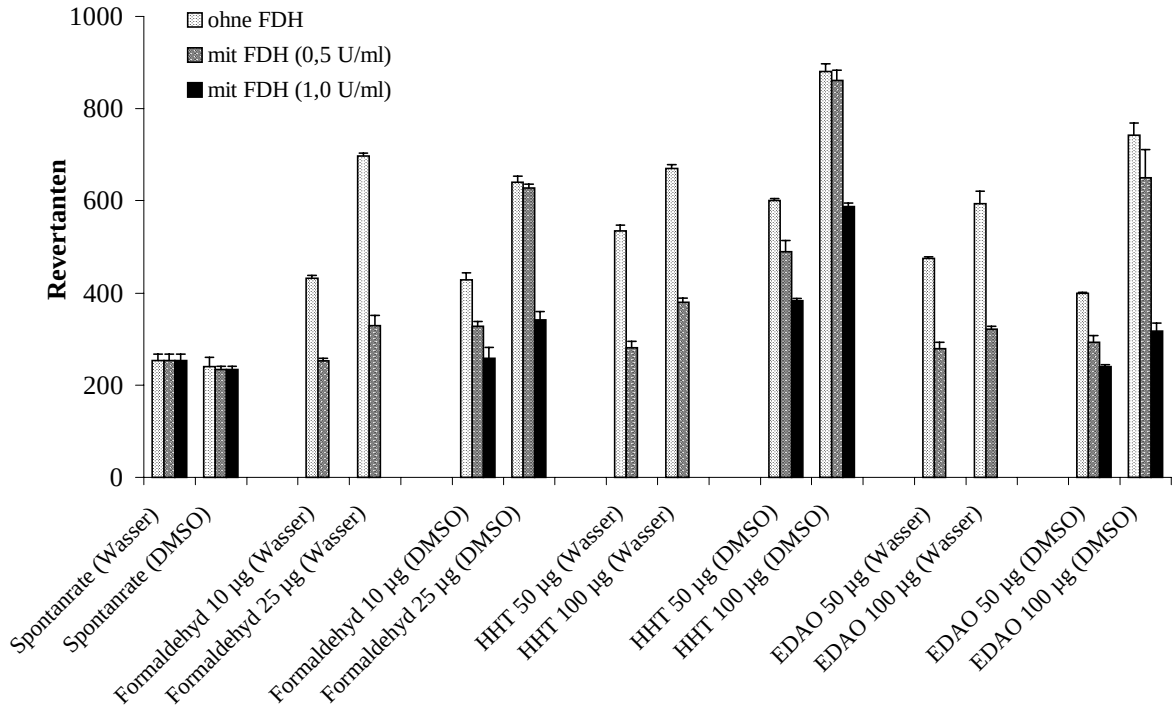


Abb. 4.2.10: Vergleich der Revertantenzahlen von KSS A, KSS B, EDAO, HHT und der Formaldehyd-Kontrolle mit und ohne FDH-Zusatz unter Verwendung verschiedener Lösemittel

(TA 100 ohne Zusatz von S9-Mix; die mit DMSO gekennzeichneten Proben enthalten DMSO/H_2O als Lösemittel)

Der Abb. 4.2.10 ist zu entnehmen, dass die Revertantenzahlen für alle Proben im wässrigen Milieu bei Zusatz von 0,5 U/ml FDH auf annähernd Kontrollniveau zurückgegangen sind. Bei den Proben, die in DMSO/H_2O gelöst sind, ist die Reduzierung der Revertantenzahlen und damit der Abbau des Formaldehyd gehemmt. Erst bei einer FDH-Konzentration von 1,0 U/ml ist eine weitere Reduktion der Revertantenzahlen bei diesen Proben zu beobachten.

Weiterhin zeigt sich, dass ohne FDH-Zugabe die Revertantenzahlen gleicher Probensubstanz mit gleicher Konzentration unabhängig vom Lösemittel annähernd gleich sind und nur der Abbau des Formaldehyds durch das Lösemittel-Gemisch DMSO/H_2O gehemmt wird.

Der enzymatische Abbau von Formaldehyd konnte auch analytisch-chemisch durch Messung des Formaldeyds in den jeweiligen Proben nachgewiesen werden. Hier gab es jedoch Probleme bei Messungen von Proben, bei denen DMSO als Lösemittel verwendet wurde. Die Standardabweichungen der Formaldehyd-Bestimmungen waren mit 20 % sehr groß und es

wurden Wiederfindungsraten von Formaldehyd in den Proben von nur 20-30 % erreicht. Daher wurden nur Proben gemessen, die in H_2O gelöst waren. Die Versuche mit FDH-Zusatz wurden entsprechend der Mengenverhältnisse wie beim Ames-Test mit wässrigen Formaldehyd-, Biozid- und KSS-Emulsionen durchgeführt. So wurden 25 µl der wässrigen Probe mit 125 µl 0,5 U/ml FDH-Puffer für 20 min bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde der noch vorhandene Formaldehyd in der Probe mit 850 µl DNPH-Derivatisierungslösung umgesetzt und die Bestimmung des Formaldehyds mit der HPLC-UV/VIS entsprechend Kap. 3.5.3 durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 4.2.4 wiedergegeben

Tab. 4.2.4: Bestimmung und Abbau von Formaldehyd bei Zusatz von FDH

		ohne FDH	FDH (0,5 U/ml)		FDH (1,0 U/ml)	
		Formaldehyd in mg/l	Formaldehyd in mg/l	Abbau in %	Formaldehyd in mg/l	Abbau in %
Formaldehyd-Lösungen		100	13,3	86,7		
		250	48,2	80,7	6,2	97,4
HHT	0,05 %	154,1	8,3	94,6		
	0,1 %	301,9	27,0	91,1		
EDAO	0,05 %	159,1	5,2	96,7		
	0,1 %	359,0	115,7	67,8	48,4	86,5
KSS A	5 %	258,8	38,6	85,1		
	7,5 %	431,1	174,0	59,6	50,7	88,2
KSS B	5 %	144,2	4,9	96,6		
	10 %	264,9	40,2	84,8		

Die Messungen bestätigen den Abbau von Formaldehyd durch den FDH-Zusatz in den Proben. Bei hohen Formaldehyd-Konzentrationen in der Probe und Abbauraten kleiner 81 % konnte durch eine höhere FDH-Konzentration (1,0 U/ml) eine weitere Reduktion erreicht werden.

Es wurde gezeigt, dass durch Zugabe des Formaldehyd abbauenden Enzyms FDH die mutagene Wirkung der Biozide EDAO und HHT signifikant verringert werden konnte. Da das Enzym FDH das Hydrolysegleichgewicht der Biozide (Gl. 4.2.1 und 4.2.2) durch den Abbau von Formaldehyd beeinflusst, wird damit die Konzentration der Biozide im Testansatz ebenfalls erniedrigt. So kann bislang keine Aussage darüber getroffen werden, ob die Biozide

EDAO und HHT oder der freigesetzte Formaldehyd mit der DNA des Bakteriums reagieren und somit mutagen wirken.

Zur weiteren Interpretation der bisherigen Ergebnisse wurden die Revertantenzahlen von dem Biozid HHT und von Formaldehyd-Lösungen miteinander verglichen. In Tab. 4.2.5 sind die Revertantenzahlen von HHT mit einer Konzentration von 50 µg/Platte (potenzieller Formaldehyd-Gehalt von 17,4 µg/Platte) und von Formaldehyd-Lösungen mit 10 und 25 µg/Platte in den Stämmen TA 98 und TA 100 wiedergegeben.

Tab. 4.2.5: Vergleich der Revertantenzahlen von HHT und Formaldehyd

	TA 98		TA 100	
	ohne S9-Mix	mit S9-Mix	ohne S9-Mix	mit S9-Mix
Formaldehyd 10 µg/Platte	75	74	430	350
HHT 50 µg/Platte, entspricht Formaldehyd 17,4 µg/Platte	**119**	**88**	**620**	**880**
Formaldehyd 25 µg/Platte	127	127	770	1210

Unter der Voraussetzung einer annähernd linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung für Formaldehyd zwischen 10 und 25 µg/Platte kann die Revertantenzahl von HHT mit einer Konzentration von 50 µg/Platte, dies entspricht einer Formaldehyd-Konzentration von 17,4 µg/Platte, in die lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung gut eingeordnet werden. Daher kann angenommen werden, dass Formaldehyd als mutagenes Agens der Biozide wirkt. Der Formaldehyd reagiert mit der DNA der verschiedenen mutierten Gene des Histidin-Operons, das Enzyme des Histidin-Biosyntheseweges in den Bakterien codiert, und bewirkt dadurch eine Rückmutation zum Wildtyp des Bakteriums. Die Reaktion von Formaldehyd mit DNA stellt wiederum eine Beeinflussung des Hydrolysegleichgewichtes der Biozide dar.
Es kann insgesamt festgestellt werden, dass der Formaldehyd, der von den Bioziden EDAO und HHT in einer Gleichgewichtsreaktion freigesetzt wird, wahrscheinlich als mutagenes Agens wirksam ist. In den dargestellten Untersuchungen wurde das Hydrolysegleichgewicht der Biozide durch die Reaktion von Formaldehyd an der DNA, durch FDH-Zugabe oder durch das Derivatisierungsreagenz DNPH bei der Bestimmung von Formaldehyd beeinflusst. Auf diesem Hintergrund ist die analytisch-chemische Bestimmung von Formaldehyd, die zwar die aktuelle Konzentration von Formaldehyd in der KSS-Emulsion nicht ermitteln kann,

sondern den potenziellen Formaldehyd-Gehalt, eine sinnvolle und ergänzende Methode bei diesen Untersuchungen. Der potenzielle Formaldehyd-Gehalt stellt die Konzentration dar, die wahrscheinlich insgesamt an der DNA wirksam ist. Damit lässt sich auch die stärkere mutagene Wirkung von KSS A gegenüber KSS B mit der höheren, an der DNA wirksamen, potenziellen Formaldehyd-Konzentration von 258,8 mg/l gegenüber 144,2 mg/l (bei 5 %igen Emulsionen) erklären.

4.2.2 Luftproben aus Konzentraten der wassermischbaren KSS

Zur Generierung der Luftproben für den Ames-Test wurde das sog. offene System verwendet (Kap. 3.9), da für einen Test mit zwei Stämmen, Zusatz von S9-Mix, dreifachem Probenansatz und einer unabhängigen Testwiederholung die erforderlichen Probenmengen bis zu 250 mg erhalten werden. Die Proben wurden bei einer Probennahmedauer von 45 min generiert. Die beaufschlagten Filter und das XAD-2-Adsorberharz aus dem GGP-Probennahmekopf wurden jeweils dreimal mit 10 ml Diethylether extrahiert, die organischen Phasen vereinigt und mit N_2 eingeengt. Der verbleibende ölige Rückstand wurde mit der gleichen Menge Tween 80 versetzt, in DMSO/H_2O (1:1) emulgiert und konzentrationsabhängig im Ames-Test untersucht. Wegen der Probenmengen, die mit Hilfe des offenen Systems erhalten wurden, war eine Höchstkonzentration von 5 mg/Platte im Test realisierbar. In den Abb. 4.2.11 und 4.2.12 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen mit den Stämmen TA 98 und TA 100 dargestellt.

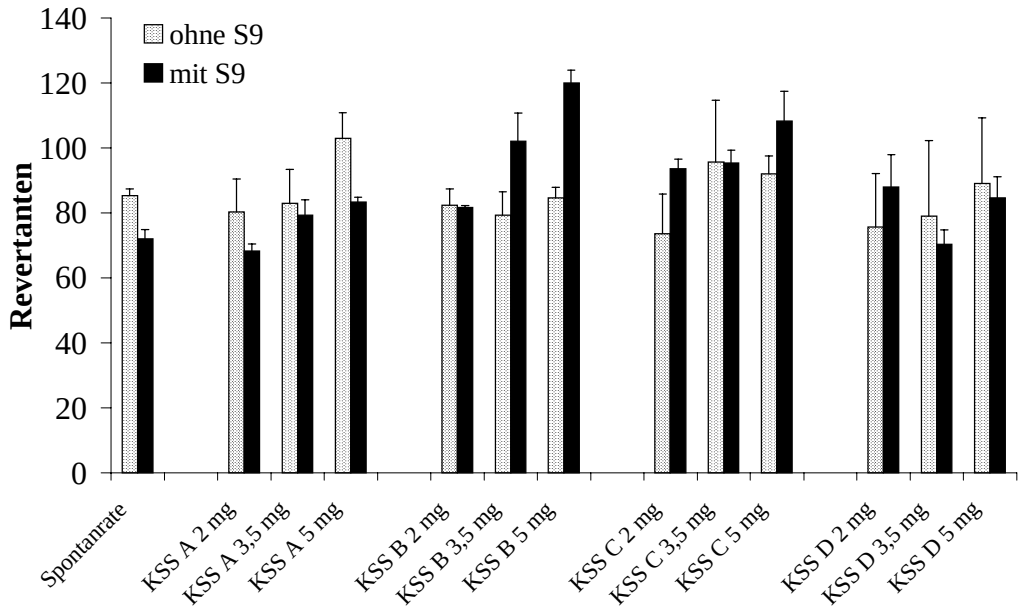


Abb. 4.2.11: Revertantenzahlen von Luftproben der Schmierstoffe KSS A, KSS B, KSS C und KSS D (TA 98)

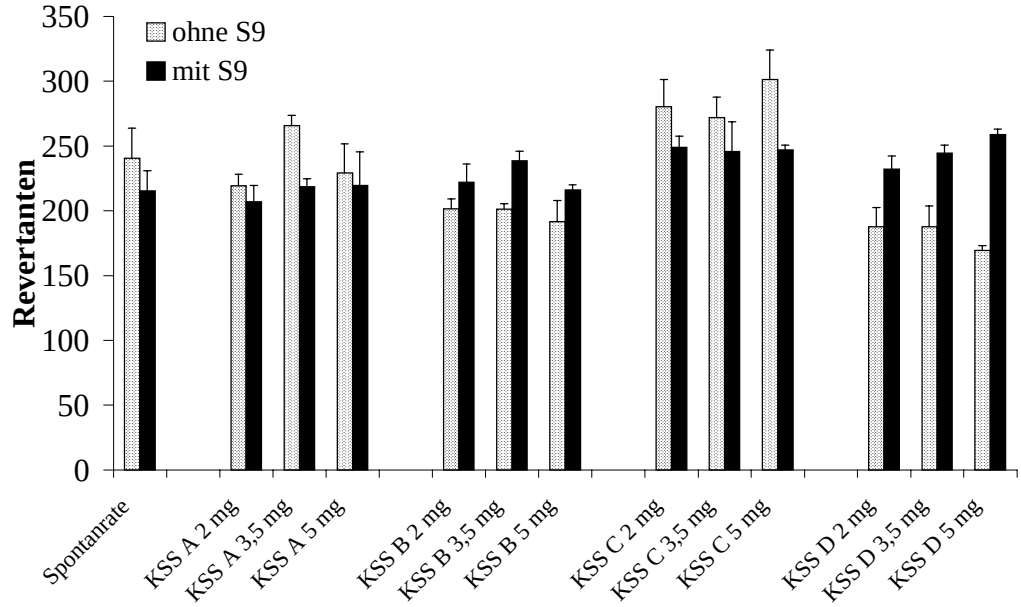


Abb. 4.2.12: Revertantenzahlen von Luftproben der Schmierstoffe KSS A, KSS B, KSS C und KSS D (TA 100)

Aus den Abbildungen wird deutlich, dass die generierten Luftproben auch der mutagenen KSS-Konzentrate KSS A und KSS B weder eine deutliche Erhöhung der Revertantenzahlen

noch cytotoxische Effekte zeigen. Eine mögliche Erklärung wäre der thermische Abbau der Biozide und damit verbunden eine Freisetzung von Formaldehyd aus dem Probenaerosol. Mit Hilfe von DNPH-Kartuschen wurde der Formaldehyd-Gehalt im Probenaerosol untersucht. Es konnte innerhalb der Nachweisgrenze von 16 µg/m^3 (Probennahmevolumen 2 l) kein Formaldehyd nachgewiesen werden. Dieser könnte unter den Versuchsbedingungen in dem heißen Probenrohr oxidiert sein.

4.2.3 Extraktion der wässrigen Emulsionen

Aus der Industrie standen gebrauchte 5 %ige wässrige Emulsionen verschiedener Standzeiten aus Bearbeitungszentren zur Verfügung. Grundlage der Emulsionen sind die Schmierstoffe KSS A, KSS B und KSS C. Die gebrauchten und neu angesetzten Emulsionen wurden extrahiert und der Extrakt sowie der wässrige Rückstand im Ames-Test untersucht. So wurden 10 ml der Emulsion in einen Scheidetrichter gegeben, mit einer Spatelspitze NaCl versetzt und dreimal mit je 10 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden 1 h über $MgSO_4$ getrocknet, mit N_2 eingeengt, anschließend in Tween 80/DMSO/H_2O emulgiert und in den Konzentrationen 2 und 5 mg/Platte in den Test eingesetzt. Die wässrigen Rückstände wurden vom Diethylether mit N_2 befreit und mit den Salmonellen-Stämmen TA 98 und TA 100 untersucht. Desweiteren wurde der Formaldehyd-Gehalt in den verschiedenen Emulsionen bestimmt. In Tab. 4.2.6 und 4.2.7 sind die Ergebnisse dargestellt.

Tab. 4.2.6: Ergebnisse der Formaldehyd-Bestimmung und des Ames-Testes für Emulsionen von KSS A

		Alter der Emulsion			
		neu	2 Wochen	2 Monate	10 Monate
Formaldehyd-Gehalt / mg/l		258,8	15,1	4,8	<NWG
Ergebnisse des Ames-Testes:					
Extrakt	2 mg/Platte	-	-	-	-
	5 mg/Platte	-	-	-	-
wässriger Rückstand		verm.HR	-	-	-

verm.HR : verminderte Hintergrundrate in allen Stämmen
\- : keine Erhöhung der Revertantenzahlen gegenüber der Spontanrate in beiden Stämmen
NWG : Nachweisgrenze für Formaldehyd in KSS-Emulsionen: 2 mg/l

Tab. 4.2.7: Ergebnisse der Formaldehyd-Bestimmung und des Ames-Testes für Emulsionen von KSS B

		Alter der Emulsion			
		neu	2 Wochen	ca. 6 Monate	ca. 10 Monate
Formaldehyd-Gehalt / mg/l		168,8	162,9	67,4	3,5
Ergebnisse des Ames-Testes:					
Extrakt	2 mg/Platte	verm.HR[1]	verm.HR[1]	verm.HR[1]	verm.HR[1]
	5 mg/Platte	Tox[1]	Tox[1]	Tox[1]	Tox[1]
wässriger Rückstand		Tox	Tox[2]	Tox[2]	Tox[2]

verm.HR[1] : verminderte Hintergrundrate nur im Stamm TA 100 ohne Zusatz von S9-Mix
Tox[1] : Cytotoxizität nur im Stamm TA 100 ohne Zusatz von S9-Mix
Tox[2] : Cytotoxizität außer im Stamm TA 98 bei Zusatz von S9-Mix
Tox : Cytotoxizität in beiden Stämmen

Es ist zu erkennen, dass der Formaldehyd-Gehalt in den Emulsionen mit zunehmender Bearbeitungsdauer abnimmt, bei KSS A sehr schnell, bei KSS B langsamer. Nach Angabe des Betreibers wurde bei KSS B kein Biozid während des Gebrauchs nachgefüllt.

Im Ames-Test konnten bei den Emulsionen von KSS A im Extrakt und im wässrigen Rückstand keine erhöhten Revertantenzahlen gegenüber der Spontanrate in den Stämmen TA 98 und TA 100 mit und ohne Zusatz von S9-Mix gefunden werden. Der wässrige Rückstand der neu angesetzten Emulsion weist eine verminderte Hintergrundrate in den getesteten Stämmen auf.

Die Extrakte der Emulsionen von KSS B zeigen im Ames-Test ebenfalls keine Erhöhungen der Revertantenzahlen. Der Extrakt mit der Konzentration von 2 mg/Platte weist, wie bereits bei dem entsprechenden Konzentrat (Kap. 4.2.1.1), eine verminderte Hintergrundrate bei der Konzentration von 5 mg/Platte eine Cytotoxizität im Stamm TA 100 ohne Zusatz von S9-Mix auf. Der wässrige Rückstand ist in den meisten Ansätzen cytotoxisch.

Die Ergebnisse der nach Ether-Extraktion erhaltenen wässrigen Rückstände und Extrakte weichen von den Ergebnissen der Konzentrate des jeweiligen Schmierstoffes ab. So wird bei den Konzentraten von KSS A und KSS B, die mit Tween 80/DMSO/H_2O in den Test eingesetzt wurden, ein Anstieg der Revertantenzahlen beobachtet. Bei den Extrakten und wässrigen Emulsionen wird dies jedoch nicht erhalten. Geht man davon aus, dass bei der Extraktion der Emulsionen das wasserlösliche, mutagen wirkende Biozid im wässrigen Rückstand verbleibt, so müssten diese Proben ebenfalls eine Erhöhung der Revertantenzahlen zeigen. Bei den wässrigen Rückständen nach Extraktion dieser Schmierstoffe zeigen sich jedoch eine verminderte Hintergrundrate (KSS A) bzw. eine Cytotoxizität (KSS B) in den

Stämmen TA 98 und TA 100. Da der wässrige Rückstand keinen Zusatz von Tween 80/DMSO hat und DMSO nach Roy [Roy 1988] die Sensitivität gegenüber mutagenen Substanzen in Kohlenwasserstoffen steigern soll, ist die Abweichung dieser Ergebnisse mit der Veränderung des Lösemittels (H_2O bzw. Tween 80/DMSO/H_2O) zu erklären.
Die Emulsionen von KSS C enthalten kein Formaldehyd, da keine Formaldehyd abspaltenden Biozide im Konzentrat enthalten sind. Es werden weder Hinweise auf ein mutagenes Potenzial noch auf cytotoxische Effekte in den Emulsionen von KSS C erhalten.
Die gebrauchten Emulsionen wiesen eine starke Verkeimung auf. Die Verkeimung stellte bei der Aufarbeitung der Proben durch Extraktion mit Diethylether und anschließend im Ames-Test selbst kein Problem dar, da offensichtlich die Keime durch die Aufarbeitung abgetötet wurden. Die Probenplatten zeigten keine Verkeimung nach der Brutzeit von 72 h.

4.2.4 Luftproben von KSS-Emulsionen

Es wurden Luftproben der vorhandenen KSS-Emulsionen (gebraucht und neu angesetzt) mit dem offenen System generiert. Statt der KSS-Konzentrate wurden hier 5 %ige Emulsionen bei einer Probennahmedauer von 45 min zerstäubt. Der Filter und das XAD-Adsorberharz aus dem GGP-Probennahmekopf wurden dreimal mit jeweils 10 ml Diethylether extrahiert und die vereinigten Extrakte mit N_2 eingeengt. Nach der Aufarbeitung wurden die erhaltenen Proben in einer Konzentration von 2 mg/Platte in den Ames-Test eingesetzt. Eine konzentrations-abhängige Untersuchung konnte aufgrund der geringen Menge des erhaltenen Proben-materials nicht erfolgen. Bei den Tests konnte keine Erhöhung der Revertantenzahlen für diese Konzentration gegenüber der Spontanrate des jeweiligen Stammes beobachtet werden.

4.3 Schmierstoffe für die MMS

4.3.1 Direkter Einsatz der Schmierstoffe

Es wurden 5 Schmierstoffe für die MMS verschiedener Grundrezepturen (siehe auch Kap. 4.1) im Ames-Test untersucht. Die Proben lagen als Konzentrate vor, die ohne weitere Vorbereitung aus dem Vorratsgefäß in das Dosiergerät für die Schmierstoffzufuhr an den Bearbeitungszentren, die mit MMS betrieben werden, eingefüllt werden. Für den Test wurden

die Konzentrate mit Tween 80 im gleichen Mengenanteil intensiv gemischt, in DMSO/H_2O (1:1) emulgiert und in den Konzentrationen zwischen 1 und 10 mg/Platte eingesetzt. In Abb. 4.3.1 und 4.3.2 sind die Revertantenzahlen von 5 Schmierstoffen für die MMS (MMS A, MMS B, MMS C, MMS D und MMS E) konzentrationsabhängig für die zwei Salmonellen-Stämme TA 98 und TA 100 dargestellt.

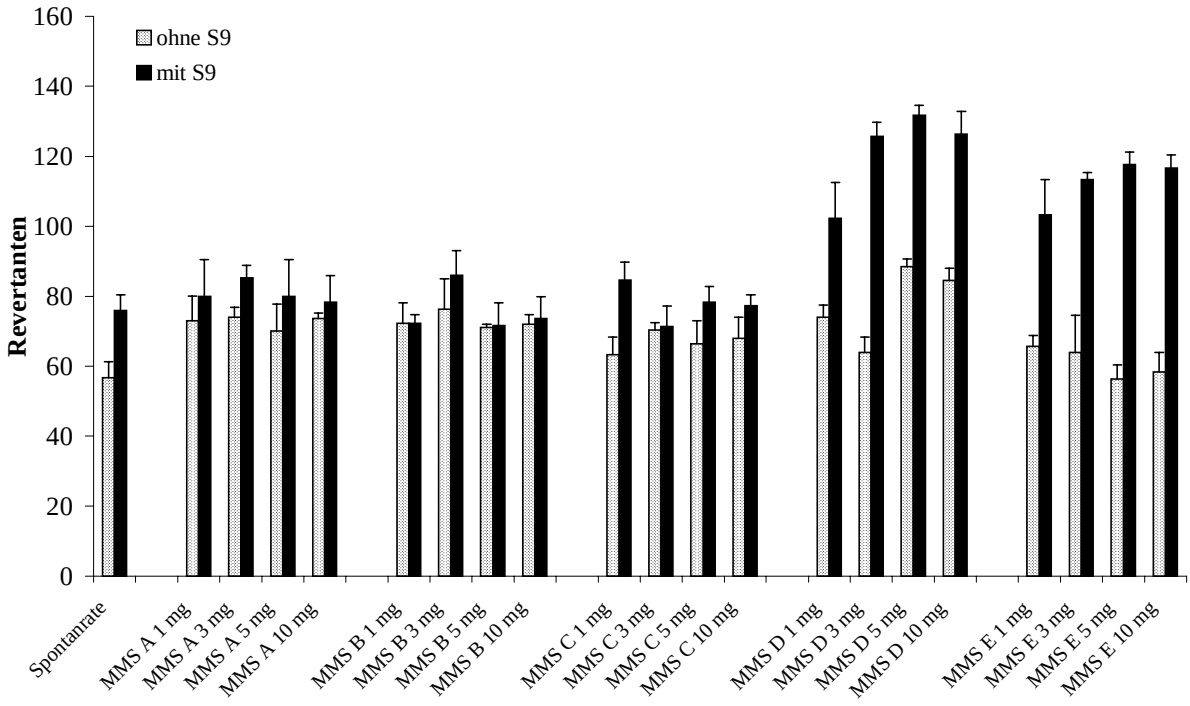


Abb. 4.3.1: Revertantenzahlen für 5 Öle der MMS in Abhängigkeit von der Konzentration (TA 98; die Konzentrationsangaben beziehen sich auf Menge pro Platte)

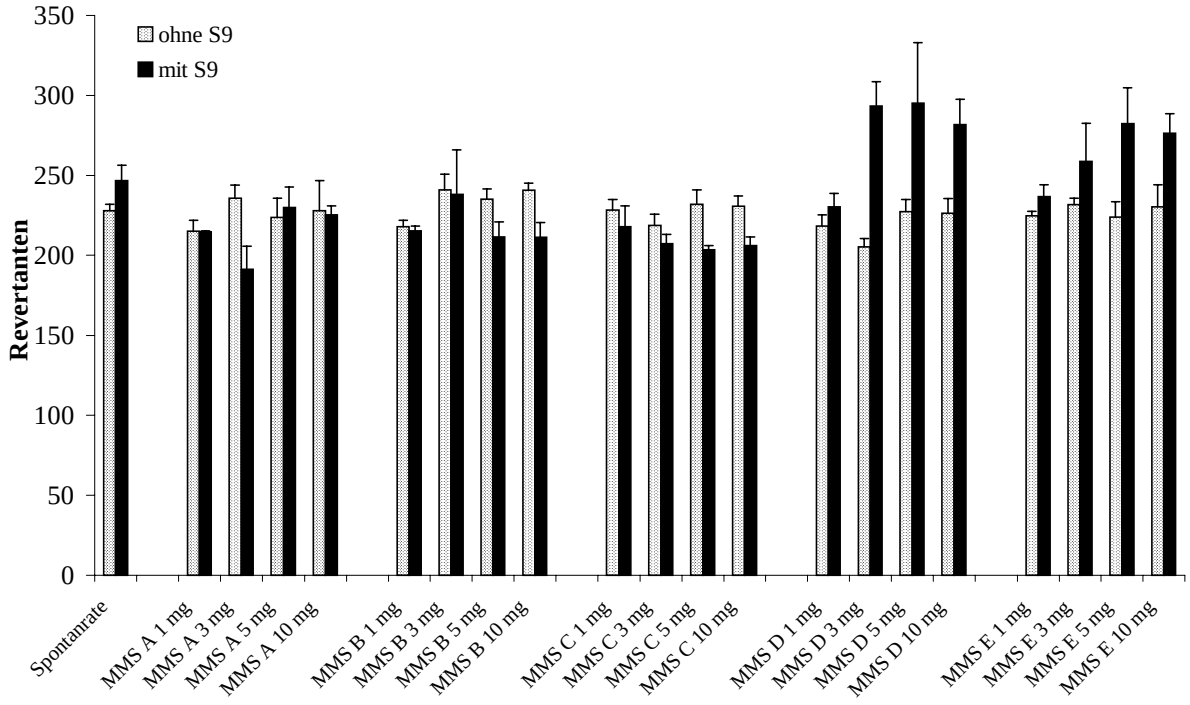


Abb. 4.3.2: Revertantenzahlen für 5 Öle für die MMS in Abhängigkeit von der Konzentration (TA 100; die Konzentrationsangaben beziehen sich auf Menge pro Platte)

Die Schmierstoffe für die MMS zeigen in den Salmonellen Stämmen TA 98, TA 100, TA 102 und TA 104 keine signifikante, konzentrationsabhängige Erhöhung der Revertantenzahlen gegenüber der Spontanrate des Stammes und sind damit nicht mutagen im Ames-Test. Die Ergebnisse des Ames-Testes von MMS A, dem Fettalkohol 2-Octyldodecan-1-ol, der in Hautpflegeprodukten verwendet wird, finden in der Literatur Bestätigung [Henkel 1979]. Die anderen Schmierstoffe wurden bislang nicht im Ames-Test untersucht.

4.3.2 Luftproben aus Schmierstoffen für die MMS

Bei der MMS sind die Bearbeitungstemperaturen höher als bei der konventionellen Schmierung mit Emulsionen, so dass die Entstehung von Reaktionsprodukten möglich ist. Da es sich bei der MMS um eine Verlustschmierung handelt, ist der Übergang von Schmierstoff-Aerosol und –Dampf sowie die darin enthaltenen Reaktionsprodukte in die Umgebung der Bearbeitungsstelle gegeben. Die Frage nach der mutagenen Wirkung der Schmierstoffe nach der Bearbeitung ist somit besonders wichtig.

So wurden Luftproben von Schmierstoffen für die MMS mit dem offenen System bei einer Probennahmezeit von 45 min generiert und, wie in Kap. 4.2.2 beschrieben, aufgearbeitet. Das erhaltene Öl wurde in Konzentrationen zwischen 2 und 5 mg/Platte im Ames-Test untersucht. Die Ergebnisse für die Stämme TA 98 und TA 100 sind in Abb. 4.3.3 und 4.3.4 dargestellt.

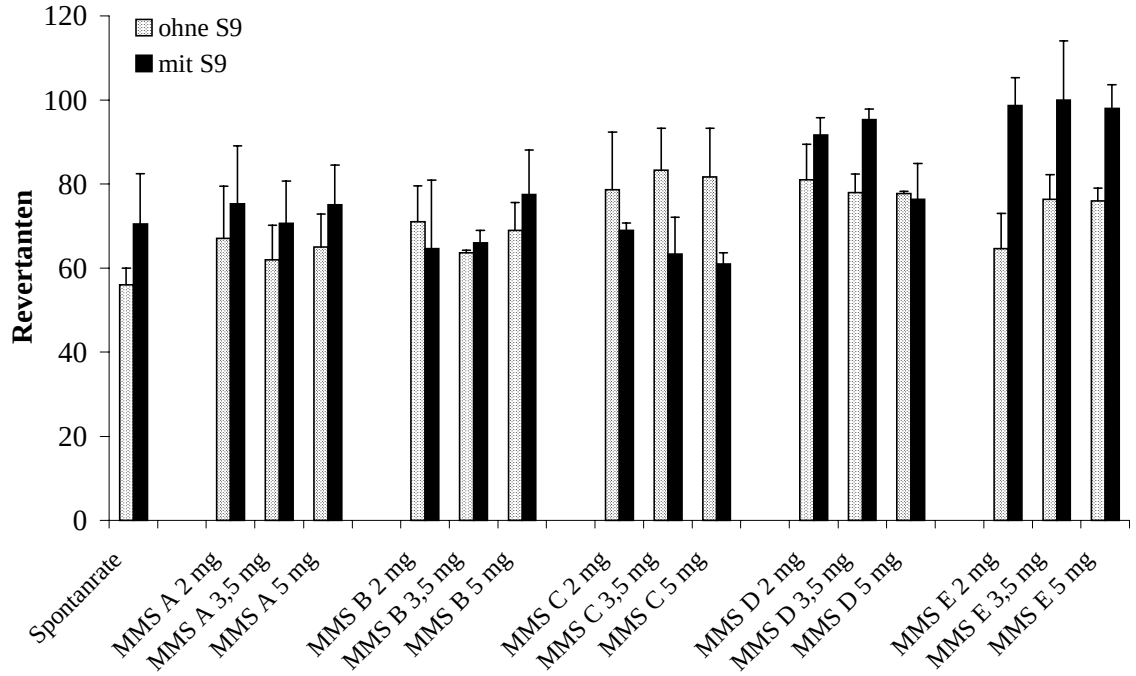


Abb. 4.3.3: Luftproben von 5 Schmierstoffen für die MMS (TA 98; Menge in mg/Platte)

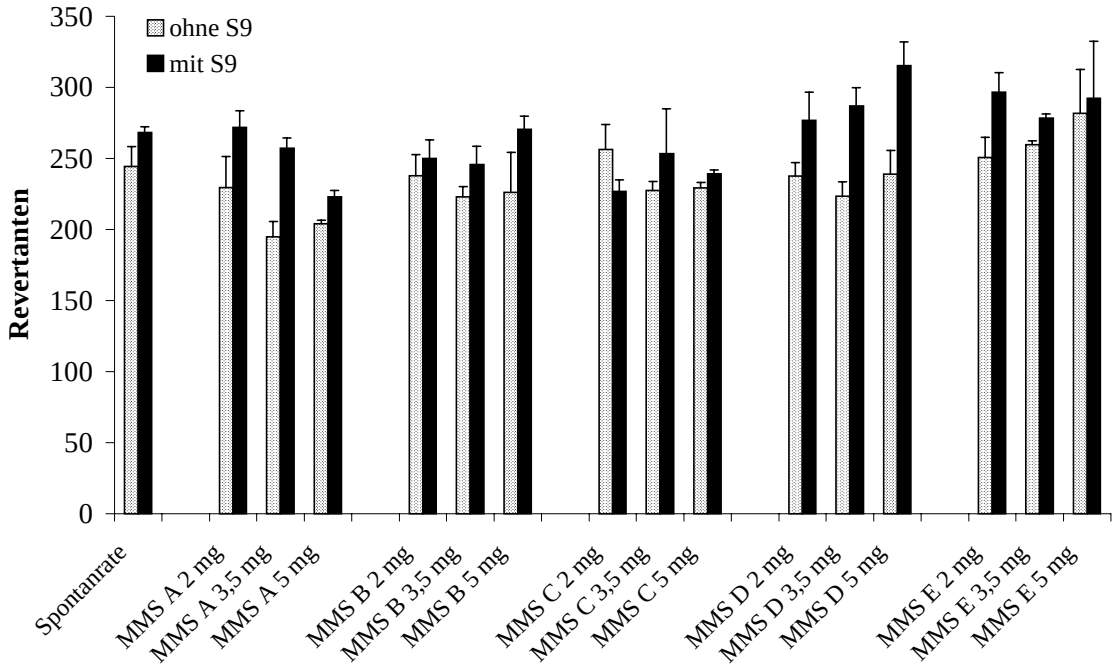


Abb. 4.3.4: Luftproben von 5 Schmierstoffen für die MMS (TA 100; Menge in mg/Platte)

Die Luftproben, die mit dem offenen System aus Schmierstoffen für die MMS generiert wurden, weisen im Ames-Test in den untersuchten Salmonellen Stämmen TA 98, TA 100, TA 102 und TA 104 keine mutagenen Effekte auf. Luftproben, die an Bearbeitungszentren genommen wurden, werden in Kap. 6 diskutiert. Die Entstehung von leichtflüchtigen Reaktionsprodudukten (z.B. Aldehyde), die bei der Probennahme für den Ames-Test nur unzureichend erfasst werden, wird in Kap. 5 erörtert.

4.4 Diskussion

Für den Umgang mit wassermischbaren KSS besteht nach bisherigen Studien eine Gesundheitsgefahr [Stork 1995, BIA 1996]. In dieser Arbeit wurden 5 wassermischbare KSS verschiedener Grundrezepturen im Ames-Test in Form von Konzentraten, generierten Luftproben von Konzentraten und Emulsionen (neu und gebraucht) sowie Extrakten und wässrigen Rückstanden einer Ether-Extraktion von Emulsionen untersucht. Dabei sind 2 Konzentrate mutagen im Ames-Test. Die als Biozide eingesetzten Formaldehyddepot-Verbindungen EDAO und HHT bzw. der daraus freigesetzte Formaldehyd konnten als Auslöser für die mutagene Wirkung der komplexen Mischung identifiziert werden. Konzentrate mit Natriumpyrithion als Biozid (N,S-Heterocyclus) zeigen dagegen keine mutagenen Effekte im Ames-Test.

Über das Gefährdungspotenzial von Schmierstoffen für die MMS bei der Bearbeitung sind bislang kaum Erfahrungen vorhanden. Es wurden 5 Schmierstoffe für die MMS als Konzentrate und generierte Luftproben dieser im Ames-Test untersucht. In keiner Probe konnten mutagenen Effekte beobachtet werden. Die Entstehung leichtflüchtiger Reaktionsprodukte, die bei der Luft-Probennahme für den Ames-Test nicht erfasst werden konnten, ist für die Bewertung des Gefahrenpotenzials der MMS ein wichtiges Kriterium. In Kap. 5 wird das Verhalten dieser Schmierstoffe bei thermischem Einfluss weitergehend diskutiert

5 Untersuchungen zum thermischen Einfluss auf KSS

5.1 Einführung

Bei der Bearbeitung eines metallischen Werkstücks treten an der Zerspanstelle je nach Bearbeitungsvorgang Temperaturen bis 900 °C auf [Famulok 1995]. Chemische Reaktionen, die auch durch das Werkstück- oder Bearbeitungsmaterial katalysiert werden können, sind dabei möglich und wahrscheinlich. Bei wassermischbaren KSS wird ein Teil der Prozesswärme mit der Verdampfung von H_2O abgeführt. Dies ist bei der MMS nicht möglich, so dass die Prozesstemperaturen gegenüber der Nass-Bearbeitung erhöht sind und die Entstehung von Reaktionsprodukten verstärkt in Betracht gezogen werden muss.

In der Literatur wird nur wenig über die Identifizierung von Reaktionsprodukten in der Luft und im Schmierstoff selbst nach thermischem Einfluss bei der Verwendung von KSS berichtet. Auf die Entstehung von PAK und NDELA wurde bereits hingewiesen. Bei der Erwärmung von zwei nicht-wassermischbaren KSS auf 200 °C wurden flüchtige Bestandteile aufgefangen und mit Hilfe der GC-MS bestimmt [Balabanova 1994]. Dabei konnten Kohlenwasserstoffe, aromatische Amine, Benzaldehyd und andere Aldehyde sowie Oxirane identifiziert werden. Inwieweit diese Stoffe Reaktionsprodukte oder vorhandene Inhaltsstoffe des Ausgangsöles waren, wurde nicht vergleichend diskutiert. Hierbei sei angemerkt, dass aufgrund der Vielzahl möglicher Zusammensetzungen von KSS allgemeingültige Aussagen über die Entstehung von Reaktionsprodukten nur schwer möglich sind.

Zur Bestimmung der Veränderung der Schmierstoffe bei langer Standzeit oder thermischem Einfluss wurden Proben der wassermischbaren KSS und Schmierstoffe für die MMS mit den Ausgangsprodukten verglichen. Diese Schmierstoffe fanden Anwendung bei Versuchen zur technischen Prozessoptimierung und wurden von den Projektpartnern zur Verfügung gestellt. Als Probenmaterial standen gebrauchte Emulsionen verschiedener Standzeiten aus Bearbeitungszentren sowie generierte Luftproben von Konzentraten (wassermischbare KSS und Schmierstoffe der MMS) und Emulsionen aus dem geschlossenen und offenen System zur Verfügung. Mit beiden Systemen stehen Simulationsanlagen zum thermischen Einfluss auf KSS zur Verfügung, die sich durch die Art der Probenerzeugung unterscheiden. So können mit dem offenen System größere Probenmengen gewonnen werden. Es wird ein Aerosol mit einer Transportrate von 0,2 ml/min kontinuierlich über 45 min bei der eingestellten Temperatur von 450 °C zugeführt. Mit dem geschlossenen System werden geringe Probenmengen bei einer einmaligen Probenzufuhr von 200 µl und einer Probennahmezeit von 30 min erzeugt. Es wurden Temperaturen von 450 und 600 °C

untersucht. Die vergleichenden analytisch-chemischen Untersuchungen wurden mit Hilfe der FT-IR und der GC-MS durchgeführt.

Für den Vergleich mit Hilfe der FT-IR wurden die Luftproben im offenen System generiert und die Probenträger (Filter und 2,0 g XAD-2-Harz) jeweils dreimal mit 10 ml Diethylether extrahiert. Die gebrauchten Emulsionen wurden entsprechend Kap. 4.2.3 mit Diethylether extrahiert und die organische Phase über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Abdampfen des Ethers wurde jeweils das erhaltene Öl als Film in einer KBr-Küvette im Wellenzahlen-Bereich 4000-400 cm^{-1} mit 16-facher Spektrenaddition (Auflösung 2 cm^{-1}) gemessen und mit dem Spektrum des ursprünglichen Öles verglichen, um so mögliche Veränderungen in der Zusammensetzung der Schmierstoffe zu erkennen. Exemplarisch wurde durch Zusatz der Aldehyde Butyraldehyd und Acrolein zu verschiedenen Ölen ermittelt, dass Veränderungen in der Zusammensetzung im Bereich zwischen 3 und 5 % mit dieser Methode noch nachweisbar sind.

Da KSS aufgrund der komplexen Zusammensetzung und der unterschiedlich polaren Einzelstoffe ein schwieriges chromatographisches Trennproblem darstellen, fiel große Bedeutung auf die Wahl der verwendeten Trennsäule. Als geeignet für diese Untersuchungen erwies sich eine DB-5-MS-Kapillarsäule mit einer Länge von 30 m und einer Filmdicke von 0,25 µm. Für den Vergleich mit Hilfe der GC-MS wurden Luftproben und Ursprungsöle untersucht. Für die im offenen System generierten Luftproben wurden als Adsorberphasen 2,0 g XAD-2-Harz (im GGP-Probennahmekopf) sowie Aktivkohleröhrchen verwendet. Im geschlossenen System wurde das Adsorberrohr mit 1,5 g XAD-2 befüllt. Das beladene XAD-2-Harz wurde in getrennten Versuchen einerseits mit 10 ml Acetonitril, andererseits mit 10 ml Hexan für 1 h geschüttelt. Die Aktivkohle wurde mit 2 ml CS_2 für 1 h geschüttelt und über Nacht zum Absetzen der Schwebstoffe im Dunkeln stehen gelassen. Von den Eluaten wurde 1 µl in den Injektor des GC-MS injiziert. Die Geräteparameter des GC-MS sind in Tab. 5.1.1 aufgeführt.

Tab. 5.1.1: Geräteparameter des GC-MS

	GC-Parameter	MS-Parameter
für alle Messungen	Säule: DB-5-MS Flussrate He: 1 ml/min (12 psi) Injektor: 250 °C Transferline: 250 °C Injektionsvolumen: 1 µl splitless	Ionenfalle: 220 °C Massenbereich: 50-350 Scan Time: 1 sec
Temperaturprogramm für den Acetonitril-Extrakt	75 bis 200 °C (10 °C/min) 200 bis 250 °C (2 °C/min) 250 °C für 8 min	
Temperaturprogramm für den Hexan-Extrakt	60 bis 200 °C (10 °C/min) 200 bis 250 °C (2 °C/min) 250 °C für 8 min	
Temperaturprogramm Für den CS_2-Extrakt	40 bis 200 °C (10 °C/min) 200 bis 250 °C (2 °C/min) 250 °C für 8 min	

5.2 Vergleichende Untersuchungen

5.2.1 Wassermischbare KSS

Bei den wassermischbaren KSS standen neben den Konzentraten der Schmierstoffe 26 gebrauchte Emulsionen auf der Grundlage von KSS A, KSS B und KSS C zur Verfügung. Die Standzeiten der Emulsionen variieren zwischen zwei Wochen und 10 Monaten.

5.2.1.1 IR-Spektroskopie

Die gebrauchten Emulsionen wurden, wie beschrieben, mit Diethylether extrahiert und ein Tropfen des erhaltenen Öles mit Hilfe der FT-IR-Spektroskopie untersucht. Die Proben wurden mit neu angesetzten, aufgearbeiteten 5 %igen Emulsionen und mit dem entsprechenden Konzentrat verglichen. In Abb. 5.2.1 sind FT-IR-Spektren einer gebrauchten 10 Monate alten und einer frischen Emulsion des gleichen Schmierstoffes nach Aufarbeitung dargestellt. Das FT-IT-Spektrum des entsprechenden Konzentrates entspricht den gezeigten.

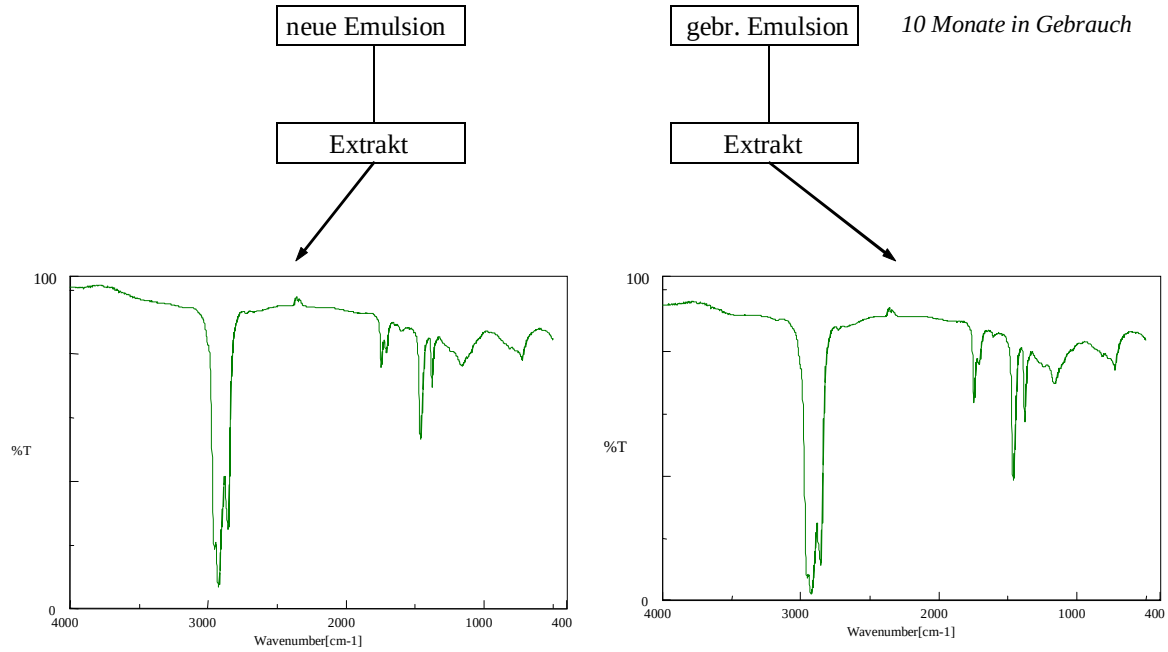


Abb. 5.2.1: FT-IR-Spektren einer neuen und gebrauchten Emulsion nach Etherextraktion

Bei den 26 untersuchten Emulsionen konnten mit dieser Methode, wie beispielhaft in Abb. 5.2.1 gezeigt, keine Veränderungen der Zusammensetzung in den gebrauchten Emulsionen gegenüber den neuen und den Konzentraten (nicht in Abb. 5.2.1 dargestellt) beobachtet werden.

Weiterhin wurden generierte Luftproben der Schmierstoffe KSS A, KSS B, KSS C, KSS D und KSS E mit den Ursprungs-Konzentraten verglichen. Da alle Konzentrate H_2O enthalten, wurden diese in Diethylether aufgenommen, über $MgSO_4$ 1 h getrocknet und der Ether wieder abgedampft. Die Entfernung von H_2O aus den Proben ist für den direkten Vergleich mit dem Ether-Extrakt der Luftprobe und zum Schutz der bei der Messung verwendeten KBr-Küvette notwendig. Bei den Schmierstoffen KSS A, KSS B, KSS D und KSS E wurden keine Änderungen im Bandenmuster der FT-IR-Spektren des Konzentrates und der Luftprobe beobachtet. Der KSS A dagegen weist Veränderungen im Wellenzahlen-Bereich von 1744 bis 1705 cm^{-1} in der Luftprobe gegenüber dem Konzentrat auf. Bei der Luftprobe hat die Esterbande bei 1744 cm^{-1} an Intensität verloren, die Bande bei 1705 cm^{-1} ist neu enstanden, wie in Abb. 5.2.2 dargestellt. Dies deutet auf eine Spaltung eines Esters und die Bildung der entsprechenden Säure hin.

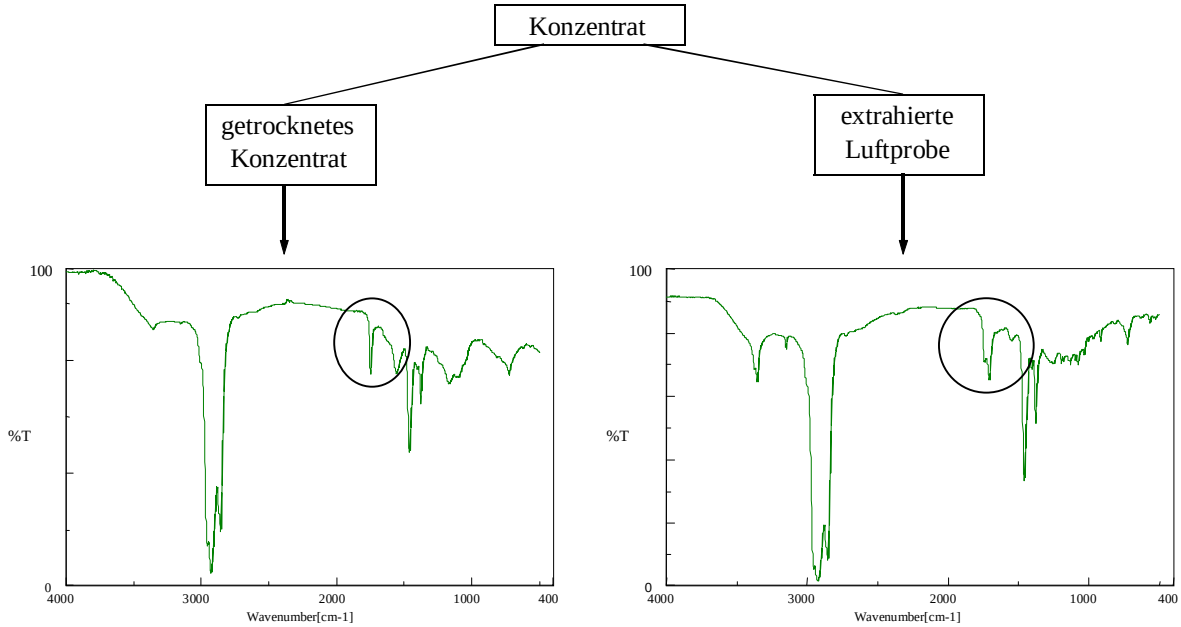


Abb. 5.2.2: FT-IR-Spektren von KSS A und einer daraus erhaltenen Luftprobe

5.2.1.2 GC-MS

Von den Konzentraten der 5 wassermischbaren KSS und von 20 gebrauchten Emulsionen wurden Luftproben mit dem offenen und geschlossenen System generiert. Die Probenträger wurden mit Hexan, Acetonitril bzw. CS_2 eluiert (siehe Kap. 5.1) und mit dem Ursprungskonzentrat in dem jeweiligen Lösemittel verglichen. Durch Vergleich der Chromatogramme konnten in den Luftproben der Konzentrate Spuren von Reaktionsprodukten nachgewiesen werden. Die Identifizierung dieser Produkte führte jedoch zu keinen hinreichenden Erkenntnissen durch die Datenbank der Massenspektren, da diese Substanzen mit einem Signal/Rausch-Verhältnis kleiner 10 in den Proben vorhanden waren. Da für Toluol in Acetonitril als Lösungsmittel eine Nachweisgrenze von 50 µg/l mit der GC-MS ermittelt wurde (Kap. 3.9), wird die Konzentration der Reaktionsprodukte in den Proben annähernd in diesem Bereich liegen.

In den Luftproben der neuen und gebrauchten Emulsionen dieser KSS, wie sie in der Praxis eingesetzt werden, fanden sich keine Reaktionsprodukte. Wahrscheinlich wurde mit der zugeführten Energie bei der Herstellung der Proben hauptsächlich H_2O verdampft und eine Pyrolyse der weiteren Inhaltsstoffe so unterdrückt.

5.2.2 Schmierstoffe für die MMS

Bei den Schmierstoffen für die MMS standen 5 Schmierstoffe zur Verfügung, die bei Versuchen der technischen Machbarkeit der MMS beim Bohren Verwendung fanden.

5.2.2.1 IR-Spektroskopie

Es wurden Luftproben der Schmierstoffe für die MMS, wie zuvor beschrieben, generiert und aufgearbeitet. Von dem erhaltenen Öl wurde ein Tropfen IR-spektroskopisch in einer KBr-Küvette untersucht und das Bandenspektrum mit dem des ursprünglichen Schmierstoffes verglichen. Nur bei dem Schmierstoff MMS A, dem Fettalkohol 2-Octyldodecan-1-ol, konnte eine Veränderung im Bandenspektrum der Luftprobe gegenüber dem Ursprungsöl beobachtet werden. In Abb. 5.2.3 sind die FT-IR-Spektren von MMS A und der daraus erhaltenen Luftprobe dargestellt.

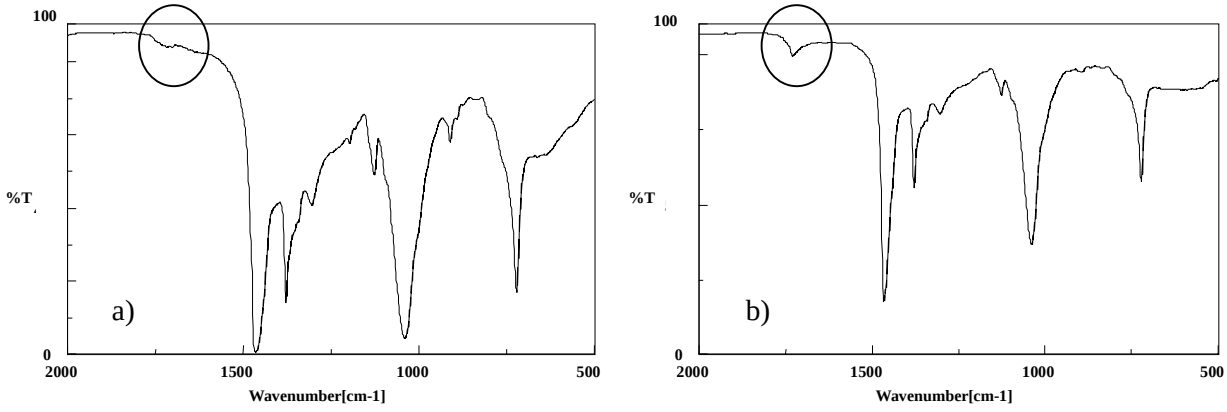


Abb. 5.2.3: FT-IR-Spektren von MMS A (a) und einer daraus erhaltenen Luftprobe (b)

Man erkennt, dass bei der Luftprobe gegenüber dem Ausgangsprodukt eine Bande bei 1729 cm^{-1} entstanden ist. Dies deutet auf die Entstehung eines Aldehyds aus dem Fettalkohol durch den thermischen Einfluss hin. Eine quantitative Bestimmung der entstandenen Aldehyd-Menge war mit dieser Methode nicht möglich, wird aber in Kap. 5.2.2.3 mit Hilfe einer anderen Methode diskutiert.

Für die Schmierstoffe MMS B, MMS C, MMS D und MMS E ohne IR-spektroskopischen Befund ist die Entstehung von Reaktionsprodukten damit nicht ausgeschlossen, da die FT-IR-

Spektroskopie eine Nachweis schwache Methode ist. Sie ermöglicht dagegen ein schnelles Screening von größeren Veränderungen im %-Bereich in der Zusammensetzung.

5.2.2.2 GC-MS

Es wurden Luftproben von Schmierstoffen für die MMS generiert (offenes und geschlossenes System). Die Probenträger wurden mit Hexan, Acetonitril buw. CS_2 eluiert (siehe Kap. 5.1) und mit dem Ursprungsöl in dem jeweiligen Lösemittel (50 mg/l) mit Hilfe der GC-MS verglichen. In den erhaltenen Total-Ionen-Chromatogrammen konnten durch Vergleich der Retentionszeiten Reaktionsprodukte in den Luftproben ermittelt und diese anhand der Daten aus dem Massenspektrum mit Hilfe der vorhandenen Datenbank (NIST 92) identifiziert werden. Dabei wurde eine Übereinstimmung größer 90 % zwischen den Massenspektren der Substanzen und der Datenbank für eine Identifizierung vorausgesetzt. Bei einigen Substanzen war aus diesem Grund keine Identifizierung durch die Datenbank möglich. In Tab. 5.2.1 ist ein Überblick über die mit der Datenbank ermittelten Reaktionsprodukte wiedergegeben.

Tab. 5.2.1: Reaktionsprodukte nach thermischem Einfluss auf Schmierstoffe für die MMS

KSS	Zusammensetzung	Reaktionsprodukte laut Datenbank
MMS A	2-Octyldodecanol	Octadecenal, Undecenal, Decandisäuredimethylester, Eicosanol, Oleylalkohol, Dodecanol, Hexadecen, Tetradecenal, 2,2-Dimethyldecanol, 2-Butyloctanol, Cyclodecanol
MMS B	Glyceride, Dodecanoyl und Octanoyl	Decandisäuredimethylester, Cyclodecanon, Eicosanol, Octadecanol, Decansäure, Octansäuremethylester
MMS C	Synthetische und natürliche Ester	Undecansäuremethylester, Hexandisäuredimethylester, Octansäuremethylester, Tridecansäuremethylester, Hexadecensäuremethylester, Octanthiosäure-S-hexylester, Nonansäuremethylester
MMS D	Paraffinisches Mineralöl	Octansäuremethylester, Hexadecenol, Cyclododecanol
MMS E	Paraffinisches Mineralöl, TMP-Ester, Polysulfid, Zn-Dialkyldithiophosphat	Octansäuremethylester, Hexadecenol, Cyclododecanol

Die meisten in Tab. 5.2.1 aufgeführten Substanzen haben in den Chromatogrammen eine Intensität mit einem Signal/Rausch-Verhältnis von 10 und kleiner, und sind damit nur in geringer Konzentration nahe der Nachweisgrenze (für Toluol 50 µg/l) vorhanden. Dabei zeigen die Proben aus dem offenen System tendenziell mehr Reaktionsprodukte als diejenigen aus dem geschlossenen System. Die Substanzen in den Proben aus dem geschlossenen System sind in den Proben aus dem offenen System stets vorhanden. Bislang wurden die Reaktionsprodukte nur mit Hilfe der Datenbank NIST 92 identifiziert. Der Vergleich zwischen den Massenspektren der Datenbank-Substanz und der Probe weist in keinem Fall eine 100 %ige Übereinstimmung auf. Zur Identifizierung einer Substanz ist es daher erforderlich, ein Chromatogramm der Reinsubstanz zu erstellen und die Retentionszeit sowie das Massenspektrum mit der Probe zu vergleichen. Aufgrund der Fülle der entstandenen Reaktionsprodukte wurde eine Substanz, die mit großer Intensität im Chromatogramm aufgetreten ist, identifiziert. Diese ist in der Luftprobe von MMS A, der Einzelsubstanz 2-Octyldodecanol, aus dem offenen und geschlossenen System entstanden. In Abb. 5.2.4 und 5.2.5 sind die Total-Ionen-Chromatogramme von MMS A gelöst in Acetonitril und der Luftprobe von MMS A eluiert mit Acetonitril dargestellt. Es sollte das Reaktionsprodukt bei der Retentionszeit 20.97 min identifiziert werden.

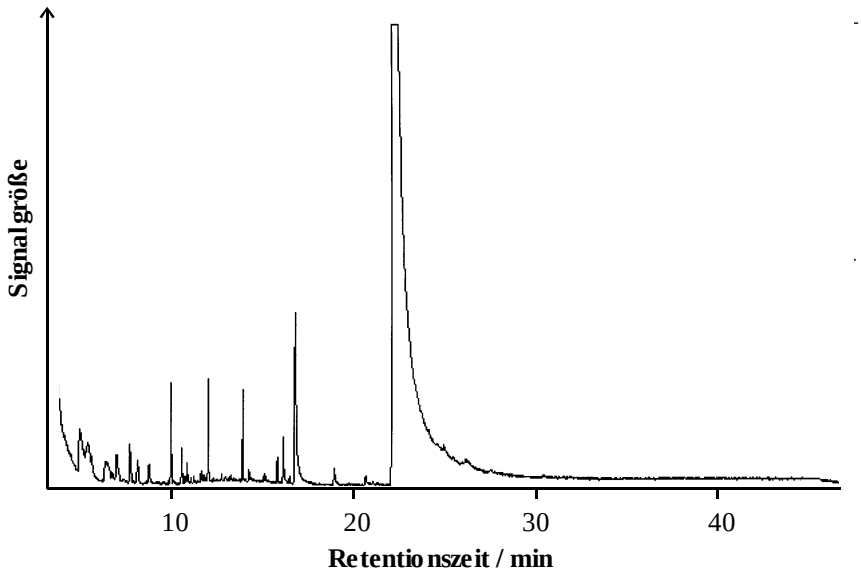


Abb. 5.2.4: Chromatogramm von MMS A (50mg/l in Acetonitril)

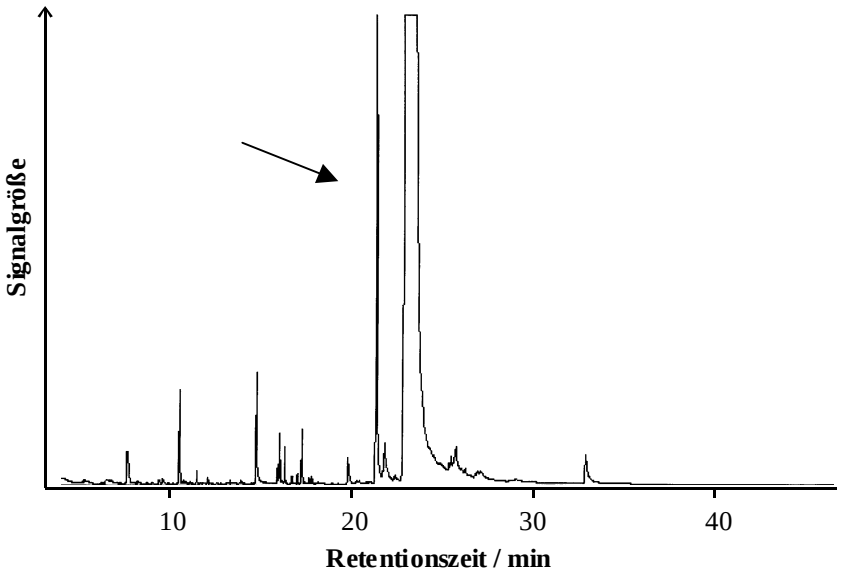


Abb. 5.2.5: Chromatogramm der Luftprobe von MMS A (offenes System)

5.2.2.3 Identifizierung eines Reaktionsproduktes

Zur Identifizierung des Reaktionsproduktes, das im Total-Ionen-Chromatogramm der Luftprobe von MMS A bei der Retentionszeit 20.97 min auftritt, wurde das Massenspektrum dieses Peaks herangezogen. Dieses ist in Abb. 5.2.6 dargestellt.

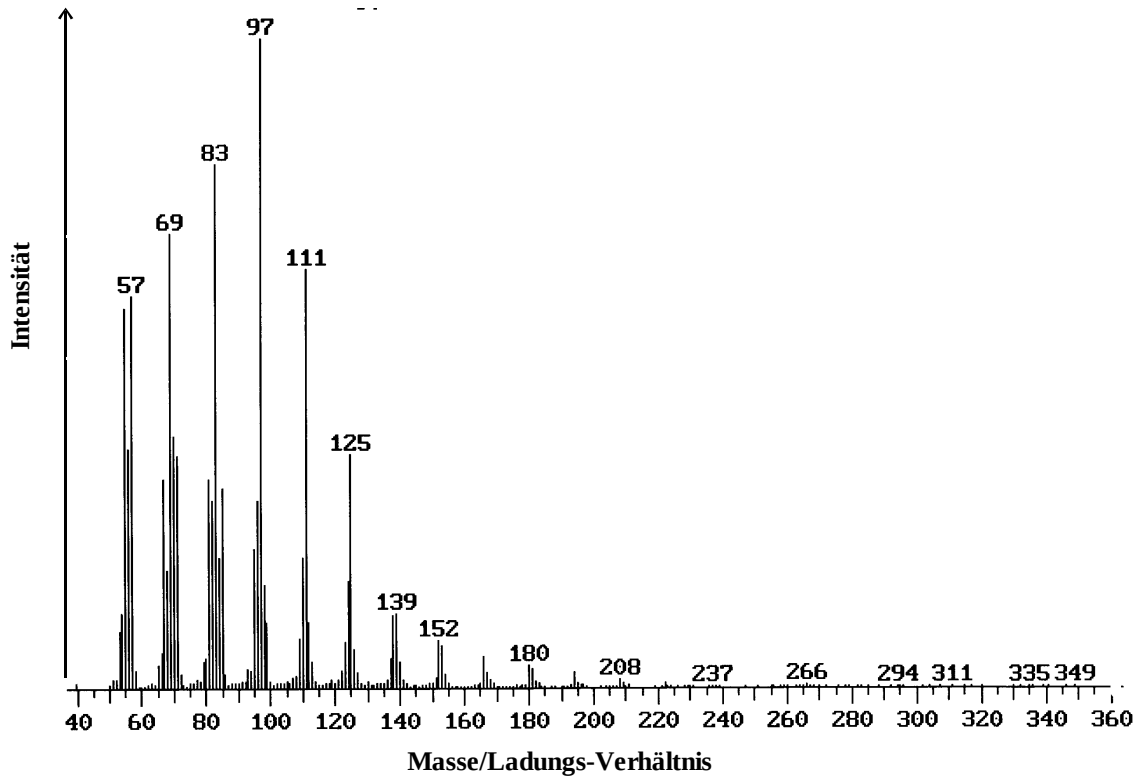


Abb. 5.2.6: Massenspektrum des Chromatogrammsignals bei 20.97 min

Mit den Informationen aus dem IR-spektroskopischen Vergleich von MMS A und der Luftprobe von MMS A (Kap. 5.2.2.1), in dem ein Aldehyd als Reaktionsprodukt beobachtet wurde, lässt sich eine erste Vermutung über die gesuchte Substanz treffen. So könnte aus MMS A (2-Octyldodecan-1-ol) durch thermischen Einfluss der Aldehyd 2-Octyldodecan-1-al enstanden sein. Mit dieser Theorie lassen sich die Signale aus dem Massenspektrum der gesuchten Substanz erklären. Für aliphatische Aldehyde werden die Signalgruppen 43, 57, 71, ... ($C_nH_{2n+1}^+$ und $C_nH_{2n-1}O^+$) und 55, 69, 83, 97, 111, 125, 139, ... ($C_nH_{2n-1}^+$) beschrieben [Budzikiewicz 1992], wie sie in dem Massenspektrum der gesuchten Substanz vorhanden sind.

Das Massenspektrum wurde mit der Elektronenstoß-Ionisierung als Ionisierungsart erhalten, bei der Informationen über das unfragmentierte Molekülion meist nicht erhalten werden. Daher wurde die chemische Ionisierung (CI) als Ionisierungstechnik eingesetzt. Hierbei werden mit Hilfe eines Reaktandgases und dessen Reaktand-Ionen einfach protonierte Molekülionen erzeugt. Als Reaktandgas wurde Methanol verwendet. Das Massenspektrum der gesuchten Substanz unter Verwendung der CI ist in Abb. 5.2.7 dargestellt.

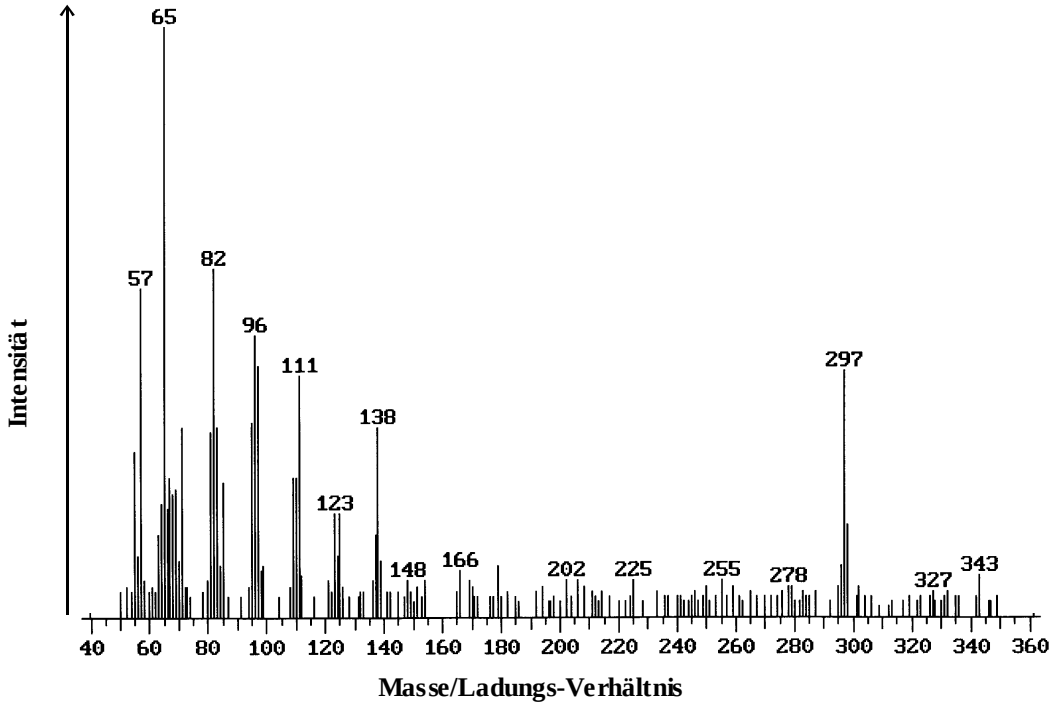


Abb. 5.2.7: Massenspektrum der gesuchten Substanz unter Verwendung der CI

Bei dem Signal m/z = 297 handelt es sich um das einfach protonierte Molekülion der gesuchten Substanz. Das gesuchte Reaktionsprodukt hat also eine Masse von 296 u. Die Ursprungs-substanz 2-Octyldodecan-1-ol (MMS A) hat eine Masse von 298 u. Auch dieser Hinweis deutet auf 2-Octyldodecan-1-al (M=296 g/mol) als Reaktionsprodukt von MMS A hin. Um dies weiter zu überprüfen, wurde MMS A mit $Ca(OCl)_2$ selektiv zum Aldehyd oxidiert.

Vorschrift [Hill 1984]

1,1 g (7,5 mmol) gepulvertes $Ca(OCl)_2$ werden vorgelegt. Unter Rühren fügt man 1,1 g (5 mmol) MMS A (2-Octyldodecan-1-ol) in 10 ml Dichlormethan zu. Die Suspension wird mit 85 mg (0,25 mmol) Tetrabutylammoniumhydrogensulfat sowie mit einigen Tropfen H_2O versetzt und 4 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen dekantiert man die überstehende Lösung ab und zerstört durch Schütteln mit 5 %iger $NaHSO_3$-Lösung restliches $Ca(OCl)_2$. Der noch vorhandene Feststoff wird abgesaugt und die organische Phase mit Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

Das verbleibende Öl wurde in Acetonitril aufgenommen und 1µl dieser Lösung in das GC-MS injiziert. Anhand der Retentionszeit von 20.97 min und des Massenspektrums dieses Peaks konnte das entstandene Reaktionsprodukt als 2-Octyldodecan-1-al identifiziert werden. Mit der Annahme, dass 2-Octyldodecan-1-ol und 2-Octyldodecan-1-al in weiten Teilen ähnlich im Massenspektrometer fragmentieren und damit der Ionenstrom vergleichbar ist, lässt sich die Entstehung des Aldehyds über einen Vergleich der Fläche des Aldehyd- und Alkohol-Peaks quantitativ abschätzen. Durch den thermischen Einfluss mit Hilfe des offenen Systems enthält die Luftprobe aus MMS A demnach 8,3 % des Aldehyds. Diese Menge ist auch in dem IR-Bandenspektrum, wie beschrieben, noch zu nachweisbar.

5.3 Bestimmung von Aldehyden als Reaktionsprodukte

Bei der Generierung der Luftproben von Konzentraten (wassermischbare KSS und Schmierstoffe für die MMS) und Emulsionen mit dem offenen und geschlossenen System wurden 12 Aldehyde (siehe Kap. 3.5.4) als mögliche Reaktionsprodukte bestimmt. Darin enthalten sind Formaldehyd, Acetaldehyd, Propionaldehyd, Butyraldehyd, Valeraldheyd, Capronaldehyd, Caprylaldehyd, Oenanthaldehyd, Caprylaldehyd, Pelargonaldehyd, Acrolein, Crotonaldehyd und Benzaldehyd. Für Formaldehyd und Acetaldehyd sind MAK-Werte festgelegt (Formaldehyd: 370 µg/m^3; Acetaldehyd: 91 mg/m^3). Acrolein und Crotonaldehyd sind Stoffe, die wegen einer möglichen kanzerogenen Wirkung beim Menschen Anlass zur Besorgnis geben, aber aufgrund der unzureichenden Informationen nicht endgültig beurteilt werden können. Für Benzaldehyd konnte ebenfalls bislang kein MAK-Wert abgeleitet werden. Die Reizwirkungen an Haut, Augen und Schleimhäuten sind aber als kritische Effekte anzusehen. [MAK-Begründung 1998]. Die Aldehyde Propionaldehyd, Butyraldehyd, Valeraldehyd, Capronaldehyd und Pelargonaldehyd weisen in einem Mutagenitätstest mit V79-Zellen eine erhöhte Mutationsrate auf [Brambilla 1989].

So konnten bei den untersuchten Proben keine Aldehyde innerhalb der Nachweisgrenzen bei einer Probennahmezeit von 45 min nachgewiesen werden. Die Möglichkeit einer Bildung von Acrolein bei der thermischen Zersetzung von Fettalkoholen (MMS A) wird diskutiert [Hörner 1997], konnte aber hier nicht bestätigt werden. Bei den im Labor gewonnenen Luftproben von KSS-Emulsionen, die Formaldehyddepot-Verbindungen enthalten, konnte kein Formaldehyd nachgewiesen werden. Dies ist ein Anzeichen dafür, dass in den Emulsionen nur wenig „freier“ Formaldehyd vorhanden ist.

5.4 Diskussion

Die Untersuchungen zum thermischen Einfluss auf KSS und die Entstehung von Reaktionsprodukten sind bei der vergleichenden Beurteilung des Gefahrenpotenzials der Nass- und Minimalmengenschmierung wichtige Kriterien. So wurde mit zwei Laboranlagen zur Simulation des thermischen Einflusses auf KSS (offenes und geschlossenes System), unterschiedlicher Adsorberphasen für Luftinhaltsstoffe (Aktivkohle, XAD-Harz, DNPH-Kartuschen) und verschiedener Bestimmungsmethoden (FT-IR, GC-MS, HPLC für Aldehyde) eine Grundlage für Informationen zu diesen Fragestellungen geschaffen.

Dabei zeigten die Schmierstoffe für die MMS gegenüber den wassermischbaren KSS eine stärkere Neigung zur Bildung von Reaktionsprodukten. Für den Schmierstoff MMS A, dem Fettalkohol 2-Octyldodecan-1-ol, konnte das Reaktionsprodukt 2-Octyldodecan-1-al identifiziert werden. Literaturdaten über die Substanz sind nicht vorhanden, so dass die toxischen Eigenschaften nicht abschließend beurteilt werden können.

Reaktions- bzw. Zersetzungsprodukte von Konzentraten der wassermischbaren KSS konnten zwar in Spuren nachgewiesen werden, nicht aber in 5 %igen Emulsionen, wie sie in der Praxis eingesetzt werden. Weitere Aldehyde außer 2-Octyldodecan-1-al als mögliche Reaktionsprodukte wurden weder bei der Verwendung von Emulsionen noch bei Schmierstoffen der MMS gefunden.

Da die Enstehung toxischer Arbeitsstoffe aber nicht ausgeschlossen werden kann und die Ergebnisse von dem Schmierstoff, dem Bearbeitungsverfahren und den dabei herrschenden Prozesstemperaturen abhängen, ist in diesem Bereich besondere Aufmerksamkeit geboten. Eine Absaugung ist gerade bei der MMS aufgrund der höheren Prozesstemperaturen, der stärkeren Neigung der Schmierstoffe zur Bildung von Reaktionsprodukten und der Technik der Verlustschmierung ohne Rückführung des Schmierstoffes (ansonsten Übergang der Schmierstoff-Aerosole in die Umgebungsluft) zu empfehlen.

6 Felduntersuchungen und Messergebnisse von Emulsionen

Die Erhebung von Messdaten an Arbeitsplätzen bei Verwendung der konventionellen Schmierung und der MMS ist ein wichtiger Bestandteil der vergleichenden Beurteilung beider Verfahren. Im Rahmen dieser Arbeit sind drei Felduntersuchungen an Bearbeitungszentren verschiedener Firmen durchgeführt worden. Dabei wurden der Summenwert für KSS-Aerosol und –Dampf, Aldehyde in der Luft und leichtflüchtige organische Bestandteile bestimmt. Im Ames-Test wurde das mutagene Potenzial der in den Betrieben verwendeten Schmierstoffe ermittelt. Weiterhin wurden gebrauchte Emulsionen, die von den Projektpartnern zur Verfügung gestellt wurden, auf den Nitrit-Gehalt, den pH-Wert, den Formaldehyd-Gehalt und den Gehalt an „freiem“ Formaldehyd untersucht. Hier standen insgesamt 26 Emulsionen mit verschiedenen Standzeiten zur Verfügung. Die Bestimmung von NDELA in den Emulsionen, dessen Bildung durch die Regelungen in der TRGS 611 verhindert werden soll, wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt. Zumal lagen Informationen von Schmierstoff-Herstellern vor, dass das früher verwendete sekundäre Amin Diethanolamin, was die N-Nitrosaminbildung fördert, inzwischen nicht mehr eingesetzt wird.

6.1 Felduntersuchung 1

Es wurden Untersuchungen beim Bohren von Stahl (Ck 45) unter Einsatz einer 5 %igen Emulsion von KSS D und vergleichend mit der MMS unter Verwendung von des Schmierstoffes MMS A bei Prof. Weinert und Dr. Schulte am Institut für Spanende Fertigung (Universität Dortmund) durchgeführt. Die Bearbeitung erfolgte unter bohrtechnischen Standardparametern mit Wendeschneidplatten-Bohrern. Zur Schmierung mit Emulsion wurden ein Fluss von 40 l/min und eine Rinnenspülung im zirkulierenden System verwendet. Die MMS arbeitete mit 0,3-0,5 ml/min Schmierstoff (Fettalkohol, 4 bar Luftdruck) als Verlustschmierung. Abb. 6.1.1 und 6.1.2 zeigen das gekapselte Bearbeitungszentrum mit interner Absaugvorrichtung für die Luftinhaltsstoffe und die Probennahmeorte (P1 bis P4), an denen die Summe für KSS-Aerosol und -Dampf, Aldehyde und leichtflüchtige organische Bestandteile bestimmt wurden.

Die Ergebnisse für die Bestimmung des Summenwertes für KSS-Aerosol und -Dampf sind in Tab. 6.1.1 wiedergegeben. Die Werte am Bedienerpult und am Palettenwechsler, an denen sich ein Arbeiter bevorzugt aufhält, unterschreiten für die Nass-Bearbeitung mit Emulsionen deutlich den Grenzwert von 10 mg/m^3. Am Probennahmeort P3 wird der Grenzwert mit

11,7 mg/m^3 Luft leicht überschritten. Hier befindet sich ein offener Abschnitt der Rinnenspülung, die zu einer deutlichen auch geruchlich wahrnehmbaren Luftbelastung führt. Die Summe aus KSS-Aerosol und -Dampf für die MMS liegt mit 0,5 (P1) und 1,7 mg/m^3 Luft (P2) ebenfalls deutlich unterhalb des Grenzwertes. Es ist allerdings kritisch anzumerken, dass innerhalb der 2-stündigen Probennahme nur ca. 20 Bohrungen erfolgen konnten, da es sich um eine Versuchsmaschine handelt, die nicht ständig in Betrieb ist. Somit war die Luftbelastung niedriger im Vergleich zum Dauerbetrieb.

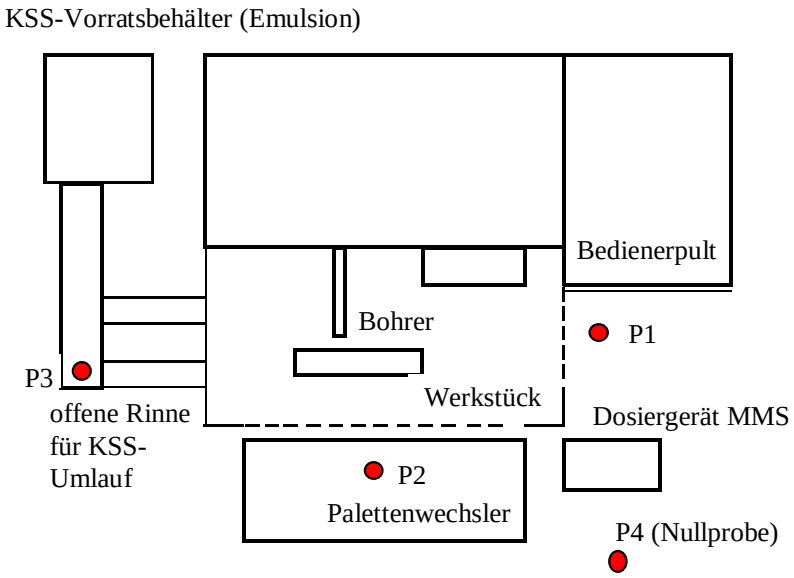


Abb. 6.1.1: Schematischer Aufbau eines Bearbeitungszentrums zum Bohren mit den Probennahmeorten P1 bis P4

Abb. 6.1.2: Bearbeitungszentrum zum Bohren

Tab. 6.1.1: Ergebnisse für KSS-Aerosol und -Dampf in der Luft in mg/m^3

	P1	P2	P3	P4
Schmierung mit Emulsion (n=3)	1,6	1,0	11,7	0,4
Minimalmengenschmierung (n=3)	0,5	1,7	-	0,4

Grenzwert: 10 mg/m^3

Die Bestimmung der Aldehyde erfolgte an den Punkten P1 bis P4 und zusätzlich während des Einsatzes der MMS in unmittelbarer Nähe zum Bohrkopf. Es konnten keine Aldehyde oberhalb der Nachweisgrenzen (siehe Kap. 3.5.4) bestimmt werden. Bei der konventionellen Schmierung wurde KSS D verwendet, der als Biozid Natriumpyrithion enthält, das kein Formaldehyd abspaltendes Biozid ist. Somit ist eine Formaldehyd-Belastung der Luft hier nicht zu erwarten. Die bei der thermischen Zersetzung von Fettalkoholen diskutierte Entstehung von Acrolein konnte nicht bestätigt werden.
Leichtflüchtige organische Bestandteile, die als passive Probennahme mit ORSA-5-Röhrchen und einer Probennahmezeit von 6 h genommen wurden, konnten weder bei der konventionellen Schmierung mit Emulsionen noch bei der MMS in der Luft am Arbeitsplatz nachgewiesen werden.
Die Nachweisgrenze für die Bestimmung von leichtflüchtigen organischen Bestandteilen wurde mit Konzentrationen zwischen 0,015 und 0,030 ppm (ml/m^3) (Kap. 3.6) abgeschätzt. Die Konzentration leichtflüchtiger organischer Verbindungen liegt an diesem Arbeitsplatz unterhalb des genannten Konzentrations-Bereiches.

Die Ergebnisse des Ames-Testes zeigten für KSS D in den Extrakten der Emulsion und dem Konzentrat von KSS D kein mutagenes Potenzial, wie in Kap. 4.2 beschrieben wurde. Der verwendete Schmierstoff MMS A zeigt ebenfalls kein mutagenes Potenzial, wie bereits in Kap. 4.3 dargestellt. Desweiteren wurde bei der MMS eine Luftprobe in unmittelbarer Nähe zum Bohrkopf der Maschine mit dem GGP-Probennahmekopf (Probennahmezeit 6 h) genommen. Weiterhin wurden Schmierstoffrückstände auf den vorhandenen Spänen untersucht. Die Probenträger (Filter, XAD-2-Harz, Späne) wurden mit Diethylether extrahiert, dieser abgedampft und das Öl mit Tween 80/DMSO/H_2O im Ames-Test eingesetzt. Bei der Luftprobe (Konzentration 1 mg/Platte) und dem Extrakt der Späne (Konzentration 2 und 5 mg/Platte) wurden keine Erhöhungen der Revertantenzahl mit den Stämmen TA 98 und TA 100 festgestellt.

Zusätzlich wurde für die benutzte Emulsion von KSS D eine Keimzahl von $3 \cdot 10^6$ KBE/ml ermittelt. Dieser Wert liegt in einem Bereich, den viele Emulsionen aufweisen. Eine unbedenkliche Keimkonzentration kann nicht angegeben werden. Desweiteren wurde für die verwendete Emulsion der Nitrit-Gehalt, der pH-Wert und der Formaldehyd-Gehalt ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tab. 6.1.2 wiedergegeben.

Tab. 6.1.2: pH-Wert, Öl-, Nitrit- und Formaldehyd-Gehalt der untersuchten Emulsion

Emulsion	pH	Öl-Gehalt in %	Nitrit-Gehalt in mg/l	Formaldehyd-Gehalt in mg/l
vor Bearbeitung	8,47	5,5	1,5	<NWG
nach Bearbeitung	8,45	5,5	1,5	<NWG
neu angesetzt	8,99	5,0	<NWG	<NWG

Nachweisgrenze für die Bestimmung von Formaldehyd in KSS-Emulsionen: 2 mg/l
Nachweisgrenze für die Bestimmung von Nitrit in KSS-Emulsionen: 0,9 mg/l

Die Probennahme wurde nach einem Wochenende durchgeführt, so dass die Emulsion in der Maschine nicht umgewälzt werden konnte. So wurde ein Teil der Emulsion vor der Bearbeitung, ein anderer Teil nach 6-stündiger Bearbeitung und Umwälzung entnommen. Die Standzeit hat jedoch keinen Einfluss auf die Ergebnisse. Im Vergleich zu einer neu angesetzten 5 %igen Emulsion weist der pH-Wert eine Differenz von mehr als 0,5 auf. Dies ist nach der TRGS 611 nicht erlaubt. Der Nitrit-Gehalt liegt mit 1,5 mg/l unter dem Richtwert von 20 mg/l. Formaldehyd konnte oberhalb der Nachweisgrenze nicht in der Emulsion nachgewiesen werden.

6.2 Felduntersuchung 2

Es wurden Luftmessungen bei der Schrupp- und Schlichtbearbeitung von Aluminium-Felgen (Al-Mg-Si-Legierung) für den PKW-Bereich bei der Firma Ronal (Forst) durchgeführt. Die Schmierstoffzuführung erfolgte über 3 Kanäle (1 innen, 2 außen) mit 100 ml/h Schmierstoff auf Basis synthetischer Fettstoffe (MMS F) als Verlustschmierung, also unter Mindermengenbedingungen. Abb. 6.2.1 und 6.2.2 zeigen das gekapselte Bearbeitungszentrum, an dem zu Testzwecken eine externe Absaugvorrichtung für Luftinhaltsstoffe angebracht war. Die Probennahmeorte P1 und P2 wurden so gewählt, dass der Arbeiter an der

Maschine möglichst wenig in seinem Arbeitsablauf behindert wurde und diese dennoch in unmittelbarer Nähe zum Arbeitsfeld lagen.

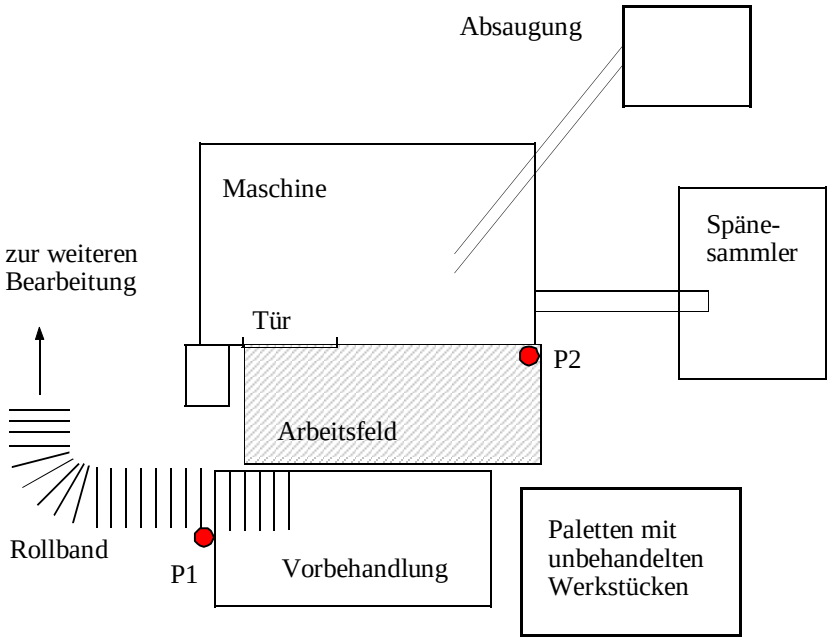


Abb. 6.2.1: Schematischer Aufbau eines Bearbeitungszentrums für Schrupp- und Schlichtarbeiten an einer Aluminium-Legierung mit den Probennahmeorten P1 und P2

Abb. 6.2.2: Blick in das Arbeitsfeld und auf die externe Absauganlage

An den Probennahmeorten P1 und P2 wurde die Summe an KSS-Aerosol und –Dampf, Aldehyde in der Luft und flüchtige organische Bestandteile bestimmt. Für die Summe an KSS-Aerosol und -Dampf ergab sich für P1 im Mittel ein Wert von 1,6 mg/m^3(n=3), für P2 ein Wert von 1,5 mg/m^3 (n=3), also Werte, die deutlich unterhalb des Grenzwertes von 10 mg/m^3 liegen. Zu einem bestimmten Zeitpunkt der Probennahme wurde für 15 min die externe Absauganlage abgestellt und umgebaut. In dieser Zeit war eine starke Rauch-Entwicklung in der Anlage und im Umfeld zu beobachten. Für den Arbeiter war es nur schwer möglich unter diesen Bedingungen zu arbeiten, da dieser den Maschinenraum zum Felgenwechsel betreten musste. Der Summenwert für KSS-Aerosol und -Dampf, der über eine Zeit von 2 h gesammelt wird, ist hier bereits mit 2,2 (P1) und 2,5 mg/m^3 (P2) gegenüber den Mittelwerten durch den 15-minütigen Ausfall erhöht. Damit würde bei längerem Ausfall bzw. beim Fehlen der externen Absauganlage der Grenzwert überschritten.

Bei der Probennahme konnten Aldehyde als mögliche Reaktionsprodukte und flüchtige organische Bestandteile an den Probennahmestellen P1 und P2 oberhalb der Nachweisgrenzen nicht bestimmt werden.

Weiterhin wurden Schmierstoff-Proben aus dem Abscheider der externen Absauganlage und das unbenutzte Ursprungsöl MMS F (ein Produkt auf Basis synthetischer Fettstoffe) im Ames-Test konzentrationsabhängig in den Stämmen TA 98 und TA 100 untersucht Es wurden keine mutagenen Effekte beobachtet.

Das Öl aus dem Abscheider und das Ursprungsöl MMS F wurden IR-spektroskopisch miteinander verglichen. Dabei konnten keine Veränderungen im Bandenmuster und damit in der Zusammensetzung beobachtet werden.

Im Zusammenhang mit den Luftmessungen wurden Vergleichsmessungen mit verschiedenen Abscheidervarianten der Absauganlage von anderer Stelle durchgeführt. Es wurden die Ölnebel-Konzentrationen roh- und reingasseitig mit einem Glasfaserfilter gravimetrisch gemessen, um den Abscheidegrad der verschiedenen Filterstufen zu bestimmen. Das gravimetrisch bestimmte Filtergewicht wurde IR-spektroskopisch entsprechend der in Kap. 3.7 beschriebenen Methode kontrolliert. Die IR-Spektroskopie bietet hierbei den Vorteil, dass der Schmierstoff-Gehalt selektiv über die C-H-Valenzschwingung bestimmt wird. Bei der Gravimetrie gehen auch Bestandteile wie Metallstaub in die Bestimmung ein. Die Filter wurden mit Tetrachlorethylen geschüttelt und das Eluat im Wellenzahlen-Bereich zwischen 2800 und 3000 cm^{-1} in der KBr-Küvette (12 mm-Distanzstück) gemessen. Die Kalibrierung erfolgte mit Standard-Lösungen von MMS F. Die Ergebnisse sind in Tab. 6.2.1 dargestellt.

Tab. 6.2.1: Bestimmung der Menge von MMF auf Glasfaserfiltern mit zwei unabhängigen Methoden

Filter-Bezeichnung	Filter-Nr.	Konzentration in mg	
		gravimetrisch	IR-spektroskopisch
Rohgas	1	38,69	41,82
	2	41,24	42,64
Reingas (Standard-Filter)	1	19,87	20,44
	2	21,84	22,68
Reingas (Aktivkohle-Filter)	1	10,62	13,20
	2	17,06	18,42
Reingas (Schwebstoff-Filter)	1	0,06	0,19
	2	0,03	0,07
	3	0,10	0,10

Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden unabhängigen Bestimmungsmethoden. Die Konzentration von MMS F auf den Filtern, die mit der IR-Spektroskopie bestimmt wurde, ist allerdings systematisch um ca. 5 % höher. Diese Abweichung liegt jedoch im Bereich der Präzision der Tag-zu-Tag-Messungen mit 4 bis 5 %.

6.3 Felduntersuchung 3

Es wurden Untersuchungen beim Sägen und Umformen von Stahlrohren, die für Abgasanlagen von PKW´s verwendet werden, bei der Firma Volkswagen (Baunatal) durchgeführt. Dabei standen drei Arbeitsplätze (AP1 bis AP3) unter Einsatz der MMS mit den zwei Schmierstoffen MMS G und MMS H zur Verfügung. Die Anlagen verfügten nicht über Absauganlagen. Die verbrauchte Schmierstoffmenge pro Anlage konnte nicht genau ermittelt werden, kann aber mit 40 bis 50 ml/h abgeschätzt werden. Es wurde also unter MMS-Bedingungen gearbeitet.

In einer Entfernung von 70 bis 80 cm von der Bearbeitungsstelle wurde die Probennahme durchgeführt. In diesem Radius hielt sich auch der Arbeiter an der Maschine auf. Es wurden der Summenwert für KSS-Aerosol und –Dampf sowie Aldehyde in der Luft mit einer Probennahmezeit von 2 h bestimmt. Zusätzlich wurden an diesen Stellen und direkt über dem

Bearbeitungsraum die Passivsammler ORSA-5 zur Bestimmung von leichtflüchtigen organischen Bestandteilen über den gesamten Probennahmezeitraum von 6 h angebracht.
Die Ergebnisse für die Bestimmung des Summenwertes für KSS-Aerosol und –Dampf sind in Tab. 6.3.1 wiedergegeben. Die Kalibrierung erfolgte mit dem jeweilig benutzten Schmierstoff.

Tab. 6.3.1: Bestimmung der Summe aus KSS-Aerosol und –Dampf in der Luft

	Summenwert KSS-Aerosol und –Dampf in mg/m^3		
Arbeitsplatz 1 (Sägen mit MMS G)	3,1	2,6	8,2
Arbeitsplatz 2 (Umformen mit MMS H)	2,6	3,3	
Arbeitsplatz 3 (Sägen mit MMS H)	12,7		

Grenzwert: 10 mg/m^3

Der Grenzwert für die Summe aus KSS-Aerosol und –Dampf wurde bei den 5 Messwerten eingehalten. Nur die Messung am Arbeitsplatz 3, die aus betrieblichen Gründen nur einmal durchgeführt werden konnte, zeigt einen erhöhten Summenwert. An diesem Arbeitsplatz befindet sich eine Maschine, die über drei Sägen verfügt und diese gleichzeitig betrieben werden. Unmittelbar nach dem Bearbeitungsvorgang wird eine Schutztür geöffnet und das KSS-Aerosol kann aus dem Bearbeitungsraum entweichen und den Arbeiter erreichen. An bestimmten Tagen unter Verwendung von MMS H wird an Arbeitsplatz 2 über Atembeschwerden geklagt.
An den Probennahmeorten AP1 bis AP3 wurden die Konzentration von Aldehyden in der Luft und leichtflüchtige organische Bestandteile gemessen. Es konnten oberhalb der Nachweisgrenzen keine Aldehyde und leichtflüchtige organische Bestandteile nachgewiesen werden.
Die verwendeten Schmierstoffe MMS G und MMS H wurden auf ihr mutagenes Potenzial untersucht. Dazu wurden diese Stoffe mit Tween 80/DMSO/H_2O konzentrationsabhängig in den Ames-Test (Stämme TA 98, TA 100 mit und ohne metabolische Aktivierung) eingebracht. Dabei zeigten die Stoffe in den verschiedenen Testansätzen keine mutagenen Effekte.
Weiterhin wurden die Schmierstoffe MMS G und MMS H in das geschlossene System bei 450 und 600 °C eingebracht und die Entstehung von Reaktionsprodukten überprüft. Für den Schmierstoff MMS G konnten keine Reaktionsprodukte unter diesen Bedingungen beobachtet

werden. Mit MMS H werden nach thermischer Behandlung bei 600 °C einige Zersetzungsprodukte erhalten. Die ersten Hinweise bei der Identifizierung deuten auf langkettige Alkohole und Fettsäureester hin. Eine genauere Identifizierung war nicht möglich, da die entstandenen Produkte nur in Spuren nachgewiesen wurden.

6.4 Messergebnisse von Emulsionen

Von den Projektpartnern standen insgesamt 26 Emulsionen verschiedener Standzeiten (bis 10 Monate) aus unterschiedlichen Bearbeitungszentren mit den Schmierstoffen KSS A, KSS B und KSS C zur Verfügung. Hier wurden neben dem pH-Wert der Nitrit-Gehalt, der Formaldehyd-Gehalt der Emulsion und der Gehalt an „freiem“ Formaldehyd gemessen. Die TRGS 611 gibt Kontrollen und Richtwerte vor. So sollte der pH-Wert nicht mehr als 0,5 von dem Wert der ursprünglichen neu angesetzten Emulsion abweichen. In Abb. 6.4.1 sind Auftragungen des pH-Wertes gegen das Alter der Emulsionen dargestellt.

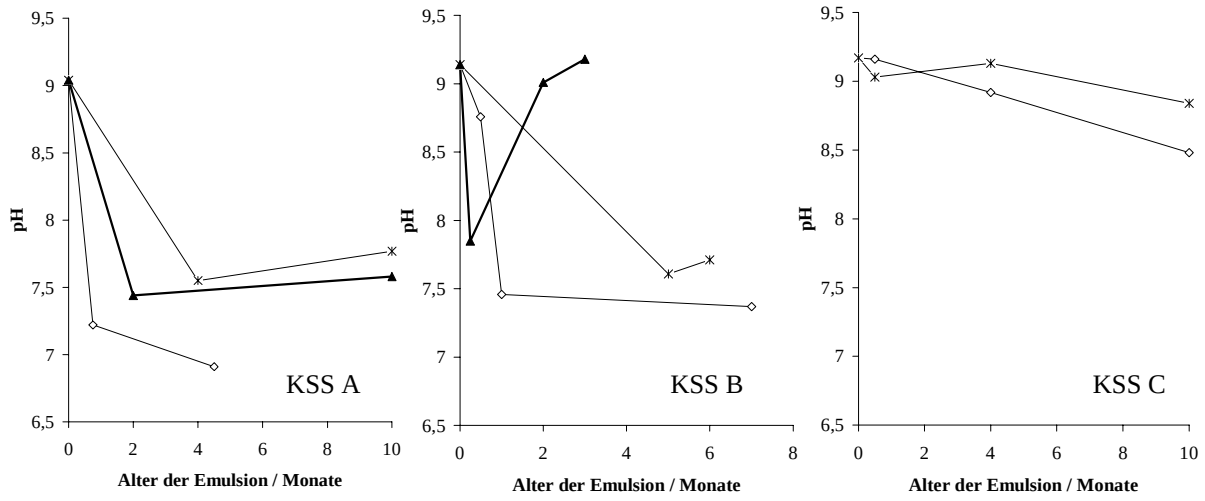


Abb. 6.4.1: Auftragung des pH-Wertes gegen die Zeit von den verschiedenen Emulsionen der Schmierstoffe KSS A, KSS B und KSS C

Es ist tendenziell eine Erniedrigung des pH-Wertes mit zunehmender Bearbeitungsdauer zu erkennen. Die Abweichungen von der 5 %igen Ausgangsemulsion sind meist größer als 0,5 und entsprechen demnach in diesem Kriterium nicht den Anforderungen, die in der TRGS 611 an gebrauchte Emulsionen gestellt werden. Daran zeigt sich, dass der Pflege der Emulsionen in den Betrieben ein größeres Augenmerk zukommen müsste.

Der Nitrit-Gehalt sollte nach den Bestimmungen der TRGS 611 in Emulsionen nicht höher als 20 mg/l sein. Dieser Wert wurde in allen untersuchten Emulsionen in der Regel weit (< 2 mg/l) unterschritten. Eine Zunahme des Nitrit-Gehaltes mit zunehmender Bearbeitungsdauer konnte nicht beobachtet werden. Es zeigte sich dagegen eine Tendenz zu höheren Nitrit-Gehalten in Abhängigkeit des Betriebes. So fiel ein Betrieb mit Nitrit-Gehalten in den gebrauchten Emulsionen zwischen 5 und 9 mg/l auf, der durch eine höhere Nitrat-Konzentration im Ansetzwasser und mit Nitrat reduzierenden Keimen in den Emulsionen erklärt werden könnte.

Weiterhin wurde der Formaldehyd-Gehalt in den gebrauchten Emulsionen bestimmt. Da die Schmierstoffe KSS A und KSS B Formaldehyddepot-Verbindungen enthalten, konnte hier Formaldehyd bestimmt werden. Bei der Bestimmung beeinflusst das Derivatisierungsreagenz DNPH das Hydrolysegleichgewicht der Biozid und es wird somit der potenzielle Formaldehyd-Gehalt als Summe aus Biozid und Formaldehyd erfasst. Es zeigt sich, dass mit zunehmender Bearbeitungsdauer der potenzielle Formaldehyd-Gehalt und damit die Menge an Biozid in den gebrauchten Emulsionen abnimmt (Abb. 6.4.2). Eine mögliche Ursache ist der Austrag von Formaldehyd durch die Umwälzung während der Bearbeitung. Der Formaldehyd könnte auch mit dem durch Umwälzung eingetragenen O_2 oder durch katalytisch wirkenden Fe-Salze in der Emulsion oxidiert worden sein.

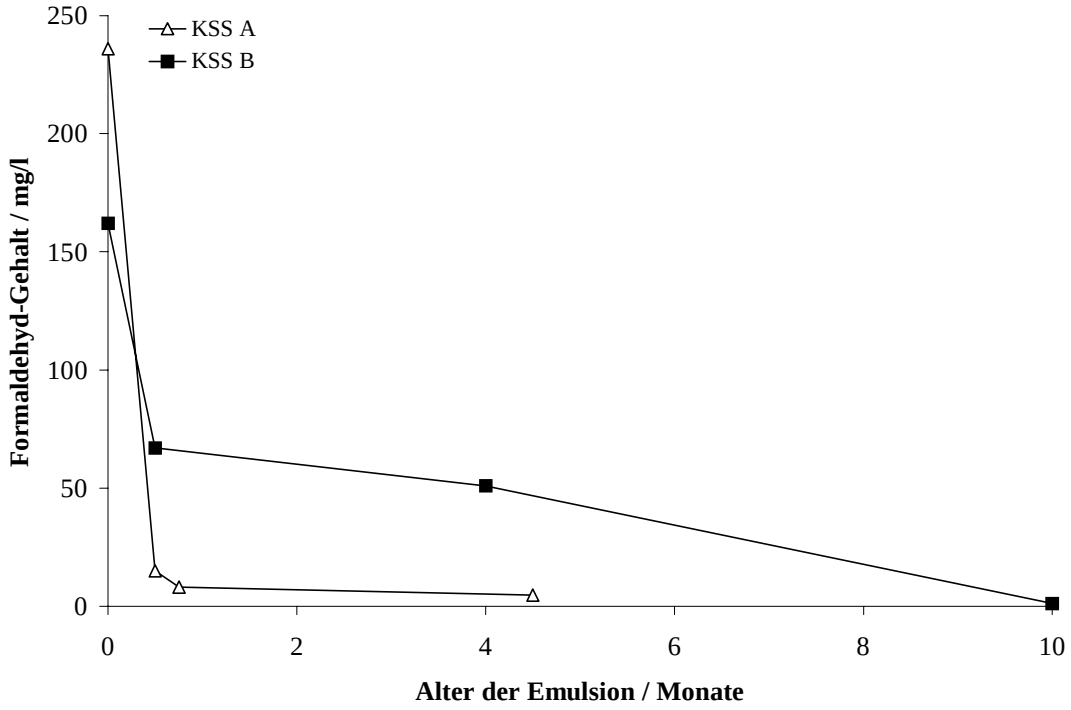


Abb. 6.4.2: Formaldehyd-Gehalt in Emulsionen in Abhängigkeit der Bearbeitungszeit

Zur Bestimmung des „freien“ Formaldehyd in Emulsionen wird ein definiertes Luftvolumen über die Emulsionen geleitet, dieser in einer Reagenzlösung aufgefangen und der Formaldehyd-Gehalt darin spektralphotometrisch bestimmt. Der „freie“ Formaldehyd-Gehalt in den Emulsionen, als Hinweis auf eine Ausdampfung von Formaldehyd, lag bei allen Proben unterhalb der Nachweisgrenze von 117 µg/l. Es ist daher bei den untersuchten KSS nur eine sehr geringe Luftbelastung durch Formaldehyd zu erwarten.

6.5 Diskussion

In drei Felduntersuchungen wurden die Luftbelastung am Arbeitsplatz (KSS-Aerosol und Dampf, Aldehyde, leichtflüchtige organische Verbindungen) und das mutagene Potenzial der verwendeten Schmierstoffe bei der Nass-Bearbeitung und der MMS bestimmt. Für die Summe aus KSS-Aerosol und –Dampf wurde der Grenzwert von 10 mg/m^3 in der Regel nicht bzw. nur gering überschritten. Offene Bereiche der KSS-Umwälzung bei der Nass-Bearbeitung, z.B. eine offene Rinnenspülung (Felduntersuchung 1), können zu einer erhöhten Belastung von KSS-Aerosol und –Dampf beitragen. Bei der MMS ist eine Absauganlage zur Minimierung der Luftbelastung dringend zu empfehlen und zur Einhaltung des Grenzwertes an einigen Arbeitsplätzen notwendig (Felduntersuchung 2 und 3). Aldehyde und leichtflüchtige organische Bestandteile konnten an den untersuchten Arbeitsplätzen nicht nachgewiesen werden. Die verwendeten Schmierstoffe sowie Öl aus einem Filter einer Absauganlage waren nicht mutagen im Ames-Test.

Neben der Luftbelastung, die mit Hilfe von Absauganlagen minimiert werden kann, sind Emulsionen selbst untersucht worden. Dabei weichen die pH-Werte der gebrauchten Emulsionen oft von den ursprünglich neu eingesetzten Emulsionen um mehr als 0,5 zu niedrigeren Werten ab, was ein Hinweis auf eine unzureichende Pflege der Emulsion ist. Weiterhin wurde gezeigt, dass mit zunehmender Bearbeitungsdauer die Biozid-Konzentration in den gebrauchten Emulsionen abnimmt. Damit ist die Möglichkeit einer höheren Keimbelastung gegeben. In diesem Zusammenhang sei auf die Belastung durch Mikroorganismen hingewiesen, für die bislang keine als unbedenklich für die Gesundheit eingestufte Konzentration angegeben werden kann [BIA 1996].

7 Zusammenfassung

Kühlschmierstoffe (KSS) sind in der Metall verarbeitenden Industrie ein weitverbreiteter Fertigungshilfsstoff. Die Kosten für den Einsatz und die Entsorgung können bis zu 16 % der Werkstück bezogenen Fertigungskosten betragen. Um diese zu reduzieren, wurden von der Industrie Technologien entwickelt, mit denen die Verwendung von KSS ganz vermieden (Trockenbearbeitung) bzw. mit Hilfe der Minimalmengenschmierung (MMS) stark reduziert werden kann.

Die bisherige Schmiertechnik mit wassergemischten KSS wird im Umlaufsystem mit Rückgewinnung betrieben. Die MMS dagegen ist eine Verlustschmierung. Bei ihr erzeugt man mit Druckluft bewusst Aerosole, um einen wirksamen Schmierfilm an der Werkzeugschneide zu bilden. Die Aerosole können an die Arbeitsraumluft abgegeben werden. Weiterhin sind die Prozesstemperaturen an der Schneide des Werkzeuges, dem Wirkort des Schmierstoffes, bei der MMS ca. 200 °C (bis 900 °C absolut) höher als bei der konventionellen Schmierung mit wassergemischten KSS. Somit ist die Entstehung von Reaktionsprodukten möglich, die von den Arbeitern im Maschinenumfeld aufgenommen werden können. Gesundheitsbeeinträchtigungen, die von konventionellen, komplex zusammengesetzten KSS ausgehen können, sind in der Literatur beschrieben und umfassen hauptsächlich den Kontakt von KSS mit der Haut und den Atemwegen. Erbgut verändernde (mutagene) Effekte und ein bestehendes Krebsrisiko beim Umgang mit diesen Stoffen werden kontrovers diskutiert. Über Schmierstoffe der MMS, die meist nur aus wenigen Komponenten bestehen, sind auf diesem Gebiet bisher nur wenige Erfahrungen vorhanden.

Die hier durchgeführten Untersuchungen sind in einem Verbundprojekt eingegliedert, in dem die Partner Versuche zu Werkzeug-, Werkzeugmaschinen- und Prozessoptimierungen bei der MMS im Vergleich zur konventionellen Schmierung durchführen.

Ziel dieser Arbeit war es, die toxikologischen Aspekte der Bearbeitung mit wassermischbaren KSS und der MMS vergleichend zu untersuchen, um eventuell vorhandene Gefahren-potenziale der neuen Technik aufzuzeigen. Neben analytisch-chemischen Methoden kommt der Salmonella-Mutagenitätstest (Ames-Test) zum Nachweis von Genmutationen zur Anwendung.

Es wurden folgende Methoden entwickelt und etabliert:

- Modellsysteme zur Simulation des thermischen Einflusses auf KSS
- Salmonella-Mutagenitätstest (Ames-Test) zur Bestimmung von Genmutationen
- Verfahren zur Bestimmung von KSS-Aerosol und -Dampf
- Verfahren zur Bestimmung von leichtflüchtigen organischen Bestandteilen in der Luft
- Verfahren zur Bestimmung von Aldehyden in der Luft
- Methode zur Bestimmung von Formaldehyd in KSS-Emulsionen
- Methode zur Bestimmung des "freien" Formaldehyd-Gehaltes in KSS-Emulsionen
- Methode zur Bestimmung von Nitrit in KSS-Emulsionen

Für die Untersuchungen wurden 5 wassermischbare KSS, 26 gebrauchte KSS-Emulsionen aus Bearbeitungszentren und 5 Schmierstoffe der MMS von den Projektpartnern zur Verfügung gestellt.
Im Ames-Test wurden 5 wassermischbare KSS verschiedener Grundrezepturen in Form von Konzentraten und Luftproben, die nach thermischem Einflus auf Konzentrate und Emulsionen (neu und gebraucht) erhalten wurden, auf ihr mutagenes Potenzial untersucht. Weiterhin wurden Extrakte und wässrige Rückstande einer Ether-Extraktion der Emulsionen in den Test eingesetzt. Dabei waren 2 Konzentrate mutagen im Ames-Test (Kap. 4.2.1.1), die anderen Proben zeigten keine mutagenen Effekte. In den postitiv getesteten Konzentraten konnten die als Biozide eingesetzten Formaldehyddepot-Verbindungen EDAO und HHT bzw. der daraus freigesetzte Formaldehyd als Auslöser für die mutagene Wirkung der Konzentrate identifiziert werden (Kap. 4.2.1.2 und 4.2.1.3). Konzentrate mit Natriumpyrithion als Biozid zeigten dagegen keine mutagenen Effekte im Ames-Test.
Über das mutagene Potenzial von Schmierstoffen für die MMS sind bislang kaum Erfahrungen vorhanden. Es wurden 5 Schmierstoffe für die MMS als Konzentrate und Luftproben, die nach thermischem Einfluss auf die Schmierstoffe erhalten wurden, im Ames-Test untersucht. In keiner Probe konnten mutagenen Effekte beobachtet werden. Die Luft-Probennahme für den Ames-Test erfasste allerdings keine leichtflüchtigen Reaktionsprodukte.

Die Untersuchungen zum thermischen Einfluss auf KSS und die Entstehung von Reaktionsprodukten sind bei der vergleichenden Beurteilung des Gefahrenpotenzials der konventionellen und der Minimalmengen-Schmierung wichtige Kriterien. So wurden mit zwei Laboranlagen zur Simulation des thermischen Einflusses, durch den Einsatz unterschiedlicher Adsorberphasen für Luftinhaltsstoffe (Aktivkohle, XAD-Harz, DNPH-

Kartuschen) und mit verschiedenen Bestimmungsmethoden erste Grundlagen für die Bearbeitung dieser Fragestellung geschaffen.
Dabei zeigten die Schmierstoffe für die MMS gegenüber den wassermischbaren KSS bei Temperaturen zwischen 450 und 600 °C eine stärkere Neigung zur Bildung von Reaktionsprodukten. Dies wird durch den Vergleich von Chromatogrammen der Konzentrate und Luftproben, die nach thermischem Einfluss auf die KSS erhalten wurden, deutlich. Aufgrund der Vielzahl der Substanzen und der geringen Konzentrationen im Bereich der Nachweisgrenze konnten sie nicht vollständig identifiziert werden. So wurde exemplarisch für einen Schmierstoff der MMS, den Fettalkohol 2-Octyldodecan-1-ol, das Haupt-Reaktionsprodukt 2-Octyldodecan-1-al identifiziert. Literaturdaten über die Substanz sind nicht vorhanden, so dass die toxischen Eigenschaften abschließend nicht beurteilt werden können.
Reaktions- bzw. Zersetzungsprodukte konnten zwar in Spuren von Konzentraten der wassermischbaren KSS nach thermischem Einfluss nachgewiesen werden, nicht aber von 5 %igen Emulsionen, wie sie in der Praxis eingesetzt werden. Neben 2-Octyldodecan-1-al konnten keine weitern Aldehyde als mögliche Reaktionsprodukte gefunden werden, weder bei der Verwendung von wassermischbaren KSS noch bei Schmierstoffen der MMS.

In drei Felduntersuchungen wurden die Luftbelastung am Arbeitsplatz (KSS-Aerosol und Dampf, Aldehyde, leichtflüchtige organische Verbindungen) und das mutagene Potenzial der verwendeten Schmierstoffe bei der konventionellen Kühlschmierung und der MMS bestimmt. Für die Summe aus KSS-Aerosol und –Dampf wurde der Grenzwert von 10 mg/m^3 in der Regel nicht bzw. nur geringfügig überschritten. Offene Bereiche der KSS-Umwälzung bei der konventionellen Schmierung, wie z.B. eine offene Rinnenspülung (Felduntersuchung 1), können zu einer erhöhten Belastung der Raumluft durch KSS-Aerosol und –Dampf beitragen. Bei der MMS ist eine Absauganlage zur Minimierung der Luftbelastung dringend zu empfehlen und zur Einhaltung des Grenzwertes an einigen Arbeitsplätzen notwendig (Felduntersuchung 2 und 3). Aldehyde und leichtflüchtige organische Bestandteile konnten an den untersuchten Arbeitsplätzen nicht nachgewiesen werden. Die verwendeten Schmierstoffe sowie Öl aus einem Filter einer Absauganlage waren im Ames-Test nicht mutagen.

Weiterhin wurden gebrauchte Emulsionen verschiedener Standzeiten aus Bearbeitungszentren auf altersabhängige Veränderungen untersucht. Dabei weichen die pH-Werte der gebrauchten

Emulsionen oft von den ursprünglich neu eingesetzten Emulsionen um mehr als 0,5 Einheiten zum sauren Bereich hin ab. Dies muss als Hinweis auf eine unzureichende Pflege der Emulsionen gedeutet werden. Zudem wurde gezeigt, dass mit zunehmender Bearbeitungsdauer die Biozid-Konzentration in den gebrauchten Emulsionen abnimmt. Damit ist die Möglichkeit zur Bildung einer höheren Keimbelastung gegeben. In diesem Zusammenhang sei auf die Belastung durch Mikroorganismen hingewiesen, für die bislang keine als unbedenklich für die Gesundheit eingestufte Konzentration angegeben werden kann [BIA 1996].

Die MMS stellt eine neue Technologie bei Zerspanvorgängen dar, die aufgrund der guten Bearbeitungsergebnisse und der Kostenreduktion zunehmend an Bedeutung gewinnen wird. Obwohl bislang in den untersuchten Proben weder ein mutagenes Potenzial noch die Entstehung von arbeitsmedizinisch-toxikologisch bedenklichen Reaktionsprodukten nachgewiesen werden konnte, kann dies jedoch nicht ausgeschlossen werden. Gerade die verstärkte Neigung zur Bildung von Reaktionsprodukten aufgrund der höheren Prozesstemperaturen und der oft ungehinderte Übergang des Schmierstoff-Aerosols in die Umgebung der Maschine sind als kritisch anzusehen. Aus Gründen des Arbeitsschutzes sind bei der MMS Absauganlagen dringend zu empfehlen.
Für die wassermischbaren KSS sind die enthaltenen Komponenten und ein Hautkontakt mit diesen als kritisch anzusehen. Hier sind v.a. die Formaldehyd abspaltenden Biozide zu nennen, die ein mutagenes Potenzial aufweisen. Zudem ist Formaldehyd für die Haut sensibilisierend. Eine Entstehung von Reaktionsprodukten aufgrund thermischer Prozesse ist bei der konventionellen Schmierung mit wassermischbaren KSS bislang nicht beobachtet worden. Eine Belastung der Atemwege ist nur bei starker Aerosol-Bildung und fehlender Absauganlagen zu erwarten. Hier stehen oberflächenaktive Substanzen im Vordergrund.
Es bleibt anzumerken, dass die hier erhaltenen Ergebnisse nicht generell auf andere KSS übertragen werden können, sondern auf den Schmierstofftyp, seine jeweilige Zusammensetzung und die Bearbeitungstechnologie zu beziehen sind.

8 Literaturverzeichnis

Alomar, A. (1994)
„Occupational skin disease from cutting fluids“
Dermatol. Clin. **12** (3), 537-546

Andrae, U. (1996)
„Genotoxizitätstests in vitro“
in Greim, H. und Deml, E.: „Toxikologie“, VCH-Verlag, Weinheim

Anker, W. (1993)
„Biozideinsatz bei wassergemischten Kühlschmierstoffen“
Schriftenreihe Praxis-Forum Serie, Schmierstoff-Forum, Band 17/93, 285-293

Apostoli, P., Crippa, M., Fracasso, M.E., Cottica, D. and Alessio, L. (1993)
„Increases in polycyclic aromatic hydrocarbon content and mutagenicity in a cutting fluid as a consequence of its use“
Int. Arch. Occup. Environ. Health **64**, 473-477

ASF Arbetarskyddsfonden (1983)
„The Swedish-German seminar on metalworking fluids in work environment“
The Swedish Work Environment Fund, Stockholm, 83-88

Balabanova, B., Philipova, T. and Atanasov, O. (1994)
„Study of volatile noxious compounds composition during the use of lubricating-coolant fluids“
Int. J. Occup. Med. Environ. Health **7** (2), 143-147

Baumann, W. und Herberg-Liedtke, B. (1996)
„Chemikalien in der Metallbearbeitung“
Springer-Verlag, Berlin

Berezkin, V.G. and Drugov, Y.S. (1986)
„Reaction-chromatographic identification of products of the thermal destruction of lubricating cooling liquids“
Industrial Laboratory **52** (7), 16-19

BIA (1993)
„Analyse von wassergemischten Kühlschmierstoffen“
BIA-Arbeitsmappe 10. Lieferung, 7748, 1-11

BIA (1996)

BIA-Report 7/96: „Kühlschmierstoffe“
Schriftenreihe des Hauptverbandes der gewerblichen Berufsgenossenschaften
Herausgeber: Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit (BIA), St. Augustin

Blackburn, G.R., Deitch, R.A., Schreiner, C.A., Mehlman, M.A. and Mackerer, C.R. (1984)

„Estimation of the dermal carcinogenic activity of petroleum fractions using a modified ames assay“
Cell Biol. Toxicol. **1** (1), 67-80

Blackburn, G.R., Deitch, R.A., Schreiner, C.A. and Mackerer, C.R. (1986)

„Predicting carcinogenicity of petroleum distillation fractions using a modified Salmonella mutagenicty assay“
Cell Biol. Toxicol. **2** (1), 63-83

Brambilla, G., Cajelli, E., Canonero, R., Martelli, A. and Marinari, U.M. (1989)

„Mutagenicity in V79 hamster cells of n-alkanals produced by lipid peroxidation“
Mutagenesis **4** (4), 277-279

Brooks, T.M., Priston, R.A.J., Wright, A.S. and Watson, W.P. (1995)

„Evaluation of modified bacterial mutagenicity assay for the genotoxicity testing of mineral oils“
Mutagenesis **10** (5), 409-415

Budzikiewicz, H. (1992)

„Massenspektrometrie: Eine Einführung“
VCH-Verlag, Weinheim

Chazal, P.M. (1995)

„Pollution of modern metalworking fluids containing biocides by pathogenic bacteria in France“
Eur. J. Epidemiol. **11**, 1-7

Dalbey, W., Osimitz, T., Kommineni, C., Roy, T., Feuston, M. and Yang, J. (1991)

„Four-week inhalation exposures of rats to aerosols of three lubricant base oils“
J. Appl. Toxicol. **11** (4), 297-302

DFG (1975)

„Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG): Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe“, Band 1: Luftanalysen, „Formaldehyd“

DFG (1994)

„Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG): Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe“, Band 1: Luftanalysen, „Kühlschmierstoff-Aerosole und -Dämpfe“

DFG (1995)

„Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG): Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe", Band 1: Luftanalysen, „Aldehyde“

DFG (2000)

„Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG): Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe", Band 1: Luftanalysen, „Spezielle Vorbemerkungen“, 104-114

Dickson, J.R., Brinkman, D.W. and Blackburn, G.R. (1997)

„Evaluation of the dermal carcinogenic potential of re-refined base stocks using the modified ames assay, PAC analysis and the ^{32}P-postlabeling assay for DNA adduct induction“

J. Appl. Toxicol. **17** (2), 113-117

DIN 51 385 (1981)

„Kühlschmierstoffe, Begriffe“

Beuth Vertrieb, Berlin

Doerffel, K. (1990)

„Statistik in der Analytischen Chemie“

VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig

Doerffel, K., Geyer, R. und Müller, H. (1994)

„Analytikum“

VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig

Dutcher, J.S., Li, A.P. and McClellan, R.O. (1986)

„Mutagenicity of used crankcase oils from diesel and spark ignition automobiles“

Environ. Res. **40**, 155-163

Famulok, T. (1995)

„Entwicklung analytischer Messverfahren für die Bestimmung von Kühlschmierstoff-Einzelkomponenten und –Summenparametern am Arbeitsplatz“

Dissertation, Technische Universität München

Fifield, F.W. and Kealey, D. (1990)

„Principles and practise in Analytical Chemistry“

Blackie, London

Figge, K., Dommröse, A.M., Rabel, W. und Zerhau, W. (1987)

„Sammel- und Analysensystem zur Bestimmung organischer Spurenstoffe in der Atmosphäre“

Fres. Z. Anal. Chem. **327**, 279-292

Fuchs, J., Hengstler, J.G., Bolm-Andorff, U. and Oesch, F. (1995)
„DNA damage in mononuclear blood cells of metal workers exposed to N-nitrosodiethanolamine in synthetic fluids“
Mutat. Res. **342** (1-2), 95-102

Galetke, W., Borsch-Galetke, E., Stalder, K., Hering, K.G. und Rabente, T. (1994)
„Untersuchung von Schleifern zur Bedeutung von Allergenen in Kühlschmiermitteln für die Entstehung von Lungenfibrosen“
in Kessel R. (Hrsg.) Verh. Dtsch. Ges. Arbeitsmed., 34. Auflage, Gentner-Verlag, Stuttgart

Göggelmann, W. (1993)
„Die Erfassung von Genmutationen in Bakterien“
aus Fahrig, R. (Hrsg.): „Mutationsforschung und genetische Toxikologie"
Wiss. Buchges., Darmstadt

Goh, C.L. (1994)
„Common industrial processes and occupational irritants and allergens – an update“
Ann. Acad. Med. Singapore **23**, 690-698

Granella, M. and Clonfero, E. (1991)
„The mutagenic activity and polycyclic aromatic hydrocarbon content of mineral oils“
Int. Arch. Occup. Environ. Health **63**, 149-153

Granella, M., Ballarin, C., Nardini, B., Marchioro, M. and Clonfero, E. (1995)
„Mutagenicity and contents of polycyclic aromatic hydrocarbons in new high-viscosity naphthenic oils and used and recycled mineral oils“
Mutat. Res. **343**, 145-150

Henkel (1979)
„Ames-Test mit Eutanol G (2-Octyldodecanol)“
Henkel KGaA, Düsseldorf, unveröffentlicht

Hermann, M., Chaude, O., Weill, N., Bedouelle, H. and Hofnung, M. (1980)
„Adaptation of the Salmonella/Mammalian microsome test to the determination of the mutagenic properties of mineral oils“
Mutat. Res. **77**, 327-339

Hermann, M. (1981)
„Synergistic effects of individual polycyclic aromatic hydrocarbons on the mutagenicity of their mixtures“
Mutat. Res. **90**, 399-409

Hill, J.W., Jenson, J.A., Henke, C.F., Yaritz, J.G. und Pedersen, R.L. (1984)
„Oxidation of alcohols using calcium hypochlorite and solid/liquid phase-transfer catalysis“
J. Chem. Educ. **61**, 1118-1122

Hübner, J. (1995)
„Aktuelle toxikologische und ökologische Aspekte des Einsatzes von Kühlschmiermitteln“
Mineralöltechnik **40** (3/4), 1-47

Hübschmann, H.J. (1996)
„Handbuch der GC-MS"
VCH-Verlag, Weinheim

Hörner, D. (1997)
„Kühlschmiermittel für die Minimalmengenschmierung“
VDI-Berichte 1339, 203-240

Jaksic, S., Unitil, S. and Zivkovic, J. (1998)
„Bacterial pollution of cutting fluids: a risk factor for occupational diseases“
Arh. Hig. Rada Toksikol. **49** (3), 239-244

Kaiser, H. und Specker, H. (1956)
„Bewertung und Vergleich von Analysenverfahren“
Z. Anal. Chem. **149**, 1-66

Kennedy, S.M., Greaves, I.A., Kriebel, D., Eisen, E.A. Smith, T.J. and Woskie, S.R. (1989)
„Acute pulmonary responses among automobile workers exposed to aerosols of machining fluids“
Am. J. Ind. Med. **15**, 627-641

Kiessling, W.D. (1977)
„Ölnebelverunreinigungen im Fertigungsbetrieb – Messungen zur Bestimmung möglicher Gesundheitsschädlichkeit industrieller Ölnebel“
Zeitschrift wirtschaftliche Fertigung **72**, 125-128

Klamann, D. (1982)
„Schmierstoffe und verwandte Produkte – Herstellung, Eigenschaften, Anwendung“
VCH-Verlag, Weinheim

Klocke, F. und Gerschwiler, K. (1997)
„Trockenbearbeitung: Grundlagen, Grenzen, Perspektiven“
VDI-Berichte 1339, 1–50

Lautenschläger, H., Nissen, H.P. und Wieland, W. (1997)
„Neue Untersuchungen zur Hautverträglichkeit von Kühlschmierstoffen“
Arbeitsmed. Sozialmed. Präventivmed. **32**, 474-479

Lowe, D.C., Schmidt, U., und Ehhalt, D. (1981)
„Determination of formaldehyde in clean air“
J. Am. Chem. Soc. **15**, 819-822

Lucas, S., Kleber, M. Blaszkewicz, M. and Föllmann, W. (1999)
„Investigation of mutagenic effects of biocides used for preservation of cutting fluids"
Naunym-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. **359** (3), R167

MAK- und BAT-Werte-Liste (2000)
"Deutsche Forschungsgemeinschaft: MAK- und BAT-Werte-Liste"
Wiley-VCH-Verlag, Weinheim

MAK-Begründung (1988)
"Deutsche Forschungsgemeinschaft: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten", Begründungen für Benzotriazol und N,N´,N´´-Tris(β-hydroxy-ethyl)-hexahydro-1,3,5-triazin (HHT),
VCH-Verlag, Weinheim

MAK-Begründung (1992)
"Deutsche Forschungsgemeinschaft: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten", Begründung für 5-Ethyl-3,7-dioxa-1-azabicyclo[3.3.0]octan (EDAO), VCH-Verlag, Weinheim

MAK-Begründung (1994)
"Deutsche Forschungsgemeinschaft: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten", Begründung für Natriumpyrithion, VCH-Verlag, Weinheim

MAK-Begründung (1995)
"Deutsche Forschungsgemeinschaft: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten", Begründung für 2-Amino-2-methyl-1-propanol, VCH-Verlag, Weinheim

MAK-Begründung (1996)
"Deutsche Forschungsgemeinschaft: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten", Begründung für 2-Aminoethanol, VCH-Verlag, Weinheim

MAK-Begründung (1998)

"Deutsche Forschungsgemeinschaft: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten", Begründung für Benzaldehyd, VCH-Verlag, Weinheim

Mang, T., Diel, K.H., Neumann, W., Reich H., Schmid, O., Schweisfurth, R. und Wehber, P. (1980)

„Wassermischbare Kühlschmierstoffe für die Zerspanung“

Kontakt und Studium, Band 61, Expert-Verlag, Grafenau

Mang, T. (1983)

„Die Schmierung in der Metallbearbeitung“

1. Auflage, Vogel Buchverlag, Würzburg

Mang, T. und Freiler, C. (1998)

„Trends bei der Kühlschmierung: Neue Fluidfamilie für die spanende Fertigung und Konzepte für die Minimalmengenschmierung“

Sonderdruck aus „Spanende Fertigung“, 2. Ausgabe, Vulkan-Verlag, Essen

Marnett, L.J. (1985)

„Naturally occuring carbonyl compounds are mutagen in Salmonella tester strain TA 104“

Mutat. Res. **148**, 25-34

Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983)

„Revised methods for the Salmonella mutagenicity test“

Mutat. Res. **113**, 173-215

Meyer, V.R. (1996)

„Fallstricke und Fehlerquellen der HPLC in Bildern"

Hüthig-Verlag, Heidelberg

Migliori, M., Mosconi, G., Michetti, G., Belotti, L., D´Adda, F., Leghissa, P., Musitelli, O., Cassina, G., Motta, T., Seghizzi, P. and Sabbioni, E. (1994)

„Hard metal disease: eight workers with interstitial lung fibrosis due to cobalt exposure“

Sci. Total Environ. **150**, 187-196

Monarco, S., Sforzolini, G.S., Spiegelhalder, B., Pasquini, R. and Fatigoni, C. (1993)

„Monitoring nitrite, N-nitrosodiethanolamine, and mutagenicity in cutting fluids used in the metal industry“

Environ. Health Perspect. **101** (2), 126-128

Möller, U.J. (1993)

„Einzelkomponenten in heutigen wassermischbaren Kühlschmierstoffen“

Mineralöltechnik **2**, 1-31

Noldes, C. (1998)

„Entwicklung einer Nickelspeziesanalytik für Aerosole mit selektivem FIA-Trennverfahren und Graphitofen-Atomabsorptionsspektrometrie“

Dissertation, Universität Dortmund

Nunez, A.J. and Gonzales, L.F. (1984)

„Pre-concentration of headspace volatiles for trace organic analysis by gas chromatography“
J. Chromatogr. **300**, 127-162

OECD 471 (1983)

OECD Guidelines for The Testing of Chemicals/ Section 4: Health Effects

Test No. 471: Bacterial Reverse Mutation Test, Paris 1997

O´Donovan, M.R. and Mee, C.D. (1993)

„Formaldehyde is a bacterial mutagen in a range of Salmonella und Escherichia indicator strains“

Mutagenesis **8** (6), 577-581

Organikum (1977)

Organisch-chemisches Grundpraktikum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin

Otto, M. (1995)

„Analytische Chemie“

Verlag Chemie, Weinheim

Pannwitz, K.H. (1983)

„Diffusionskoeffizienten“

Drägerheft **327**, 6-13

Perkampus, H.H. (1993)

„Lexikon Spektroskopie“

VCH-Verlag, Weinheim

Peschel, H.P. (1997)

„Untersuchungen an biostatischen Kühlschmierstoffen“

Dissertation, Universität Dortmund

Pfeiffer, T. (1993)
„Wettbewerbsfaktor Produktionstechnik“
VDI-Verlag, Düsseldorf

Prelicz, H., Morawa, R., Greger, G., Konofsky, B. und Petro, W. (1991)
„Allergisches, berufsbedingtes Asthma bronchiale durch Kühlschmiermittel-Aerosole“
Arbeitsmed. Sozialmed. Präventivmed. **26**, 67-69

Robertson, A.S., Weir, D.C. and Sherwood-Burge, P. (1988)
„Occupational asthma due to oil mists“
Thorax **43**, 200-205

Rosenman, K.D., Reilly, M.J. and Kalinowski, D. (1997)
„Work-related asthma and respiratory symptoms among workers exposed to metal-working fluids“
Am. J. Ind. Med. **32**, 325-331

Roy, T.A., Johnson, S.W., Blackburn, G.R. and Mackerer, C.R. (1988)
„Correlation of mutagenic and dermal carcinogenic activities of mineral oils with polycyclic aromatic compound content“
Fundam. Appl. Toxicol. **10**, 466-476

Rutten, G.A., Burtner, C.W.J., Visser, H. and Rijks, J.A. (1988)
„The determination of aldehydes in the exhaust of LPG-fuelled engines“
Chromatographia **26**, 274-280

Schaper, M. and Detwiler, K. (1991)
„Evaluation of the acute respiratory effects of aerosolized machining fluids in mice“
Fundam. Appl. Toxicol. **16**, 309-319

Schmidt, J., Hühsam, A. und Dyck, M. (2000)
„Technologienetz Trockenbearbeitung – Wege zur angewandten Trockenbearbeitung in der Produktion“
VDI-Berichte 1532, 229–236

Schroeder, J.C., Tolbert, P.E., Eisen, E.A., Monson, R.R., Hallock, M.F., Smith, T.J., Woskie, S.R., Hammond, S.K. and Milton, D.K. (1997)
„Mortality studies of machining fluid exposure in the automobile industry IV: a case-control study of lung cancer“
Am. J. Ind. Med. **31**, 525-533

Schulte, K. (2000)
Mündliche Mitteilung, Universität Dortmund

Schulten, H.R., Wilcken, H. und Kutschan, R. (1994)
„Qualitätskontrolle von Kühl-/Schmierstoffen durch Massenspektrometrie und Mustererkennung“
Erdöl, Erdgas, Kohle **110** (6), 275–279

Spallek, M. (1989)
„Astma bronchiale durch Kühlschmierstoff-Aerosole“
Arbeitsmed. Sozialmed. Präventivmed. **24**, 59-61

Stalder, K., Ladany, E., Kroll, A. und Pantke, T. (1985)
„Tierexperimentelle Untersuchungen zur Gesundheitsbeeinträchtigung durch Ölnebel“
Forschungsbericht 625.1, Bundesanstalt für Arbeitsschutz, Dortmund

Stork, J. und Labrot, B. (1988)
„Messungen von Benz-a-pyren und N-Nitrosodiethanolamin an einigen Arbeitsplätzen eines metallverarbeitenden Betriebs“
Ergo. Med. **12**, 126-127

Stork, J., Spallek, M., Labrot, B., Mann, H., Nörimg, R. und Saake, K.P. (1990)
„Akuter Einfluß einer Exposition gegenüber Aerosolen eines wassergemischten Kühlschmierstoffes auf Meßwerte der Lungenfunktion“
Arbeitsmed. Sozialmed. Präventivmed. **25**, 372-374

Stork J., Heger M., Nöring R. und Thamm H. (1995)
„Inhalative Belastung durch Kühlschmierstoffaerosole – arbeitsmedizinische Aspekte“
Zbl. Arbeitsmed. **45**, 228-236

Tönshoff, H.K. (1992)
„Überwachung, Pflege und Entsorgung von Kühlschmiermitteln“
Tribologie und Schmierungstechnik **39** (5), 269-275

TRGS 403
„Technische Regeln für Gefahrstoffe 403: Bewertung von Stoffgemischen in der Luft am Arbeitsplatz“
aus Nöthlichs, M.: „Gefahrstoffe“, Nr. 3353, Erich Schmidt Verlag, Berlin

TRGS 540
„Technische Regeln für Gefahrstoffe 540: Sensibilisierende Stoffe“
aus Nöthlichs, M.: „Gefahrstoffe“, Nr. 3377, Erich Schmidt Verlag, Berlin

TRGS 611

„Technische Regeln für Gefahrstoffe 611: Verwendungsbeschränkung für wassermischbare bzw. wassergemischte Kühlschmierstoffe, bei deren Einsatz N-Nitrosamine auftreten können“
aus Nöthlichs, M.: „Gefahrstoffe“, Nr. 3385, Erich Schmidt Verlag, Berlin

TRGS 900

„Technische Regeln für Gefahrstoffe 900: Grenzwerte für die Luft am Arbeitsplatz“
aus Nöthlichs, M.: „Gefahrstoffe“, Nr. 3390, Erich Schmidt Verlag, Berlin

Tschöpel, P., Kotz, L., Schulz, W., Weber, M. und Tölg, G. (1980)

„Zur Ursache und Vermeidung systematischer Fehler bei Elementbestimmungen in wäßrigen Lösungen im ng/ml- und pg/ml-Bereich“
Z. Anal. Chem. **302**, 1-14

Veydelek, Z.J. und Kakac, B. (1969)

„Farbreaktionen in der spektralphotometrischen Analyse organischer Verbindungen, Band 1: organische Farbreagenzien“
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

Watson, W.P., Brooks, T.M., Gonzalez, L.P. and Wright, A.S. (1985)

„Genotoxicity studies with mineral oils; effects of oils on the microbial mutagenicity of precursor mutagens and genotoxic metabolites“
Mutat. Res. **149**, 159-170

Weinert, K., Adams, F.J., Thamke, D. (1995)

„Was kostet die Kühlschmierung“
Technika **7**, 19–23

Zacharisen, M.C., Kadambi, A.R., Schlueter, D.P., Kurup, V.P., Shack, J.B., Fox, J.L., Anderson, H.A. und Fink, J.N. (1998)

„The spectrum of respiratory disease associated with exposure to metal working fluids“
J. Occup. Environ. Med. **40** (7), 640-647

Zielasko, W. (1993)

„Kostenvorteile durch Kühlschmiermengenreduzierung und Trockenzerspanung“
Vortrag bei der NGC-Fachtagung „Spannungsfeld Kühlschmierstoffe“ in Ulm

Lebenslauf

Name:	Marcus Kleber
Geburtsdatum:	09.11.1970
Geburtsort:	Dortmund
Familienstand:	verheiratet
Eltern:	Ingrid Kleber, geb. Georges
	Berthold Kleber

Bildungsweg:

1977-1981	Fichte-Grundschule in Dortmund-Neuasseln
1981-1987	Geschwister-Scholl-Gymnasium in Dortmund-Brackel
1987-1990	Gymnasium an der Schweizer Allee in Dortmund-Aplerbeck
Mai 1990	Abitur
1990-1995	Studium der Chemie an der Universität Dortmund
November 1994	Diplom-Hauptprüfungen
Februar 1995-	Diplomarbeit an der Universität Witten/Herdecke unter der
Oktober 1995	Leitung von Herrn Prof. Dr. J.A.C. Broekaert
Oktober 1995-	Zivildienst
Dezember 1996	
April 1997	Beginn der Dissertation am Institut für Arbeitsphysiologie unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. H.M. Bolt