

# **Ökotoxikologisches Fachgutachten**

**zur derzeit in Italien geltenden gesetzlichen Regelung  
für die Zulassung von Detergentien zur Bekämpfung von  
Mineralölbelastungen in marinen Ökosystemen**

**erstellt von**

**A.Univ.Prof. Dr. Reinhard Dallinger**

(Institut für Zoologie und Limnologie der Universität Innsbruck)

Im Auftrag von

BIOVERSAL International

**Jänner 2005**

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>Zusammenfassung</b>	3
<b>1. Prämissen</b>	5
<b>2. Wirkungsweise und Einsatz von Detergentien zur Emulgierung von Mineralölprodukten in marinen Ökosystemen</b>	6
<b>3. Zum Einsatz biokompatibler Tenside im Rahmen der beschleunigten Bioremediation („accelerated bioremediation“)</b>	10
<b>4. Biokompatible Tenside als eigene Produktklasse mit speziellen Eigenschaften und Anforderungen</b>	19
<b>5. Das Dekret vom 23. Dezember 2002</b>	19
<b>6. Vorschläge für Veränderungen</b>	23
<b>7. Definitionen für das Gutachten relevanter Fachausdrücke</b>	25
<b>8. Für das Gutachten verwendete Quellen</b>	27

## **Zusammenfassung**

Das vorliegende Gutachten nimmt die Zulassungs-Prüfung eines handelsüblichen biokompatiblen Tensids zur Bekämpfung von Mineralölbelastungen im marinen Bereich zum Anlass, um die diesbezüglich geltende Gesetzeslage in Italien vom ökotoxikologischen Standpunkt aus einer Prüfung zu unterziehen. Das Gutachten berücksichtigt die Vielzahl neuerer Forschungsergebnisse und -arbeiten über das Wirkungspotential und die Umweltverträglichkeit biokompatibler Tenside. Der Gutachter kommt zum Schluss, dass die derzeitige Regelung vorwiegend auf den Einsatz von herkömmlichen Detergentien zugeschnitten ist, deren vordergründiges Ziel es ist, ein möglichst großes Volumen an Mineralöl stabil in der Wassersäule zu emulgieren. Obwohl ein derart verstandener Detergentien-Einsatz unter bestimmten Ausnahmebedingungen sinnvoll sein kann, steht demgegenüber im Rahmen der beschleunigten Bioremediation das Bestreben im Vordergrund, eine ökologisch nachhaltige Sanierung der Mineralölbelastung zu erreichen. Dabei geht es um die Stimulierung und Förderung des biologischen (vorwiegend bakteriellen) Abbaus von Mineralölinhaltsstoffen durch gezielte Verwendung von umweltverträglichen biokompatiblen Tensiden. Diese besitzen im Vergleich zu xenobiotischen Tensiden den Vorteil, dass sie aufgrund ihrer in der Regel vergleichsweise milden Tensidwirkung, ihrer Bioremediations-beschleunigenden Eigenschaften und ihrer niedrigen Ökotoxizität im allgemeinen umweltverträglicher sind als xenobiotische Tenside und darüberhinaus zu einer ökologisch nachhaltigen Problemlösung nach Mineralöl-Kontaminationen im Meer beitragen. Biokompatible Tenside stellen somit eine eigene Klasse moderner Produkte der Umwelt-Biotechnologie dar. Die aus ökotoxikologischer Sicht allgemein erhobenen Bedenken gegen den Einsatz Tensiden können für biokompatible Tenside nicht oder nur sehr eingeschränkt aufrechterhalten werden. Deren Beurteilung nach Maßstäben, wie sie für xenobiotische Tenside gelten, bei denen eine möglichst effiziente Emulgierung der Mineralölphase im Wasser im Vordergrund steht, ist daher nicht sinnvoll.

Aus besagten Gründen kommt der Gutachter zum Schluss, dass die derzeit geltenden gesetzlichen Bestimmungen für Detergentien zur Bekämpfung von Mineralölbelastungen in marinen Ökosystemen dem Wirkungspotential und der vergleichsweise hohen Umweltverträglichkeit biokompatibler Tenside nicht hinreichend Rechnung tragen. Ihre Zulassung und deren Einsatz sind vielmehr im Rahmen des Konzeptes einer ökologisch nachhaltigen, beschleunigten Bioremediation zu beurteilen, die als umweltpolitisches Ziel in den entsprechenden Gesetzesvorlagen klar zu definieren ist. Die für die Zulassung

biokompatibler Tenside notwendigen Voraussetzungen und Bedingungen sind unter diesen Rahmenbedingungen und unter Einbeziehung von Fachleuten neu zu formulieren. Schließlich wird vorgeschlagen, im Zuge einer gesetzlichen Neuregelung auch die Zulassungsbedingungen für Detergentien zur effizienten Emulgierung von geschlossenen Mineralöl-Teppichen zu überarbeiten.

## 1. Prämissen

Das vorliegende Gutachten bezieht sich auf die bislang unbefriedigende gesetzliche Situation, mit der in Italien die auf Detergentien gestützte Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen in marinen Ökosystemen geregelt wird. Insbesondere bezieht es sich auf das vom Ministerium für Umwelt und Landschaftsschutz (Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio) erlassene Dekret vom 23. Dezember 2002 (Decreto 23 dicembre 2002), das die Zulassungsmodalitäten für Detergentien und Bindemittel zur Bekämpfung von Belastungen durch Mineralölprodukte im Meer festlegt. Die Erlassung des Dekrets durch eine für den Umweltschutz zuständige staatliche Institution hegt die Erwartung, dass die auf diesem Gebiet neuesten Entwicklungen im Sinn einer ökologischen Nachhaltigkeit berücksichtigt werden. Dies ist leider nicht der Fall. Denn das Dekret schreibt für die Zulassung von Detergentien zur Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen Bedingungen vor, wie sie zwar für die schnelle Emulgierung von Mineralöl durch herkömmliche, xenobiotische Produkte sinnvoll sind, nicht jedoch für die beabsichtigte Verfügbarmachung der Öle mit dem Ziel einer biologischen Mineralisation mittels biokompatibler Tenside. Letztere unterscheiden sich ihrer Zusammensetzung nach grundlegend von den xenobiotischen Detergentien, indem sie teilweise oder zur Gänze umweltverträgliche, natürliche oder naturnahe und daher umweltverträgliche Tenside und Inhaltsstoffe enthalten. Aufgrund dieser Zusammensetzung verschiebt sich das Wirkungs-Spektrum der biokompatiblen Tenside im Vergleich zu herkömmlichen Detergentien grundlegend. Dabei steht nicht mehr die effiziente und stabile Emulgierung eines möglichst großen Volumens der Mineralölphase in der Wassersäule im Vordergrund, sondern die nachhaltige Sanierung von Mineralöl-Kontaminationen im Rahmen der sogenannten beschleunigten Bioremediation.

Anlass für die Erstellung des vorliegenden Gutachtens waren insbesondere die im Zusammenhang mit der Prüfung eines umweltfreundlichen biokompatiblen Tensids (BIOVERSAL<sup>®</sup>) erwachsenen Probleme in Hinblick auf die Einhaltung gewisser technisch-physikalischer Mindestanforderungen, wie sie wohl für die Zulassung von herkömmlichen Detergentien für eine schnelle Dispergierung sinnvoll sein mögen, nicht aber für die Bioverfügbar-Machung der Öle durch biokompatible Tenside. Es besteht daher vordringlicher Handlungsbedarf nach einer Abänderung der gesetzlichen Vorschriften, sodass in Hinkunft bei der Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen im marinen Bereich auch die Verwendung umweltverträglicher biokompatibler Tenside möglich sein wird. Ein derartiger Handlungsbedarf besteht auch in anderen Ländern der Europäischen Union. So kommt etwa

ein erst in neuester Zeit erarbeitetes Rechtsgutachten (Willand und Buchholz 2005) zu dem Ergebnis, dass die Verwendung umweltverträglicher biokompatibler Tenside zur Bekämpfung von Ölresten auf Gewässern nach geltendem deutschen Recht in praxistypischen Fällen zulässig sein dürfte und hält deshalb eine Überarbeitung der diesbezüglichen amtlichen Empfehlungen in Deutschland für notwendig. Demgegenüber hat Spanien bereits die Verwendung von BIOVERSAL<sup>®</sup>, einem in Europa vermarkteten biokompatiblen Tensid zur Bekämpfung von Mineralölbelastungen im marinen Bereich genehmigt (Ministero de Fomento, Madrid 2003). Schließlich sei darauf hingewiesen, dass auch die Europäische Union Handlungsbedarf im Bereich der Detergentien-Anwendung in aquatischen und marinen Ökosystemen sieht (Verordnung [EG] Nr. 648/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 31. März 2004), wenngleich spezifische Definitionen und Regelungen für biokompatible Tenside in dieser Verordnung noch fehlen.

## **2. Wirkungsweise und Einsatz von Detergentien zur Emulgierung von Mineralölprodukten in marinen Ökosystemen**

Zunächst muss daran erinnert werden, dass nach einem Auslauf von Mineralöl in marinen Lebensräumen mit unterschiedlichen Zeitperspektiven verlaufende Prozesse einsetzen (siehe dazu: „Fate of marine oil spills“, 2004, Website: <http://www.itopf.com/fate.html>). Dabei werden verschiedene Mineralöl-Fraktionen durch physikalische Einwirkung abgebaut, umverteilt, angereichert und letztlich in der Wassersäule dispergiert und teilweise gelöst. Die Vorgänge sind von komplexen Phasen-Umverteilungen und –Übergängen gekennzeichnet (Tkalic et al. 2003). Der zeitliche Rahmen dieser Vorgänge erstreckt sich über einige Tage bis zu einigen Wochen. Erst allmählich setzen auch mikrobielle Abbauprozesse ein, in deren Verlauf (im Zeitrahmen von Wochen bis Monaten) toxische Mineralölinhaltsstoffe metabolisiert und teilweise oder zur Gänze mineralisiert (also zu H<sub>2</sub>O und CO<sub>2</sub> abgebaut) werden. Besonders in den ersten Stunden und Tagen nach einer Ölkatastrophe wirken sich die Mineralölinhaltsstoffe aufgrund des noch nicht wirksam werdenden mikrobiellen Abbaus auf Organismen und Habitate in zweifache Weise schädlich aus. Zum einen benetzt der Ölschlick die Wasserfläche, sowie Substrat- und Körperoberflächen von Organismen. Dies kann bei letzteren zu schwerwiegenden Beeinträchtigungen ihrer Lebensfunktionen bis hin zum Tod führen. Zum anderen beginnen die zahlreichen toxischen Inhaltsstoffe der Mineralöle (hauptsächlich Kohlenwasserstoff-

Verbindungen) ihre akut-toxische Wirkung auf marine Organismen auszuüben. Je nach betroffenem Habitat (offene See, Riffe, belebte Küstenabschnitte, usw.) ist dabei mit Auswirkungen unterschiedlicher Art und Intensität zu rechnen, wobei vor allem ökologisch reichhaltige Küstenabschnitte besonders gefährdet sind.

Der Einsatz herkömmlicher Detergentien mit xenobiotischen Tensiden zur Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen zielt daher vor allem darauf ab, die auf der Wasseroberfläche treibende Mineralölschicht im Wasserkörper möglichst bald nach deren Freisetzung (innerhalb von Stunden) mit höchstmöglicher Effizienz zu solubilisieren. Dabei wird die Phasenverteilung der beteiligten Komponenten geändert, sodass aus einer Wasser-in-Öl-Emulsion eine Öl-in-Wasser-Emulsion entsteht. Diese besteht aus kleinsten Öltröpfchen, die vom Tensid ummantelt sind (sogenannte Micellen). Durch die erfolgte Phasen-Umverteilung wird der sichtbare Anteil des Rohöls bzw. des betreffenden Raffinerieproduktes der Sicht durch das Auge weitgehend entzogen, sodass bei oberflächlicher Betrachtung der Eindruck erweckt werden mag, dass das Umwelt-Problem damit behoben ist. Erste Erfahrungen mit xenobiotischen Tensiden wurden im Zuge der Bekämpfung der Ölpest nach der Tanker-Katastrophe der „Torrey-Canyon“ vor der britischen Südwestküste im Jahr 1967 gemacht (Smith 1970). Wie bereits in einem früheren Gutachten ausführlich dargelegt wurde, kamen damals aufgrund ihres Lösungsmittelgehaltes und ihrer Zusammensetzung äußerst toxisch wirkende Detergentien zum Einsatz, was an den betroffenen Küstenabschnitten zu katastrophalen Auswirkungen auf die marine Lebewelt führte (Dallinger 2000). Die heute zum Einsatz gelangenden Detergentien werden in vielen Ländern vor ihrer Zulassung auf ihre Ökotoxizität hin überprüft und dürften daher zumindest in Hinblick auf ihre akute Wirkung für marine Algen, Invertebraten und Vertebraten im Vergleich zu den erstmals eingesetzten Detergentien nur mehr geringfügig toxisch sein. Daher wird der Einsatz von Detergentien zur Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen international von den meisten Staaten unter bestimmten Umständen als sinnvoll erachtet (National Research Council – US, Committee on Effectiveness of Oil Spill Dispersants, Marine Board, Commission on Engineering and Technical Systems, 1989; U.S. Environmental Protection Agency, Oil Program, 2004). So wird beispielsweise empfohlen, Detergentien unmittelbar nach einer Leckage durch einen Tankerunfall auf offener See dann einzusetzen, wenn die Gefahr besteht, dass der Ölteppich Lebensgemeinschaften in seichten Buchten, Salzmarschen, Watten, Korallenriffen, Seegras-Wiesen, Mangroven, oder anderen ökologisch hoch-sensiblen Küstenhabitaten erreicht (Fiocco und Lewis 1999; Pezeshki et al. 2000). Dabei wird auch darauf hingewiesen, dass eine allfällige Behandlung des Ölteppichs mit Detergentien

möglichst bald nach dem Belastungs-Ereignis erfolgen sollte, um einer Alterung des Ölschlicks zuvorzukommen. Der Grund dafür liegt darin, dass gealtertes Mineralöl nur mehr schwer dispergierbar und schwerer abbaubar ist (Tkalich et al. 1999; Tkalich et al. 2003). Überdies sollte die Verwendung von Detergentien nach Möglichkeit in Kombination mit anderen Bekämpfungsmaßnahmen (z.B. mechanisches Abschöpfen oder Abpumpen) erfolgen (National Research Council – US, Committee on Effectiveness of Oil Spill Dispersants, Marine Board, Commission on Engineering and Technical Systems, 1989; siehe auch EPA, „Oil-Program“ 2004, Website: <http://www.epa.gov/oilspill/oiltech.htm>).

Klarerweise zielt ein so verstandener Einsatz von Detergentien in erster Linie darauf ab, eine möglichst rasche und effiziente Emulgierung und Dispersion der Ölphase im Meerwasser zu erwirken, noch bevor ein Ölteppich sensible Küstenabschnitte erreichen kann. Die wichtigsten Anforderungen an die Eigenschaften der dabei verwendeten Detergentien sind daher verständlicherweise chemisch-physikalischer Art. Die eingesetzten Produkte sollen sich jedenfalls durch eine hohe Emulsions-Effizienz (d.h. ein möglichst günstiges Verhältnis zwischen eingesetztem Detergens-Volumen und emulgiertem Mineralöl-Volumen) (Fiocco und Lewis 1999), sowie durch eine hohe Emulsions-Stabilität (also ein möglichst langes Verharren der Ölphase in den durch das Detergens entstandenen Micellen) auszeichnen. Natürlich müssen die in Frage kommenden xenobiotische Tenside darüberhinaus auch noch ökotoxikologischen Mindest-Kriterien entsprechen (siehe z.B. Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio, 2002).

Sehr oft zu wenig Beachtung findet dabei jedoch die Tatsache, dass die heute zum Einsatz gelangenden Detergentien zur Mineralölbekämpfung zwar gegenüber Vertebraten und Invertebraten zumeist weniger akut toxisch sind als ihre Vorgänger, dass aber viele dieser Produkte immer noch xenobiotische Tenside enthalten (wie z.B. lineare Alkylbenzolsulfonate oder Alkylphenol-Polyethoxylate), die insbesondere für Bakterien und Juvenilstadien höherer Organismen membrantoxisch sind (Yamada 1979; Misra et al. 1987; de la Maza et al. 1991; Müller et al. 1999), und die bei chronischer Belastung genotoxische oder östrogene Wirkung aufweisen (Wu und Shen 1992; Outledge und Sumpter 1995; Rasmussen et al. 2002). Und obwohl manche xenobiotischen Tenside auch durch mikrobielle Aktivität abgebaut werden können, entstehen dabei oftmals toxische Metaboliten (van Ginkel 1996). Darüberhinaus können Detergentien Lösungsmittel (wie z.B. 2-Butoxyethanol) enthalten, die bei chronischer Einwirkung ebenfalls toxische oder sogar kanzerogene Effekte ausüben können (Ghanayem et al. 1987; Park et al. 2002). Außerdem weisen in derartigen Detergentien oftmals enthaltene,

lineare Alkylbenzolsulfonate auch eine über die membran-toxische Wirkung hinausgehende Bakterientoxizität auf (Brandt et al. 2001), was fallweise auch zu einer Hemmung des bakteriellen Abbaus von Mineralöl-Inhaltsstoffen führen kann (Lindstrom und Braddock 2002). Diese Beobachtung ist insofern von Bedeutung, als zumeist davon ausgegangen wird, dass die Emulgierung von Mineralölen in der Wassersäule durch Tensideinwirkung generell den bakteriellen Abbau der Mineralölinhaltsstoffe fördert (Davies et al. 2001; Harris et al. 2002; Prince et al. 2003). Es hat sich jedoch gezeigt, dass viele der heute eingesetzten Detergentien zur Mineralölbekämpfung im marinen Bereich das Spektrum der Verfügbarkeit von Mineralöl-Inhaltsstoffen gegenüber Mikroorganismen, Invertebraten und Vertebraten derart verändern können, dass es infolgedessen bei den beeinträchtigten Organismen zu einer erhöhten Exposition und einer bevorzugten Aufnahme von besonders toxischen Kohlenwasserstoffen (z.B. zyklischen und polyzyklischen Aromaten) kommen kann (Wolfe et al. 1998; Wolfe et al. 2001; Yamada et al. 2003; Ramachandran et al. 2004), sowie bei Bakterien fallweise auch zu einer Verminderung der Abbauraten für Mineralöl-Inhaltsstoffe (Bruheim et al. 1997). Dabei können auch selektive Hemmwirkungen beobachtet werden, sodass bestimmte Anteile der Mineralölinhaltsstoffe bevorzugt abgebaut werden, während andere, toxische Kohlenwasserstoffe und deren Metaboliten angereichert werden können (Lindstrom und Braddock 2002). Schließlich muss noch bedacht werden, dass die Kombination von dispergiertem Öl und xenobiotischen Tensiden additive oder synergistische toxische Effekte hervorrufen kann (Adams et al. 1999), die durch äußere Faktoren (wie z.B. UV-Licht) noch gesteigert werden können (Barron et al. 2003). Generell muss allerdings festgehalten werden, dass Kombinationseffekte zwischen Ölpahse und Detergentien fallspezifisch zu interpretieren sind, da die Wirkungen offenbar von der chemischen Natur der Tenside und der Zusammensetzung des Mineralöls, den betroffenen Arten, dem Zeitpunkt der Emulgierung nach Freisetzung des Mineralöls, sowie der Art des Testprotokolls abhängen und daher variabel sind (Singer et al. 1995; Singer et al. 1998).

### **3. Zum Einsatz biokompatibler Tenside im Rahmen der beschleunigten Bioremediation („accelerated bioremediation“)**

#### **3.1. Wirkungsweise biokompatibler Tenside: Stand des Wissens**

Im Unterschied zu vielen herkömmlichen Detergentien, die vorwiegend aus xenobiotischen Tensiden und vielfach aus mehr oder weniger toxischen Lösungsmitteln bestehen, enthalten biokompatible Tenside biologische oder naturnahe Tenside, sowie fallweise andere Naturstoffe, wie Enzyme, Aktivatoren, für Bakterien verfügbare Nährstoff-Substrate, oder Substanzen mit einer erhöhten Affinität für bakterielle Membran-Rezeptoren. Idealerweise sind biokompatible Tenside aus mehreren dieser Inhaltsstoffe zusammengesetzt. Die in ihnen enthaltenen Naturstoffe können aufgrund ihres biologischen Ursprungs zumeist auch durch mikrobielle Aktivität wieder abgebaut werden, ohne dass dabei toxische Metaboliten entstehen (Desai und Banat 1997). So konnte in einer vergleichenden Arbeit nachgewiesen werden, dass biokompatible Tenside auf Mineralöl-abbauende Bakterien in der Regel weniger toxisch wirken als xenobiotische Tenside (Poremba et al. 1991).

Aufgrund ihrer Inhaltsstoffe weisen zahlreiche biokompatible Tenside weitaus günstigere und umweltfreundlichere Eigenschaften zur Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen auf als die meisten herkömmlichen Detergentien mit ihrem Gehalt an Lösungsmitteln und xenobiotischen Tensiden (Shennan und Levi 1987; Desai und Banat 1997). Denn biokompatible Tenside sind multifunktionale Produkte und können im Idealfall mehrere günstige Eigenschaften in sich vereinen. Es sind dies:

- a) Milde Tensid-Eigenschaften für die unmittelbare Wirkung nach einem Belastungs-Ereignis;
- b) Bioremediations-beschleunigende Eigenschaften für den bakteriellen Abbau von Mineralöl-Inhaltsstoffen;
- c) Niedrige Ökotoxizität;
- d) Hohe Umweltverträglichkeit.

Damit gehören biokompatible Tenside zweifellos zu den intelligentesten markt-fähigen Produkten, die für die Bekämpfung von Rohöl-Belastungen derzeit zur Verfügung stehen. Voraussetzung für ihren erfolgreichen Einsatz ist allerdings Sachkenntnis und das

Befolgen spezifischer Regeln. Im folgenden sollen die besonderen Eigenschaften der biokompatiblen Tenside kurz erläutert werden.

**a) Milde Tensid-Eigenschaften für die unmittelbare Wirkung nach einem Belastungsereignis:** Zahlreiche biologische Tenside (anionische, kationische und nicht-ionogene) zeichnen sich durch ihre besonders milden Tensid-Eigenschaften aus. Damit ist ihre hohe Verträglichkeit mit biologischen Membranen gemeint. Dies kann zumeist auf ihre polymere Struktur und ihren Gehalt an polyfunktionalen Gruppen zurückgeführt werden, die diesen Substanzen in der Regel eine gegenüber xenobiotischen Tensiden verminderte Polarität verleihen. Es sei in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, dass die polaren Gruppen vieler biologischer Tenside schwache Säuren oder Basen darstellen. Eine der unmittelbaren Folgen dieser strukturellen Eigenschaften ist, dass biologische Tenside im Vergleich zu entsprechenden xenobiotischen Produkten zumeist weniger stark elektrostatisch geladene Micellen bilden (Martienssen 2001). Manche biologische Tenside bilden sogar überhaupt keine echten Micellen, sondern polymere Kohlenwasserstoff-Tensid-Aggregate, mit deren Hilfe die Mineralölinhaltsstoffe den Bakterien direkt verfügbar gemacht werden (Makkar und Rockne 2003; Shin et al. 2004). Aufgrund dieser Eigenschaften weisen biologische Tenside in der Regel eine höhere Membranverträglichkeit auf als viele der zur Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen eingesetzten xenobiotischen Tenside (Vasileva-Tonkova et al. 2001; Martienssen 2003). Dadurch sind biologische Tenside in der Lage, besser zwischen der Lipidphase des Mineralöls und der Zelloberfläche von Mikroorganismen zu vermitteln. Dies ist insofern nicht weiter verwundlich, als viele der von Bakterien synthetisierten Tenside auch unter natürlichen Bedingungen dazu dienen, die Adhäsion von Bakterienzellen an lipophile Substrat-Oberflächen zu regulieren (Baldi et al. 1999; Ron und Rosenberg 2001) und auf diese Weise lipophile Substrate, wie z.B. Fette oder Kohlenwasserstoffe, verfügbar zu machen (van Hamme et al. 2003). Dies wird vor allem dadurch erreicht, dass durch die Aktivität gewisser biologischer Tenside die Ausbildung hydrophober Domänen auf der Bakterien-Zellmembran induziert wird (Zhan und Miller 1994; Al-Tahhan et al. 2000). Das mag auch einer der Gründe dafür sein, weshalb biologische Tenside gegenüber Bakterien und anderen Mikroorganismen eine im Vergleich zu xenobiotischen Tensiden geringere Toxizität aufweisen (Poremba et al. 1991), und dies gilt natürlich auch für kommerzielle Produkte auf Basis biologischer Tenside (Dallinger 2000).

Somit ergibt sich in Summe ein komplexes, aber vom Standpunkt der ökologischen Biotechnologie aus gesehen überaus vorteilhaftes Bild zugunsten der oberflächenaktiven

Wirkung von biokompatiblen Tensiden. Dies legt die Option ihres Einsatzes gegen Mineralöl-Belastungen auch unmittelbar nach einer Ölkatastrophe im marinen Bereich nahe, wenn dabei die für einen derartigen Einsatz notwendigen Rahmenbedingungen (siehe unten) gegeben sind.

#### **b) Bioremediations-beschleunigende Eigenschaften für den bakteriellen Abbau von Mineralöl-Inhaltsstoffen:**

Nach einer Ölkatastrophe im Meer kommt – je nach äußeren Bedingungen wie Temperatur und Nährstoff-Verfügbarkeit – ein Abbau von Mineralölinhaltsstoffen auch ohne menschlichen Eingriff in Gang, wenngleich zumeist mit einer bedeutenden zeitlichen Verzögerung und nicht immer mit der gewünschten Effizienz. Der Abbau erfolgt dabei in der Regel nicht durch eine einzige Art oder wenige Spezialisten (siehe z.B. Kasai et al. 2002), sondern durch Gemeinschaften (Konsortien) verschiedener Bakterienarten und –Stämme, die während des Abbaus voneinander profitieren. So können z.B. einzelne Arten solubilisierende Tenside produzieren, die auch von anderen Arten genutzt werden (Chhatre et al. 1996); oder die art-spezifische Synthese bestimmter Metaboliten kann anderen Arten einen co-metabolischen Abbau von Kohlenwasserstoffen ermöglichen (Bouchez et al. 1995). Die Anzahl der Bakterien im Meerwasser ist unter natürlichen Bedingungen bereits überraschend hoch (Watson et al. 1977), und dies gilt auch für die Vielfalt Mineralöl-abbauender mikrobieller Gemeinschaften (Harayama et al. 2004). Dennoch kann die Bakteriendichte je nach Lage und Habitat sehr stark schwanken (Fukuda et al. 1998), und zudem können extreme Bedingungen (Temperatur, Wetterlage) den bakteriellen Abbau von Mineralöl-Inhaltsstoffen verzögern. In der Fachwelt wird daher seit langem an Lösungen für eine Unterstützung der Abbaukapazität von bakteriellen Gemeinschaften für Kohlenwasserstoffe gearbeitet. Entsprechende Techniken werden als Bioremediation bezeichnet (Swanell et al. 1996; siehe auch: „Bioremediation and its Application to Exxon Valdez Oil Spill in Alaska“: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/2094/bioremed.html>). Bewährte Strategien der Bioremediation sind die Inokulierung von Mineralöl-kontaminierten Substraten oder Standorten mit Kohlenwasserstoff-abbauenden bakteriellen Spezialisten oder Konsortien (Thouand et al. 1999; Ward et al. 2003; Al-Awadhi et al. 2002), oder die Förderung des Abbaus durch Düngung, um allfälligen Limitierungen durch Nährstoffmangel (N, P) (Maki et al. 2003 ; Prince et al. 2003) oder einer Hemmung durch extreme Umweltbedingungen (Margesin und Schinner 2001) entgegenzuwirken. Aufgrund der Komplexität der Materie wurden die Erfolge auf dem Gebiet der Bioremediation bisher eher empirisch und

unsystematisch erfasst und bewertet, jedoch setzt sich allmählich die wissenschaftlich fundierte Überzeugung durch, dass diese Technologie heute einen der modernsten und vielversprechendsten Ansätze zur Bekämpfung von Mineralöl-Kontaminationen in marinen Ökosystemen darstellt (Swanell et al. 1996; Head und Swannell 1999; Bidwell et al. 2003). Aber obwohl Bioremediations-Maßnahmen den mikrobiellen Abbau von Mineralöl-Inhaltsstoffen stimulieren, liegt es in der Natur der Sache, dass die Abbauprozesse in der Regel dennoch eher langsam und mit einer gewissen Zeitverzögerung verlaufen. Eine zusätzliche Verzögerung ihre Abbaus erfahren Mineralöl-Inhaltsstoffe, wenn geschlossene oder emulgierte Mineralölfractionen auf offener See oder im Küstenbereich auf feste Substrate stoßen (Oberflächen von Organismen oder suspendierten Partikeln, sowie Substrat-Unterlagen und Sedimente), an die sich vor allem höher-polymere Kohlenwasserstoffe durch Adsorption anlagern können. Deren Verfügbarkeit für abbauende Bakterien kann dabei drastisch sinken, was ebenfalls zu einer signifikanten zeitlichen Verzögerung des Abbaus beitragen kann (Ron und Rosenberg 2002; Xu und Obbard 2004). Ein realistischer Zeitrahmen für den Abbau hängt also von den Rahmenbedingungen ab und liegt – trotz Bioremediation - im Bereich von Wochen bis Monaten (Swanell et al. 1996). Jedoch ist das Verbesserungs-Potential auf diesem Sektor noch lange nicht ausgeschöpft (Prince 1993; Prince et al. 2003).

Ein vielversprechender Ansatz zur Steigerung der Abbauraten und damit zur Beschleunigung der Abbauprozesse ist die sogenannte beschleunigte Bioremediation („accelerated bioremediation“) mit Hilfe kommerzieller biokompatibler Tenside (Ron and Rosenberg 2002; Rahman et al. 2003). Aufgrund ihrer zumeist milden, bakterienverträglichen Wirkung (siehe oben) sind biokompatible Tenside in der Lage, die Mineralöl-Phase nicht nur zu emulgieren, sondern sie auch für abbauende Bakterien besser verfügbar zu machen. Dadurch kann der bakterielle Abbau bereits unmittelbar nach der Emulgierung in verstärktem Maß einsetzen. Dies ist – abgesehen von der besseren Membranverträglichkeit von biokompatiblen Tensiden – vor allem darauf zurückzuführen, dass die in ihnen enthaltenen biologischen Tenside die Adhäsion von Mineralöl-Inhaltsstoffen an die Bakterien-Zellmembran fördern (Baldi et al. 1999). Gewisse kommerzielle biokompatible Tenside enthalten überdies Substanzen mit speziellen Ankergruppen, die aufgrund ihrer Affinität für spezifische Rezeptoren in der Bakterien-Zellmembran die Adhäsion von Bakterien an die gebildeten Micellen erhöhen (Martienssen 2003). Darüberhinaus bilden manche biologische Tenside mit den Kohlenwasserstoffen der Mineralöl-Phase hoch-polymere Aggregate, die einerseits die Verfügbarkeit der darin enthaltenen Kohlenwasserstoffe für Bakterien erhöhen,

sie aber gleichzeitig für andere Organismen weniger verfügbar machen (Shin et al. 2004). Ein besonders wichtiger Effekt mancher biokompatibler Tenside besteht darin, an das Substrat adsorbierte und für die Biodegradation nicht mehr verfügbare Kohlenwasserstoff-Fraktionen zu mobilisieren und sie dadurch wieder einem bakteriellen Abbau zuzuführen. Dies kann insbesondere im Bereich von marinen Küsten- und Strandabschnitten wichtig sein, wo die Bindung von Restöl-Mengen an Sand- und Substratpartikel den Mineralöl-Abbau bedeutend verzögern kann (Ivshina et al. 1998; Lang und Wullbrandt 1999). Durch die Einwirkung mobilisierender biologischer Tenside wird der Abbau in solchen Fällen wieder in Gang gesetzt, bevor es zu einer Alterung der Mineralöl-Inhaltsstoffe und damit zu einer weiteren Verzögerung der Biodegradation kommt (Barkay et al. 1999; Hua et al. 2003). Der Einsatz kommerzieller biokompatibler Tenside zur Re-Mobilisierung gealterter und Partikelgebundener Mineralöl-Fraktionen hat sich bisher insbesondere in Öl-kontaminierten Böden bewährt, wo dadurch eine signifikante Effizienz-Steigerung des Mineralöl-Abbaus erzielt werden konnte, ohne dass dabei Mineralöl-Inhaltsstoffe in tiefere Bodenschichten verfrachtet wurden (Martienssen 2003). Es gibt keinen Grund, anzunehmen, dass diese Methode mit Hilfe geeigneter biokompatibler Tenside und allenfalls zusätzlicher Bioremediations-Maßnahmen für kontaminierte Strände und marine Küstenabschnitte nicht funktionieren sollte.

Dank ihrer chemischen Zusammensetzung dienen die in den Mineralölprodukten enthaltenen Kohlenwasserstoffe den abbauenden Bakterien als Kohlenstoffquelle, der Sauerstoff der Luft bzw. des Wassers dient dabei als Elektronen-Akzeptor für die Oxidation. Die vollständige Mineralisation zu CO<sub>2</sub> und Wasser kann jedoch nur erfolgen, wenn gleichzeitig die für den Aufbau der Bakterien-Biomasse notwendigen Nährstoffe – vor allem Stickstoff und Phosphor – nicht limitiert sind (Xu und Obbard 2004). Die bei der Bioremediation im marinen Bereich vorgenommene Düngung zielt darauf ab, einer derartigen Limitierung entgegenzuwirken (Delille et al. 2002). Dennoch kommt es in vielen Fällen trotz Bioremediation nicht zu einer vollständigen Mineralisation aller Mineralöl-Inhaltsstoffe. Insbesondere besteht die Gefahr, dass sich im Verlauf der Biodegradation schwer abbaubare, höher-molekulare, steroid-artige und aromatische Kohlenwasserstoffe anreichern. Da insbesondere letztere auch eine erhöhte Ökotoxizität aufweisen, kann gegen Ende der Abbauphase das Umweltrisiko noch einmal ansteigen (Delille et al. 2002; Lindstrom und Braddock 2002). Um diese Gefahr zu minimieren, enthalten manche biokompatible Tenside zusätzlich zum biologischen Tensid noch sogenannte Stoffwechsel-Aktivatoren. Diese können bei entsprechender Zusammensetzung einerseits als Nährstoff-Lieferanten fungieren,

die den Abbau beschleunigen; andererseits kommen sie aber auch als zusätzliche Kohlenstoffquellen in Betracht, die eine co-metabolische Biodegradation sonst nur schwer abbaubarer Kohlenwasserstoffe ermöglichen. Gleichzeitig wird dabei auch der Abbau des eingesetzten biokompatiblen Tensids gefördert. Insgesamt können dadurch sowohl die Abbauraten als auch die Abbau-Effizienz der Mineralöl-Inhaltsstoffe wesentlich gesteigert werden (Martienssen 2003). So kann vielfach dokumentiert werden, dass bestimmte kommerziell verfügbare biokompatible Tenside (z.B. BIOVERSAL<sup>®</sup>) sowohl die Abbau-Effizienz von zugesetzten Kohlenwasserstoffen innerhalb weniger Tage signifikant stimulieren, als auch dabei selber einer beschleunigten Biodegradation unterliegen (Dallinger 2000).

### **c) Niedrige Ökotoxizität:**

Bei vergleichenden Untersuchungen weisen biologische Tenside und biokompatible Tenside in der Regel eine geringere Toxizität auf als xenobiotische Tenside (Poremba et al. 1991; Dallinger 2000; Makkar und Rockne 2003; Mulligan 2005). Auf die zumeist geringere Toxizität von biologischen Tensiden gegenüber Bakterien und Einzellern wurde bereits hingewiesen (siehe oben). Vor allem die niedrige Toxizität gegenüber Bakterien ist eine der wesentlichen Voraussetzungen dafür, dass biologische Tenside und gewisse biokompatible Tenside den bakteriellen Abbau von Mineralöl-Inhaltsstoffen stimulieren (Dallinger 2000; Moran et al. 2000; Hua et al. 2003). Auch die Toxizität gewisser biokompatibler Tenside gegenüber Algen, Invertebraten und Fischen ist im Vergleich zu Detergentien mit xenobiotischen Tensiden deutlich niedriger (Dallinger 2000). Allerdings zeigen Tests mit manchen neuartigen xenobiotischen Tensiden, dass deren akute Toxizität gegenüber Invertebraten und Fischen in einem ebenso niedrigen Toxizitätsbereich liegen kann wie die von biokompatiblen Tensiden. Ein eingehender Vergleich mit bisher publizierten Daten anhand der vorliegenden Literatur relativiert diese Befunde aber wieder und bestätigt die Hypothese, dass biologische Tenside im Großen und Ganzen für Invertebraten und Fische tatsächlich weniger toxisch sind als die meisten xenobiotischen Tenside (Edwards et al. 2003). Ein spezifisches Problem bei marinen Rohöl-Belastungen ist die Benetzung des Gefieders von Seevögeln durch Ölschlick. Dies führt bei sich selber überlassenen Tieren in der Regel zu einem Zusammenbruch der Thermoregulation und in der Folge zum Tod der belasteten Individuen. Wenige wissenschaftliche Untersuchungen zu diesem Thema zeigen, dass die Entfernung des Ölschlicks aus dem Gefieder mit Hilfe herkömmlicher, xenobiotischer Detergentien das Risiko für die Tiere noch erhöhen kann, weil durch die

aggressive Detergens-Wirkung nicht nur der Ölschlick, sondern auch die natürliche Wachsschicht des Gefieders entfernt wird (Jenssen 1994). Es wäre zu prüfen, ob in diesem Fall nicht die Verwendung gewisser schonender biokompatibler Tenside wegen ihrer milden Tensid-Wirkung eine echte Alternative zu den bisherigen Reinigungs-Verfahren darstellen würde. Vereinzelt Untersuchungen haben darüberhinaus gezeigt, dass biokompatible Tenside auch dazu beitragen können, die mit Rohöl-Kontaminationen oftmals einhergehenden Schwermetall-Belastungen zu mildern, indem sie die Verfügbarkeit und damit die Toxizität von toxischen Metallionen erniedrigen (Sandrin et al. 2000).

Aufgrund der eigenen Biodegradations-Fähigkeit der meisten biologischen Tenside, die während des Prozesses der Bioremediation zusammen mit den Mineralöl-Inhaltsstoffen abgebaut werden, ist in der Regel auch mit keiner langfristigen oder chronischen Toxizität von biokompatiblen Tensiden zu rechnen (siehe z.B. Dallinger 2000). Dies gilt, wie oben gezeigt wurde, jedoch nicht für viele xenobiotische Tenside.

#### **d) Hohe Umweltverträglichkeit:**

Die Kombination aus milder Tensid-Wirkung, Stimulation des bakteriellen Abbaustoffwechsels für Mineralölinhaltsstoffe und relativ geringer Ökotoxizität verleihen biokompatiblen Tensiden einen Grad an Umweltverträglichkeit, der bislang von Detergentien auf Basis xenobiotischer Tenside nicht erreicht werden kann. Für die Verwendung von biokompatiblen Tensiden bei der Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen im marinen Bereich spricht auch die Tatsache, dass die meisten in biokompatiblen Tensiden enthaltenen biologischen Tenside eine im Vergleich zu xenobiotischen Tensiden besonders niedrige kritische Micellkonzentration (CMC) aufweisen (Desai und Banat 1997; Santa Anna et al. 2002). Da manche hochmolekulare biologische Tensiden eher dazu neigen, polymere Aggregate mit den Mineralöl-Kohlenwasserstoffen anstatt Micellen zu bilden, spricht man in diesem Fall von der kritischen Aggregatkonzentration (Barkay et al. 1999). Jedenfalls sind manche biologische Tenside in der Lage, auch unterhalb der kritischen Micell- oder Aggregatkonzentration Mineralöl-Inhaltsstoffe für Bakterienzellen verfügbar zu machen und damit den Kohlenwasserstoffabbau zu stimulieren (Barkay et al. 1999). Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass biologische Tenside die Bakterienzellmembran hydrophober machen, ohne die Membran nachhaltig zu schädigen, und damit die Adhäsion der Bakterienzelle an die Mineralöl-Phase ermöglichen (Zhan und Miller 1994; Al-Tahhan et al. 2000; Hua et al. 2003). Für die Praxis bedeutet dies, dass die zur Emulgierung oder zur biologischen Verfügbarmachung eines vorgegebenen Volumens an Mineralöl benötigten

Konzentrationen in der Regel für biokompatible Tenside niedriger sind als für xenobiotische Tenside. Selbst bei sonst gleicher Toxizität zwischen einem biokompatiblen Tensid und einem entsprechenden, xenobiotischen Produkt spricht dieser Befund einmal mehr für die Verwendung eines biokompatiblen Tensids, da für dessen Wirkung vergleichsweise niedrigere Anwendungs-Konzentrationen eingesetzt werden müssen. Dass manche kommerziell verfügbare biokompatible Tenside darüberhinaus auch noch partikel-gebundene Kohlenwasserstoff-Fractionen mobilisieren können, ohne diese dabei in andere Ökosystem-Kompartimente zu verfrachten, erhöht den Nachhaltigkeits-Charakter solcher Produkte beträchtlich (Martienssen 2003).

Ein Problem, das den sinnvollen Einsatz eines biokompatiblen Tensids unter Freilandbedingungen in Frage stellen könnte, ist der bei stimuliertem Bakterienwachstum erhöhte Bedarf an Nährstoffen und Sauerstoff. Während im Rahmen der beschleunigten Bioremediation ein allenfalls drohender Nährstoffmangel (vor allem Stickstoff und Phosphor) in der Regel durch Düngung ausgeglichen wird, sei daran erinnert, dass manche kommerzielle biokompatible Tenside der jüngsten Generation zusätzliche Naturstoffe enthalten können, die ihrerseits als Stickstoff-Lieferanten in Frage kommen. Darüberhinaus enthalten viele biokompatible Tenside Kohlenstoff-Substrate, die eine co-metabolische Biodegradation von sonst nur schwer abbaubaren hochpolymeren Kohlenwasserstoffen ermöglichen (siehe oben). Was die Gefahr der Sauerstoff-Zehrung betrifft, so hat sich bisher gezeigt, dass ein solcher in der Praxis aufgrund der Einsatzmodalitäten von modereren biokompatiblen Tensiden selbst in kleinen Binnengewässern nicht beobachtet werden konnte (siehe Schaber 2003, Bericht an die Bezirkshauptmannschaft von St. Johann im Pongau). In marinen Ökosystemen dürfte eine Sauerstoffzehrung zumindest im freien Wasserkörper aufgrund der natürlichen Wellenbewegung und der dadurch ständig erfolgenden Sauerstoffzufuhr ohnehin kein Problem darstellen.

Schließlich spricht für die größere Umweltverträglichkeit von biokompatiblen Tensiden auch noch die Tatsache, dass es sich dabei größtenteils um natürliche oder naturnahe Produkte handelt, die in der Regel auch selber durch natürliche Prozesse besser abgebaut werden können als etwa xenobiotische Tenside (Banat et al. 2000; Ron und Rosenberg 2002; Mulligan 2005). In Einzelfällen wurde dies auch für kommerziell verfügbare biokompatible Tenside eindrucksvoll belegt, wie beispielsweise ein Gutachten für das in Mitteleuropa vermarktete Produkt BIOVERSAL<sup>®</sup> zeigt (Dallinger 2000).

### 3.2. Rahmenbedingungen für den Einsatz von biokompatiblen Tensiden

Aufgrund der oben dargestellten Eigenschaften ergibt sich für marktfähige biokompatible Tenside im marinen Bereich ein Einsatzprofil, das sich am Konzept der „beschleunigten Bioremediation“ („accelerated bioremediation“). orientiert. Dieses Konzept sieht unter anderem den Einsatz von Bakterien-Impfkulturen, Düngemitteln und biokompatiblen Tensiden zur Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen in marinen Ökosystemen unter dem Blickwinkel der Nachhaltigkeit und Umweltverträglichkeit vor. Die amerikanische Umweltbehörde EPA (Environmental Protection Agency) beispielsweise empfiehlt, bei der Bekämpfung von Ölbelastungen im Meer den Einsatz von Detergentien als eine von mehreren Maßnahmen in Betracht zu ziehen, die ihre beste Wirkung erst in der gegenseitigen Kombination erzielen (EPA, „Oil Program“ 2004, Website: <http://www.epa.gov/oilspill/oiltech.htm>). So wird etwa empfohlen, nach dem Auslaufen größerer Ölmengen im Meer grundsätzlich zuerst zu versuchen, einen Großteil des Ölschlicks durch mechanische Maßnahmen, sowie durch Abpumpen zu entfernen (The International Oils Spill Information and Resource Center, „Oil Spill Web“, 2004: <http://www.oil-spill-web.com/oilspill/Handbook3.htm>). Der Einsatz von Detergentien ist demnach erst die zweite Option, um Restölmengen zu emulgieren oder um zu verhindern, dass diese auf ökologisch sensible Küstenabschnitte zudriften.

Um so mehr gilt dies für den Einsatz von biokompatiblen Tensiden im Rahmen der beschleunigten Bioremediation. Die hohe Umweltverträglichkeit von biokompatiblen Tensiden beruht, wie oben dargelegt wurde, auf einer Kombination von günstigen Eigenschaften, die insgesamt dazu angetan sind, ihre Umweltverträglichkeit und ihre ökologisch nachhaltige Wirkung zu erhöhen. Deren Verwendung bei Ölkatastrophen hat daher nicht in erster Linie zum Ziel, möglichst große Mengen an Rohöl in möglichst kurzer Zeit in der Wassersäule zu emulgieren (siehe oben). Vielmehr kommt die nachhaltige Wirkung von biokompatiblen Tensiden erst voll zum Tragen, wenn ihr Einsatz nicht zu einer Überforderung der natürlichen Ressourcen und Kapazitäten des marinen Ökosystems führt (siehe z.B. Maki et al. 2003). Ihr Einsatz ist daher vor allem angebracht, wenn es darum geht, Restmengen von Mineralölen nach vorheriger mechanischer Öl-Beseitigung auf der freien Wasserfläche zu behandeln. Weiters kann der Einsatz gewisser biokompatibler Tenside angebracht sein, um adsorbierte und partikel-gebundene Mineralöl-Fractionen im marinen Littoral und im Küstenbereich zu mobilisieren und einem bakteriellen Abbau zuzuführen.

Tatsächlich weisen die Hersteller kommerzieller biokompatibler Tensiden immer wieder darauf hin (siehe z.B. BIOVERSAL<sup>®</sup>), dass ihre Produkte nicht dazu geeignet sind, große und zusammenhängende Ölschlick-Teppiche zu dispergieren, und die meisten kommerziellen Produkte enthalten auch diesbezügliche Anweisungen für eine fachgerechte Verwendung. Um deren positive Wirkungen optimal zur Geltung zu bringen, sollte der Einsatz von biokompatiblen Tensiden überdies von Personen mit Umsicht und der nötigen Fach-Expertise geplant und beaufsichtigt werden (siehe Dallinger 2000).

#### **4. Biokompatible Tenside als eigene Produktklasse mit speziellen Eigenschaften und Anforderungen**

Wie aus den bisherigen Ausführungen hervorgeht, unterscheiden sich biokompatible Tenside hinsichtlich ihrer Eigenschaften, Wirkung, Intention und Verwendung von herkömmlichen Detergentien auf Basis xenobiotischer Tenside grundlegend. Es handelt sich bei biokompatiblen Tensiden um moderne und intelligente Produkte der Umwelt-Biotechnologie (Desai und Banat 1997; Banat et al. 2000; Lang und Trowitzsch-Kineast 2002; Mulligan 2005), deren Einsatz die beschleunigte Bioremediation Mineralöl-kontaminierter Meeresbereiche zum Ziel hat. Die gesetzliche Regelung für ihre Zulassung sollte daher von den Detergentien auf Basis xenobiotischer Tenside gesondert erfolgen. Jedenfalls ist es nach Meinung des Gutachters nicht angebracht, für die Zulassung von biokompatiblen Tensiden dieselben Regelungen geltend zu machen wie für die Zulassung xenobiotischer Tenside. Diese Rechtsauffassung in Hinblick auf die Verwendung kommerzieller biokompatibler Tenside wird übrigens auch von einem Gutachterkreis in Deutschland geteilt (Willand und Buchholz 2005).

#### **5. Das Dekret vom 23. Dezember 2002**

Das Dekret des italienischen Ministeriums für Umwelt und Landschaftsschutz (Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio) vom 23. Dezember 2002 regelt die Zulassungsmodalitäten für Detergentien und für Bindemittel zur Bekämpfung von Belastungen durch Mineralölprodukte in marinen Ökosystemen.

Im Artikel 1. werden die Produkte definiert, auf die das Dekret anzuwenden ist. Bei den Detergentien („prodotti disperdenti“) werden keine spezifischen Unterscheidungen in Bezug auf deren Zusammensetzung, Eigenschaften und Verwendungs-Intention getroffen. Jedoch werden „Produkte biologischer Herkunft“ („prodotti di origine biologica“) von der Regelung ausgenommen, wobei nicht definiert wird, was damit tatsächlich gemeint ist. Für den Gutachter nachvollziehbar ist, dass damit z.B. Bakterienkulturen zur Impfung von Mineralöl-kontaminierten Meeresflächen im Zuge der Bioremediation gemeint sein könnten. Aber bereits an dieser Stelle wäre zu fragen, ob nicht gewisse kommerzielle biokompatible Tenside, die ausschließlich oder vorwiegend biologische Tenside enthalten, ebenfalls in diese Kategorie („Produkte biologischer Herkunft“) fallen. Zu bedenken ist dabei allerdings, dass Produkte denkbar und auch schon auf dem internationalen Markt verfügbar sind, die nicht ausschließlich biologische Tenside enthalten, aber aufgrund ihrer Zusammensetzung, Eigenschaften, Wirkungsweise und Verwendungs-Intention ebenfalls in die Produktgruppe der biokompatiblen Tenside einzureihen sind.

Die Artikel 2 und 3 regeln die formalen Voraussetzungen für das Ansuchen um die Zulassung bereits auf dem Markt befindlicher, sowie neuer Produkte. Weiters legen die Artikel 2 und 3 die Rahmenbedingungen für die Prüfung der Produkte, sowie für die zeitliche Gültigkeit ihrer Zulassung fest.

Die Artikel 4 und 5 setzen ältere Bestimmung außer Kraft.

Im Anhang 1 („Allegato 1“) werden die für die Zulassung eines Detergens notwendigen Unterlagen und die Testbedingungen spezifiziert, deren positiver Ausgang für eine Zulassung ausschlaggebend ist. Da das Dekret bei den Detergentien („prodotti disperdenti“) in Bezug auf deren Zusammensetzung, Eigenschaften und Verwendungs-Intention keine spezifischen Angaben macht (siehe oben), treffen die im Anhang folgenden Festlegungen der Produktbeschreibung und der Testbedingungen für xenobiotische und biokompatible Tenside gleichermaßen zu. Aus den Testbedingungen geht jedoch klar hervor, dass die darin enthaltenen Bestimmungen vorwiegend auf xenobiotische Tenside zugeschnitten sind. Das entsprechende Dekret berücksichtigt damit in keiner Weise die Tatsache, dass biokompatible Tenside für den Einsatz bei der beschleunigten Bioremediation („accelerated bioremediation“) nach Mineralöl-Belastungen in marinen Ökosystemen konzipiert und daher keinesfalls nach Maßstäben zu beurteilen sind, wie sie vielleicht für xenobiotische Tenside angebracht sein mögen. Wie bereits oben dargelegt wurde, (siehe Kapitel 3 dieses Gutachtens), handelt es sich bei biokompatiblen Tensiden um moderne und

intelligente Produkte der Umwelt-Biotechnologie, deren positive Eigenschaften erst in Kombination mit anderen Maßnahmen eine nachhaltige und beschleunigte Bioremediation ermöglichen. Um aber der Intention und Nachhaltigkeit dieser Produkte gerecht zu werden, bedarf es auch hinsichtlich der gesetzlichen Rahmenbedingungen für ihre Zulassung einer gesamthaften Sicht.

So sind beispielsweise die Testbedingungen für die Emulsionsstabilität (Anhang 1, Absatz B1) auf biokompatible Tenside nicht anwendbar, da die entsprechenden Vorgaben darauf abzielen, eine möglichst hohe Menge an Mineralöl mit einem möglichst geringen Volumen an Tensid stabil zu emulgieren (25 ml Mineralöl mit 25 ml Tensid in 25 Liter Meerwasser). Der physikalische Prozess der Emulgierung eines möglichst großen Volumens an Mineralöl in der Wasserphase ist jedoch nicht das vordergründige und ausschließliche Ziel von Maßnahmen im Rahmen der beschleunigten Bioremediation. Wie bereits vielfach aufgezeigt wurde (siehe Kapitel 3 dieses Gutachtens), beschränkt sich der sinnvolle Einsatz von biokompatiblen Tensiden im freien Wasser auf Restöl-Kontaminationen nach vorheriger mechanischer Entfernung der Haupt-Ölmenge. Im übrigen führen die in den Testbedingungen angegebenen Volumina und Mischungsverhältnisse sowohl für Mineralöl-Inhaltsstoffe als auch für xenobiotische Detergentien zu entsprechenden Konzentrationen im Wasser, die ökologisch riskant oder zumindest nicht sinnvoll sind. Im Fall mancher xenobiotischer Tenside (z.B. linearer Alkylbenzol-Sulfonate) können bereits Konzentrationen, die um ein Vielfaches unter den in den Testbedingungen genannten Verdünnungen liegen, signifikante Wachstumshemmungen bei autotrophen nitrifizierenden Bakterien verursachen (Brandt et al. 2001). Auch die Konzentration des emulgierten Mineralölanteils unter den in der Testvorschrift genannten Voraussetzungen (je nach angenommener Dichte des Mineralöls  $0.7 - 1 \text{ g} / \text{L}^{-1}$ ) erweist sich unter realen Belastungs-Bedingungen im Sinn einer beschleunigten Bioremediation kaum als vorteilhaft. Denn wie wissenschaftliche Untersuchungen gezeigt haben, hängt die nach Emulgierung durch Tenside induzierte, bakterielle Abbaurate für Kohlenwasserstoffe unter den vorgegebenen Testbedingungen nicht mehr primär von der Konzentration der emulgierten Mineralöl-Phase ab, sondern wird durch andere Faktoren, wie Bakteriendichte und Nährstoff-Verfügbarkeit, limitiert (Harris et al. 2002). Mit anderen Worten: Selbst wenn der emulgierte Mineralöl-Anteil unter den vorgegebenen Testbedingungen noch weiter ansteige (also beispielsweise mit einem Tensid mit noch höherer Emulsions-Effizienz), würde dies ohne Veränderung der ökologischen Rahmenbedingungen keinesfalls zu einer Steigerung der bakteriellen Abbauraten führen. Allenfalls würde dadurch eine höhere Verfügbarkeit von toxischen Mineralöl-Inhaltsstoffen

für andere marine Organismen erreicht. Dieser Umstand verdeutlicht, dass der im gegenständlichen Dekret vorgeschriebene Test zur Emulsions-Stabilität Kriterien einer beschleunigten Bioremediation keinesfalls gerecht wird.

Auch die im Dekret verlangten Ökotoxizitäts-Tests (Anhang 1, Absatz B2), sowie die Prüfung der Biodegradation (Anhang 1, Absatz B3) und der Bioakkumulation (Anhang 1, Absatz B4) tragen einem Konzept der beschleunigten Bioremediation auf Basis biokompatibler Tenside nicht Rechnung. Sie sind bestenfalls dazu geeignet, bei einem Voll-Einsatz von xenobiotischen Tensiden zur Emulgierung von geschlossenen Ölschlick-Teppichen ökotokologische und ökologische Mindest-Standards festzulegen. Wie bereits oben dargelegt wurde, müsste aber selbst in diesem Fall eine entsprechende Risikobeurteilung potentielle genotoxische und hormonelle Wirkungen mit einschließen, da nach heutigem Kenntnisstand zahlreiche xenobiotische Tenside derartige Risiken in sich bergen. Die modernen Methoden der Ökotoxikologie machen solche Untersuchungen jedenfalls möglich, wobei vor allem an den Einsatz von geeigneten Biomarkern zu denken wäre (siehe z.B. Depledge und Fossi 1994; Peakall und Walker 1994; Kammenga et al. 2000). Darüberhinaus muss auch daran erinnert werden, dass zahlreiche Probleme mit xenobiotischen Tensiden zur Mineralöl-Bekämpfung vor allem auf ihre nachgewiesene Bakterientoxizität zurückzuführen sind (Yamada 1979; de la Maza et al. 1991; Müller et al. 1999) (siehe oben), die in vielen Fällen eine signifikante Hemmung der Biodegradation der Mineralöl-Inhaltsstoffe zur Folge hat. Nach Meinung des Gutachters müsste daher die Ökotoxizitäts-Prüfung zumindest um einen aussagekräftigen Bakterientest ergänzt werden. Der im Dekret vorgeschriebene Test zur Biodegradation (Anhang 1, Absatz B3) ist ausschließlich auf die biologische Abbaubarkeit des bei einer Mineralöl-Kontamination eingesetzten Tensids ausgerichtet. Abgesehen davon, dass manche xenobiotische Tenside auf Alkylphenol-Polyethoxylat-Basis bei der Biodegradation zu hormonwirksamen Metaboliten abgebaut werden (Outledge und Sumpter 1995), berücksichtigt der vorgeschriebene Test (Methode nach OECD-Test No. 306) in keinsten Weise, dass bei der Bekämpfung von Mineralöl-Kontaminationen nicht nur die biologische Abbaubarkeit des eingesetzten Tensids für den Sanierungs-Erfolg maßgebend ist, sondern in gleichem Maß die durch die Tensid-Einwirkung vermittelte Abbaubarkeit der emulgierten Mineralöl-Inhaltsstoffe. Wie oben dargelegt wurde, gibt es kommerziell verfügbare biokompatible Tenside, die selber sehr gut abbaubar sind, dabei aber gleichzeitig den bakteriellen Abbau von Mineralöl-Inhaltsstoffen stimulieren (Dallinger 2000; Martiensen et al. 2003), was diesen Produkten gegenüber vielen xenobiotischen Tensiden einen enormen Vorteil beim Einsatz im Rahmen einer beschleunigten Bioremediation

verleiht. Dieser Tatsache wird in den entsprechenden Bestimmungen des Dekrets nicht Rechnung getragen. Schließlich muss auch noch angemerkt werden, dass die im Dekret vorgesehene Prüfung der Bioakkumulation (Anhang 1, Absatz B4) von einer völlig statischen Sichtweise ausgeht und lediglich eine grobe Einschätzung über das Bioakkumulationspotential eines zur Mineralölbeseitigung eingesetzten Tensids auf Basis des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ( $K_{OW}$ ) vornimmt. Dabei wird jedoch nicht berücksichtigt, dass es im Verlauf einer allfällig stattfindenden Biodegradation des Tensids zur Bildung genotoxischer oder hormonell wirksamer Metaboliten kommen kann, die ihrerseits natürlich sehr wohl einer Bioakkumulation unterliegen können. Die Ermittlung des  $K_{OW}$  des Ausgangsproduktes berücksichtigt derartige Möglichkeiten in keinster Weise. Hier könnten nur experimentelle Tests, etwa in Form von Meso- oder Mikrokosmos-Experimenten, zu einer zuverlässigeren Risikobeurteilung verhelfen.

## **6. Vorschläge für Veränderungen**

Die im Dekret vorgesehenen Regelungen und Testvorschriften sind, wie eingehend dargelegt wurde, vor allem auf Detergentien ausgerichtet, deren Ziel es ist, unmittelbar nach einer Ölkatastrophe eine möglichst große Mineralölmenge effizient und stabil zu emulgieren. Dies kann in manchen Notsituationen angebracht sein (siehe oben: Kap. 2), entspricht jedoch nicht dem modernen Kenntnis-Stand, der zugunsten einer ökologisch nachhaltigen Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen Maßnahmen im Rahmen einer beschleunigten Bioremediation vorsieht. Produkte aus der Gruppe der biokompatiblen Tenside, die sich unter diesen Voraussetzungen zum Einsatz empfehlen, werden im Dekret nicht berücksichtigt (zur Notwendigkeit differenzierter rechtlicher Beurteilungen und Regelungen für den Einsatz von umweltverträglichen biokompatiblen Tensiden einerseits und herkömmlichen xenobiotischen Tensiden andererseits nach deutscher Rechtslage siehe Willand und Buchholz 2005).

Es wird daher vorgeschlagen, die Gesetzeslage dem neuen Erkenntnis-Stand anzugleichen. Dabei erscheint es als angebracht, das Konzept der beschleunigten Bioremediation als umweltpolitisches Ziel explizit festzuhalten. Produkte, wie z.B. biokompatible Tenside, deren Einsatz im Rahmen dieses Konzeptes als sinnvoll erachtet wird, sollten im Rahmen der gesetzlichen Neuregelung als eigene Produktgruppe ausgewiesen werden. Die für ihre Zulassung notwendigen Voraussetzungen und Bedingungen sind unter

Berücksichtigung ihrer erwünschten Vorzüge (siehe oben) und unter Einbeziehung von Fachleuten neu zu formulieren.

Schließlich wird vorgeschlagen, im Zuge der Neuregelung auch die Zulassungsbedingungen für Detergentien zur effizienten Emulgierung von geschlossenen Mineralöl-Teppichen unter Berücksichtigung der im Kapitel 5 dieses Gutachtens formulierten Kritikpunkte zu überarbeiten.

## 7. Definitionen für das Gutachten relevanter Fachausdrücke

Es folgt eine Liste von Definitionen, die im vorliegenden Gutachten regelmäßig verwendet werden.

**Detergentien:** Stoffe oder Zubereitungen, die Seifen oder andere Tenside enthalten und für Wasch- oder Reinigungsprozesse bestimmt sind. Detergentien können unterschiedliche Formen haben (Flüssigkeit, Pulver, Paste, Riegel, Tafel, geformte Stücke, Figuren usw.) und für Haushaltszwecke oder institutionelle oder industrielle Zwecke vertrieben oder verwendet werden (Verordnung (EG) Nr. 648/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 31. März 2004).

**Tenside:** In Detergentien verwendete organische Stoffe und / oder Zubereitungen mit grenzflächenaktiven Eigenschaften, die aus einer oder mehreren hydrophilen und einer oder mehreren hydrophoben Gruppen solcher Art und Größe bestehen, dass sie die Fähigkeit besitzen, die Oberflächenspannung von Wasser zu verringern, monomolekulare Streuungs- oder Adsorptionsschichten an der Wasser/Luft-Grenzfläche zu bilden, Emulsionen und / oder Mikroemulsionen und /oder Micellen zu bilden und sich an Wasser/Festkörper-Grenzflächen anzulagern (Verordnung (EG) Nr. 648/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 31. März 2004).

**Xenobiotische Tenside:** Tenside synthetischen Ursprungs, die chemisch zumeist von Rohöl oder einem seiner Inhaltsstoffe abgeleitet sind. Detergentien zur Bekämpfung von Rohöl-Belastungen enthalten vielfach lineare Alkylsulfonate oder Alkylphenol-Polyethoxylate (Fiocco und Lewis 1999; Van Hamme und Ward 1999).

**Biologische Tenside:** Bakterielle, sowie von Pilzen, Pflanzen oder anderen Organismen im Zuge des Stoffwechsels synthetisierte Substanzen oder Substanz-Gemische mit Tensid-Eigenschaften. Biologische Tenside können unterschiedlichen Substanzklassen angehören (z.B. Glykolipide, Phospholipide, Fettsäuren, Glyko- und Lipopeptide, Lipoproteine, Polysaccharid-Protein-Komplexe) und werden von Organismen häufig in das extrazelluläre Umfeld freigesetzt, um Nährstoffe, Substrate oder andere Substanzen zu solubilisieren und dadurch verfügbar zu machen (Santa Anna et al. 2002). Beispielhaft seien dafür etwa bakterielle Tenside (Desai und Banat 1997) (siehe unten), pflanzliche Saponine (Wegner und Hamburger 2002) oder oberflächenaktive gallensaure Salze des tierischen Verdauungstraktes (Marques et al. 2000) genannt.

**Biotenside („Biosurfactants“):** Von Bakterien oder Pilzen (z.B. Hefen) synthetisierte, zumeist hoch-polymere Tenside unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung, wie z.B. Rhamonlipide oder Alasan (Navon-Venezia et al. 1995; Barkay et al. 1999; Lang und Wullbrandt 1999), oder von Hefen synthetisierte Monoacylglycerole (Thanomsub et al. 2004). Biotenside gewinnen zunehmend an Bedeutung in der Umwelt-Biotechnologie (Lang und Trowitzsch-Kineast 2002) und sind oft Bestandteile von kommerziellen Biotensiden (Martienssen 2003).

**Biokompatible Tenside:** Detergentien, die ausschließlich oder teilweise biologische Tenside oder naturnahe Tenside enthalten (siehe dazu Martienssen et al. 2003). Darüberhinaus können biokompatible Tenside andere Naturstoffe, wie Enzyme, zusätzliche Nährstoff-Substrate, Stoffwechsel-Aktivatoren oder einfache anorganische oder organische Verbindungen enthalten. Gegenüber xenobiotischen Tensiden zeichnen sich biokompatible Tenside durch ihre mildereren Tensideigenschaften, bessere biologische Abbaubarkeit, geringere Toxizität und

dadurch insgesamt höhere Umweltverträglichkeit aus (Desai und Banat 1997). Im Einzelfall muss diese jedoch für jedes Produkt gesondert überprüft und nachgewiesen werden.

**Naturnahe Tenside:** Xenobiotische Substanzen, die aufgrund ihrer Zusammensetzung, Struktur und spezifischen Wirkung biologischen Tensiden nachempfunden sind und deshalb zu den biokompatiblen Tensiden gehören.

**Bioremediation (engl. „bioremediation“):** Unter Bioremediation versteht man den gezielten Einsatz von Organismen (hpts. Bakterien, Pilze, Pflanzen) für den biologischen Abbau oder zur Extraktion von Umweltschadstoffen. Im Zusammenhang mit der Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen wird unter „Bioremediation“ vor allem der Einsatz von öl-abbauenden Bakterien und von düngenden Nährstoffen verstanden (siehe z.B. Gordon R., in: „Bioremediation and its Application to Exxon Valdez Oil Spill in Alaska“, 2004, Website: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/2094/bioremed.html>).

**Beschleunigte Bioremediation (engl. „accelerated bioremediation“):** Bei der beschleunigten Bioremediation geht es um die Stimulierung und Förderung des biologischen (vorwiegend bakteriellen) Abbaus von Mineralölinhaltsstoffen durch gezielte Verwendung von umweltverträglichen biokompatiblen Tensiden, die neben biologischen Tensiden auch Enzyme, Aktivatoren oder andere den Abbau fördernde, natürliche Zusatzstoffe enthalten können.

## 8. Für das Gutachten verwendete Quellen

### 8.1. Wissenschaftliche Fachliteratur und Fachgutachten

- Adams G.G., Klerks P.L., Belanger S.E., Dantin D., 1999: The effect of the oil dispersant Omni-Clean on the toxicity of fuel oil no. 2 in two bioassays with the sheepshead minnow *Cyprinodon variegatus*. *Chemosphere* 39 (12), 41-57.
- Al-Awadhi H., Al-Hasan R.H., Radwan S.S., 2002: Comparison of the potential of coastal materials loaded with bacteria for bioremediating oily sea water in batch culture. *Microbiol. Res.* 157 (4), 331-336.
- Al-Tahhan R.A., Sandrin T.R., Bodour A.A., Maier R.M., 2000: Rhamnolipid-induced removal of lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa*: effect on cell surface properties and interaction with hydrophobic substrates. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (8), 3262-3268.
- Baldi F., Ivosevic N., Minacci A., Pepi M., Fani R., Svetlicic V., Zutic V., 1999: Adhesion of *Acinetobacter venetianus* to Diesel Fuel Droplets studied with in situ electrochemical and molecular probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (5), 2041-2048.
- Banat I.M., Makkar R.S., Cameotra S.S., 2000: Potential commercial applications of microbial surfactants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53, 495-508.
- Barkay T., Navon-Venezia S., Ron E.Z., Rosenberg E., 1999: Enhancement of solubilization and biodegradation of polyaromatic hydrocarbons by the bioemulsifier Alasan. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (6), 2697-2702.
- Barron M.G., Carls M.G., Short J.W., Rice S.D., 2003: Photenhanced toxicity of aqueous phase and chemically dispersed weathered Alaska North Slope crude oil to Pacific herring eggs and larvae. *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (3), 650-660.
- Bidwell J.R., Cherry D.S., Merski A.T., 2003: Toxicity evaluation of a commercial bioremediation agent mixed with crude oil. *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (1), 84-91.
- Bouchez M., Blanchet D., Vandecasteele J.-P., 1995: Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and cometabolism. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43 (1), 156-164.
- Brandt K.K., Hesselsøe M., Roslev P., Henriksen K., Sørensen J., 2001: Toxic effects of linear alkylbenzene sulfonate on metabolic activity, growth rate, and microcolony formation of *Nitrosomonas* and *Nitrospira* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (6), 2489-2498.
- Bruheim P., Bredholt H., Eimhjellen K., 1997: Bacterial degradation of emulsified crude oil and the effect of various surfactants. *Can J. Microbiol.* 43 (1), 17-22.
- Chhatre S., Purohit H., Shankeer R., Khanna P., 1996: Bacterial consortia for crude oil spill remediation. *Wat. Sci. Tech.* 34 (10), 187-193.
- Dallinger R., 2000: Ökotoxikologische Beurteilung zur Anwendung von "Bioversal" bei der Bekämpfung von Mineralöl-Belastungen in Böden und Gewässern. Gutachten, 24 Ss.
- Davies L., Daniel F., Swannell R., Braddock J., 2001: Biodegradability of chemically-dispersed oil. A report produced for the Minerals Management Service (MMS), Alaska Department of Environmental Conservation (ADEC) and United States Coast Guard (USCG). AEAT / ENV / RO421 (1), 49 Ss.
- De la Maza A., Sanchez-Leal J., Parra J.L., Garcia M.T., Ribosa I., 1991: Permeability changes of phospholipid vesicles caused by surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68, 315-319.
- Delille D., Delille B., Pelletier E., 2002: Effectiveness of bioremediation of crude oil contaminated subantarctic intertidal sediment: the microbial response. *Microb. Ecol.* 44 (2), 118-126.

- Depledge M.H., Fossi M.C., 1994: The role of biomarkers in environmental assessment. 2. Invertebrates. *Ecotoxicology* 3, 161-172.
- Desai J.D., Banat I.M., 1997: Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61 (1), 47-64.
- Edwards K.R., Lepo J.E., Lewis M.A., 2003: Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 1309-1316.
- Fiocco R.J., Lewis A., 1999: Oil spill dispersants. *Pure Appl. Chem.* 71 (1), 27-42.
- Fukuda R., Ogawa H., Nagata T., Koike I., 1998: Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (9), 3352-3358.
- Ghanayem B.I., Burka L.T., Matthews H.B., 1987: Metabolic basis of ethylene glycol monobutyl ether (2-butoxyethanol) toxicity: role of alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Pharmacology* 242 (1), 222-231.
- Harayama S., Kasai Y., Hara A., 2004: Microbial communities in oil-contaminated seawater. *Current Op. Biotechnol.* 15, 205-214.
- Harris B.C., Bonner J.S., McDonald T.J., Fuller C.B., Page C.A., Dimitriou-Christidis P., Sterling M.C., Autenrieth R.L., 2002: Bioavailability of chemically-dispersed crude oil. Proc. of the twenty-fifth Arctic and Marine Oilspill Program (AMOP). Technical Seminar. Environment Canada, Ottawa, Vol. 2, Ss. 895-905.
- Head I.M., Swannell R.P.J., 1999: Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in marine habitats. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10, 234-239.
- Hua Z., Chen J., Lun S., Wang X., 2003: Influence of biosurfactants produced by *Candida antarctica* on surface properties of microorganism and biodegradation of n-alkanes. *Water Res.* 37 (17), 4143-4150.
- Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Philp J.C., Christofi N., 1998: Oil desorption from mineral and organic materials using biosurfactant complexes produced by *Rhodococcus* species. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14, 711-717.
- Jenssen B.M., 1994: Effects of oil pollution, chemically treated oil, and cleaning on thermal balance of birds. *Environ. Pollut.* 86 (2), 207-215.
- Kammenga J.E., Dallinger R., Donker M.H., Köhler H.-R., Simonsen V., Triebkorn R., Weeks J.M., 2000: Biomarkers in terrestrial invertebrates: Potential and Limitations for Ecotoxicological Soil Risk Assessment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 164, 93-147.
- Kasai Y., Kishira H., Harayama S., 2002: Bacteria belonging to the genus *Cycloclasticus* play a primary role in the degradation of aromatic hydrocarbons released in a marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (11), 5625-5633.
- Lang S., Wullbrandt D., 1999: Rhamnose lipids – biosynthesis, microbial production and application potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 22-32.
- Lang S., Trowitzsch-Kineast W., 2002: Biotenside. B.G. Teubner Verlag, Stuttgart, 220 Ss.
- Lindstrom J.E., Braddock J.F., 2002: Biodegradation of petroleum hydrocarbons at low temperature in the presence of the dispersant Corexit 9500. *Mar. Pollut. Bull.* 44 (8), 739-747.
- Maki H., Hirayama N., Hiwatari T., Kohata K., Uchiyama H., Watanabe M., Ymasaki F., Furuki M., 2003: Crude oil bioremediation field experiment in the Sea of Japan. *Mar. Pollut. Bull.* 47, 74-77.
- Makkar R.S., Rockne K.J., 2003: Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (10), 2280-2292.
- Margesin R., Schinner F., 2001: Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56 (5-6), 650-663.

- Marques E.F., Regev O., Edlund H., Khan A., 2000: Micelles, dispersions, and liquid crystals in the catanionic mixture bile salt – double-chained surfactant. The bile salt-rich area. *Langmuir* 16 (22), 8255-8262.
- Martienssen M., Reichel O., Schirmer M., 2003: Einsatz oberflächenaktiver Substanzen zur Verbesserung der biologischen Abbaubarkeit von Mineralölkohlenwasserstoffen. *Chem. Ingen. Techn.* 75 (11), 1749-1755.
- Misra V., Chawla G., Kumar V., Lal H., Viswanathan P.N., 1987: Effect of linear alkyl benzene sulfonate in skin of fish fingerlings (*Cirrhina mrigala*): observations with scanning electron microscope. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 13 (2), 164-168.
- Moran A.C., Olivera N., Commendatore M., Esteves J.L., Sineriz F., 2000: Enhancement of hydrocarbon waste biodegradation by addition of a biosurfactant from *Bacillus subtilis* O9. *Biodegradation* 11 (1), 65-71.
- Müller M.T., Zehnder A.J.B., Escher B.I., 1999: Membrane toxicity of linear alcohol ethoxylates. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2767-2774.
- Mulligan C.N., 2005: Environmental application for biosurfactants. *Environ. Pollut.* 133 (2), 183-198.
- National Research Council – US, Committee on Effectiveness of Oil Spill Dispersants, Marine Board, Commission on Engineering and technical systems, 1989: Using oil spill dispersals on the sea. *Natl. Academy Press, Washington, D.C.*, 335 Ss.
- Navon-Venezia S., Zosim Z., Gottlieb A., Legmann R., Carmeli S., Ron E.Z., Rosenberg E., 1995: Alasan, a new bioemulsifier from *Acinetobacter radioresistens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3240-3244.
- Outledge E.J.R., Sumpter J.P.S., 1995: Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.* 15 (3), 241-248.
- Park J., Kamendulis L.M., Klaunig J.E., 2002: Mechanisms of 2-butoxyethanol carcinogenicity: studies on syrian hamster embryo (SHE) cell transformation. *Toxicol. Sci.* 68, 43-50.
- Peakall D.B., Walker C.H., 1994: The role of biomarkers in environmental assessment. 3. *Vertebrates. Ecotoxicology* 3, 173-179.
- Pezeshki S.R., Hester M.W., Lin Q., Nyman J.A., 2000: The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review. *Environ. Pollut.* 108 (2), 129-139.
- Poremba K., Gunkel W., Lang S., Wagner F., 1991: Marine biosurfactants, III. Toxicity testing with marine microorganisms and comparison with synthetic surfactants. *Z. Naturforsch. (C)*, 46 (3-4), 210-216.
- Prince R.C., 1993: Petroleum spill bioremediation in marine environments. *Crit. Rev. Microbiol.* 19 (4), 217-242.
- Prince R.C., Lessard R.R., Clark J.R., 2003: Bioremediation of marine oil spills. *Oil Gas Sci. Technol.* 58 (4), 463-468.
- Rahman K.S.M., Rahman T.J., Kourkoutas Y., Petsas I., Marchant R., Banat I.M., 2003: Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. *Bioresource Technology* 90, 159-168.
- Ramachandran S.D., Hodson P.V., Khan C.W., Lee K., 2004: Oil dispersant increases PAH uptake by fish exposed to crude oil. *Exotoxicol. Environ. Saf.* 59 (3), 300-308.
- Rasmussen T.H., Andreassen T.K., Pedersen S.N., van der Ven L.T.M., Bjerregaard P., Korsgaard B., 2002: Effects of waterborne exposure of octylphenol and oestrogen on pregnant viviparous eelpout (*Zoarces viviparus*) and her embryos in ovario. *J. Exp. Biol.* 205, 3857-3876.
- Ron E., Rosenberg E., 2001: Natural roles of biosurfactants. *Environ. Microbiol.* 3, 229-236.

- Ron E.Z., Rosenberg E., 2002: Biosurfactants and oil bioremediation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 13 (3), 249-252.
- Sandrin T.R., Chech A.M., Maier R.M., 2000: A rhamnolipid biosurfactant reduces cadmium toxicity during naphthalene biodegradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (10), 4585-4588.
- Santa Anna L.M., Sebastian G.V., Menezes E.P., Alves T.L.M., Santos A.S., Pereira Jr., N., Freire D.M.G., 2002: Production of biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA1 isolated in oil environments. *Brazil. J. Chem. Engin.* 19 (2), 159-166.
- Shennan J.L., Levi J.D., 1987: *In situ* microbial enhanced oil recovery. In: Kosaric N., Cairns W.L., Gray N.C.C. (Eds.), *Biosurfactants and biotechnology*. Marcel Decker Inc., New York, N.Y. (USA), Ss. 163-181.
- Shin K.-H., Kim K.-W., Seagren E.A., 2004: Combined effects of pH and biosurfactant addition on solubilization and biodegradation of phenanthrene. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65 (3), 336-344.
- Singer M.M., George S., Jacobson S., Lee I., Weetman L.L., Tjeerdema R.S., Sowby M.L., 1995: Acute toxicity of the oil dispersant corexit 9554 to marine organisms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 32 (1), 81-86.
- Singer M.M., George S., Lee I.I., Jacobson S., Weetman L.L., Blondina G., Tjeerdema R.S., Aurand D., Sowby M.L., 1998: Effects of dispersant treatment on the acute aquatic toxicity of petroleum hydrocarbons. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34 (2), 177-187.
- Smith J.E. (Ed.), 1970: „Torrey Canyon“ Pollution and Marine Life - A report by the Plymouth laboratory of the U.K. Cambridge University Press, 196 Ss.
- Swanell R.P.J., Lee K., McDonagh M., 1996: Field evaluation of marine oil spill bioremediation. *Microbiol. Rev.* 60 (2), 342-365.
- Thanomsab B., Watcharachaipong T., Chotelersak K., Arunrattiyakorn P., Nitoda T., Kanzaki H., 2004: Monoacylglycerols: glycolipid biosurfactants produced by a thermotolerant yeast, *Candida ishiwadae*. *J. Appl. Microbiol.* 96, 588-592.
- Tkalich P., Gin K.Y.H., Chan E.S., 1999: Numerical simulation of soil spill combating techniques. *Proc. of the II APEC Workshop on Ocean Models*, 25-29 October 1999, Beijing (China), 6A: 1-9.
- Tkalich P., Kamrul Huda M.D., Yew Hoong Gin K., 2003: A multiphase oil spill model. *J. Hydraul. Res.* 41 (2), 115-125.
- Thouand G., Bauda P., Oudot J., Kirsch G., Sutton C., Vidalie J.F., 1999: Laboratory evaluation of crude oil biodegradation with commercial or natural microbial inocula. *Can. J. Microbiol.* 45 (2), 106-115).
- Van Ginkel C.G., 1996: Complete degradation of xenobiotic surfactants by consortia of aerobic microorganisms. *Biodegradation* 7 (2), 151-164.
- Van Hamme J.D., Ward O.P., 1999: Influence of chemical surfactants on the biodegradation of crude oil by a mixed bacterial culture. *Can. J. Microbiol.* 45 (2), 130-137.
- Van Hamme J.D., Singh A., Ward O.P., 2003: Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67 (4), 503-549.
- Vasileva-Tonkova E., Galabova D., Karpenko E., Shulga A., 2001: Biosurfactant-rhamnolipid effects on yeast cells. *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 280-284.
- Ward O., Singh A., van Hamme J., 2003: Accelerated biodegradation of petroleum hydrocarbon waste. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30, 260-270.
- Watson S.W., Novitsky T.J., Quinby H.L., Valois F.W., 1977: Determination of bacterial number and biomass in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 33 (4), 940-946).
- Wegner C., Hamburger M., 2002: Occurrence of stable foam in the upper Rhine river caused by plant-derived surfactants. *Environ. Sci. Technol.* 36 (15), 3250-3256.

- Willand A., Buchholz G. (Rechtsanwälte Gaßner, Groth, Siederer & Coll., Berlin), 2005: Rechtliche Zulässigkeit des Einsatzes von Tensiden zur Beseitigung von Ölresten. Rechtsgutachten (2. Entwurf), 53 Ss.
- Wolfe M.F., Schwartz G.J.B., Singaram S., Mielbrecht E.E., Tjeerdema R.S., Sowby M.L., 1998: Influence of dispersants on the bioavailability of Naphthalene from the water-accommodated fraction crude oil to the golden-grown algae, *Isochrysis galbana*. Arch Environ. Contam. Toxicol. 35 (2), 274-280.
- Wolfe M.F., Schwartz G.J., Singaram S., Mielbrecht E.E., Tjeerdema R.S., Sowby M.L., 2001: Influence of dispersants on the bioavailability and trophic transfer of petroleum hydrocarbons to larval topmelt (*Atherinops affinis*). Aquat. Toxicol. 52 (1), 49-60.
- Wu Y., Shen Y., 1992: Genotoxic effects of linear alkyl benzene sulfonate, sodium pentachlorophenate and dichromate on *Tetrahymena pyriformis*. J. Protozool. 39 (4), 454-456.
- Xu R., Obbard J.P., 2004: Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in oil-contaminated beach sediments treated with nutrient amendments. J. Environ. Qual. 33 (3), 861-867.
- Yamada J., 1979: Antimicrobial action of sodium laurylbenzenesulfonate. Agric. Biol. Bhém. 43, 2601-2602.
- Yamada M., Takada H., Toyoda K., Yoshida A., Shibata A., Nomura H., Wada M., Nishimura M., Okamoto K., Ohwada K., 2003: Study on the fate of petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and the effect of chemical dispersant using an enclosed ecosystem, mesocosm. Mar. Pollut. Bull. 47 (1), 105-113.
- Zhang Y., Miller R.M., 1994: Effect of a *Pseudomonas* rhamnolipid biosurfactant on cell hydrophobicity and biodegradation of octadecane. Appl. Environ. Microbiol. 60, 2101-2106.

## 8.2. Behördliche Verordnungen und Zulassungen

- Europäische Union, 2004: Verordnung (EG) Nr. 648/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 31. März 2004 über Detergentien (Text von Bedeutung für den EWR). Amtsblatt Nr. L104 vom 08/04/2004, 35 Ss.
- Ministero de Fomento, 2003: Asunto: Solicitud de Autorización del producto detergente "BIOVERSAL". Subsecretaría – Dirección general de la marina mercante – Subdirección general de tráfico, seguridad y contaminación marítima (16 de octubre 2003), Madrid, Spanien.
- Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, 2002: Decreto 23 dicembre 2002 (GU n. 35 del 12-2-2003): Definizione delle procedure per il riconoscimento di idoneità dei prodotti disperdenti ed assorbenti da impiegare in mare per la bonifica dalla contaminazione da idrocarburi petroliferi. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio (Testo coordinato al D.M. 24 febbraio 2004), Rom, Italien.

## 8.3. Internet-Quellen

Bioremediation and its Application to Exxon Valdez Oil Spill in Alaska, 2004:  
<http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/2094/bioremed.html>

Fate of marine oil spills, 2004:  
<http://www.itopf.com/fate.html>

Oil Program, U.S. Environmental Protection Agency (EPA), 2004:  
<http://www.epa.gov/oilspill/oiltech.htm>

„Oil Spill Web, The International Oils Spill Information and Resource Center, 2004:  
<http://www.oil-spill-web.com/oilspill/Handbook3.htm>

#### **8.4. Weitere Quellen**

Schaber P., 2003: Schreiben von Dr. Peter Schaber (Amt für Gewässerschutz, Land Salzburg, Österreich) an die Bezirkshauptmannschaft St. Johann i. Pongau, betreffend einen Ölunfall vom 27./28. 9. 2002 im Goldegger See.