

Systematische Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit von Verpackungsmaterial, 2. Mitt. Zur biologischen Abbaubarkeit von auf Polyvinylalkohol basierenden Verpackungsfolien

Heinz Haschke^{1,*}, Ivan Tomka² und Andreas Keilbach²

¹ Wissenschaftlicher Beirat der CONSTANTIA-Gruppe, A-1010 Wien, Austria

² Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Institut für Polymere, CH-8092 Zürich, Switzerland

Systematic Investigations on the Biological Degradability of Packing Material II. On the Biodegradability of Polyvinylalcohol Based Films

Summary. Earlier investigations have shown that polymers with a high density of functional groups along and/or in the molecular chain are more prone to good biodegradability than polymers with simple C-C-chains or blockpolymers with such “biologically hard” segments [1, 2]. In this context, biodegradability supporting functional groups should not only be susceptible to simple removal (as *e.g.* the decarboxylation of COO⁻ groups), but also be attractive to enzymatic attack leading to chain fission by biochemical standard reactions or similar mechanisms.

For the production of packing films with good mechanical properties and good biodegradability, polymers like polyvinylalcohol and its derivatives seem to have the most encouraging properties among the water soluble films, poly- ϵ -caprolactone and its derivatives being one of the most promising candidates for water insoluble films. Two mechanisms for the biodegradation of polyvinylalcohols – each dominating under different conditions and for different product types – are proposed.

Keywords. Biodegradability; Polyvinylalcohol; Mechanisms of Degradation

Zusammenfassung. In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß Polymere mit einer hohen Dichte an funktionellen Gruppen entlang und/oder in der Molekülkette größere Chancen zu guter biologischer Abbaubarkeit haben als solche mit einfachen C-C-Ketten oder als Blockpolymere mit derartigen „biologisch harten“ Kettensegmenten [1, 2]. Dabei sollen unter die biologische Abbaubarkeit begünstigenden Gruppen nicht solche verstanden werden, die (wie beispielsweise COO⁻-Gruppen bei mikrobiell induzierter Decarboxylierung) ohne weiteren chemischen Einfluß auf die Polymermolekülkette leicht abspaltbar sind, sondern insbesondere solche, die gut einem enzymatischen Angriff zugänglich sind, der schließlich durch biochemische Standardmechanismen oder ähnliche Reaktionen zu Kettenspaltung führt.

* Corresponding author

Für die Herstellung von Verpackungsfilmen mit guten mechanischen Eigenschaften und gleichzeitig guter biologischer Abbaubarkeit scheinen Polyvinylalkohol und dessen Derivate in der Gruppe der wasserlöslichen Filme sowie Poly- ϵ -caprolacton in der Gruppe der wasserunlöslichen Filme am geeignetsten zu sein. Zwei Mechanismen des biologischen Abbaus von Polyvinylalkoholen – jeweils dominierend je nach Produkttyp und Umgebungsbedingungen – werden vorgeschlagen.

Einleitung

Fermentativ hergestellte sogenannte bioabbaubare Kunststoffe wie Polyhydroxybutyrat (*PHB*), Polyhydroxyvalerat (*PHV*) und Polylactic acid *PLA* wurden in jüngster Zeit als moderne Verpackungsfolien beschrieben [3,4], deren großtechnischer Einsatz aber bislang entweder an deren mangelhaften mechanischen Eigenschaften oder an deren Kosten infolge des hohen Aufwandes zur Extraktion dieser Produkte aus den Fermentationsflotten scheiterte. Zahlreiche Tests [5,1] haben gezeigt, daß von den synthetischen Polymeren, die in der Regel bessere mechanische Eigenschaften bieten, Polyvinylalkohol (*PVAL*) als Basis für Filme mit je nach gewünschter Lösungstemperatur einstellbarer Wasserlöslichkeit einerseits und Poly- ϵ -caprolacton (*PCL*) [6] als Basis für wasserunlösliche Filme andererseits im Hinblick auf strenge Anforderungen bezüglich guter biologischer Abbaubarkeit am aussichtsreichsten sind.

Beiden Polymeren *PVAL* und *PCL* ist gemeinsam, daß sie

- (a) entlang der Molekülkette eine hohe Dichte funktioneller Gruppen aufweisen (OH-Gruppen bei *PVAL*; Estergruppen bei *PCL*), welche geeignet sind, unter enzymatischem Angriff mittels biochemischer Standardmechanismen oder ähnlicher Prozesse zu Kettenspaltung zu führen,
- (b) ihre funktionellen Gruppen unter den üblichen chemischen Reaktionen des enzymatischen Angriffs nicht ohne Kettenabbau verlieren (wie es im Gegensatz dazu z.B. bei der enzymatischen Decarboxylierung von Polyacrylat geschieht),
- (c) so hydrophil sind, daß sie sogar wasserlöslich sind (OH-Gruppen in *PVALs* mit Verseifungsgraden um 83–88 mol %) oder in wäßrigem Medium zumindest zu einer guten Hydratisierung und damit zu einer einigermaßen guten Entknäuelung und dadurch zu einer Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen für extrazelluläre Enzyme führen und
- (d) außerdem Endgruppen aufweisen, von denen her Abbau mittels üblicher enzymatisch verfügbarer Reaktionsmechanismen relativ leicht möglich ist (Oxidation mit nachfolgendem β -Oxidations-Abbau analog den Fettsäuren bei *PVAL*; fettsäureanaloger Abbau bei *PCL*).

Anhand einer Untersuchung des zeitlichen Verlaufes des biologischen Abbaus von *PCL* bzw. von *PCL*-Stärke-Blends und einer entsprechenden Regressionsanalyse wurde bereits nahegelegt [2], daß bei *PCL* möglicherweise ein den Gesamtabbau beschleunigender Abbau vom Kettenende her dann Bedeutung erlangt, wenn die Kettenspaltung zu einer signifikanten Anzahl von Bruchstücken stark verkürzter Kettenlänge geführt hat.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob ein ähnliches Phänomen auch beim Abbau von Polyvinylalkoholen beobachtet werden kann. Daß Folien aus *PVAL* grundsätzlich biologisch abbaubar sind und – insbesondere, wenn sie auf

gute Wasserlöslichkeit eingestellt sind – auch relativ schnell und vollständig abbauen, wurde bereits früher festgestellt [1, 2]. Diese relativ gute biologische Abbaubarkeit von PVAL ist allerdings sehr stark temperaturabhängig und nimmt unterhalb von 18°C rasch ab. Bei 12°C und darunter kommt der Abbau völlig zum Erliegen [7].

Als Meßmethoden wurden verwendet:

a) der modifizierte *Sturm*-Test (OECD 301 B; EMPA SOP 147) [8] und

b) der Geschlossene-Flaschen-Test (OECD 301 D) [9];

für experimentelle Details siehe Lit. [2].

Biologische Abbaubarkeit reiner PVALs

Zur biologischen Abbaubarkeit der reinen PVALs existieren in der Literatur bereits mehrfache Untersuchungen. Während ältere, herstellereigene Befunde [10] zu dem Schluß kommen, daß ELVANOL^R-Typen eine vernachlässigbare 30-Tage-Sauerstoffzehrung aufweisen, kommen *Bauer et al.* [11] in Ringversuchen bei ansonsten (an stärkebasierenden Textilschlichtemitteln) guten Übereinstimmungen bei PVAL zu teilweise scheinbar widersprüchlichen – weil offenbar methodenabhängigen – Befunden. Andererseits beweisen die Ergebnisse von *Wheatley* und *Baines* [5], daß in einer kontinuierlich betriebenen CMAS- (*complete mixing activated sludge*)-Laboranlage bei Verwendung von konditioniertem (adaptiertem, eingearbeitetem) Belebtschlamm aus einer kommunalen Kläranlage über 90%ige Eliminationsraten erreicht werden. Die Autoren geben auch statistisch abgesicherte kinetische Daten zur Eliminationsrate und zur *oxygen utilization rate* an.

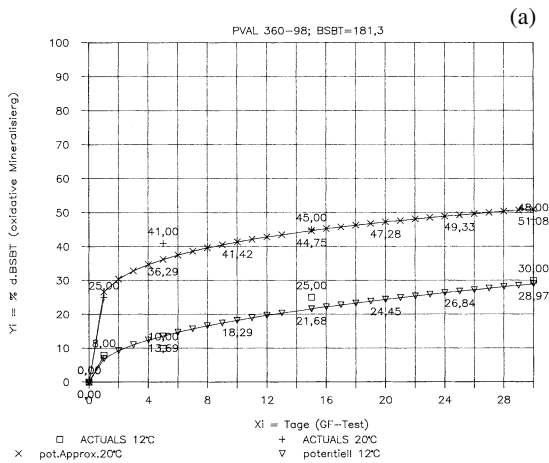
Schefer und *Romanin* [12] stellen bei genauer Unterscheidung zwischen genereller Eliminationsrate über biologischen Abbau, Fällung und Adsorption (OECD-Richtlinie 302 B) und echtem biologischen Abbau gemessen an der Sauerstoffzehrung (MITI-Test) fest, daß, „im normalen, nicht an die Prüfsubstanz adaptierten Belebtschlamm vorerst keine Elimination erfolgt, diese jedoch nach 20 Tagen einsetzt und dann rasch ansteigt. Es dürfte sich dabei um echten biologischen Abbau handeln“.

Wichtig hinsichtlich des Einflusses des Molekülkettentyps und der Molekülkettenlänge auf die Abbaubarkeit von Polymeren sind auch die Erkenntnisse dieser Autoren, daß „veresterte Stärken im allgemeinen weitgehend, verätherte dagegen oft ungenügend biologisch abbaubar“ sind, daß bei Carboxymethylcellulose unter anderem „der Polymerisationsgrad (Länge der Celluloseketten) und der Substitutionsgrad in weiten Grenzen variierbar“ sind, daß „beide Größen die biologische Abbaubarkeit beeinflussen“ und daß bei Polyvinylalkohol „durch Variation des Polymerisationsgrades und des Hydrolysegrades sowie durch chemische Umsetzungen ... auch diesen Produkten interessante neue Eigenschaften verliehen werden“. Insgesamt legen diese Befunde nahe, daß die Abbaugeschwindigkeiten bzw. eventuell beobachtbare Induktionsperioden („Einarbeitungsperioden“) von der Type (insbesondere von Kettenlänge und Verseifungsgrad) des untersuchten PVAL, von eventuell daran vorgenommenen Umsetzungen und von der angewandten Prüfmethode (Belebtschlammkonzentrationen, Belebtschlammvorgeschichte etc.) abhängen (vgl. auch Lit. [1]).

Ergebnisse und Diskussion

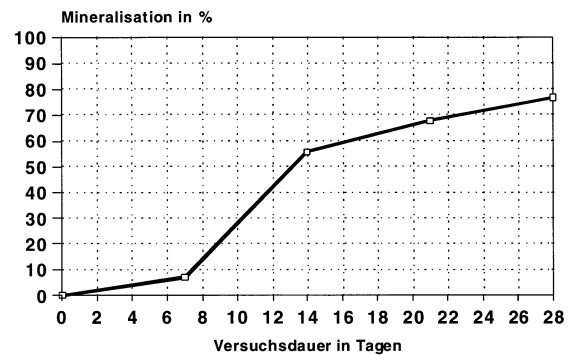
An einer Vergleichsreihe genau spezifizierter PVALs der Fa. Hoechst (s. *Experimentelles*) wurden folgende Abbaubarkeitsdaten gefunden: Aufgrund der Stöchiometrie und der gegebenen Molekulargewichte der Vinylalkoholeinheiten (M_{va} : 44) und der Vinylacetateinheiten (M_{vac} : zu 86) ergibt sich für die Umrechnung titrierbarer Verseifungszahlen (VSZ; ausgedrückt in mg KOH pro g Substrat):

$$\text{Verseifungsgrad (mol\%)} = \frac{56000 - \text{VSZ} \cdot 86}{56000 - \text{VSZ} \cdot 42} 100$$



(b)

BIOLOGISCHE MINERALISATION (OECD 301 B; EMPA SOP 147)
PVAL 360-98



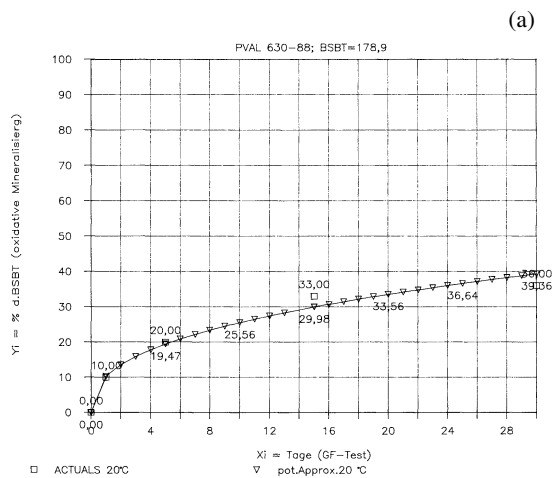
Belebtschlammkonzentration 30 mg TS/l; Prüfsubstanzkonzentration 29.3 mg/l EMPA April 1996 (126'598 A)

Abb. 1. Biologischer Abbau von PVAL mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 360 und einem Verseifungsgrad von 98% (MOWIOL[®] Typ 3-98, Fa. Hoechst AG, D-65926 Frankfurt/Main, BRD); a: GF-Test, b: modifizierter Sturm-Test; bei den Ergebnissen des GF-Tests ist zu Vergleichszwecken auch der Abbauverlauf bei 12°C eingetragen

Tabelle 1. PVAL 360-98

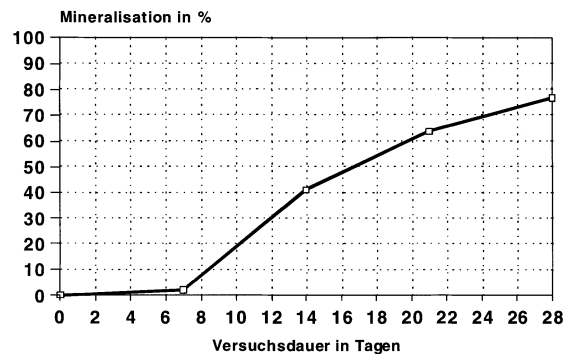
Versuchstag	ppm O ₂ in der angepfunden Leerprobe	ppm O ₂ im Substrat	dppm O ₂ ^a	Abbau (% d. BSBT)
0	8.7	8.7	0	0
1	8.6	7.50	1.1	25
3	8.5	7.13	1.37	32
5	8.37	6.59	1.78	41
10	8.2	6.38	1.83	42
15	7.82	5.86	1.96	45
20	7.6	5.56	2.04	47
25	7.16	5.07	2.09	48
30	7.05	4.94	2.11	49

BSBT trocken; 181.3; BSBT mit 4.0% Restwassergehalt: 174.0; C₀ = 2.5 mg/l; 20°C; ^a rdel. zum 0. Tag und abzüglich der angepfunden Leerprobe

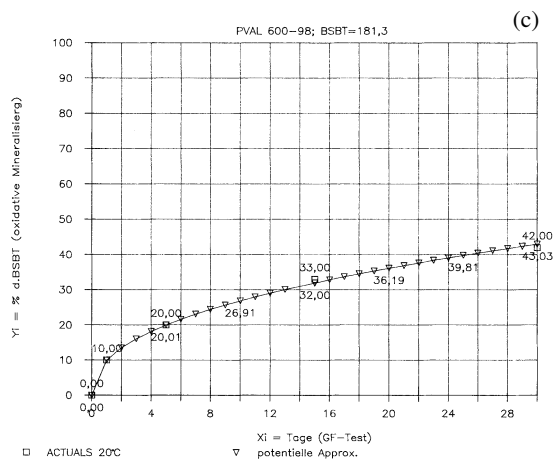


(b)

BIOLOGISCHE MINERALISATION (OECD 301 B; EMPA SOP 147)
PVAI 630-88

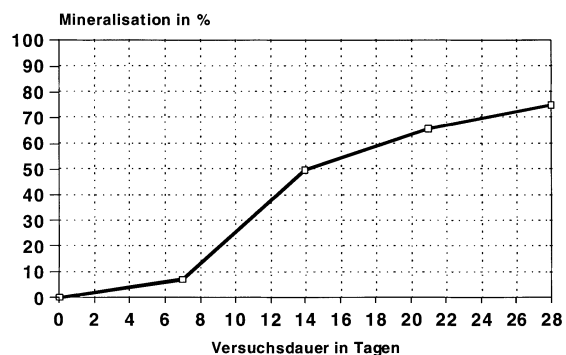


Belebtschlammkonzentration 30 mg TS/l; Prüfsubstanzkonzentration 28.8 mg/l EMPA April 1996 (126'598 A)



(d)

BIOLOGISCHE MINERALISATION (OECD 301 B; EMPA SOP 147)
PVAI 600-98

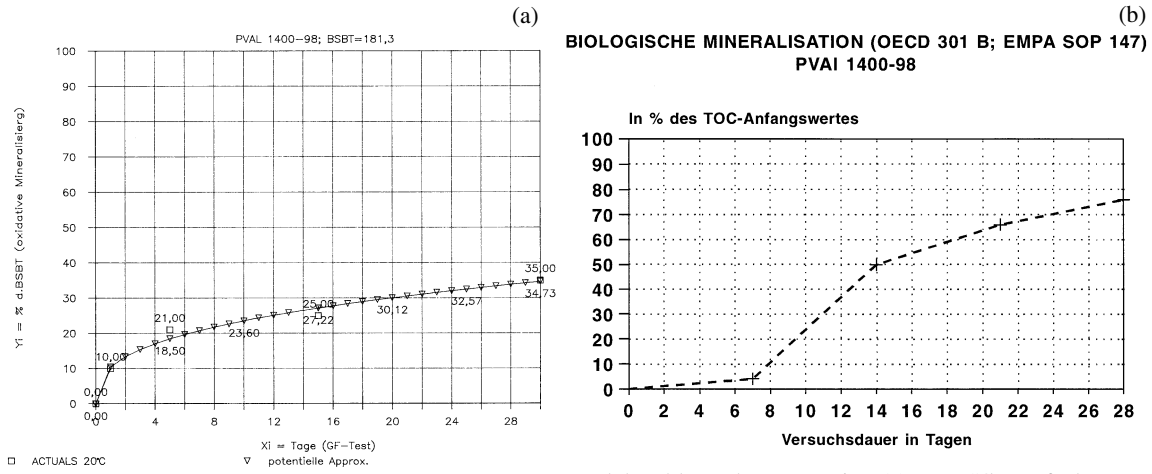


Belebtschlammkonzentration 30 mg TS/l; Prüfsubstanzkonzentration 28.6 mg/l EMPA April 1996 (126'598 A)

Abb. 2. Biologischer Abbau von PVAL mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 630 und einem Verseifungsgrad von 88% (a, b; MOWIOL[®] Typ 4-88; a: GF-Test, b: modifizierter Sturm-Test) bzw. mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 600 und einem Verseifungsgrad von 98% (c, d; MOWIOL[®] Typ 4-98; c: GF-Test, d: modifizierter Sturm-Test)

Um zu klären, inwieweit ein höherer Verseifungsgrad einen Einfluß auf das Substratverhalten beim biologischen Abbau hat wurde zum Vergleich eine praktisch vollverseifte Type etwa gleichen Polymerisationsgrads untersucht. Man erkennt, daß der Verseifungsgrad (im Bereich von 88 bis 98 mol% offensichtlich keine wesentliche Rolle bezüglich der Abbaubarkeit spielt.

In Vergleichsversuchen mit höhermolekularem PVAL konnte festgestellt werden, daß die biologische Abbaubarkeit (d.h. die nach 28 bzw. 30 Versuchstagen meßbaren % d. BSBT) höher sind, wenn die PVAL-Type besser kaltwasserlöslich



Belebtschlammkonzentration 30 mg TS/l; Prüfsubstanzkonzentration 29.4 mg/l EMPA April 1996 (126'598 D)

Abb. 3. Biologischer Abbau von PVAL mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 1400 und einem Verseifungsgrad von 98% (MOWIOL® Typ 10-98); a: GF-Test, b: modifizierter Sturm-Test

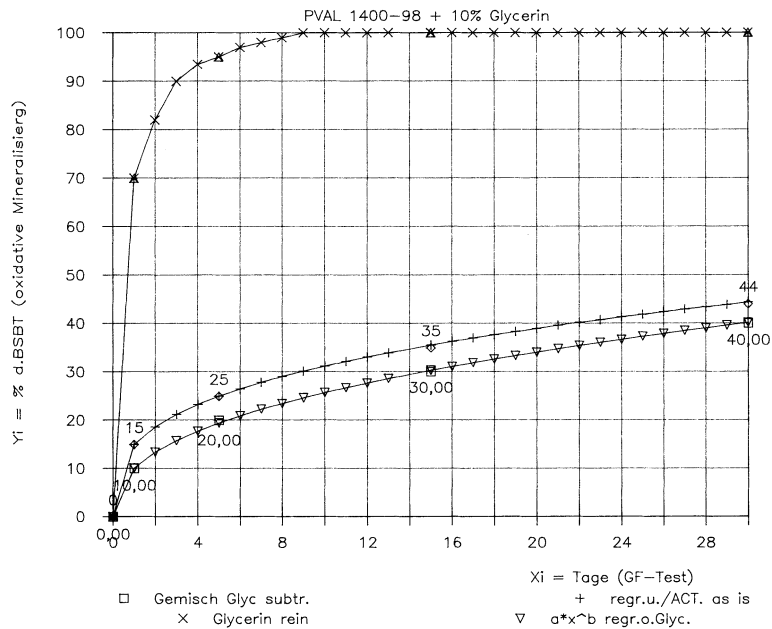


Abb. 4. Biologischer Abbau von PVAL (GF-Test) mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 1400 und einem Verseifungsgrad von 98% (MOWIOL® Typ 10-98) im Gemisch mit 10% Glycerin

ist, was eher für die teilacetylierten Typen mit 88 mol% Verseifungsgrad als für die praktisch vollverseiften Typen mit ca. 98 mol% Verseifungsgrad zutrifft, die nur mehr in heißem Wasser löslich sind.

Zum Nachweis, daß sich im Fall einfacher Gemische (sogenannter Blends) aus mittel und sehr gut abbaubaren Substraten (wie dem oft als Weichmacher verwendeten Glycerin) die scheinbar sehr guten Abbauverläufe solcher Produkte

Tabelle 2. a) PVAL-Folie MOWIOL 10–98 +10% Glycerin

Versuchstag	dppm O ₂ ^a	dppmO ₂ ^b		Abbau (% d. BSBT)
0	0	0	0	0
1	0.5	1.1	0.6	15
5	0.7	1.75	1.05	25
15	1.8	3.25	1.45	35
30	1.9	3.7	1.8	44

BSBT trocken: 175; BSBT mit 6% Restwassergehalt: 164.5; $C_0 = 2.5$ mg/l; ^a rdel. zum 0. Tag der Leerprobe; ^b abzüglich der angeimpften Leerprobe

b)

Versuchstag	Abbau von Glycerin (%)	dppm O ₂ ^a	reelle Zehrung	reeller Abbau d. PVAL (%)
0	0	0	0	0
1	70	0.2	0.4	10
5	100	0.3	0.75	19
15	100	0.3	1.15	28
30	100	0.3	1.5	37

BSBT (Glycerin) = 122; BSBT (10–98, 6% Wasser) = 170.4; ^a %Abb. BSBT. Ew/1000

als einfache Superpositionen der Abbauperläufe der Einzelkomponenten erklären lassen, wurde vergleichsweise eine Blend-Folie aus MOWIOL^R 10–98 (10% (w/w) Glycerin) untersucht

Subtrahiert man aus den gemessenen O₂-Zehrungen die (bekannte) Sauerstoffzehrung des beigemischten Glycerins, so ergibt sich für den Verlauf der reinen PVAL-Komponente wieder etwa der aus der Messung nach Abb. 3a bekannte Verlauf.

Damit erklärt sich auch der im Verlauf der Summenkurve aus Abb. 2a erkennbare besonders rasche Anstieg in den ersten Tagen des Abbaubarkeitstests und die dementsprechende anfangs überhöhte Kurvengestalt, welche somit bei den bekannten Abbauperläufen der reinen PVALs ein Hinweis darauf ist, daß bei diesem Substrat ein Stoffgemisch mit unterschiedlichen Abbauraten vorliegt.

Einen analogen Verlauf wie die reinen mittelmolekularen PVALs zeigt eine Probe höhermolekularen PVALs.

Diesen Meßwerten entsprechend liefert die Auftragung der GF – 30 d – Werte einer Reihe von PVALs steigenden Polymerisationsgrades (bei gleichem Verseifungsgrad) eine gewisse Abhängigkeit des biologischen Abbaus vom Polymerisationsgrad (Gewichtsmittel).

Der starke Knick bei niedrigen Polymerisationsgraden in dieser Auftragung und die nachfolgende Abflachung dieser Kurve in Richtung höherer Polymerisationsgrade läßt darauf schließen, daß nach einem besonders günstigen Abbaumechanismus, der bei sehr niedrigmolekularen PVAL-Typen dominiert (signifikanter Abbau vom Kettenende her?), alle höhermolekularen PVAL-Typen-unabhängig von ihrer Kettenlänge – praktisch gleich gut abbauen.

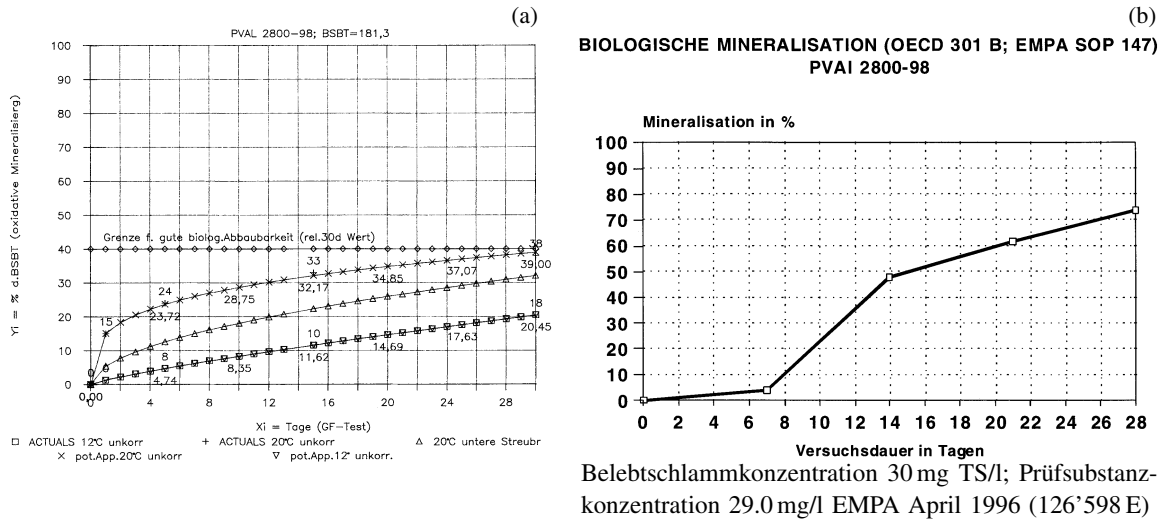


Abb. 5. Biologischer Abbau von PVAL mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 2800 und einem Verseifungsgrad von 98% (MOWIOL[®] Typ 20–98); **a**; GF-Test, **b**; modifizierter Sturm-Test; bei den Ergebnissen des GF-Tests ist zu Vergleichszwecken auch der Abbaueverlauf bei 12°C eingetragen; Ergebnisse des modifizierten Sturm-Tests bei 12°C: siehe Abb. 6

CO₂-Mineralisation von Polyvinylalkohol
Test nach OECD 301 B bei T = 12 °C

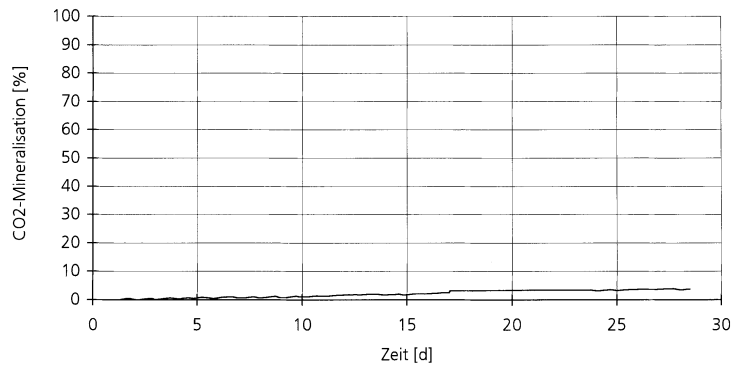


Abb. 6. Biologischer Abbau von PVAL (modifizierter Sturm-Test) mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 2800 und einem Verseifungsgrad von 98% (MOWIOL[®] Typ 20–98) bei 12°C (mit freundlicher Genehmigung des Fraunhofer-Instituts für Lebensmitteltechnologie und Verpackung, D-85354 Freising, BRD)

Molekulargewichtsabhängigkeit

In Analogie zu den Befunden aus der vorliegenden Arbeit stellt Sträßner [1] fest, daß eine Abhängigkeit des PVAL-Abbaus vom Molekulargewicht besteht. Dabei findet die Autorin bei Einsatz von Mischkulturen, daß die volle Abbaueffizienz einer Modellkläranlage mit steigendem Molekulargewicht des eingesetzten PVAL immer langsamer erreicht wird (Abwasser aus der Pilotkläranlage der Abt.

Gewässerreinigungstechnik der TU Hamburg-Harburg; mechanisch vorgeklärtes kommunales Abwasser der Eißendorfer Straße; kontinuierlicher Zulauf in belüfteten Laborbelebtschlammbehälter mit nachgeschaltetem Absetzbehälter (3 l) und Belebtschlammrückführung analog dem AD-Test; Substratverweilzeit: 10 Stunden; Einsatz von bereits PVAL-adaptiertem Belebtschlamm; *P* (Polymerisationsgrad) = 400: 8 d, *P* = 1300: 10 d, *P* = 1600: 10.5 d, *P* = 2000: 12 d). Bei Anreicherung eines Bakteriums (*Sphingomonas sp.* SDG) aus der isolierten Mischkultur wurde von *Sträßner* eine sogar noch ausgeprägtere Molekulargewichtsabhängigkeit der PVAL-Abbaubarkeit beobachtet (Zeit bis zum Erreichen so hoher Abbauraten, daß praktisch vollständiger PVAL-Abbau innerhalb der Verweilzeit in der kontinuierlich betriebenen Modellkläranlage bewirkt wird: *P* = 300: 7 d, *P* = 400: 23 d; pseudoasymptotisch gegen ca. 50%igen Abbau (von 1.2 g/l auf 0.6 g/l) nach 24 Tagen ab *P* = 1300).

Nach den Ergebnissen von hohen Start-Belebtschlammkonzentrationen und von Adaptationszeiten im modifizierten *Sturm*-Test [2] steht die Tatsache, daß im modifizierten *Sturm*-Test praktisch keine signifikanten Unterschiede in den nach 28 Testtagen erreichten Endabbauwerten für die PVAL-Typen verschiedenen hohen Molekulargewichte meßbar sind (vgl. Abb. 1b, 2b und 2d, 3b, 5b) und diese Typen unter diesen Test-Bedingungen alle als „gut biologisch abbaubar“ abschneiden, durchaus nicht im Widerspruch zu diesen Befunden [14].

Ein möglicher Grund für die von *Sträßner* gefundene Molekulargewichtsabhängigkeit der Zeit bis zum Erreichen der vollen Abbaugeschwindigkeit sowie die von uns gefundene daran anschließende relativ gute Abbaubarkeit besonders niedrigmolekularer PVALs (auch mit unadaptiertem Belebtschlamm) sowie die von *Baumann et al.* (s.u.) beobachtete starke Temperaturabhängigkeit des Abbaues

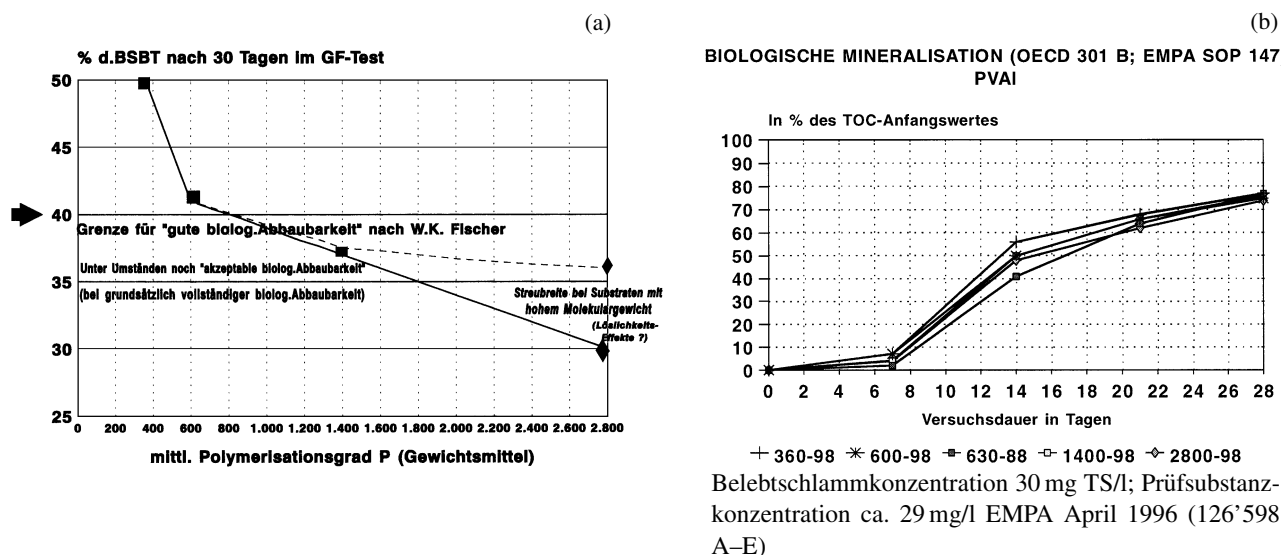


Abb. 7. a: GF – 30 d – Werte von PVAL-Typen verschiedener Polymerisationsgrade; **b:** Vergleich der Abbauperläufe von PVAL-Typen unterschiedlicher Molekulargewichte (*P* = 360–2800) im modifizierten *Sturm*-Test

höhermolekularer PVALs könnte darin liegen, daß im Fall des PVAL-Abbaus zwei voneinander unabhängige und je nach PVAL-Typ bzw. Abbaubedingungen dominierende biochemische Abbaumechanismen existieren.

Mechanismus 1: Die übliche Adaptation ist notwendig, d.h. bestimmte spezielle, im üblichen Repertoire der Chemie des Zellstoffwechsels nicht programmierte biochemische Reaktionen müssen erst im Kontakt mit dem Substrat erlernt werden (Anhang C). Es wird allgemein angenommen, daß der Lernvorgang der Mikroorganismen erfolgt, weil dadurch die Zellen zusätzlichen Zugriff auf ein neues Substrat als neue Energiequelle erlangen. Bleibt das Substrat längere Zeit aus, so werden diese biochemischen Spezialmechanismen wieder verlernt, da das entsprechende Gen, welches in den adaptierten Mikroorganismen die enzymatischen Voraussetzungen für diese spezielle Abbaureaktion schafft, wegen des Ausbleibens des entsprechenden Substrats nicht mehr reproduziert wird, vor allem, wenn genügend andere Substrate vorliegen, um mit den üblichen Abbaumechanismen ausreichende Energiegewinnung zu bewerkstelligen.

Im Falle des PVAL-Abbaues könnte eine solche spezielle biochemische Reaktion der enzymatische Angriff an der C–C(OH)-Kette sein, welcher unter Kettenspaltung (Anhang C) zu niedermolekularen Bruchstücken führt. Dieser Angriff muß überall dort dominierend sein, wo

- a) wenige Endgruppen für einen Angriff vom Kettenende her zur Verfügung stehen (d.h. bei höhermolekularen PVALs) oder
- b) die Endgruppen abgeschirmt sind (d.h. bei höheracetylierten PVALs, wenn deren Moleküle infolge ihrer höheren Hydrophobie stark verknäuelst und – insbesondere bei tiefen Temperaturen – in wenig wasserdurchspülten Mizellen vorliegen).

Mechanismus 2: Abbau von C₂-Bruchstücken vom Kettenende her unter Nutzung des vorhandenen, nicht speziell zu erlernenden biochemischen Repertoires des normalen Fettsäurestoffwechsels (β -Oxidation)(Anhang B). Bei den PVAL-Typen, bei denen dieser Abbaumechanismus dominiert, d.h. beispielsweise bei allen sehr niedermolekularen Typen, bei denen viele gut zugängliche Kettenenden vorhanden sind, ist eine viel bessere biologische Abbaubarkeit (Erreichen höherer Mineralisierungsgrade innerhalb des Meßzeitraumes im Vergleich zu den höhermolekularen Typen) zu erwarten.

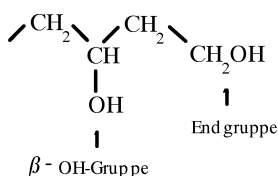
Selbst wenn – wie bei den Typen mit einem Polymerisationsgrad von 360 bis 1000 – zu Beginn des mikrobiellen Angriffes die Zahl der Endgruppen und damit die entsprechenden Angriffsmöglichkeiten noch relativ insignifikant sind (Promillebereich), werden nach einer kurzen Induktionsperiode (d.h. kinetisch bedingt, nicht wegen der nötigen Adaptation der Mikroorganismen), während welcher der normale Kettenspaltungsmechanismus abläuft, bald eine ausreichende Anzahl von Kettenenden gebildet, an denen der zweite, leichter fortschreitende und schließlich die Abbaubarkeitseigenschaften entscheidend (mit)bestimmende Mechanismus wirksam werden kann.

Unter der Annahme, daß die Verhältnisse der erreichten Abbaugrade (ausgedrückt in % des BSBT) verschiedener Substrate zueinander zu einem

bestimmten Zeitpunkt während des GF-Tests (nach der Einarbeitungs-Periode, aber möglichst lang vor einem eventuellen Erreichen einer Depression des Abbaufolles infolge eintretenden Sauerstoffmangels; am besten etwa um den 15. Versuchstag) ein relatives Maß für die Abbaugeschwindigkeiten sind und daß in grober Näherung an diesem Punkt bei den hochmolekularen *PVAL*-Typen im wesentlichen nur Mechanismus 1 wirksam ist, während bei den extrem niedermolekularen Typen bereits weitgehend Mechanismus 2 geschwindigkeitsbestimmend beteiligt ist, läßt sich abschätzen, daß die Abbaugeschwindigkeiten nach Mechanismus 2 mindestens etwa doppelt so hoch sein müssen wie jene nach Mechanismus 1 (s. Abb. 1a, 3a und 5a: 45% d.BSBT zu 25% d.BSBT = ca. 2:1). Geht man ferner davon aus, daß allein aus statistischen Gründen spätestens dann Mechanismus 2 dominant werden muß, wenn so kurze Ketten erreicht sind, daß die Zahl der Kettenenden der Zahl der möglichen Spaltungsstellen im Ketteninneren nach gleich ist, so sollte dies bei einem mittleren Polymerisationsgrad von $P=3$ der Fall sein. Unter Zugrundelegung der vorgenannten Abschätzung des Geschwindigkeitsverhältnisses von mindestens 2:1 würde die Bedingung der Dominanz von Mechanismus 2 sogar bereits erreicht sein, wenn die Anzahl der Endgruppen halb so groß wie jene der möglichen Spaltungsstellen im Ketteninneren ist, d.h. bei $P=5$. Nach den gleichen Überlegungen wird ein signifikanter Anteil an Mechanismus 2 (definiert als 10% Abbau vom Kettenende her) bei einem Polymerisationsgrad von ca. 40 erreicht. Jede Spaltung im Ketteninneren führt zu einer Verkürzung der Molekülkettenlänge. Ausgehend von den sehr niedermolekularen *PVAL*-Typen mit $P=ca. 300$ bis 400 wäre somit diese Signifikanzgrenze für das Wirksamwerden von Mechanismus 2 bereits erreicht, wenn durchschnittlich etwa 3 Spaltungen jedes Moleküls nach Mechanismus 1 vollzogen sind ($P=ca. 600$: 4 Spaltungen; $P=ca. 1000$: 5 Spaltungen). Es ist daher zu erwarten, daß Mechanismus 2 – so unbedeutend er zu Beginn des Abbaues auch sein mag – bei niedermolekularen *PVAL*-Typen relativ schnell für den Verlauf des biologischen Abbaues mitbestimmend und sogar dominant werden kann.

Nachdem derartige *PVAL*-Typen, zudem wenn sie hoch verseift sind, wegen ihres niedrigen Molekulargewichts und ihrer hohen Hydrophilie auch bei niedrigen Temperaturen kaum mehr zu einer Verknäuelung ihrer Fadenmoleküle neigen, die Endgruppen unzugänglich macht, sollte bei solchen Typen auch die Temperaturabhängigkeit der biologischen Abbaubarkeit nicht so extrem ausgeprägt sein [7], sondern eher analog zu anderen gut abbaubaren Substraten (wie etwa Stärke) verlaufen.

Ein über zwei Mechanismen verlaufendes Abbaumodell würde den beobachteten Knick im Anstieg der Abbaukurve bei besonders niedermolekularen *PVAL*-Typen erklären (Abb. 7a und Anhang B). Der Mechanismus der β -Oxidation vom Kettenende her ist im Fall der Polyvinylalkohole außerdem allein schon deshalb besonders wahrscheinlich, da durch ihre chemische Struktur der erste Schritt der β -Oxidation, nämlich die β -Hydroxylierung, welche energetisch recht aufwendig ist (enzymatische Dehydrierung der gesättigten C–C-Kette der Fettsäuren mittels *FAD* (s. Anhang A) und anschließende Wasseranlagerung) bereits vorweggenommen ist (s. Anhang B).



Abhängigkeit vom Verseifungsgrad

Selbstverständlich ist anzunehmen, daß auch die Verseifungsgrade hinsichtlich der Abbauraten eine Rolle spielen. Auf den geringen Einfluß unterschiedlicher Verseifungsgrade im Bereich von 88–98 mol% bei niedermolekularen PVAL-Typen wurde bereits eingegangen (s. Abb. 2a und 2b und im Vergleich dazu 2c und 2d). Die eher bessere Abbaubarkeit gut kaltwasserlöslicher Typen, also von solchen mit einem Verseifungsgrad unter 88 mol%, wurde in diesem Zusammenhang für höhermolekulare PVALs ebenfalls bereits beschrieben.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde aber auch eine etwas schlechtere (langsamere) Abbaubarkeit der niedriger verseiften Type MOWIOL 3–83 (Verseifungsgrad 83 mol%) im Vergleich zu der relativ gut abbaubaren Type MOWIOL 3–98 (Verseifungsgrad 98 mol%) gefunden. Dies dürfte damit zusammenhängen, daß bei den extrem niedermolekularen Typen, bei deren biologischem Abbau die Endgruppenzugänglichkeit bereits eine deutliche Rolle spielt, die Verknäuelungstendenz bei höherem Acetylierungsgrad (d.h. bei Verseifungsgraden um und unter 83%) wieder zunimmt. Die Wasserlöslichkeit ist bei niedermolekularen Typen ohnehin gegeben, sodaß es diesbezüglich auf Verhinderung zu starker H-Brückenbildung nicht so sehr ankommt.

In Analogie dazu findet *Sträßner*, daß ein vollhydrolysiertes Typ und ein zu 87 mol% hydrolysiertes Typ schneller abgebaut werden als PVALs mit Hydrolysegraden von 80 und 70 mol%. Bei Anwendung von *Sphingomonas sp.* SDG findet die Autorin, daß Polyvinylalkohol überhaupt nur dann vollständig abgebaut wird, wenn der Hydrolysegrad über ca. 85 mol% liegt. *Fischer* [15] gibt an, daß die kürzeste Adaptationszeit bei einem PVAL mit einer Viskosität von 3 mPas (entsprechend einem Polymerisationsgrad von ca. 300) erreicht wurde, und zwar bereits bei einem Hydrolysegrad von 83 mol%.

Über die Wasserlöslichkeit von PVAL-Typen ist bekannt, daß diese bei Verseifungsgraden zwischen ca. 85 und 95 mol% am besten ist [13]. Höhverseifte

Tabelle 3. PVAL 270–83

Versuchstag	dppm O ₂ ^a	Abbau (% d. BSBT)
0	0	0
1	0.51	12
5	1.16	27
15	1.46	34
30	1.80	42

BSBT trocken: 177.7; BSBT mit 3.5% Restwassergehalt: 171.5; C₀ = 2.5 mg/l; ^a rdel. zum 0. Tag abzüglich der angeimpften Leerprobe

Typen sind nur mehr in warmem bis heißem Wasser löslich, da deren viele freie OH-Gruppen bereits zu inter- und intramolekularer temporärer Vernetzung über H-Brücken führen. PVALs mit Verseifungsgraden unter 80 mol% zeigen retrograde Löslichkeit, d.h. Löslichkeit in Wasser bis ca. 40°C und Ausfallen bei höheren Temperaturen (sog. *cloud-point*). Bei Verseifungsgraden unter 70 mol% ist – wegen der dann dominierend werdenden Hydrophobie – nur mehr Löslichkeit in Wasser-Alkohol-Gemischen gegeben. Dementsprechend bilden niedrig verseifte PVALs offenbar statt enzymatisch gut zugänglichen, hoch hydratisierten, weitgehend fadenförmigen Molekülen eine enzymatisch kaum zugängliche und viel schlechter von Wasser durchspülte Knäuelstruktur.

Temperaturabhängigkeit

Auf die starke Temperaturabhängigkeit des PVAL-Abbaus in Kläranlagen unter realistischen Bedingungen wurde von Schönberger und Baumann hingewiesen [7]. Auch dieser Effekt müßte molekulargewichtsabhängig sein, je nachdem, welcher Abbaumechanismus mit welcher die Abbaukinetik kontrollierenden Aktivierungsenergie dominant ist. Außerdem sollte auch eine Abhängigkeit von der sich je nach PVAL-Type and Temperatur einstellenden Knäuel- bzw. Mizellenstruktur vorliegen. Daher wurden mittels eines kryostatischen Brutschanks die Abbauverläufe des Standards *n*-Dodecylsulfat [2], der niedermolekularen PVAL-Type 360–98 (s. Abb. 1a) und vergleichsweise dazu der hochmolekularen PVAL-Type 2800–98 (Abb. 5a und 6) sowie von sehr gut abbaubarer, sauer stark hydrolysiertes (dextrinierter) Stärke (Abb. 8) stichprobenartig bei tieferen Temperaturen als normal für Bioabbautests üblich (12°C) untersucht.

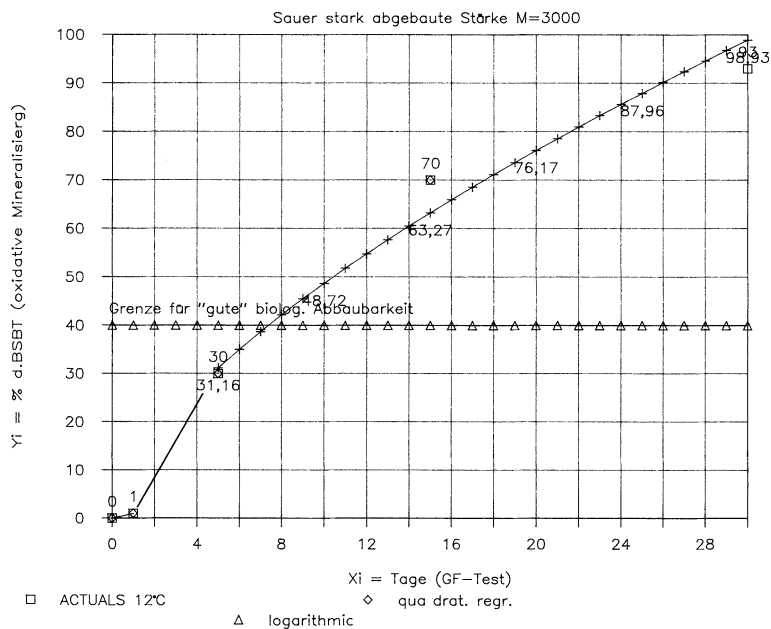


Abb. 8. Abbauverlauf von säurekatalysiert hydrolytisch auf M = 3000 abgebauter Stärke bei 12°C (GF-Test)

Tatsächlich konnten wir auch im GF-Test bei *PVALs* eine deutliche Depression der Endwerte der biologischen Abbaubarkeit nach 30 Versuchstagen feststellen – bei der niedermolekularen Type 360–98 nicht so stark (mit 30% d. BSBT-Werts relativ zum Sollwert von 40% für gute biologische Abbaubarkeit aber immer noch relativ gut liegend), bei der hochmolekularen Type 2800–98 aber sehr stark (mit 20% d. BSBT-Wertes schon relativ schlecht abbauend).

Wie zu erwarten, ist bei niedrigerer Temperatur in allen Fällen eine deutliche Reduktion der Abbaugeschwindigkeit festzustellen. Bei den leicht abbaubaren Substraten (geringe Aktivierungsenergien der leicht ablaufenden Mechanismen) ist aber zu erwarten, daß gegen Ende der Beobachtungsperioden sowohl im GF-Test als auch im modifizierten *Sturm*-Test nur wenig reduzierte Endabbauwerte erreicht werden (Beispiele: *n*-Dodecyl-sulfat und Stärke).

Bei den mit mittlerer Rate abbaubaren Substraten wie den niedermolekularen *PVALs* ist zu erwarten, daß zwar an den erreichten Endwerten ebenfalls eine gewisse Depression festzustellen ist, allerdings werden immer noch einigermaßen gute Abbaubarkeit signalisierende Werte erreicht. Vor allem aber ist feststellbar, daß der biologische Abbau wenn auch langsam, so doch stetig fortschreitet und nicht zum Erliegen kommt (keine horizontal abflachende Abbaukurve im GF-Test). Nur bei Substraten, deren biologischer Abbau auf Mechanismen angewiesen ist, die relativ hohe Aktivierungsenergien im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt erfordern, sollte nach dem *Arrheniusschen* Gesetz eine sehr starke Depression auch der erreichten Endwerte festzustellen sein (s. Anhang B und C).

Experimentelles

Die Einzelheiten zur experimentellen Ausführung des GF-Tests und des modifizierten *Sturm*-Tests wurden bereits früher beschrieben [2]. Ursprung des Belebtschlammes: GF-Test: Serie 3 (*PVALs* und *PVAL* 1400–98+Glycerin): Belebtschlamm aus der Kläranlage Prinzendorf (Niederösterreich) vom 16. 1. 1996; modifizierter *Sturm*-Test: Serie 4 (*PVALs*): Belebtschlamm aus der ARA Herisau (Schweiz) vom 14. 3. 1996. Die für die Messungen der biologischen Abbaubarkeit im GF-Test und im modifizierten *Sturm*-Test verwendeten Polyvinylalkohole waren Verseifungsprodukte von Polyvinylacetat der Firma Hoechst A.G. (inzwischen Clariant GmbH), D-65926 Frankfurt (Main) Bundesrepublik Deutschland, mit dem Markennamen MOWIOL^R.

Für die Messungen der biologischen Abbaubarkeiten wurden die Proben wie folgt vorbereitet:

1. Herstellung eines sogenannten Preblends:

Das käufliche *PVAL*-Granulat wurde unter Zusatz von 4% (w/w) Wasser, 0.25% (w/w) Stearinsäure (als Gleitmittel) und 0.3% (w/w) Aerosil R 972 (Fa. DEGUSSA Schweiz A.G., CH-6342 Baar) in einem P_{xx}-Compounder der Fa. Papenmeier, D-32828 Augustdorf, Bundesrepublik Deutschland) vorgemischt. Wurden glycerinhaltige Mischungen hergestellt, so wurde die entsprechende Glycerinmenge an dieser Stelle zugesetzt. Beim Mischvorgang wurde darauf geachtet, daß durch die eingebrachte Friktionsenergie eine Temperatur des Mischgutes von 80–85°C nicht überschritten wurde und die Mischdauer mindestens 20 Minuten betrug und so gewählt wurde, daß durch Verdampfung eventueller überschüssiger Wassermengen der gewünschte Wassergehalt eingestellt wurde. Vor der Extrusion wurde das Preblend zur Equilibrierung mindestens 24 Stunden stehen gelassen.

2. Die Blasextrusion des so hergestellten Preblends zu einer Blasfolie der Dicke 25±2 µm Genau abgewogene Stücke dieser Folie wurden jeweils als Substrat für die Tests zur biologischen Abbaubarkeit eingesetzt. Vor den Abbautests wurde die Folie in einem Exsiccator über einem

Wasser-Schwefelsäuregemisch entsprechend einer relativen Luftfeuchtigkeit von 45% bei 22°C mindestens einen Tag lang konditioniert. Der effektive Wassergehalt der so hergestellten Testfolien wurde durch einstündige Trocknung bei 80°C im Vakuum gravimetrisch bestimmt.

Dank

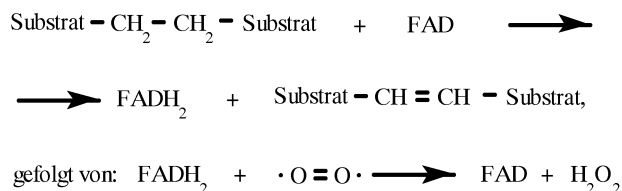
Besonderen Dank schulden wir der *Eidgenössischen Materialprüfungsanstalt* (EMPA) für die Erlaubnis zur Verwendung der Ergebnisse ihrer Vergleichsmessungen und insbesondere Herrn Dr. U. Baumann (EMPA) dafür, daß er – in enger Zusammenarbeit mit der ETH-Zürich bei der Probennahme – zu allen von uns im GF-Test durchgeführten Abbaubarkeitsmessungen die entsprechenden Messungen mit dem modifizierten *Sturm-Test* inklusive Test auf Toxizität gegen Mikroorganismen durchgeführt hat. Weiters danken wir ihm für eine Vielzahl von Anregungen zu dieser Arbeit, zu den Kriterien für die Beurteilung insbesondere neuer Stoffe und daraus konfektionierte Folien hinsichtlich deren biologischer Abbaubarkeit und für seine umfassende Diskussion unseres Manuskripts. Desgleichen gilt unser Dank dem *Fraunhofer-Institut* für Lebensmitteltechnologie und Verpackung (ILV) für die Erlaubnis zur Verwendung der Messergebnisse an den von der ETH-Zürich hergestellten *PVAL-Folienproben*. Herrn Prof. Dr. R. Müller vom Institut für Technische Biochemie der Technischen Universität Hamburg-Harburg danken wir für seinen Hinweis auf die umfassende Arbeit von Frau Dr. *Sträßner* zum Thema “Biologischer Abbau von Polyvinylalkoholen” und für die prompte Überlassung eines Exemplars ihrer Dissertations. Herrn Dr. *Ralf Rausch*, Herrn *René Kramer* und Herrn *G. Szente* danken wir für die sorgfältige Vorbereitung der GF-Testserien und für Ihre Diskussionsbeiträge.

Anhang A

Enzymatische Standardmechanismen für den oxidativen Abbau

Für den oxidativen Abbau durch enzymatische Prozesse sind grundsätzlich drei für den üblichen Zellstoffwechsel programmierte Standardmechanismen bekannt [16].

1. Dehydrogenasen (Oxidasen): Enzyme mit in der Regel Flavin als prosthetischer Gruppe; sie transferieren unter Bildung von H_2O_2 2 Äquivalente Wasserstoff auf ein Sauerstoffmolekül.



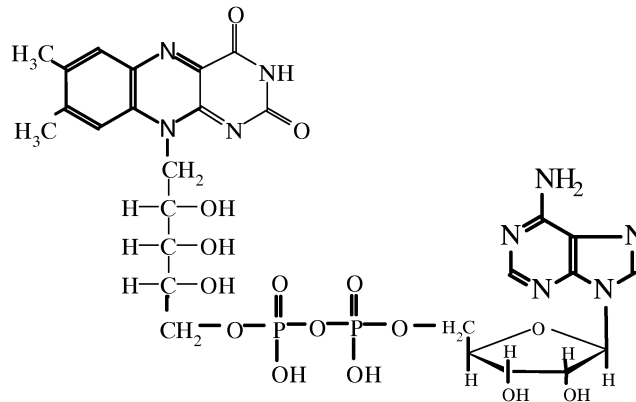
Je 2 dieser H_2O_2 -Moleküle werden dann über Katalase oder Superoxiddismutase wieder zu 2 $\text{H}_2\text{O} + 1 \text{O}_2$ entgiftet (H_2O_2 neigt aus bindungsenergetischen Gründen dazu, in OH-Radikale (s.a. Anhang C) zu zerfallen, welche stark hydroxylierende Zellgifte sind).

Die aktive Gruppe der FAD-Enzyme ist im untenstehenden Schema dargestellt.

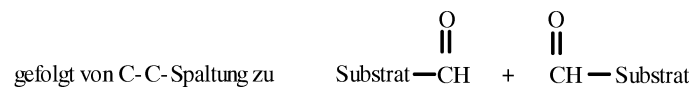
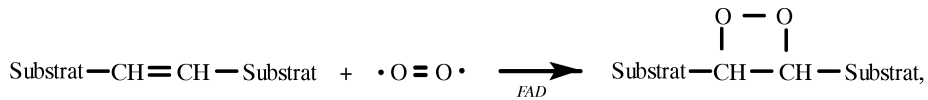
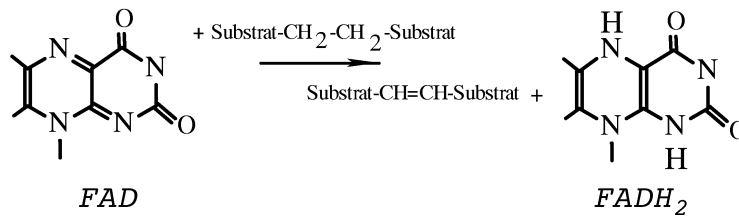
2. Dioxygenasen (Oxygen-Transferasen): Enzyme, die unter Ausnutzung des Biradikalcharakters des Sauerstoffmoleküls ganze O_2 -Moleküle an das π -Elektronenpaar der Substratdoppelbindungen anlagern, sodaß Gruppierungen entstehen, die relativ leicht zur C–C-Spaltung neigen. Dioxygenasen sind in der Regel ebenfalls Flavinenzyme; das Wirkungsschema ist nachstehend wiedergegeben.

Die Reaktion läuft besonders gut ab, wenn eines der beiden Bruchstücke eine (durch die Resonanzstabilisierung der Carboxylgruppe energetisch begünstigte) Carbonsäure ist wie

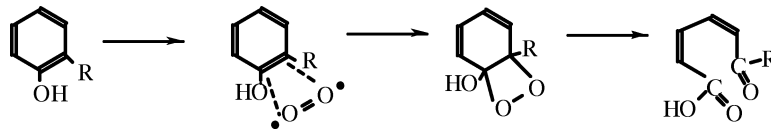
Aktive Gruppen von Dehydrogenasen und Dioxygenasen:



Flavin-Adenin-Dinucleotid, abgekürzt: *FAD*

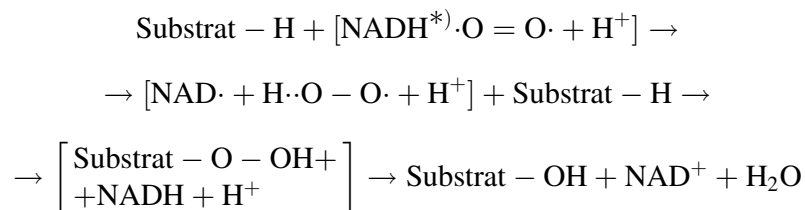


beispielsweise beim Stoffwechsel bestimmter aromatischer Aminosäuren mit der Struktur Substrat-C(OH)=CH-Substrat.



Die beiden genannten Mechanismen (Angriff von Oxidasen bzw. Dioxygenasen) könnten auch wesentlich an der Kettenspaltung von einfachen (niedermolekularen) Kohlenwasserstoffketten beteiligt sein, weshalb beispielsweise an Cetan überraschend gute biologische Abbaubarkeiten gefunden werden [17].

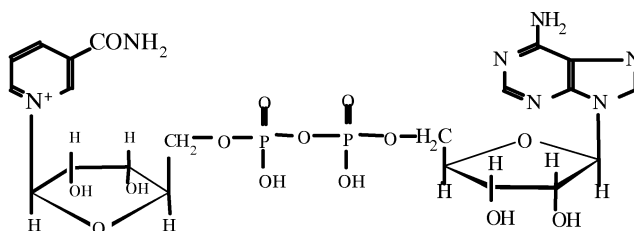
3. Monooxygenasen (mischfunktionelle Oxygenasen): Enzyme, die – ebenfalls unter Ausnutzung des Biradikalcharakters des O_2 -Molekül – jeweils nur 1 OH-Gruppe auf das Substrat übertragen,



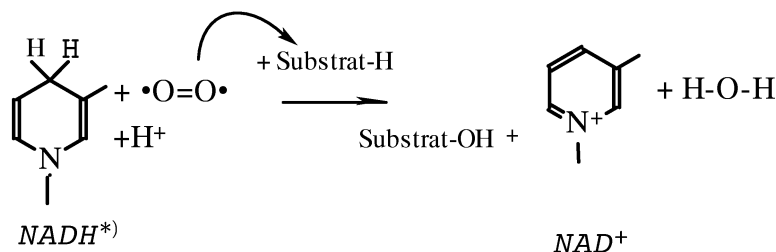
während das zweite O-Atom des Sauerstoffmoleküls zu Wasser reduziert wird Dabei handelt es sich in der Regel um Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Enzyme.

Die aktiven Gruppen der NAD-Typ-Enzyme sind im untenstehenden Schema dargestellt.

Aktive Gruppen der Monooxygenasen bzw. Hydroxylasen:



Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid, abgekürzt: *NAD*



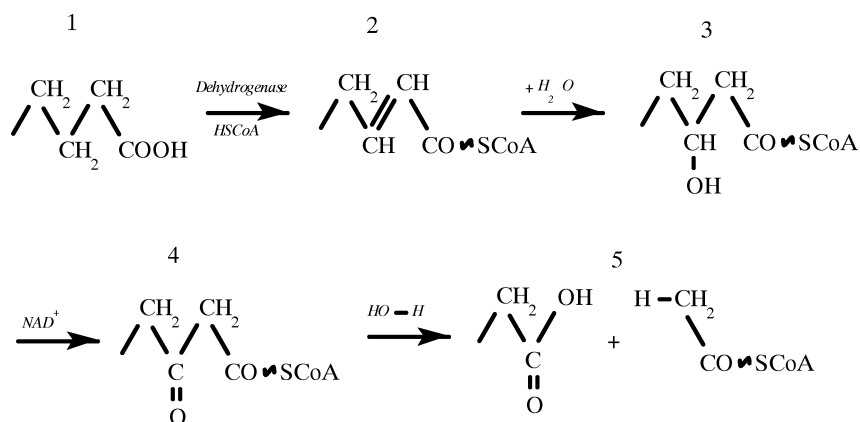
Anhang B

Chemische Analogien zum Abbau von (niedermolekularen) Polyvinylalkoholen und Fettsäuren

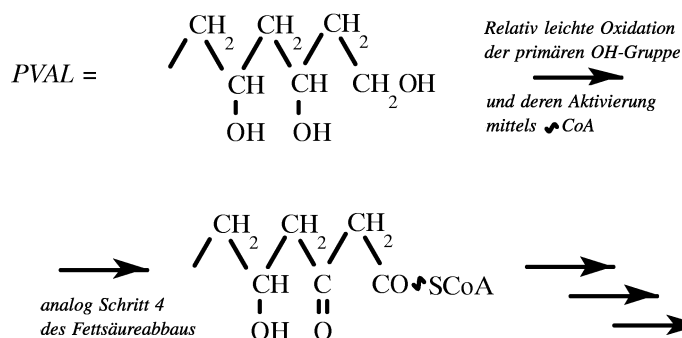
β-Oxidation der Fettsäuren:

Dieser Abbaumechanismus ist über den normalen Zellstoffwechsel praktisch immer verfügbar und muß daher nicht erst erlernt werden.

Mit diesem Abbaumechanismus würde auch erklärt, weshalb im GF-Test – d.h. bei Verfolgung der Sauerstoffzehrung – sofort nach Inokulation Abbauraten festgestellt werden (es verbraucht bereits der Schritt **3**→**4** Sauerstoff), während mittels der Methode der DOC-Analytik (wie in der von *Sträßner* angewandten kontinuierlichen Laborkläranlagenmethode) und auch mittels Verfolgung der CO₂-Entwicklung (wie im modifizierten *Sturm*-Test) erst später Abbauraten meßbar sind.



Abbau von PVAL:

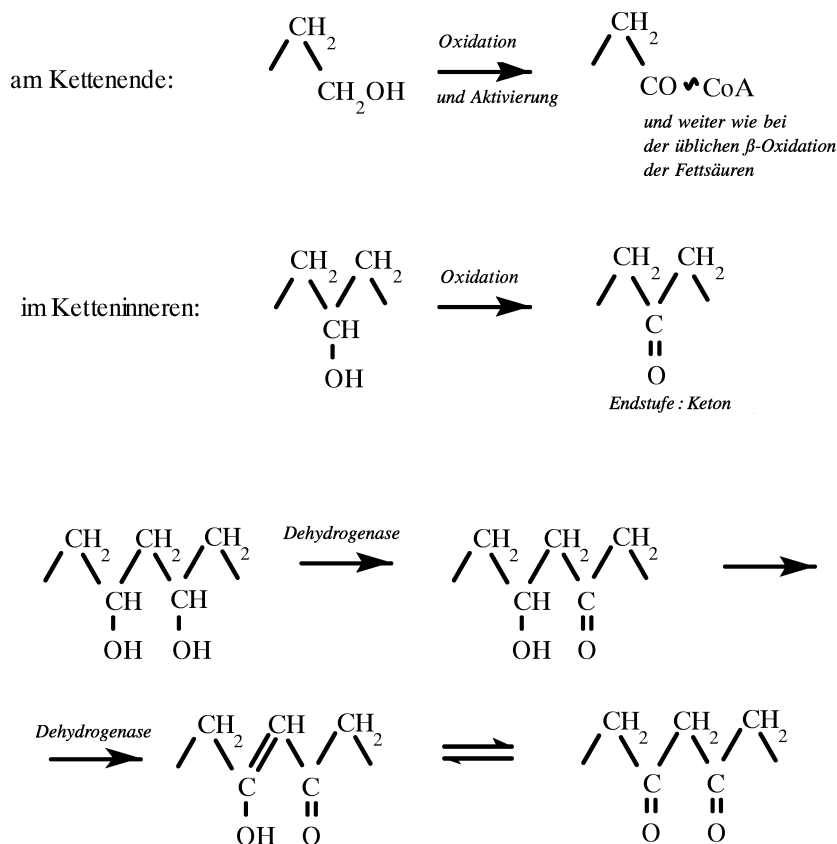


Anhang C

Diskussion möglicher Abbaumechanismen für hochmolekulare Polyvinylalkohole

Das vorgenannte Standard- und Fast-Standard-Repertoire der enzymatischen Angriffsreaktionen zum Abbau von niedermolekularen C-C-Ketten (wie Z.B. niedermolekulare PVALs), bei denen Abbau vom Kettenende her in signifikantem Ausmaß möglich ist, scheidet bei hochmolekularen PVALs. Der Abbau vom Kettenende her ist wegen der geringen Verfügbarkeit freier Kettenenden nicht effizient, und der Abbau analog zu den Kohlenwasserstoffen findet aus zwei Gründen nicht statt:

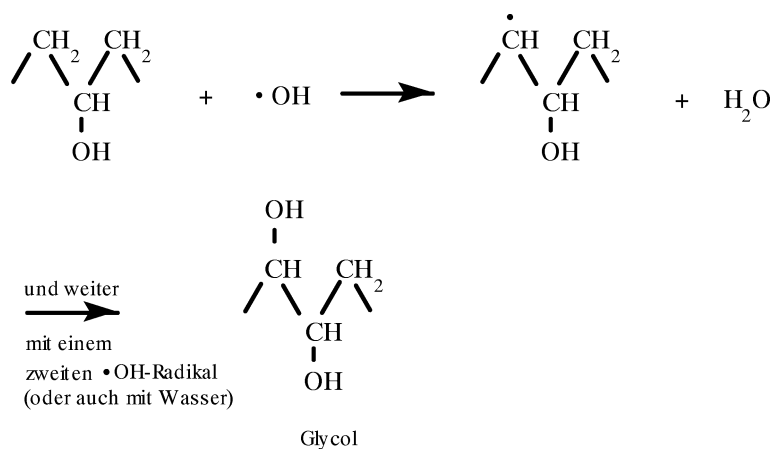
- In Analogie zu hochmolekularen Paraffinen oder Polyäthylen kommen intrazelluläre Enzyme nicht in Frage, da Zellwände für derartig große Moleküle nicht permeabel sind. Extrazelluläre Enzyme können nur an den äußersten Kettenabschnitte solcher in stark verkäuelter Form vorliegender Moleküle angreifen, die aber für enzymatischen Angriff hydrophob abweisend sind.
- Die bekannten Abbaumechanismen sind für solche Moleküle entweder nicht anwendbar (weil die energetisch aktivierende Thioesterbildung, wie sie am Kettenende eines PVAL nach Oxidation der primären Alkoholgruppe möglich ist, im Ketteninneren, wo nur sekundäre Alkoholgruppen vorhanden sind, nicht stattfinden kann), führen zu relativ toxischen (weil reaktiven) Umlagerungsprodukten ohne, daß C-C-Kettenspaltung eintritt, oder sind energetisch (aus Gründen der für einen derartigen Angriff zu überwindenden Aktivierungsenergie) zu aufwendig. Die Tatsache, daß bei derartigen C-C-Kettenspaltungen hohe Aktivierungsenergien zu überwinden sind, würde auch die beobachtete starke Temperaturabhängigkeit des biologischen Abbaus höhermolekularer PVALs erklären, wie sie schon von Schönberger et al. [7] beobachtet wurde.



Eine Ausnahme für enzymatisch möglichen Angriff am Ketteninneren ist allerdings zu berücksichtigen. Bei der Herstellung von Polyvinylalkohol durch Polymerisation von Vinylacetat mit nachfolgender Verseifung findet nicht nur Kopf-Schwanz sondern gelegentlich auch Kopf-Kopf-Polymerisation statt. An diesen Stellen liegt im PVAL-Molekül eine Glykolgruppierung vor, welche nach den Mechanismen der Glykolspaltung enzymatisch geöffnet werden kann. Derartige Mechanismen wurden bislang auch dafür verantwortlich gemacht, daß PVAL überhaupt biologisch abgebaut werden kann. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß derartige Sollbruchstellen nicht die Regel sind und auch für eine Glykolspaltung keine leichtgängigen enzymatischen Mechanismen vorliegen.

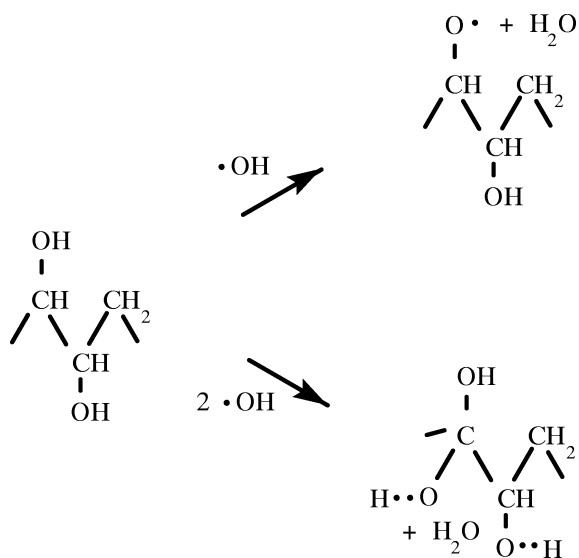
Als möglicher Mechanismus für den regulären biologischen Abbau höhermolekularer PVAL-Typen über Kettenspaltung kommt nur ein Mechanismus in Frage, der aus dem Standardrepertoire der enzymatischen Reaktionen abgeleitet ist. Aus der beobachteten Notwendigkeit zur Adaptation der Mikroorganismen kann man schließen, daß solche Mechanismen in der Regel nicht vorhanden sind. Verläuft dieser Mechanismus außerdem – wie experimentell bewiesen – über Übergangszustände mit höheren Aktivierungsenergien (Temperaturabhängigkeit), so kann man auch einen Radikalmechanismus (beispielsweise eine radikalische Hydroxylierung) in Betracht ziehen – insbesondere, da die Standarddehydrogenasen und die Standarddioxygenasen (s.o.) ohnehin den Biradikalcharakter des Sauerstoffmoleküls ausnutzen und im Fall der Oxidasen dabei sogar das $\cdot\text{OH}$ -Radikale bildende H_2O_2 entsteht. $\cdot\text{OH}$ -Radikale könnten also für den jeweils im Zuge der Adaptierung zu erlernenden Abbaumechanismus eine entscheidende Rolle spielen.

Für den Folgeschritt der Glykolspaltung könnte dann wieder teilweise auf bekannte Reaktionsmechanismen zurückgegriffen werden. Beispielsweise führen verschiedene oxidative Angriffe auf Glykole zur Spaltung der C-C-Bindung. Dem biochemischen Repertoire am nächsten kommt dabei die bekannte Glykolspaltung durch O_2 in Gegenwart von Co^{2+} -Ionen.

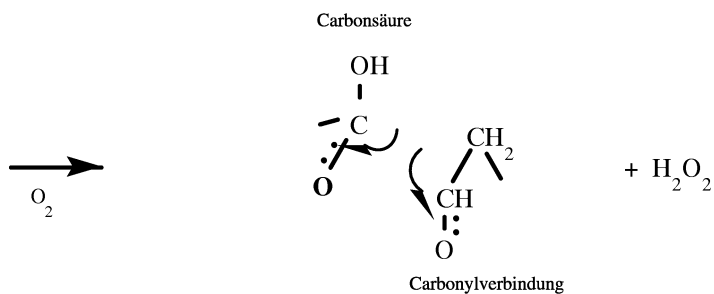


Als Modellhypothese könnte danach eine Spaltung der Polyvinylalkohlkette im Einklang mit der Tatsache, daß das $\text{O}_2/\text{Co}^{2+}$ -Reagens im 1. Reaktionsschritt ein Einelektronenübertragungssystem ($\text{Co}^{2+} \rightarrow \text{Co}^{3+}$) unter Ausnutzung des Radikalcharakters des O_2 -Moleküls darstellt, etwa wie folgt postuliert werden:

1. Schritt: radikalische Hydroxylierung

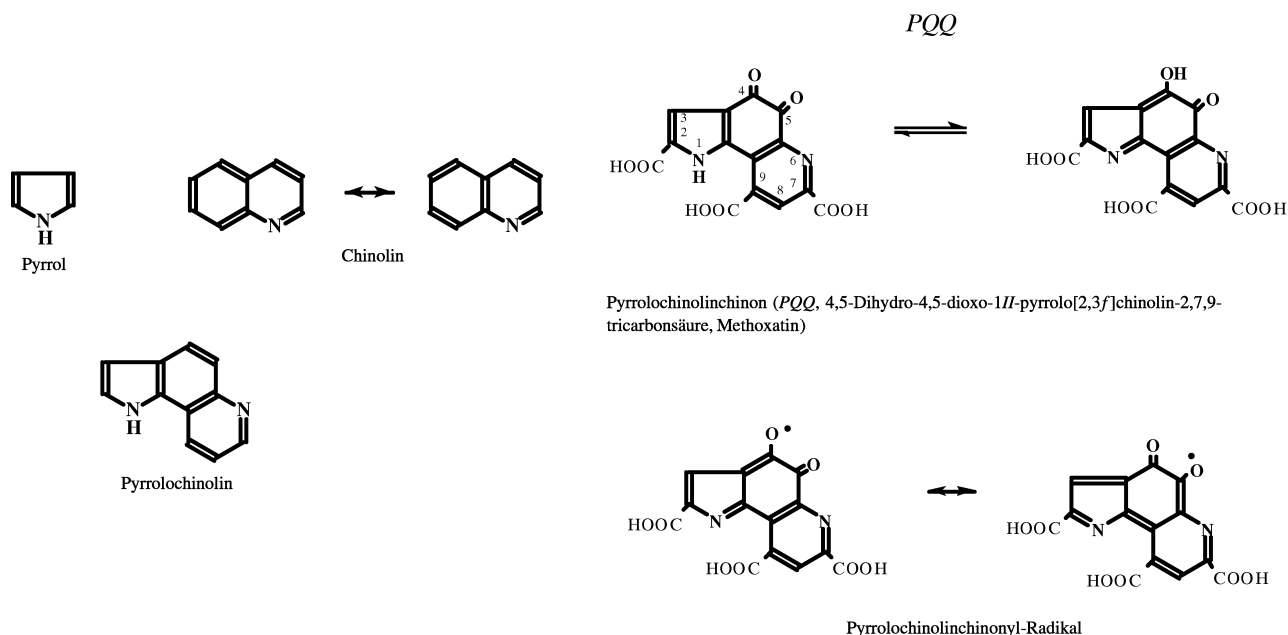


2. Schritt: Oxidation und Spaltung mittels O_2



Dadurch entstehen ein neues Kettenende mit einer Carbonsäure als Endgruppe und ein weiteres mit einer Aldehydgruppe, welche enzymatisch leicht sowohl zu einer Carbonsäure oxydierbar als auch zu einem primären Alkohol reduzierbar ist; Beide sind für einen weiteren enzymatischen Abbau gut geeignet. Die für einen solchen Mechanismus nötigen $\cdot\text{OH}$ -Radikale liegen in normalen Zellen und auch extrazellulär nur in äußerst geringen Konzentrationen vor, da sie stark zelltoxisch sind und von den Enzymen Katalase und Superoxiddismutase sofort abgefangen werden. Es ist aber denkbar, daß innerhalb einer gewissen Adaptationszeit manche Zellen die Fähigkeit entwickeln, gegen höhere Konzentrationen von $\cdot\text{OH}$ -Radikalen resistent zu werden bzw. entsprechend effizientere Reparaturmechanismen gegen Schäden durch $\cdot\text{OH}$ -Radiale aufzubauen und parallel dazu ihre Superoxiddismutase- und Katalaseaktivitäten zu reduzieren, sodaß geringfügig erhöhte $\cdot\text{OH}$ -Radikalkonzentrationen toleriert werden. Solche Spezies sind dann in der Lage, auch höhermolekulare *PVALs* als Energiequelle zu verwerten.

Interessant erscheint vor diesem Hintergrund der von *Sträßner* [1] festgestellte Befund, daß es Enzyme gibt, die *PVAL* nur in Gegenwart von Pyrrolochinolinchinon (*PQQ*) angreifen. *PQQ* ist eine aufgrund ihrer chemischen Struktur zur Stabilisierung von freien Radikalen prädestinierte Verbindung. Dies führt uns zu der Vermutung, daß beim *PVAL*-Abbau zumindest in den Übergangszuständen radikalische Mechanismen von wesentlicher Bedeutung sind.



Anhang C1

Bislang bekannte Enzymtypen, die signifikant am Abbau hochmolekularer Polyvinylalkohole beteiligt sind

Für den Abbau höhermolekularer Polyvinylalkohole wurden diverse Mechanismen und dafür in Frage kommende Exoenzyme beschrieben, welche den Abbau durch Angriff am Ketteninneren über die β -Diketonstufe bewerkstelligen sollen [18]:

1. Eine Oxidase, die nur gegenüber bereits oxidiertem *PVAL* aktiv ist.
2. Eine Oxidase für sekundäre Alkohole, welche zwei der benachbarten (β -ständigen) sekundären

OH-Gruppen im *PVAL*-Ketteninneren zu Ketogruppen oxidiert und welche vom Typ der H_2O_2 -bildenden Oxidasen ist.

3. Eine *PVAL*-Dehydrogenase, die *PVAL* nur in Gegenwart von Pyrrolochinolinchinon (*PQQ*) oxidieren kann.
4. Eine Dehydratase (β -Diketonhydrolase), welche die Kettenspaltung bewerkstelligt.

Aus energetischen und aus chemisch-mechanistischen Gründen ist die β -Diketonspaltung höchst problematisch. Sie verläuft über einen der Acyloinkondensation verwandten Mechanismus. Es ist bekannt, daß solche Mechanismen nur über Carbanionen möglich sind und deshalb beispielsweise nicht von einfachen nucleophilen Katalysatoren (d.h. auch nicht von den üblichen nucleophil angreifenden Enzymen) initiiert werden könnten, sondern nur in Anwesenheit des extrem stark nucleophilen Cyanidions als Initiator gestartet werden können.

Literatur

- [1] Sträßner JP (1995) Optimierung des mikrobiellen Abbaus von Polyvinylalkohol. Dissertation, Technische Universität, Hamburg
- [2] Haschke H, Tomka I, Keilbach A (1998) *Monatsh Chem* **129**: 253 (1. Mitt.)
- [3] Hettig M (1993) *BIOPOLR* – Ein biologisch abbaubarer Werkstoff auf Basis Hydroxyfettsäuren. *Parfumerie und Kosmetik* **75** (9): 569
- [4] Westerhausen J, Utz H (1990) Untersuchungen zum Einsatz bioabbaubarer Kunststoffe im Verpackungsbereich. In: Forschungsbericht Nr. 01-ZV 8904 (Dez.1990), BM f. Forschung und Technologie/Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH
- [5] Wheatley QD, Baines FC (1976) The DUPONT Co., Wilmington, Del. *Textile Chemist and Colorist* **8**: 28
- [6] BIOTEC GmbH & Co KG, D-46422 Emmerich, Markenname BIOFLEX^R für „Naturfolie“ dieser Firma
- [7] Schönberger H, Baumann U, Keller W (1996) *Textilveredlung* **31**(1/2): 19
- [8] Mod. *Sturm*-Test: Arbeitsvorschrift EMPA (SOP 147): EMPA, Eidgenössische Materialprüfungs- und Forschungsanstalt St. Gallen und OECD-Guideline 301 B
- [9] Fischer WK (1963) Der „Geschlossene-Flaschen-Test“, eine einfache quantitative Methode zur Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit anionischer Detergentien und anderer Substanzen. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **65**(1): 37
- [10] Anonym (1970) Long-Term Biochemical Oxygen Demand of ELVANOL^R Polyvinyl-Alcohol. DuPONT Technical Report A-70528
- [11] Bauer H, Gminder L-E, Keinath D, Keramaris N, Kerner W-D, Kleber RM, Schlüter K, Seekamp M, Tiedemann W, Ungeheuer P (1992) Bericht der Arbeitsgruppe „Ökologisches Verhalten von Schlichte-Polymeren“ im Technischen Ausschuß des Verbandes TEGEWA. *Melliand Textilberichte* **9**: 755
- [12] Schefer W, Romanin K (1988) *Textilveredlung* **23**(10): 340
- [13] Mark HF, Norman GG, Bikales NM (1971) In: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, Vol 14. Wiley Interscience, New York London Sidney Toronto
- [14] Schindler H (1996) Mündliche Mitteilung, Fa. HOECHST, Frankfurt/Main, Abt. F + E-Polymerisate II
- [15] Fischer K (1984) *Melliand Textilberichte* **65**: 269, 340
- [16] Karlsson P (1962) *Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Thieme, Stuttgart, p 185
- [17] Baumann U (1996) Mündliche Mitteilung (EMPA)
- [18] Sträßner PJ (1992) Untersuchungen zum mikrobiellen Abbau von Polyvinylalkohol. Universität Hochheim und Technische Universität Hamburg

Received July 3, 1997. Accepted (revised) September 4, 1997